

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

КУЗНЕЦОВА ГАННА СЕРГІЇВНА

УДК 616.379-008.64:611-018.74

**РОЛЬ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ В ПАТОГЕНЕЗІ
ДІАБЕТИЧНОЇ ХВОРОБИ НИРОК ТА МОЖЛИВОСТІ ЇЇ КОРЕКЦІЇ
ПРИ ЛІКУВАННІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ**

14.03.04 - патологічна фізіологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

м. Суми – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Державному підприємстві «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України» (м. Одеса).

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
Гоженко Анатолій Іванович,
ДП «Український науково-дослідний інститут
медицини транспорту МОЗ України» (м.Одеса), директор

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор,
Котюжинська Світлана Георгіївна,
ДЗ «Одеський національний медичний
університет МОЗ України», декан медичного
факультету, професор кафедри загальної та клінічної
патофізіології ім. В.В. Підвисоцького

доктор біологічних наук, професор,
Гарбузова Вікторія Юріївна,
Сумський державний університет МОН України,
професор кафедри фізіології і патофізіології
з курсом медичної біології

Захист дисертації відбудеться "07" травня 2021 р. об 11⁰⁰ год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Сумського державного університету (40007, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2).

Автореферат розісланий «__» _____ 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
кандидат медичних наук, доцент

О.С. Погорелова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Поширеність цукрового діабету (ЦД) набула характеру неінфекційної пандемії ХХІ століття. Із 1980 року чисельність людей, що страждають на ЦД, зростає майже в чотири рази до 425 мільйонів за станом на 2017 рік, і продовжує стрімко зростати у всіх регіонах світу. За прогнозом ВООЗ передбачається, що до кінця 2045 року, кількість хворих на діабет досягне 629 мільйонів (International Diabetes Federation, 2019).

ЦД безперервно прогресує і є небезпечним своїми ускладненнями, серед яких найбільш важливу роль відіграє розвиток мікро- і макроангіопатії. Патологія нирок у хворих на ЦД є однією з основних проблем сучасної діабетології і нефрології (Zhang J., 2017), а стрімке зростання захворюваності ЦД у всьому світі і в Україні, поряд з наслідками прогресування пошкоджень нирок, пов'язаними із загрозою життю, інвалідизацією (Мухін Н.А., 2019), а також величезні економічні витрати на стаціонарне лікування і висока частота повторних госпіталізацій створюють необхідність в постійному якісному моніторингу патологічного процесу і патогенетично обґрунтованої нефропротекції (First WHO Global report on diabetes, 2016).

Асоціація кардіоваскулярної патології та метаболічних розладів є тригерним механізмом патофізіологічного каскаду, який асоціюється з розвитком і прогресуванням ендотеліальної дисфункції (ЕД), інсулінорезистентністю, гіперглікемією, дисліпідемією, мікроальбумінурією, а також прозапальних і протромботичних станів. Комбінація цих механізмів призводить до формування ланцюжка несприятливих кардіоваскулярних ускладнень, які негативно впливають на показники захворюваності та смертності (Гоженко А.І., 2017). Тому розробка методів ранніх предикторів метаболічних порушень, які розвиваються при ЦД і сприяють формуванню ЕД, має важливе медичне і соціальне значення (Сусла О.Б., 2016).

Незважаючи на те, що в останні роки активно вивчається роль ЕД при багатьох серцево-судинних захворюваннях, в тому числі і при ЦД, стан ендотелію при ЦД 1 і 2 типу вивчено недостатньо (Зяблицев С.В., 2018). Багато в чому це пов'язано з тим, що прямі методи визначення структурного стану ендотелію важко доступні для дослідження в клінічній практиці. Вважається, що рівень циркулюючих десквамованих ендотеліальних клітин (ЦЕК) – один з найбільш об'єктивних показників ураження ендотелію, так як відображає підвищення процесів апоптозу і некрозу в ньому (Blann A.D., 2005). На підставі кількості циркулюючих ендотеліоцитів, можна судити про активність ендотеліальної десквамації, і, отже, про ступінь пошкодження ендотелію, яка є морфологічною основою ЕД (Петрищев Н.Н., 2001).

У зв'язку з високою ефективністю визначення ЕД, виникає можливість оцінити не тільки ступінь пошкодження ендотелію у пацієнтів із діабетом, а й реакцію ендотелію на коливання рівня глікемії, особливо в динаміці процесу лікування. Разом з тим, дослідження динамічності процесів десквамації ендотелію в процесі лікування ЦД 1 і 2 типу, а також ролі ЕД в патогенезі діабетичної хвороби нирок (ДХН) вивчено недостатньо.

До сих пір залишаються невизначеними багато питань: як швидко виникає десквамація, наскільки вона значна, чи супроводжуються сучасні методи корекції рівня глюкози в крові зниженням десквамації, а також і наскільки швидко цей процес може розвиватися. Також показники циркулюючих ендотеліальних клітин вкрай необхідні для того, щоб контролювати ефективність медикаментозної терапії та корекції порушень вуглеводного обміну, а також планувати лікування і т.д.

Тому заплановане дослідження є актуальним і соціально значущим. Плануються методологічні рішення, які дозволять знизити прогресування ниркових ускладнень ЦД як 1 так і 2 типу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи, яка виконувалася в Державному Підприємстві «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України». Фрагменти роботи виконувалися в рамках науково-дослідної роботи: «Дослідження ендотеліальної дисфункції при цукровому діабеті, можливість і ефективність застосування нової методики лікування цукрового діабету», № держ. реєстрації 0118U001852, термін виконання 01.09.2018 - 30.06.2019 рр. Дисертант був відповідальним виконавцем цієї теми.

Мета роботи. Вивчити роль ЕД в патогенезі ДХН за ЦД 1 і 2 типу.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені наступні завдання:

1. Провести аналітичний огляд літератури з проблеми ендотеліальної дисфункції при ЦД 1 і 2 типу. Проаналізувати основні причини і механізми розвитку судинних ускладнень діабету.

2. Сформулювати основну і контрольну групу дослідження, визначити рівень ендотеліоцитемії у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу і ДХН в порівнянні з групою практично здорових осіб.

3. Виявити особливості ендотеліальної десквамації в залежності від типу ЦД, віку, статі пацієнтів і функціонального стану нирок.

4. Визначити функціональний стан ендотелію в залежності від ступеня ендотеліальної десквамації шляхом визначення стабільних метаболітів оксиду азоту (NO) – основного ендотеліального вазодилататора.

5. Провести оцінку впливу індивідуально підібраної цукрознижувальної терапії та проведеного лікування пацієнтів із ЦД в залежності від наявних макро- і мікросудинних ускладнень діабету на структурний стан ендотелію.

6. Провести оцінку стану вуглеводного контролю, функціонального стану нирок через 3 місяці після стаціонарного лікування.

7. За результатами проведених комплексних аналітичних і лабораторно-інструментальних досліджень визначити, чи є ЕД оборотним процесом і прийняти рішення про необхідність ангіопротекторної терапії у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

8. Розробити методику, яка дозволить оцінювати ефективність нефропротекторної і ангіопротекторної терапії за ЦД.

Об'єкт дослідження: особливості порушення ендотелію в патогенезі ЦД 1 і 2 типу.

Предмет дослідження: стан і роль ЕД в патогенезі мікроангіопатій у хворих на ЦД 1 і 2 типу. Вплив нормалізації вуглеводного обміну на функціональний стан нирок і на маркери ЕД.

Методи дослідження. В роботі використані патофізіологічні, загальноклінічні, лабораторні, біохімічні, морфологічні, інструментальні, аналітичні і статистичні методи дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів.

Виявлено, що у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу визначається підвищення рівня ендотеліоцитемії в порівнянні з практично здоровими особами ($p < 0,05$), і підвищений рівень ендотеліальної десквамації може сприяти розвитку і прогресуванню ЕД, принаймні, розглядатися як один з етапів дисфункції і недостатності ендотелію.

Вперше встановлено, що незважаючи на відмінності в етіології і особливості патогенезу ЦД 1 і 2 типу, у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу спостерігається аналогічна картина ендотеліального ушкодження, а також відбувається прискорений розпад ЦЕК, про що свідчить підвищений вміст ЦЕК на кінцевій стадії розпаду у пацієнтів із діабетом в порівнянні з отриманими результатами в групі практично здорових осіб.

У дослідженні було виявлено, що серед чоловіків і жінок, хворих на ЦД 2 типу, в групі жінок старше 65 років концентрація ЦЕК була вище, що було статистично значущим результатом ($p < 0,05$). Висловлено припущення про те, що пошкодження ендотелію посилюється на тлі ендокринного старіння жінок, асоційованого з ЦД 2 типу.

Вперше встановлено, що компенсаторні функціональні можливості ендотеліоцитів у пацієнтів із ЦД зберігаються навіть при вираженому пошкодженні і десквамації ендотелію і присутні як у пацієнтів без ознак патології нирок, так і у пацієнтів із ДХН I-III ст., судячи з даних про вміст стабільних метаболітів NO в крові. Встановлено, що висока ступінь пошкодження ендотелію у пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу не завжди характеризується одночасною наявністю ЕД, виявленої на підставі кількості утворення NO. Також було виявлено, що рівень стабільних метаболітів NO не завжди залежить від віку пацієнтів, тривалості ЦД і ступеня компенсації вуглеводного обміну.

