

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Державне підприємство «Український науково-дослідний інститут
медицини транспорту МОЗ України»

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

Дисертація подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних
наук

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

_____ Г. С. Кузнецова

Науковий керівник: Гоженко Анатолій Іванович, доктор медичних наук,
професор, заслужений діяч науки і техніки України

Одеса – 2021

АНОТАЦІЯ

Кузнецова Г.С. Роль ендотеліальної дисфункції в патогенезі діабетичної хвороби нирок та можливості її корекції при лікуванні цукрового діабету – Кваліфікаційна наукова робота на правах рукопису.

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

Дисертаційну роботу присвячено вивченню стану ендотелію у пацієнтів з цукровим діабетом (ЦД) 1 і 2 типу, а також визначення впливу стаціонарного лікування і нормалізації вуглеводного обміну на перебіг діабетичної хвороби нирок (ДХН), а також здійсненню прогнозів щодо розвитку і прогресування діабетичної ангіопатії у пацієнтів із ЦД.

У дослідженні брали участь 150 людей, серед яких були 130 пацієнтів із ЦД – 31 пацієнт із ЦД 1 типу та 99 пацієнтів із ЦД 2 типу, які склали основну групу дослідження. Пацієнти хворіли на ЦД мінімум 1 рік від моменту верифікації захворювання, в середньому – $11,73 \pm 8$ років, та мали важкий перебіг захворювання. Серед обстежуваних пацієнтів було 58 чоловіків і 72 жінки. Середній вік пацієнтів склав $54,64 \pm 14,2$ року. Групою контролю служили 20 практично здорових осіб, співставних за статтю та віком.

Дослідження складалося з трьох етапів.

Перший етап дослідження був присвячений вивченню структурного і функціонального стану ендотеліальної стінки у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

У пацієнтів оцінювався ступінь ендотеліальної десквамації і концентрація стабільних метаболітів оксиду азоту – основного ендотеліального вазодилататора. Показники загальної кількості циркулюючих ендотеліальних клітин (ЦЕК) і рівня ендотеліцитемії на різних стадіях розпаду порівнювали з рівнем ендотеліоцитемії в плазмі крові практично здорових осіб.

Другий етап дослідження полягав у вивченні структурного і функціонального стану ендотелію на підставі оцінки рівня ендотеліоцитемії і концентрації нітрит-аніону (NO_2^-) і нітрат-аніонів (NO_3^-) у нефрологічно здорових пацієнтів і у пацієнтів з діабетичною хвороби нирок I-IIIб стадією.

Третій етап дослідження полягав в оцінці ефективності комплексного стаціонарного лікування і можливості ангіопротекції, а також в оцінці відстроченого впливу результатів лікування і компенсації вуглеводного обміну на структурний стан ендотеліального моношару через 3 місяці після стаціонарного лікування і на прогноз пацієнтів щодо розвитку і прогресування діабетичної ангіопатія та ДХН.

У процесі дослідження проводилися загальноклінічні біохімічні лабораторні дослідження ендокринних хворих загальноприйняті при обстеженні хворих ендокринологічного профілю, які включали: загальний аналіз крові, біохімічний аналіз крові з визначенням рівнів загального білка, загального білірубину, трансаміназ – аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, тимолової проби, α -амілази, сечовини і креатинін; загальний аналіз сечі, альбумін/креатинінове співвідношення. Ліпідний профіль оцінювали за концентрацією загального холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів дуже низької щільності, ліпопротеїдів низької щільності, ліпопротеїдів високої щільності, а також визначення коефіцієнта атерогенності. Моніторинг стану вуглеводного обміну включав в себе визначення рівня глікозильованого гемоглобіну (HbA_{1c}), фруктозаміну, глікемії натщесерце і в динаміці у 8.00-12.00-16.00-19.00, а також визначення глюкозурії в добовій і разовій порції сечі.

Проводилися загальноклінічні інструментальні дослідження: електрокардіограма, ехокардіограма, оглядова рентгенограма органів грудної клітини, ультразвукове дослідження органів черевної порожнини, заочеревинного простору і щитовидної залози, доплерографія нижніх кінцівок; консультація окуліста.

Оцінка ендотеліальної дисфункції (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.

Статистична обробка та візуалізація даних проводилася за допомогою програм R і Microsoft Excel 2019.