Вперше продемонстровано, що поліпшення глікемічного контролю і комплексна терапія наявних ускладнень ЦД призводить до значного зниження ендотеліального ушкодження у пацієнтів як з 1, так і з 2 типу ЦД, а значить, сприяє протекції судин ($p < 0,05$). Це відображається в зниженні ендотеліальної десквамації і проявляється через 10 днів від початку даного дослідження ($p < 0,05$). Зниження ендотеліальної десквамації пов'язано, з одного боку, з ослабленням ушкоджувальних судинну стінку механізмів, асоційованих з гіперглікемією, а з іншого боку, з можливим сприятливим вторинним впливом проведених медикаментозних заходів, а також в результаті корекції енергодефіциту функціонального стану ендотеліальних

клітин, яке виникає при абсолютному або відносному дефіциті інсуліну у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

Вперше продемонстровано перевагу застосування комбінації пероральної цукрознижувальної терапії з використанням аналога інсуліну гларгіну у пацієнтів із ЦД 2 типу, а також комбінації аналога інсуліну гларгіну та інсуліну короткої дії за даними десквамації ендотелію.

Результати аналізу функціонального стану нирок протягом 3 місяців від початку дослідження показують, що при призначенні оптимальної схеми цукрознижувачої і гіпотензивної терапії у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу можна запобігти або уповільнити прогресування захворювання нирок у пацієнтів з діабетом.

На підставі результатів нашого дослідження висловлено припущення, що ЕД є зворотним процесом незалежно від типу ЦД, є обґрунтуванням проведення ангіопротекторної терапії.

Практичне значення отриманих результатів. Проведене дослідження дозволило уточнити роль ЕД в розвитку діабетичних мікроангіопатій у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу, зокрема, ДХН, визначити динаміку показників ЕД і їх прогностичну значимість на тлі комплексного консервативного лікування в до- і післястаціонарному періодах.

На підставі проведеного дослідження показано, що визначення концентрації як загальної кількості циркулюючих ендотеліоцитів, так і рівня ЦЕК на різних стадіях розпаду є незалежним, ефективним, чутливим і недорогим маркером визначення структурного стану ендотелію і дозволяє об'єктивно оцінювати структурний стан ендотелію до і після комплексного лікування. Дана методика може стати провідною для оцінки впливу медикаментозної терапії або лікарського засобу на ендотелій.

Рекомендується використовувати математичну модель для прогнозування рівня ендотеліоцитемії через 10 днів після лікування пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу в залежності від вихідного рівня ендотеліоцитемії в результаті використання нашої стратегії лікування. А також математичну модель, яка дозволить зробити прогноз рівня ендотеліоцитемії через 3 місяці, використовуючи дані про ЦЕК на 11 день стаціонарного лікування.

Результати роботи впроваджені в навчальний процес і науково-дослідну роботу на кафедрах патологічної фізіології Одеського національного медичного університету, застосовуються в науково-дослідній роботі Державного Підприємства «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України», використовуються в лікувальній роботі в Комунальній Некомерційній Установі «Одеський обласний клінічний медичний центр» Одеської Обласної Ради.

Особистий внесок дисертанта. Особистий внесок автора в отриманні наукових результатів є основним і полягає в самостійному формулюванні ідеї роботи, виборі напрямку і методів дослідження, контингенту аналізованих груп, формулюванні мети дослідження і завдань для її реалізації, в проведенні необхідного обсягу інструментальних, лабораторних і клінічних спостережень, в статистично-аналітичній обробці матеріалу, проведенні

літературного пошуку, аналізі та узагальненні отриманих результатів, в підготовці наукових даних до публікації, оформленні раціоналізаторських пропозицій. В роботі використані окремі розробки, отримані в співавторстві з іншими дослідниками, що відображено в опублікованих наукових працях.

Результати дослідження висвітлені в наукових публікаціях, опублікованих у співавторстві.

Апробація результатів дисертації. Всі основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації дисертаційного дослідження доповідалися і обговорювалися на засіданнях: науково-практичній конференції «XVI-е читання ім. В. В. Підвисоцького» (Одеса, 19-20 червня 2017), науково-практичній конференції «XVII-е читання ім. В. В. Підвисоцького» (Одеса, 24-25 травня 2018), 8 Міжнародний конгрес патофізіологів (Братислава, 5-8 вересня 2018), VII Пленум Українського наукового товариства патофізіологів і науково-практична конференція, присвячена 110-річчю від дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н. Зайка (Полтава, 10-12 жовтня 2018), практичній конференції «Ендотеліальна дисфункція в патогенезі цукрового діабету та шляхи її корекції» (Одеса, 18 квітня 2019), практичній конференції «Ендотеліальна дисфункція: перспективна терапевтична мішень при діабетичній нефропатії» (Одеса, 20 лютого 2020).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 21 наукову роботу, в тому числі 1 монографія, 9 статей у наукових журналах, рекомендованих МОН України, 4 статті – в зарубіжних наукових періодичних виданнях медичної спрямованості Італії, Польщі та Індії, 3 статті надруковані в журналах, що індексуються в базі Scopus, 7 публікацій у матеріалах і збірниках конференцій та конгресів.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація викладена на 193 сторінках друкованого тексту (основний текст – 145 сторінок), містить анотацію, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури, опис матеріалу і методів дослідження, 3 розділи результатів власних досліджень, розділ аналізу та узагальнення результатів, висновки. Бібліографічний показник включає 152 джерел: 58 – кирилицею та 94 – латиницею), додатки. Робота ілюстрована 40 таблицями, 30 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи досліджень. Дисертаційна робота базується на результатах клінічного спостереження, лабораторно-інструментальних і спеціальних методів дослідження 130 хворих на ЦД, а також подальшого лікування 50 пацієнтів, що знаходились в терапевтичному відділенні Комунальне Некомерційне Підприємство «Одеський обласний клінічний медичний центр» Одеської обласної Ради» (КНП «ООКМЦ» ООР») в період з 2016 по 2020 роки. Групу контролю склали 20 практично здорових осіб, співставних за віком і статтю без ЦД і серцево-судинних захворювань.

Цільова спрямованість дослідження – визначення основних ниркових функцій і структурно-функціонального стану ендотелію у хворих на ЦД 1 і 2 типу з визначенням параметром стабільних метаболітів NO – нітрит (NO₂) і

нітрат-аніонів (NO_3^-), загальної кількості ЦЕК, а також ЦЕК на початковій, стадії виражених змін і кінцевої стадії розпаду, а також з визначенням сечового синдрому, зокрема, альбумінурії, і фільтраційної здатності нирок, аналізуючи по СКД-ЕРІ. Для реалізації поставленої мети було сформовано 2 групи пацієнтів: основна і контрольна.

Загальноклінічні методи дослідження. При обстеженні аналізувалися наступні клінічні симптоми: скарги на загальну слабкість, швидку стомлюваність, спрагу, сухість у роті, зниження або підвищення апетиту, поліурію, ніктурію, нудоту, блювоту, діарею, болі, парестезії в нижніх кінцівках, ослаблення зору, епізодичні раптові гіпоглікемії, що супроводжувались втратою свідомості і порушенням ходьби, оцінювали динаміку ваги.

Проведено оцінку анамнестичних даних у хворих на ЦД: тривалість захворювання, причина виникнення, перші показники порушення вуглеводного обміну, динаміка глікемії, глюкозурії, ацетонурії за період хвороби, зміни доз цукрознижувальних препаратів і інсулінів за період хвороби, стан компенсації вуглеводного обміну на момент огляду. Також оцінювалася спадковість пацієнтів і наявність шкідливих звичок: вживання алкоголю і куріння.

При постановці діагнозу ДХН використовувалися сучасні рекомендації національного ниркового фонду США (KDIGO), швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) визначали за формулою GFR-ЕРІ.

Лабораторні методи дослідження. Лабораторні аналізи проводилися в клініко-діагностичній лабораторії КНП «ООКМЦ» ООР», яка відповідає вимогам ДСТУ ISO 10012: 2005 «Системи управління вимірюваннями. Вимоги для процесів вимірювання та вимірювального обладнання» № 08-0006/2020 від 06.01.2020.

Первинне обстеження пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу включало: клінічні, біохімічні лабораторні методи дослідження, загальноприйняті при обстеженні хворих ендокринологічного профілю.

Глікемічний профіль включав в себе визначення рівня глікозильованого гемоглобіну (HbA_{1c}) імунотурбідиметричним методом, фруктозаміну за допомогою кінетичного колориметричного тесту. Глікемії натщесерце і в динаміці в 8.00-12.00-16.00-19.00 визначали колориметричним, ензиматичними методом з оксидазою глюкози. Також проводилася оцінка глюкозурії в добовій та разовій порції сечі.