За результатами першого етапу клінічного дослідження було встановлено, що в загальній групі пацієнтів із діабетом, середній рівень HbA_{1c} становив $8,34 \pm 1,11\%$, у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу HbA_{1c} був $8,29 \pm 1,01\%$ і $8,36 \pm 1,15\%$, відповідно. Рівень креатиніну в середньому був $85,94 \pm 20,98$ мкмоль/л, рівень сечовини – $88,42 \pm 21,92$ мкмоль/л. У пацієнтів із ЦД 1 типу показники сечовини і креатиніну були $78,03 \pm 15,43$ мкмоль/л і $4,8 \pm 1,71$ ммоль/л, у пацієнтів з ЦД 2 типу – $88,42 \pm 21,92$ мкмоль/л і $6,27 \pm 2,13$ ммоль/л, відповідно.

При дослідженні структурного стану ендотеліальної стінки було встановлено, що загальний рівень ЦЕК в плазмі крові в групі пацієнтів із ЦД склав в середньому $2865,38 \pm 99,54$ клітин/мл. На початковій стадії розпаду ендотеліоцитів, в плазмі крові знаходилося в середньому $552,07 \pm 40,71$ клітин/мл. На стадії виражених змін рівень ЦЕК склав $1820 \pm 62,16$ клітин/мл. У пацієнтів із ЦД, в плазмі крові циркулюючих ендотеліоцитів, які перебували на кінцевій стадії розпаду, було $493,07 \pm 23,64$ клітин/мл.

У групі пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу загальний рівень ендотеліальної десквамації склав $2738,71 \pm 134,11$ клітин/мл і $2905,05 \pm 122,85$ клітин/мл, відповідно. Концентрація ендотеліоцитемії у практично здорових осіб становила в середньому $1350 \pm 102,21$ клітин/мл, що було в 2,12 рази нижче, ніж у пацієнтів із ЦД 2 типу.

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 початковий етап дисфункції і недостатності ендотелію.

На наступному етапі дослідження на 53 пацієнтах із ЦД 1 і 2 типу 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., судячи з даних про зміст стабільних метаболітів оксиду азоту в крові.

Так, серед пацієнтів із вираженою ендотеліоцитемією, у 75,4% пацієнтів рівень NO_2 і у 52,8% рівень NO_3 був в межах норми. Тобто концентрація ЦЕК в плазмі крові відображає тяжкість структурних, але не функціональних змін ендотелію.

Ці результати показують, що високий ступінь пошкодження ендотелію у пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу не завжди характеризується одночасною наявністю ендотеліальної дисфункції, виявленої на підставі кількості утворення оксиду азоту.

На третьому етапі, за результатами контрольного огляду з використанням показників дисфункції ендотелію і додаткових методів обстеження 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 ($p < 0,05$).

У 20 пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу визначали вихідну ступінь десквамації ендотеліоцитів, яка в середньому становила $2385 \pm 649,1$ клітин/мл, коли вуглеводний обмін був в стадії декомпенсації. Через 10 днів після стаціонарного лікування, коли була досягнута нормоглікемія і рівень артеріального тиску, середня концентрація ЦЕК склала $1780 \pm 514,6$ клітин/мл. Так, в результаті було досягнуто зниження рівня ЦЕК на 24,5%.

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. Так в групі пацієнтів ШКФ ≥ 90 мл/хв/1,73м² (n=7), вихідний рівень ЦЕК склав $2828,57 \pm 181,6$ клітин/мл, на заключному візиті – $1771,42 \pm 180$ клітин/мл. У пацієнтів із ШКФ 60-89 мл/хв/1,73м² (n=31), за 3-місячний період ЦЕК знизилися з $2393,54 \pm 124,1$ клітин/мл до $1635,48 \pm 76,2$ клітин/мл. У пацієнтів зі ШКФ 59-45 мл/хв/1,73м² (n=9), вихідний рівень ендотеліоцитемії склав $2711,11 \pm 241,7$ клітин/мл, заключний – $1844,44 \pm 133,5$ клітин/мл. Та у 3х пацієнтів із ЦД зі ШКФ 35-44 мл/хв/1,73м², вихідний рівень ЦЕК склав 2700 ± 350 клітин/мл, заключний – $1866,66 \pm 150$ клітин/мл.

Шляхом побудови класифікаційної моделі k-найближчих сусідів (точність 94,5%, специфічність 100%, чутливість 96,6%, AUC 96,3%) було виявлено, що рівень циркулюючих ендотеліальних клітин є важливим предиктором розвитку ЕД і діабетичних ангіопатій.