Методи дослідження стану ендотелію. Для дослідження структурного і функціонального стану ендотелію, визначали наявність та ступінь ендотеліального ушкодження і рівень стабільних метаболітів NO у хворих на ЦД 1 і 2 типу. Десквамацію ендотелію визначали за методом J. Hladovec.

Метод заснований на визначенні кількості та вивченні структурних характеристик десквамованих зі стінки судин і мігруючих в кров ЕК шляхом ізоляції клітин ендотелію разом з тромбоцитами з подальшим осадженням тромбоцитів за допомогою аденозиндифосфату.

Оцінювали як загальну кількість ЦЕК, так і концентрацію ЦЕК на різних стадіях розпаду: на початковій, стадії виражених змін і на кінцевій стадії.*

Плазмову концентрацію NO_2 визначали фотоколориметричним методом L.C.Green et al. з використанням реактиву Грісса, концентрацію NO_3 – після їх відновлення в нітрити з використанням цинкового пилу.

Методи статичного аналізу. Статистична обробка та візуалізація даних проводилася за допомогою програм R версії 3.5.1, Microsoft Excel 2019 з пакетом Real Statistics Data Tool 2019. При описі кількісних даних були використані середні значення (M) і їх стандартні відхилення (SD), мінімальні (Min) і максимальні (Max) значення, якісні - відсотки (%), а при порівнянні групових середніх, дані були представлені як M і стандартна помилка середнього (SEM). Для оцінки гомогенності дисперсій використовували критерій Левена, аналіз на нормальність розподілу проводився за допомогою критерію Д'Агостіно-Пірсона. При порівнянні декількох груп, була використана поправка на множинні порівняння Бонферроні. Кореляційний зв'язок між досліджуваними параметрами визначалася за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона (r). Різниця між групами визначалася за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA. Значення $p < 0,05$ вважали статистично значущим.

Класифікаційні моделі будувалися з використанням методу K найближчих сусідів. Проводили простий і множинний лінійний регресійний аналізи для оцінки прогнозу ступеня ендотеліальної десквамації у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

У дослідженні брало участь 150 піддослідних: основна група - 130 хворих на ЦД 1 і 2 типу з важким перебігом захворювання, і 20 практично здорових осіб, порівнянних за статтю та віком, входили в групу контролю.

Серед пацієнтів основної групи було 44,62% ($n=58$) чоловіків і 55,38% ($n=72$) жінок. З обстежуваних пацієнтів, на ЦД 1 типу хворіло 23,85% ($n=31$) пацієнтів, ЦД 2 типу – 76,15% ($n=99$).

Середній вік склав $54,64 \pm 14,2$ років. Тривалість ЦД склала $11,73 \pm 8$ років. Середній рівень HbA_{1c} становив $8,34 \pm 1,11\%$. Середній рівень креатиніну становив $85,94 \pm 20,98$ мкмоль/л, сечовини – $5,93 \pm 2,13$ ммоль/л.

Встановлено, що в групі контролю ЦЕК були присутні в кількості від 500 до 2100 клітин/мл, в середньому складаючи $1350 \pm 102,21$ клітин/мл.

У пацієнтів із ЦД, визначається підвищення рівня ендотеліоцитемії в порівнянні з практично здоровими особами ($p < 0,05$), рівень ЦЕК варіював від 1200 до 11200 клітин/мл, із середнім значенням $2865,38 \pm 99,54$ клітин/мл.

* Виражаємо подяку д.м.н., проф., з.д.н.т. України Шафрану Л.М. за допомогу в методиках визначення циркулюючих ендотеліоцитів.

Серед пацієнтів з ЦД 1 типу, рівень ЦЕК перебував в діапазоні від 1300 до 4300 клітин/мл, із середнім значенням $2738,71 \pm 134,11$ клітин/мл. У групі пацієнтів із ЦД 2 типу, рівень ендотеліоцитемії коливався від 1200 до 11200 клітин/мл. Середня концентрація ЦЕК склала $2905,05 \pm 122,85$ клітин/мл.

Незважаючи на відмінності в етіології і особливості патогенезу ЦД 1 і 2 типу, у обстежуваних пацієнтів була схожа картина ендотеліального ушкодження.

У пацієнтів основної групи, концентрація ЦЕК, що знаходилися в початковій стадії розпаду, становила 19,27% при середньому рівні ендотеліоцитемії $552,07 \pm 40,71$ клітин/мл. На II стадії розпаду, кількість ЦЕК склала 63,52% при середній концентрації $1820 \pm 62,16$ клітин/мл. Десквамованих ендотеліоцитів, що знаходилися на кінцевій стадії розпаду, в плазмі крові було 17,21%, рівень ендотеліоцитемії – $493,07 \pm 23,64$ клітин/мл.

У групі контролю, початкова стадія розпаду ендотеліоцитів склала 18,52%, стадія виражених змін – 69,63%, на кінцевій стадії розпаду – 11,85%.

Виявлено, що у пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу відбувається прискорений розпад десквамованих із ендотеліальної стінки клітин, про що свідчить підвищений вміст ЦЕК на кінцевій стадії розпаду порівнянні у пацієнтів з діабетом в порівнянні з практично здоровими особами.

Для того, щоб визначити важливість ЦЕК в якості предиктора і здатність прогнозувати розвиток ЕД, була побудована класифікаційна модель k-найближчих сусідів. В якості предикторів служили дані про вік пацієнтів, рівні HbA_{1c} , ШКФ, ЦЕК серед пацієнтів із ЦД і практично здорових осіб.

Найвищу прогностичну важливість мали HbA_{1c} і ЦЕК, які склали 100 % і 84,74%, відповідно. Важливість ШКФ як предиктору склала 43,05%. Вік не впливав на побудову даної моделі. Дана класифікаційна модель мала точність 94,5%, специфічність 100%, чутливість 96,6%, AUC 96,3%.

Отже, визначення ЦЕК є чутливим методом виявлення ендотеліального ушкодження, а підвищення рівня ЦЕК може розглядатися як ранній предиктор мікро- і макросудинних ускладнень ЦД.

У дослідженні було виявлено, що серед чоловіків і жінок, хворих на ЦД 2 типу, в групі жінок концентрація ЦЕК була вище, що було статистично значущим результатом ($p < 0,05$). Серед жінок, які хворіють на ЦД, середній рівень ЦЕК склав $3176,86 \pm 178,31$ клітин/мл. У обстежуваних чоловіків основної групи, середня концентрація ЦЕК склала $2615,27 \pm 89,98$ клітин/мл. В групі пацієнтів із ЦД 2 типу, залежність від статі зберігається, що є статистично значущим результатом ($p < 0,05$). У пацієнтів із ЦД 1 типу, різниці між групами виявлено не було.

Встановлена тенденція до зростання ендотеліоцитемії у пацієнтів із ЦД з віком. Разом з тим, статистично значуще збільшення ЦЕК, яке спостерігалось у пацієнтів старше 65 років з ЦД 2 типу, було, в основному, за рахунок жінок. Отже, можна припустити, що пошкодження ендотелію посилюється на тлі ендокринного старіння жінок, асоційованого з ЦД 2 типу. Тривалість захворювання і ступінь компенсації діабету не чинили істотного впливу на рівень ендотеліоцитемії ($p > 0,05$).

Отримані дані про збільшення ЦЕК дозволили припустити, що пошкодження ендотеліоцитів може привести до ЕД. Відповідно до сучасних уявлень, порушення в системі NO є провідним компонентом ЕД.

У дослідженні метаболітів оксиду NO участь 53 пацієнта із ЦД. Дані за віком пацієнтів, тривалістю ЦД, рівнем HbA_{1c}, NO₂⁻, NO₃⁻ і ЦЕК представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Показники віку пацієнтів, тривалості ЦД, HbA_{1c}, NO₂⁻ і NO₃⁻ і загальна концентрація ЦЕК у пацієнтів із ЦД.

Показники	Вік, років	Стаж ЦД, роки	HbA _{1c} , ммоль/л	NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	NO ₃ ⁻ , мкмоль/л	∑ NO ₂ ⁻ и NO ₃ ⁻	∑ ЦЕК, клітин/мл
M	55,6	13,3	8,3	3,1	33,8	37	3358,4
SD	14,3	8,9	1	1,7	18	19,2	1333,4
Min	19	5,8	5,8	0,2	8,7	9,6	1800
Q1	46	1	7,6	1,9	21,6	23,8	2700
Q2	55	7	8,4	2,7	30,9	33,7	3200
Q3	67	11	9	4,2	43	44,4	3800
Max	80	45	10,6	8	83,7	89,6	11200

У 75,4% пацієнтів (n=40) рівень NO₂⁻ в плазмі крові був в межах норми і склав $2,3 \pm 0,9$ мкмоль/л. У 52,8% пацієнтів концентрація NO₃⁻ була в межах норми, в середньому складаючи $29,5 \pm 5,2$ мкмоль/л. Був виявлений прямий кореляційний зв'язок між NO₂⁻ і NO₃⁻ високої сили ($r = 0,65$; $p < 0,05$).

Встановлено, що високий ступінь пошкодження ендотелію у пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу не завжди характеризується одночасною наявністю ЕД, виявленої на підставі кількості утворення NO, тому що концентрація ЦЕК в плазмі крові відображає тяжкість структурних, але не функціональних змін ендотелію. У більшості пацієнтів із ЦД з вираженою ендотеліоцитемією рівні NO₂⁻ і NO₃⁻ були в межах норми.

Відомо, що процес появи і прогресування ЕД може починатися навіть із гіперактивації утворення ендотеліальних біологічно-активних речовин. Отже, нормальні рівні NO₂⁻ і NO₃⁻ у пацієнтів з вираженою ендотеліоцитемією можна розцінювати як наслідок компенсаторної гіперактивації синтезу NO, що спостерігається на першій і другій стадіях ЕД.

Пряма залежність між плазмовим вмістом NO₃⁻ і концентрацією ЦЕК була виявлена серед пацієнтів у віці до 50 років ($r = 0,45$, $p < 0,05$). Рівень NO₂⁻ і NO₃⁻ не залежав від віку пацієнтів і тривалості ЦД. Був виявлений слабкий прямий кореляційний зв'язок між HbA_{1c} і NO₃⁻ ($r = 0,29$; $p < 0,05$).

З метою підтримати або спростувати можливість відновлення ендотелію, нами було проведено дослідження десквамації ендотелію у 20 пацієнтів із ЦД 1 (n=8) і ЦД 2 (n=12) типу до і після 10-денного стаціонарного лікування.

Серед обстежуваних було 13 чоловіків і 7 жінок. Середній вік пацієнтів склав $47,6 \pm 17,7$ років, тривалість ЦД склала в середньому $9,5 \pm 6,3$ років. Індекс маси тіла (ІМТ) у пацієнтів в середньому склав $28,8 \pm 6,2$ років.

Дисліпідемія спостерігалася у всіх пацієнтів із ЦД. Рівень загального холестерину в середньому становив $6,61 \pm 2,5$ ммоль/л, рівень ЛПДНЩ становив $0,87 \pm 0,9$ ммоль/л, ЛПНЩ – $4,2 \pm 1,5$ ммоль/л, ЛПВЩ – $1,48 \pm 0,3$ ммоль/л, тригліцеридів – $1,87 \pm 1,7$ ммоль/л.

Всі пацієнти перебували в стадії декомпенсації. Концентрація HbA_{1c} складала $8,3 \pm 0,8\%$. Рівень фруктозаміну в середньому був $5,1 \pm 1,4$ ммоль/л. Рівень глюкози в плазмі натще становив $12,25 \pm 2,7$ ммоль/л, рівень постпрандіальної глікемії становив $13,5 \pm 3$ ммоль/л.

Для нормалізації глікемії була призначена гіпоглікемічна терапія відповідно до рекомендацій EASD/ADA.

За період стаціонарного лікування, рівень фруктозаміну знизився на 29,6% ($r = 0,6$; $p < 0,05$). Призначене лікування призвело до нормалізації рівня глюкози і АТ ($p < 0,05$).

Вихідний рівень і рівень ендотеліоцитемії після стаціонарного лікування представлений в табл. 2.

Таблиця 2

Рівень ендотеліальної десквамації в динаміці лікування ЦД

Показники	Вихідний рівень	Заключний рівень
	n = 20	n = 20
Загальний рівень ЦЕК, клітин/мл	$2385 \pm 209,66^*$	$1780 \pm 259,4$
Початкова стадія розпаду, клітин/мл	$355 \pm 103,07$	$295 \pm 64,54$
Стадія виражених змін, клітин/мл	$1630 \pm 91,28^*$	$1185 \pm 168,32$
Кінцева стадія розпаду, клітин/мл	$400 \pm 81,64$	$300 \pm 110,86$

Примітка: дані представлені як $M \pm SEM$.

* Статистично значуща різниця між групами за критерієм Фішера F ($p < 0,05$).

Отримані дані дослідження показують, що в результаті комплексного лікування пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу структурний стан ендотелію на підставі результатів зниження ЦЕК поліпшується, що відображається в зниженні ендотеліальної десквамації через 10 днів від початку стаціонарного лікування ($p < 0,05$).

Встановлено, що зниження ендотеліальної десквамації безпосередньо пов'язано з компенсацією вуглеводного обміну: гіперглікемія, яка є одним з основних патогенетичних чинників за ЦД, бере участь в пошкодженні ендотелію, а нормалізація глікемії призводить до зниження десквамації ендотелію.

Статистично значущої різниці за показниками ендотеліального пошкодження між групами пацієнтів із ЦД 1 і 2 цієї не було (рис 1).

На підставі результатів нашого дослідження ми припускаємо, що ЕД є, мабуть, оборотним процесом незалежно від стадії, що є обґрунтуванням ефективності ангіопротекторної терапії.

На 50 пацієнтів із діабетом 1 і 2 типу вивчалась оцінка впливу терапії на метаболічний контроль, ендотелій судин, ліпідний обмін та показники функціонального стану нирок впродовж 3 місяців дослідження.

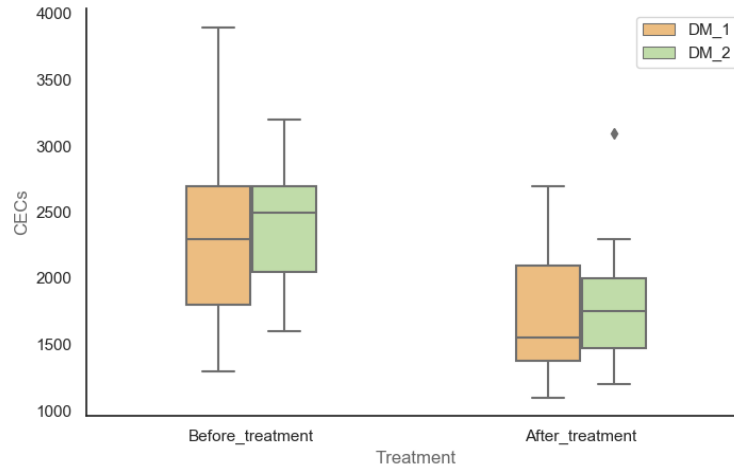


Рис 1. Рівень ЦЕК у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу в динаміці лікування.
Примітка: дані представлені як медіана і інтерквартильні діапазони.

Серед пацієнтів із ЦД було 25 чоловіків (50 %) та 25 жінок (50 %). Середній вік пацієнтів склав $56,32 \pm 12,4$ років. Тривалість ЦД складала в середньому $10,3 \pm 7,3$ років. Пацієнти із ЦД 1 типу хворіли в середньому $6,81 \pm 5,11$ років. Тривалість ЦД 2 типу в середньому склала $11,28 \pm 7,6$ років. Середній рівень ІМТ становив $30,27 \pm 5,5$ кг/м².

Середнє значення ШКФ у пацієнтів склало $73,17 \pm 18,7$ мл/хв/1,73м². Середній рівень HbA_{1c} становив $8,42 \pm 1,2$ %. У пацієнтів із ЦД 1 типу HbA_{1c} був $8,29 \pm 1,1$ %, у пацієнтів з ЦД 2 типу – $8,45 \pm 1,3$ %.

Усі пацієнти із ЦД 1 типу отримали інсулінотерапію за базисно-болюсною схемою у вигляді комбінації аналога інсуліну гларгіну та людського інсуліну короткої дії. Добова доза інсуліну гларгіну складала в середньому $23,2 \pm 2,9$ МО і знижувалася на $11,3 \pm 7$ МО, що склало 35,4 %.

Пацієнтам із ЦД 2 типу для компенсації вуглеводного обміну була призначена комбінація гліметіриду, метформіну, воглібозу та аналогу інсуліну гларгіну. Частині пацієнтів із ЦД 2 типу вперше була призначена інсулінотерапія. Після титрації, за умов досягнення цільових рівнів глюкози натще та постпрандіальної глікемії, добова доза інсуліну гларгін для всіх пацієнтів із ЦД становила $20,2 \pm 1,2$ МО.

За період стаціонарного лікування, кількість пацієнтів із глюкозою плазми натще $\leq 7,0$ ммоль/л підвищилась до 84 %. Середній рівень постпрандіальної глікемії знизився із $14,62 \pm 1,1$ до $6,67 \pm 0,3$ ммоль/л ($p < 0,05$). Середній рівень фруктозаміна знизився на 0,75 ммоль/л, із статистично значущою різницею в 16,7 % ($p < 0,05$).

Вихідний рівень ЦЕК у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу наведено на рис. 2.

Встановлено наявність статистично значущих позитивних зв'язків між всіма параметрами ендотеліальної десквамації. Кореляційні зв'язки найбільшої сили визначались між загальним рівнем ЦЕК і початковою стадією ($r = 0,71$; $p < 0,05$), загальним рівнем ЦЕК і стадією виражених змін ($r = 0,9$; $p < 0,05$), початковою стадією і стадією виражених змін ($r = 0,76$; $p < 0,05$).