Проведене дослідження дозволило уточнити роль ЕД в розвитку діабетичних мікроангіопатій у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу, зокрема, ДХП, визначити динаміку показників ЕД і їх прогностичну значимість на тлі комплексного консервативного лікування під час до- і післястаціонарних періодах.

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 ДХП і зробити прогноз щодо ризиків розвитку і прогресування ДХП. Динаміка показників ендотеліального ушкодження та ЕД може стати раннім маркером прогресування ДХП.

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. Patients with diabetes had been ill for at least 1 year from the time of disease verification, averaging 11.73 ± 8 years, and had a severe course of the disease. There were 58 men and 72 women among the examined patients. The mean age of patients was 54.64 ± 14.2 years. The control group consisted of 20 healthy individuals, comparable in sex and age.

The study consisted of three stages.

The first stage of the study was devoted to the study of the structural and functional state of the endothelium in patients with type 1 and type 2 diabetes.

The degree of endothelial desquamation and the concentration of stable metabolites of nitric oxide (NO) – the main endothelial vasodilator were evaluated in patients. The indicators of the total number of circulating endothelial cells

(CECs) and the level of endotheliocythemia at different stages of decay were compared with the level of endotheliocythemia in the blood of almost healthy individuals.

The second stage was to study the structural and functional state of the endothelium based on the assessment of endotheliocythemia and the concentration of nitrite anion (NO_2^-) and nitrate anions (NO_3^-) in patients without DKD and in patients with stage I-IIIb DKD.

The third stage of the study was to evaluate the effectiveness of comprehensive inpatient treatment and the possibility of angioprotection. And also, in the assessment of the delayed effect of treatment results and compensation of carbohydrate metabolism on the structural state of the endothelium in 3 months after inpatient treatment and on the prognosis of patients for the development and progression of diabetic angiopathy and DKD.

General clinical biochemical laboratory tests were performed in the course of the study, which are common in the examination of patients with endocrinological profile. These included: general blood test, biochemical blood test to determine the levels of total protein, total bilirubin, transaminases - alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, thymol test, α -amylase, urea and creatinine; general analysis of urine, albumin/creatinine ratio. The lipid profile was evaluated by the concentration of total cholesterol, triglycerides, very low density lipoproteins, low density lipoproteins, high density lipoproteins, as well as the determination of the atherogenic factor. Monitoring of carbohydrate metabolism included determination of glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}), fructosamine, fasting glucose and postprandial glycemia in the dynamics at 8.00-12.00-16.00-19.00, as well as determination of glucosuria in daily and single portions of urine.

General clinical instrumental examinations were performed: electrocardiogram, echocardiogram, review radiograph of the chest, ultrasound examination of the abdominal cavity, retroperitoneal space and thyroid gland, Doppler imaging of the lower extremities; ophthalmologist consultation.

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.

Statistical processing and visualization of data was performed using R and Microsoft Excel 2019.

According to the results of the first stage of the clinical study, it was found that in the general group of patients, the average level of HbA_{1c} was $8.34 \pm 1.11\%$, in patients with DM type 1 and 2 HbA_{1c} was $8.29 \pm 1.01\%$ and $8.36 \pm 1.15\%$, respectively. The average creatinine level was $85.94 \pm 20.98 \mu\text{mol/l}$, the urea level was $88.42 \pm 21.92 \mu\text{mol/l}$. In patients with type 1 diabetes, urea and creatinine were $78.03 \pm 15.43 \mu\text{mol/l}$ and $4.8 \pm 1.71 \text{ mmol/l}$, in patients with type 2 diabetes – $88.42 \pm 21.92 \mu\text{mol/l}$ and $6.27 \pm 2.13 \text{ mmol/l}$, respectively.

In the study of the structural state of the endothelium, it was found that in the group of patients with diabetes, the total level of CECs in blood plasma averaged $2865.38 \pm 99.54 \text{ cells/ml}$. At the initial stage of endothelial cell decay, there was an average of $552.07 \pm 40.71 \text{ cells/ml}$ in blood plasma. At the stage of pronounced changes, the level of CECs was $1820 \pm 62.16 \text{ cells/ml}$. There were $493.07 \pm 23.64 \text{ cells/ml}$ in the plasma of end-stage CECs.

Despite the differences in the etiology and pathogenesis of type 1 and 2 diabetes, patients with type 1 and 2 DM have a similar pattern of endothelial damage. Also, there is an accelerated decay of cells desquamated from the endothelial wall. This is evidenced by the increased content of CECs at the final stage of decay in patients with diabetes compared with the results obtained in the group of control.