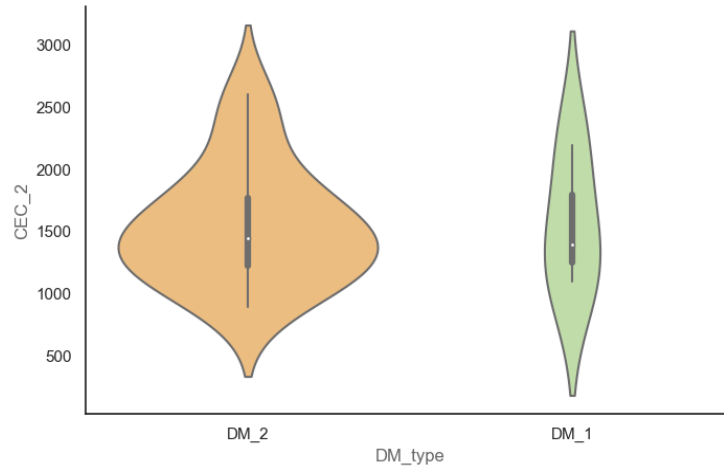


Рис. 2. Концентрація ЦЕК у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

Примітка: дані представлені як медіана, інтерквартильні діапазони з графіком щільності розподілу.

При побудові моделі простої лінійної регресії використовувалися вихідні рівні ендотеліоцитемії у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу та дані по десквамації ендотелію через 10 днів після залучення пацієнтів в дослідження.

У табл. 3 наведені основні коефіцієнти лінійної регресії.

Таблиця 3

Параметри лінійної моделі

	coeff	std err	t stat	p-value	Lower	upper
Константа	463.817	150.0428	3.091231	0.003315	162.1357	765.4983
CEC _{sb}	0.524974	0.057232	9.172661	3.96E-12	0.4099	0.640047

Примітка: CEC_{sb} – вихідний рівень ЦЕК, *coeff* – коефіцієнт лінійної регресії, *std err* – стандартна помилка коефіцієнта регресії, *t stat* – статистичний критерій Стьюдента, *p-value* – статистична значимість коефіцієнтів регресії, *lower i upper* – нижня і верхня межі 95% довірчого інтервалу.

Рівняння побудованої нами моделі має такий вигляд:

$$\hat{Y}_i = b_0 + b_1 X_i$$

Виходячи з табл. 5, наше рівняння набуває вигляду:

$$\hat{Y}_i = 463.817 + 0.524974 * \text{CEC}_{sb}$$

За допомогою цієї моделі ми можемо прогнозувати, як зміниться рівень ендотеліоцитемії в результаті запропонованої стратегії стаціонарного лікування. Коефіцієнт детермінації цієї моделі становив 63%.

3-місячний курс призначеної цукрознижувальної та гіпотензивної терапії у пацієнтів із ЦД 1 та 2 типу асоціювався із клінічно значущим покращенням глікемічного контролю. По завершенню 3-х місячного періоду застосування даної цукрознижувальної терапії, у пацієнтів із ЦД загальної групи (n=50) середній рівень HbA_{1c} знижувався з 8,42 ± 0,2 % до 7,36 ± 0,3 %, що відповідає статистично значущій різниці в -1,05 ± 0,2 % (p < 0,05).

У пацієнтів із ЦД не помічено значущої різниці між вихідним та заключним рівнем показників ліпідного обміну. Разом із тим, спостерігається тенденція до нормалізації ліпідограми у пацієнтів із ЦД за період застосування нових схем цукрознижуючої терапії.

Рівні ШКФ після стаціонарного лікування підвищились із статистично значущою різницею між групами пацієнтів залежно від типу ЦД ($p \leq 0,05$) (табл. 4).

Таблиця 4

Показники функціонального стану нирок за трьох місячний період

Показники	Основна група	ЦД 1 тип	ЦД 2 тип
Вихідний рівень креатиніну крові, мкмоль/л	91,46 ± 4,3	81,81 ± 4,9	94,17 ± 3,8
Вихідна ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	73,17 ± 7,1	89,85 ± 6,6*	68,46 ± 2,7
Вихідний рівень альбуміну в сечі, г/л	0,06 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,07 ± 0,01
Рівень креатиніну крові після стац. лікування, мкмоль/л	86,16 ± 4,4	77,72 ± 5,1	88,53 ± 2,7
ШКФ після стац. лікування, мл/хв/1,73 м ²	77,52 ± 8,1	95,02 ± 5,3*	72,58 ± 2,4
Заключний рівень креатиніну крові, мкмоль/л	85,78 ± 4,5	81,09 ± 3	87,1 ± 3,7
Заклучна ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	78,58 ± 7,3	89,89 ± 3,9	75,39 ± 3,4
Заклучний рівень альбуміну в сечі, г/л	0,04 ± 0,007	0,02 ± 0,009	0,04 ± 0,009
Заклучний рівень креатиніну в сечі, ммоль/л	7,53 ± 0,7	8,27 ± 2	7,32 ± 0,8
Альбумін-креатинінове співвідношення, мг/ммоль	10,9 ± 2,69	9,54 ± 7,7	11,28 ± 2,7

Примітки: дані представлені як $M \pm SEM$. *статистично значуща різниця з показниками групи пацієнтів із 1 і 2 типом ЦД за критерієм Фишера $F (p < 0,05)$.

Установлено, що у пацієнтів із ЦД відзначалося статистично значуще зниження ступеня десквамації ендотелію як через 10 днів після стаціонарного лікування, так і через 3 місяці ($p < 0,05$). Істотних відмінностей між заключним рівнем ЦЕК і рівнем ЦЕК після стаціонарного лікування не виявлено.

Назначена цукрознижуюча терапія здатна підтримувати знижений рівень ендотеліальної десквамації впродовж 3 місяців у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу ($p < 0,05$).

Заклучний рівень ЦЕК у плазмі крові пацієнтів із ЦД 1 типу не мав статистично значущих відмінностей від рівня ендотеліоцитемії хворих на ЦД 2 типу (рис. 3).

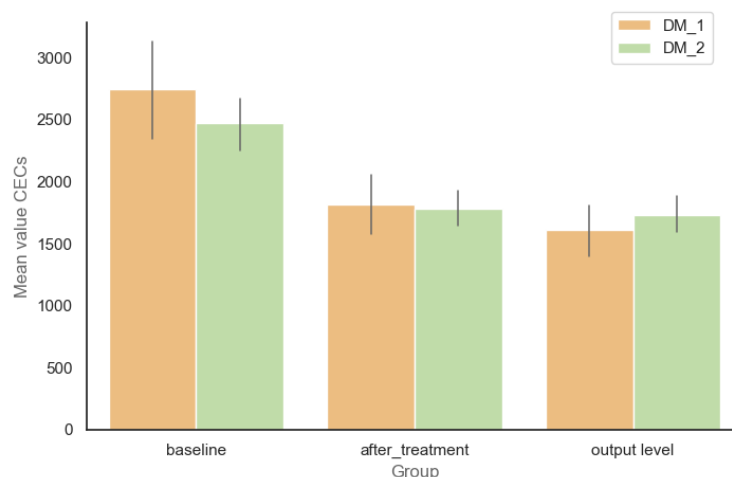


Рис. 3. Динаміка рівнів ЦЕК за період дослідження в залежності від типу ЦД
Примітка: дані представлені як $M \pm SEM$

Покращення глікемічного контролю та комплексна терапія наявних ускладнень ЦД призводить до значного зниження ендотеліального пошкодження у пацієнтів як із 1, так із 2 типу ЦД, а отже, сприяє протекції судин ($p < 0,05$).

Статистично значуще зниження ступеня ендотеліоцитемії спостерігалось у всіх групах пацієнтів із ЦД, розділених за ШКФ (табл. 5).

Таблиця 5

Динаміка рівня ендотеліоцитемії за 3 місяці у пацієнтів із ЦД в залежності від вихідної ШКФ

Загальний рівень ЦЕК	n	Вихідний	Після стац. Лікування	Заключний
ШКФ ≥ 90 , мл/хв/1,73м ²	7	2828,57 \pm 181,6	1900 \pm 192,3	1771,42 \pm 180
ШКФ 60-89 мл/хв/1,73м ²	31	2393,54 \pm 124,1	1748,33 \pm 82,6	1635,48 \pm 76,2
ШКФ 59-45 мл/хв/1,73м ²	9	2711,11 \pm 241,7	1844,44 \pm 137	1844,44 \pm 133,5
ШКФ 35-44 мл/хв/1,73м ²	3	2700 \pm 350	1883,33 \pm 200	1866,66 \pm 150

Примітка: дані представлені як $M \pm SEM$

Лабораторні дані, що характеризують ЕД, суттєво не розрізнялися між групами пацієнтів із різною ШКФ.

У дослідженні проводилась оцінка функції нирок в зіставленні з ЕД у 60 пацієнтів із ЦД.

Серед пацієнтів із ЦД були 34 чоловіки (56,6%) і 26 жінки (43,3%). Вік пацієнтів склав $55,56 \pm 13,9$ років, тривалість ЦД склала $13,6 \pm 8,6$ років, серед пацієнтів із ЦД 1 типу $9,33 \pm 6,6$ років, із ЦД 2 типу захворювання тривало $14,75 \pm 8,8$ років. Середній рівень HbA_{1c} становив $8,29 \pm 1$ %.

Сечовий синдром був виявлений у 35% пацієнтів ($n = 21$) із ЦД 1 і 2 типу. Глюкозурія спостерігалась у 28,3% пацієнтів ($n = 17$) із середнім рівнем 118 ± 44 ммоль/л. Кореляційних зв'язків між показниками сечового синдрому

і рівнями ЦЕК виявлено не було. Можна припустити, що прояви сечового синдрому є вторинними по відношенню до судинних пошкоджень в нирках.

Встановлено, що початкова стадія розпаду ЦЕК найбільш інтенсивно протікає у пацієнтів зі ШКФ ≥ 90 мл/хв/1,73м² і на ранніх стадіях ДХН. У міру прогресування ДХН вираженість і поширеність апоптозу ендотеліальних клітин знижується, що може бути пов'язано з переважанням процесів некрозу над процесами апоптозу.

Встановлено, що компенсаторні можливості ендотеліоцитів у пацієнтів із ЦД зберігаються даже при вираженому пошкодженні ендотелію. Присутні як у пацієнтів без ознак патології нірок, так і у пацієнтів з ДХН I-III ст., судячи з даних про зміст стабільних метаболітів оксиду азоту в крові.

Визначення як загального рівня ЦЕК, так і концентрації ЦЕК на різних стадіях розпаду дозволяє визначити наявність ендотеліального ушкодження у пацієнтів із ЦД до моменту маніфестації ДХН і зробити прогноз щодо ризиків розвитку і прогресування ДХН. Динаміка показників ендотеліального ушкодження та ЕД може стати раннім маркером прогресування ДХН.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведені теоретичне узагальнення й нові результати, що вирішують наукове завдання, суть якого полягає в вивченні ролі ЕД в розвитку діабетичних мікроангіопатій у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу, зокрема, ДХН, визначенні динаміки показників ЕД і їх прогностичної значимості на тлі комплексного консервативного лікування в до- і післястаціонарному періодах.

1. Продемонстровано, що у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу виявляється підвищення рівня ендотеліоцитемії в порівнянні з практично здоровими особами ($p < 0,05$), що визначали за методом J.Nladovec. Середній рівень ЦЕК у пацієнтів із ЦД і в групі контролю склав $2865,38 \pm 99,54$ і $1350 \pm 102,21$ клітин/мл, відповідно. Підвищений рівень ендотеліальної десквамації може сприяти розвитку і прогресуванню ЕД, і розглядатися як початковий етап дисфункції і недостатності ендотелію.

2. Визначено, що незважаючи на відмінності в етіології і особливості патогенезу ЦД 1 і 2 типу, у обстежуваних пацієнтів спостерігається схожа картина ендотеліального ушкодження зі середніми рівнями ендотеліоцитемії $2738,71 \pm 134,11$ клітин/мл і $2905,05 \pm 122,85$ клітин/мл, відповідно ($p < 0,05$). При ЦД 1 типу, так і при ЦД 2 типу, відбувається прискорений розпад десквамованих з ендотеліальної стінки клітин, про що свідчить підвищений вміст ЦЕК на кінцевій стадії розпаду у пацієнтів з діабетом в порівнянні з отриманими результатами в групі практично здорових осіб.

3. Виявлено тенденцію до зростання ендотеліоцитемії у пацієнтів з ЦД з віком. Разом з тим, статистично значуще збільшення ЦЕК, яке спостерігалось у пацієнтів старше 65 років з ЦД 2 типу, було, в основному, за рахунок жінок. Виявлено, що в групі жінок концентрація ЦЕК була вище за чоловіків, що було статистично значущим результатом ($p < 0,05$). Це дозволяє

припустити, що пошкодження ендотелію посилюється на тлі ендокринного старіння жінок, асоційованого з ЦД 2 типу.

4. Встановлено, що компенсаторні функціональні можливості ендотеліоцитів у пацієнтів із ЦД зберігаються навіть при вираженому пошкодженні ендотелію і присутні як у пацієнтів без ознак патології нирок, так і у пацієнтів з ХХН I-III ст., судячи з даних про вміст NO_2 - і NO_3 - у крові. Встановлено, що висока ступінь пошкодження ендотелію у пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу не завжди характеризується одночасною наявністю ЕД, виявленої на підставі кількості утворення NO , тому що концентрація ЦЕК в плазмі крові відображає тяжкість структурних, а не функціональних змін ендотелію. У більшості пацієнтів із ЦД з вираженою ендотеліоцитемією рівні у 75,4% рівні NO_2 - і у 52,8% рівні NO_3 - були в межах норми. Виявлено, що рівень стабільних метаболітів NO не залежать від віку пацієнтів, тривалості ЦД і ступеня компенсації вуглеводного обміну.

5. Поліпшення глікемічного контролю і комплексна терапія ускладнень ЦД призводить до значного зниження ендотеліального ушкодження у пацієнтів як з 1, так і з 2 типу ЦД, а значить, сприяє протекції судин ($p < 0,05$), що відображається в зниженні ендотеліальної десквамації і проявляється через 10 днів від початку даного дослідження ($p < 0,05$). Зниження ендотеліальної десквамації обумовлено ослабленням ушкоджуючих судинну стінку механізмів, асоційованих з гіперглікемією, і можливим сприятливим вторинним впливом проведених медикаментозних заходів.

6. Дослідження продемонструвало перевагу застосування комбінації пероральної цукрознижувальної терапії з використанням аналога інсуліну гларгіну у пацієнтів із ЦД 2 типу, а також комбінації аналога інсуліну гларгіну та інсуліну короткої дії у пацієнтів із ЦД 1 типу в порівнянні з попередньою тактикою лікування. Для компенсації вуглеводного обміну потрібна істотно нижче доза аналога інсуліну гларгіну, ніж попередня добова доза базального інсуліну середньої дії ($p < 0,05$). Призначена цукрознижувальна терапія здатна підтримувати знижений рівень ендотеліальної десквамації в середньому на 30% протягом 3 місяців у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

7. Результати аналізу функціонального стану нирок протягом 3 місяців від початку дослідження показують, що при призначенні оптимальної схеми цукрознижуючої і гіпотензивної терапії у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу можна запобігти або уповільнити прогресування захворювання нирок у пацієнтів з діабетом. Це дозволяє припустити, що ЕД є основним ланкою патогенезу ДХН і оборотним процесом незалежно від типу ЦД, що обґрунтовує проведення ангіопротекторної терапії.

8. Обґрунтовано, що концентрація в плазмі крові ЦЕК є важливим предиктором розвитку ЕД і прогресування мікро- і макросудинних ускладнень не тільки серед пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу, але і при інших ССЗ у осіб без ендокринної патології, що була підтверджена при побудові класифікаційної моделі k-найближчих сусідів, що має параметри: точність 94,5%, специфічність 100%, чутливість 96,6% і AUC 96,3%. Визначення як

загального рівня ЦЕК, так і концентрації ЦЕК на різних стадіях розпаду дозволяє визначити наявність ендотеліального ушкодження у пацієнтів із ЦД до моменту маніфестації ДХН і зробити прогноз щодо ризиків розвитку і прогресування ДХН. Динаміка показників ендотеліального ушкодження та ЕД може стати раннім маркером прогресування ДХН.

9. Визначення концентрації як загальної кількості ЦЕК, так і рівня ЦЕК на різних стадіях розпаду є незалежним, ефективним, чутливим і недорогим маркером визначення структурного стану ендотелію до і після комплексного лікування. Дана методика може стати провідною для оцінки впливу медикаментозної терапії на ендотелій у пацієнтів із ЦД.

Список публікацій здобувача, опублікованих за темою дисертації:

1. Кузнецова Е.С., **Кузнецова А.С.**, Шухтин В.В., Гоженко А.И. Особенности осморегулирующей функции почек у больных сахарным диабетом 2 типа. Український журнал нефрології та діалізу. 2015; 4: 21-6. *(Внесок здобувача – дисертант брав участь в аналізі отриманих результатів).*

2. Гоженко А.И., **Кузнецова А.С.**, Кузнецова Е.С., Быць Т.Н., Сусла А.Б. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненной сахарного диабета. Сообщение I. Эндотелиальная дисфункция: этиология, патогенез и методы диагностики. Эндокринология. 2017; 22 (2): 171-81. *(Внесок здобувача – дисертант брав участь в аналізі літератури).*

3. Гоженко А.И., **Кузнецова А.С.**, Кузнецова Е.С., Кузнецова Е.Н., Быць Т.Н., Жуков В. Морфо - функциональные основы эндотелиальной дисфункции при сахарном диабете. Journal of Education, Health and Sport. 2017; 7(6): 516-24. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.822050>. *(Внесок здобувача – дисертант брав участь в проведенні клінічних досліджень).*

4. Gozhenko A.I., **Kuznetsova H. S.**, Kuznetsov S.H., Kuznetsova K. S., Byts T. M. The number of circulating endotheliocytes in the blood plasma of the patients with diabetes mellitus increases. Pharmacologyonline. 2017; 3: 23-6. *(Внесок здобувача – дисертант брав участь в проведенні досліджень).*

5. Гоженко А.И., **Кузнецова А.С.**, Кузнецова Е.С., Быць Т.Н. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненной сахарного диабета. Сообщение II. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненной сахарного диабета I и II типа. Эндокринология. 2017; 22 (4): 381-9. *(Внесок здобувача – дисертант брав участь в аналізі літератури).*

6. **Kuznetsova A.S.**, Kvasnevskaya N. F., Kuznetsova E. S., Byts T. N. Morpho-functional state of endothelium in diabetes mellitus. Актуальні питання створення нових лікарських засобів: тези доповідей XXIV міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів (20 квітня 2017 р.). в 2-х т., Т. 2. – Х.: Вид-во НФаУ, 2017. 413 с.: 84 с.