In the group of patients with type 1 and type 2 diabetes, the total level of CECs was $2738.71 \pm 134.11 \text{ cells/ml}$ and $2905.05 \pm 122.85 \text{ cells/ml}$, respectively. The concentration of endotheliocytopenia in almost healthy individuals averaged

1350 ± 102.21 ml cells, which was 2.12 times lower than in patients with type 2 diabetes.

It was found that in patients with type 1 and type 2 diabetes there is an increase in the level of endotheliocythemia in comparison with almost healthy individuals ($p < 0.05$). Elevated levels of endothelial desquamation may contribute to the development and progression of ED, at least as an initial stage of ED and insufficiency.

In the next phase of the study, in 53 patients with type 1 and type 2 diabetes, it was found that the compensatory functional capabilities of endothelial cells in patients with diabetes are preserved even with severe endothelial damage. They are present both in patients without signs of renal pathology and in patients with stage I-III DKD, judging by the data on the content of stable metabolites of nitric oxide in the blood.

Thus, among patients with severe endotheliocythemia, in 75.4% of patients the level of NO_2^- and in 52.8% the level of NO_3^- was within normal limits. Therefore, the concentration of CECs in blood plasma reflects the severity of structural but not functional changes in the endothelium.

These results show that a high level of endothelial damage in patients with both type 1 and type 2 DM is not always characterized by the simultaneous presence of ED, detected on the basis of the amount of nitric oxide formation.

In the third stage, the results of a follow-up examination using endothelial dysfunction and additional methods of examination showed that improved glycemic control and complex therapy of existing complications of diabetes leads to a significant reduction in endothelial damage in patients with both 1 and 2 types of diabetes, and 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 ($p < 0,05$).

In 20 patients with type 1 and type 2 diabetes, when carbohydrate metabolism was in the stage of decompensation, the initial degree of desquamation of endothelial cells was determined. It averaged 2385 ± 649.1 cells/ml. Ten days

after inpatient treatment, when normoglycemia and blood pressure were achieved, the mean CECs concentration was 1780 ± 514.6 cells/ml. Thus, as a result, the level of CECs was reduced by 24.5%.

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 averaged 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 level of endotheliocytosis was observed in all groups of patients with diabetes with different GFR. Thus, in the group of patients with $\text{GFR} \geq 90$ ml/min/1.73 m² (n = 7), the initial level of CECs was 2828.57 ± 181.6 cells/ml, at the final visit – 1771.42 ± 180 cells/ml. In patients with $\text{GFR} 60\text{-}89$ ml/min/1.73 m² (n = 31), over a 3-month period, CECs decreased from 2393.54 ± 124.1 cells/ml to 1635.48 ± 76.2 cells/ml. In patients with $\text{GFR} 59\text{-}45$ ml/min/1.73 m² (n = 9), the initial level of endotheliocytosis was 2711.11 ± 241.7 cells/ml, the final – 1844.44 ± 133.5 cells/ml. In 3 patients with diabetes mellitus with $\text{GFR} 35\text{-}44$ ml/min/1.73 m², the initial level of CECs was 2700 ± 350 cells/ml, the final – 1866.66 ± 150 cells/ml.

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 CECs is an important predictor of the development of ED and diabetic angiopathies.

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.

Determining both the general level of CECs and the concentration of CECs at different stages of disintegration allows to determine the presence of endothelial damage in patients with diabetes before the onset of DKD and to predict the risks

of development and progression of DKD. The dynamics of endothelial damage and ED may be an early marker of DKD progression.

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

СПИСОК РОБІТ, 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 осложнений 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 клінічних досліджень).

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

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. *Почки*. 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**; 187 с., 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 **2018**; 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 патологіологів 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**; 144 с., 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**. 276 с., 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).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	18
ВСТУП	22
РОЗДІЛ 1. ПРОБЛЕМА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ 1 І 2 ТИПУ (Огляд літератури).....	31
1.1. Цукровий діабет як клінічна і медико-соціальна проблема	31
1. 2. Ендотеліальна дисфункція як головний учасник мікро- і макросудинних ускладнень цукрового діабету	34
1. 3. Основні ланки патогенезу ендотеліальної дисфункції при цукровому діабеті	44
1. 4. Роль дисфункції ендотелію в патогенезі діабетичної хвороби нирок	60
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	71
2.1. Методи дослідження	71
2.1.1. Загальноклінічні методи дослідження	72
2.1.2. Лабораторні методи дослідження.....	75
2.1.3. Методи дослідження стану ендотелію.....	77
2.1.4. Інструментальні методи дослідження.....	79
2.1.5. Методи статистичного аналізу	80
РОЗДІЛ 3. ОСОБЛИВОСТІ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 1 І 2 ТИПУ	82
3.1. Клінічна характеристика пацієнтів	82
3.2. Характеристика ендотеліальної десквамації у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.....	86
3.3. Ендотеліальна десквамація у пацієнтів із ЦД в залежності від статі, віку, тривалості ЦД і компенсації вуглеводного обміну	93
3.4. Функціональний стан ендотеліальної стінки у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.....	99
РОЗДІЛ 4. СТАН ЕНДОТЕЛІЮ В УМОВАХ КОМПЕНСАЦІЇ ПОРУШЕНЬ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ У ХВОРИХ НА ЦД 1 І 2 ТИПУ	105

4.1. Зміна ендотеліальної десквамації у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу після 10-денного стаціонарного лікування в ендокринологічному відділенні.....	105
4.2. Стан ендотеліальної стінки в динаміці лікування у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.....	111
4.2.1. Вихідна характеристика пацієнтів.....	113
4.2.2. Методика ведення пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.....	122
4.2.3. Лабораторні характеристики результатів обстеження пацієнтів на 11 день дослідження.....	127
4.2.4. Прогноз рівня ендотеліоцитемії на момент закінчення стаціонарного лікування.....	131
4.2.5. Результати 3-місячного дослідження.....	133
4.2.6. Прогноз рівня ендотеліоцитемії через 3 місяці від початку дослідження.....	145
РОЗДІЛ 5. ЕНДОТЕЛІАЛЬНА ДИСФУНКЦІЯ І РЕНАЛЬНА ДИСФУНКЦІЯ.....	149
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ І ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	157
ВИСНОВКИ.....	165
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	168
ДОДАТКИ.....	186

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- ADA – American Diabetes Association (Американська Діабетична Асоціація)
- AGEs – advanced glycosylation end products (кінцеві продукти глікозилювання)
- AT III – antithrombin III (антітромбін III)
- AT-II – angiotensin II (ангіотензин-II)
- b-FGF – basic fibroblast growth factor (основний фактор росту фібробластів)
- Ca²⁺ – calcium (кальцій)
- CD – cluster of differentiation (кластер диференціювання)
- E-selectin, або ELAM-1 – endothelium-leukocyte adhesion molecule (ендотеліально-лейкоцитарна молекула адгезії)
- EAS – European Atherosclerosis Society (Європейське суспільства атеросклерозу)
- EASD – The European Association for the Study of Diabetes (Європейська асоціація з вивчення діабету)
- EASO – European Association for the Study of Obesity (Європейська асоціація з вивчення ожиріння)
- eNOS – endothelial NO synthase (ендотеліальна синтаза оксиду азоту)
- EPCs – endothelial progenitor cells (ендотеліальні прогеніторні клітини)
- ESC – The European Society of Cardiology (Європейське Товариство Кардіологів)
- ESH – European Society of Hypertension (Європейське Товариство Гіпертензії)
- ET-1 – endothelin 1 (ендотелін)
- FFAs – free fatty acids (вільні жирні кислоти)
- FGF – fibroblast growth factor (фактор росту фібробластів)
- GLUT – glucose transporter (глюкозний транспортер)
- HbA_{1c} – glycated hemoglobin (глікозилюваний гемоглобін)
- ICAMs – intercellular adhesion molecules (молекули міжклітинної адгезії)
- IDF – International Diabetes Federation (Міжнародна Діабетична Федерація)

- IGF-1 – insulin-like growth factor 1 (інсуліноподібний фактор росту)
- IL – interleukin (інтерлейкін)
- iNOS – inducible nitric oxide synthase (індуцибельна синтаза оксиду азоту)
- KDOQI – Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (Національний Нирковий Фонд США)
- KNN – k-nearest neighbors (K найближчих сусідів)
- M – mean (середнє значення)
- MCP-1 – monocyte chemoattractant protein 1 (моноцитарний хемотаксичний протеїн 1)
- Na – sodium (натрій)
- NO – nitric oxide (оксид азоту)
- NO₂⁻ – nitrite anion (нітрит аніон)
- NO₃⁻ – nitrate anion (нітрат аніон)
- NOS – NO-synthase (синтаза оксиду азоту)
- NRF-1 – nuclear respiratory factor 1 (ядерний дихальний фактор 1)
- P-selectin