7. **Кузнецова А.С.**, Кузнецова Е.С., Быць Т.Н., Кузнецов С. Г. Эндотелиальная дисфункция у больных сахарным диабетом. XVI-е чтения

В.В. Подвысоцкого: Бюллетень материалов научной конференции (18-19 мая 2017 года). Одесса: УкрНИИ медицины транспорта, 2017. – 432 с., с. 181-182.

8. Кузнецова Е.С., **Кузнецова А.С.**, Гоженко А.И. Взаимосвязь протеинурии и функционального почечного резерва при диабетической нефропатии. Сучасні аспекти клінічної фармакології на тлі досягнень доказової медицини. Матеріали ІХ Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 16-17 листопада 2017. – Вінниця, Нілан-ЛТД, 2017. – 296 с.

9. **Кузнецова А.С.**, Гоженко А.И., Кузнецова Е.С., Шухтин В.В., Кузнецова Е.Н., Кузнецов С.Г. Эндотелий. Физиология и патология: монография. Одесса: «Феникс». 2018; 284с. *(Внесок здобувача - дисертант брав участь в зборі та аналізі літератури, проведенні клінічних досліджень, формуванні висновків, підготування монографії до друку).*

10. Гоженко А. И., **Кузнецова А.С.**, Кузнецова Е.С., Кузнецов С. Г., Быць Т. Н. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе диабетической болезни почек. Почка. 2018; 7 (1): 18-24. *(Внесок здобувача - дисертант брав участь в зборі та аналізі літератури, у формуванні висновків).*

11. Gozhenko A.I., **Kuznetsova H.S.**, Kuznetsova K.S., Byts T.M., Gozhenko E.A., Shevchenko N.O. Circulating in the blood desquamated endotheliocytes at the diabetic nephropathy. Fiziol. Zh. 2018; 64(2): 34-39. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz64.02.034>. *(Внесок здобувача - дисертант брав участь в проведенні клінічних досліджень).*

12. **Кузнецова А.С.**, Кузнецова Е.С., Быць Т.Н., Кузнецова Е.Н., Демидов С.М., Поветкина Т.Н., Гоженко А.И. Характеристики эндотелиальной дисфункции у больных сахарным диабетом. Актуальные проблемы транспортной медицины. 2018; 2(52): 116-22. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1319073> *(Внесок здобувача - дисертант брав участь в проведенні клінічних досліджень).*

13. **Kuznetsova H.S.**, Kuznetsova K.S., Olenovych O.A., Gozhenko O.A., Kuznetsov S.H., Gozhenko A.I. The desquamation of the endothelium due to normalization of glycemia decreases in patients with diabetes mellitus. Pharmacologyonline. 2018; 2: 74-81. *(Внесок здобувача - дисертант брав участь в проведенні клінічних досліджень).*

14. **Kuznetsova H.S.**, Kuznetsova K.S., Byts T.M., Bobryk L.M., Kuznetsova O.M., Gozhenko A.I. Mechanisms of regeneration of the endothelium at diabetes mellitus. Endokrynologia. 2018; 23(4): 384-90. DOI: <https://doi.org/10.31793/1680-1466.2018.23-4.384> *(Внесок здобувача - дисертант брав участь в аналізі літератури).*

15. **Кузнецова А.С.**, Кузнецова Е.С., Кузнецов С.Г., Бобрик Л.М., Гоженко А.И. Взаимосвязь мочевого синдрома и эндотелиальной десквамации у больных сахарным диабетом. XVII-е чтения В.В. Подвысоцкого. Бюллетень материалов научной конференции (24-25 мая 2018 года). Одесса: УкрНИИ медицины транспорта, 2018; с. 116-7.

16. Anatoliy I. Gozhenko, **Anna S. Kuznetsova**, Yelena S. Kuznetsova, Tatiana N. Byts. Functional renal reserve in diabetic nephropathy patients.

Abstracts. Pathophysiology. Sept 2008; 25 (3): 220-221 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2018.07.133> (*Внесок здобувача - дисертант брав участь в проведенні клінічних досліджень*).

17. Гоженко А.И., **Кузнецова А.С.**, Кузнецова Е.С., Кузнецов С.Г., Быць Т.Н. Роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе диабетической болезни почек. Интегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики. Матеріали VII Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичної конференції, присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н. Зайка (11-12 жовтня 2018 р.). Полтава, 2018; с. 26.

18. **Кузнецова А.С.**, Кузнецова Е.С., Быць Т.Н., Кузнецов С.Г. Влияние нормализации гликемии на эндотелий у пациентов с сахарным диабетом. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей I Науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (18 жовтня 2018 р.). Х.: Вид-во НФаУ, 2018. с. 138.

19. Gozhenko Anatoliy, **Kuznetsova Hanna**, Kuznetsova Kateryna, Stroi Dmytro, Kuznetsov Serhii. Dynamics of Endothelial Desquamation in Patients with Diabetic Kidney Disease. IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS). 2019, 18(8): 16-20. DOI:10.9790/0853-1808061620. (*Внесок здобувача - дисертант брав участь в проведенні клінічних досліджень*).

20. **Кузнецова А.С.**, Гоженко А.И., Кузнецова Е.С., Бобрик Л.М., Кузнецов С.Г. Стойкое снижение эндотелиальной десквамации у пациентов с сахарным диабетом. Эндокринология. 2019; 24 (3): 217-22. DOI: 10.31793/1680-1466.2019.24-3.217. (*Внесок здобувача - дисертант брав участь в проведенні клінічних досліджень*).

21. Муравйов П.Т., Кирпичнікова К.П., **Кузнецова Г.С.**, Шевченко В.Г., Хархурі Макрем. Особливості функціонування системи гемостазу у хворих із захворюваннями голівки підшлункової залози на тлі холемії. Вістник проблем біології і медицини. 2020; 3 (157): 122-7 DOI: 10.29254/2077-4214-2020-3-157-122-127. (*Внесок здобувача - дисертант брав участь в обробці даних*).

АНОТАЦІЯ

Кузнецова Г.С. Роль ендотеліальної дисфункції в патогенезі діабетичної хвороби нирок та можливості її корекції при лікуванні ЦД. – рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. Сумський державний університет МОН України. – Суми, 2021.

Дисертаційна робота присвячена вивченню стану ендотелію у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу, а також визначення впливу стаціонарного лікування і нормалізації вуглеводного обміну на перебіг ДХН, а також здійсненню прогнозів щодо розвитку і прогресування діабетичної ангіопатії.

У дослідженні брали участь 150 людей, серед яких – 130 пацієнтів із ЦД – 31 пацієнт із ЦД 1 типу та 99 пацієнтів із ЦД 2 типу, які склали основну групу дослідження і 20 практично здорових осіб склали групу контролю.

Оцінка ЕД ґрунтувалася на визначенні рівня ендотеліальної десквамації за методом J. Hladovec. Концентрацію NO_2 в плазмі визначали фотоколориметричним методом L.C. Green et al. з використанням реактиву Грісса, рівень NO_3 оцінювався після їх відновлення в нітрити з використанням цинкового пилю.

Модель k-найближчих сусідів (точність 94,5%, специфічність 100%, чутливість 96,6%, AUC 96,3%) виявила, що рівень ЦЕК є важливим предиктором розвитку ЕД і діабетичних ангіопатій.

Виявлено, що у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу визначається підвищення рівня ЦЕК в порівнянні з практично здоровими особами ($p < 0,05$): загальний рівень ЦЕК в плазмі крові в групі пацієнтів із ЦД склав в середньому $2865,38 \pm 99,54$ клітин/мл, в групі контролю – $1350 \pm 102,21$ клітин/мл.

Було встановлено, що компенсаторні функціональні можливості ендотеліоцитів у пацієнтів із ЦД зберігаються навіть при вираженому пошкодженні ендотелію і присутні як у пацієнтів без ознак патології нирок, так і у пацієнтів з ДХН I-III ст. Так, у 75,4% пацієнтів рівень NO_2 і у 52,8% рівень NO_3 був в межах норми.

Було встановлено, що поліпшення глікемічного контролю і комплексна терапія наявних ускладнень ЦД призводить до значного зниження ендотеліального ушкодження у пацієнтів як з 1, так і з 2 типу ЦД, а значить, сприяє протекції судин ($p < 0,05$). Це відображається в зниженні ендотеліальної десквамації і проявляється через 10 днів від початку даного дослідження ($p < 0,05$).

З метою визначення стійкості ангіопротекторного ефекту було проведено 3х місячне дослідження, яке включало 50 пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу. Вихідний рівень ЦЕК в середньому склав $2530 \pm 204,8$ клітин/мл, через 10 днів після стаціонарного лікування – $1792 \pm 117,9$ клітин/мл. І на заключному візиті через 3 місяці – $1706 \pm 58,9$ клітин/мл. Статистично значуще зниження ступеня ендотеліоцитемії спостерігалось у всіх групах пацієнтів із ЦД з різною ШКФ.

В результаті застосування нами методу множинної лінійної регресії була побудована прогностична модель, яка здатна прогнозувати рівень ЦЕК через 3 місяці після закінчення 10-денного комплексного стаціонарного лікування в залежності від типу ЦД. R^2 цієї моделі становив 83%, скоригований R^2 – 85%, що підтверджує доцільність провідності ангіопротекторної та нефропротекторної терапії у пацієнтів за ЦД.

Корекція ЕД може стати новою стратегічно важливою в плані попередження ускладнень терапевтичної мішенню при лікуванні і профілактиці діабетичної судинних ускладнень при ЦД.

Ключові слова: ендотеліальна дисфункція, ендотеліальні пошкодження, цукровий діабет, діабетична хвороба нирок, циркулюючі ендотеліальні клітини, оксид азоту, ендотелій

ABSTRACT

Kuznetsova H. S. The role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of diabetic kidney disease and the possibility of its correction in the treatment of diabetes. - Manuscript.

The dissertation for obtaining the candidates of medical degree on specialty 14.03.04 –pathological physiology. Sumy State University. - Sumy, 2021.

The dissertation is devoted to studying of endothelial state in patients with type 1 and 2 diabetes mellitus (DM), as well as to determine the impact of inpatient treatment and normalization of carbohydrate metabolism on diabetic kidney disease (DKD), and to predict the development and progression of diabetic angiopathy in patients with diabetes.

150 people were involved in the study. 130 patients with diabetes formed the main study group – 31 patients with type 1 diabetes and 99 patients with type 2 diabetes and 20 healthy individuals formed the control group.

Assessment of endothelial dysfunction (ED) was based on determining the level of endothelial desquamation by the method of J. Hladovec. The concentration of NO₂- in plasma was determined by photolorimetric method L.C. Green et al. using Griss reagent, the level of NO₃- was evaluated after their recovery into nitrites using zinc dust.

By constructing a classification model of k-nearest neighbors (accuracy 94.5%, specificity 100%, sensitivity 96.6%, AUC 96.3%) it was found that the level of circulating endothelial cells (CECs) is an important predictor of the development of ED and diabetic angiopathies. It was found that patients with type 1 and type 2 diabetes have an increase in endotheliocytopenia compared with almost healthy individuals ($p < 0.05$): the total level of CECs in plasma in the group of patients with diabetes on average was 2865.38 ± 99.54 cells/ml, in the control group – 1350 ± 102.21 cells/ml. It was discovered that the compensatory functionality of endothelial cells in patients with diabetes persists even with severe endothelial damage and is present in patients without signs of renal pathology, and in patients with DKD I-III, based on data on the content of stable metabolites of nitric oxide in blood. Thus, in 75.4% of patients the level of NO₂- and in 52.8% the level of NO₃- was within normal limits.

It was found that the improvement of glycemic control and complex therapy of existing complications of diabetes leads to a significant reduction in endothelial damage in patients with both type 1 and type 2 diabetes, and thus promotes vascular protection ($p < 0,05$). This is reflected in a decrease in endothelial desquamation and is manifested in 10 days from the start of this study ($p < 0,05$).

To determine the stability of the angioprotective effect, a 3-month study was conducted, which included 50 patients with type 1 and type 2 diabetes. The baseline CECs level was in average 2530 ± 204.8 cells/ml, 10 days after inpatient treatment – 1792 ± 117.9 cells/ml. And at the final visit in 3 months – 1706 ± 58.9 cells/ml. A statistically significant decrease in the degree of endotheliocytopenia was observed in all groups of patients with diabetes with different GFR.

As a result of our application of the multiple linear regression method, a prognostic model was built, which is able to predict the level of CECs in 3 months

after the end of 10-day complex inpatient treatment depending on the type of diabetes. The coefficient of determination of this model was 83%, the adjusted coefficient of determination was 85%, which confirms the feasibility of the conduct of angioprotective and nephroprotective therapy in patients with DM.

The study clarified the role of ED in the development of diabetic microangiopathies in patients with type 1 and type 2 diabetes, in particular, DKD, to determine the dynamics of ED and their prognostic significance against the background of comprehensive conservative treatment during pre- and post-hospital periods.

Correction of endothelial dysfunction may become a new strategically important in terms of prevention of complications of the therapeutic target in the treatment and prevention of diabetic vascular complications in diabetes.

Key words: endothelial dysfunction, endothelial damage, diabetes mellitus, diabetic kidney disease, circulating endothelial cells, nitric oxide, endothelium

АННОТАЦИЯ

Кузнецова А. С. Роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе диабетической болезни почек и возможности ее коррекции при лечении СД. – рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. Сумской государственный университет МОН Украины. – Сумы, 2021.

Диссертация посвящена изучению состояния эндотелия у пациентов с сахарным диабетом (СД) 1 и 2 типа, а также определение влияния стационарного лечения и нормализации углеводного обмена на течение диабетической болезни почек (ДБП), а также осуществлению прогнозов относительно развития и прогрессирования диабетической ангиопатии у пациентов с СД.

В исследовании принимали участие 150 человек: 130 пациентов составили основную группу (31 пациент с СД 1 типа и 99 пациентов с СД 2 типа), и 20 практически здоровых лиц составили группу контроля.

Оценка эндотелиальной дисфункции (ЭД) основывалась на определении уровня эндотелиальной десквамации по методу J. Hladovec. Концентрацию NO_2^- в плазме определяли фотоколориметрическим методом L.C. Green et al. с использованием реактива Грисса, уровень NO_3^- оценивался после их восстановления в нитриты с использованием цинковой пыли.

Путем построения классификационной модели k-ближайших соседей (точность 94,5%, специфичность 100%, чувствительность 96,6%, AUC 96,3%) было выявлено, что уровень циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) является важным предиктором развития ЭД и диабетических ангиопатий, в том числе и ДБП.

Выявлено, что у пациентов с СД 1 и 2 типа определяется повышение уровня эндотелиоцитемии по сравнению с практически здоровыми лицами

($p < 0,05$): общий уровень ЦЭК в группе пациентов с СД составил в среднем $2865,38 \pm 99,54$ клеток/мл, в группе контроля – $1350 \pm 102,21$ клеток мл.

Было установлено, что компенсаторные функциональные возможности эндотелиоцитов у пациентов с СД сохраняются даже при выраженном повреждении эндотелия и присутствуют как у пациентов без признаков патологии почек, так и у пациентов с ДБП I-III ст. Так, у 75,4% пациентов уровень NO_2 - и в 52,8% уровень NO_3 - был в пределах нормы.

Установлено, что улучшение гликемического контроля и комплексная терапия имеющихся осложнений СД приводит к значительному снижению эндотелиального повреждения у пациентов с СД, а значит, способствует протекции сосудов ($p < 0,05$). Это отражается в снижении эндотелиальной десквамации и проявляется через 10 дней стационарного лечения ($p < 0,05$).

С целью определения стойкости ангиопротекторного эффекта было проведено 3х месячное исследование, которое включало 50 пациентов с СД 1 и 2 типа. Исходный уровень ЦЭК в среднем составил $2530 \pm 204,8$ клеток/мл, через 10 дней после стационарного лечения – $1792 \pm 117,9$ клеток/мл. И на заключительном визите через 3 месяца – $1706 \pm 58,9$ клеток/мл. Статистически значимое снижение степени эндотелиоцитемии наблюдалось во всех группах пациентов с СД с разной СКФ.

В результате применения метода множественной линейной регрессии была построена прогностическая модель, которая способна прогнозировать уровень ЦЭК через 3 месяца после окончания 10-дневного комплексного стационарного лечения в зависимости от типа СД. R^2 данной модели 83%, скорректированный R^2 – 85%, что подтверждает целесообразность проводимости ангиопротекторной и нефропротекторной терапии при СД.

Коррекция ЭД может стать новой стратегически важной в плане предупреждения осложнений терапевтической мишенью при лечении и профилактике диабетической сосудистых осложнений диабета.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, эндотелиальные повреждения, сахарный диабет, диабетическая болезнь почек, циркулирующие эндотелиальные клетки, оксид азота, эндотелий

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

HbA_{1c} – глікозильований гемоглобін

NO_2 - – нітрит аніон

NO_3 - – нітрат аніон

ДХН – діабетична хвороба нирок

ЕД – ендотеліальна дисфункція

ІМТ – індекс маси тіла

ЦД – цукровий діабет

ЦЕК – циркулюючі ендотеліальні клітини

ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації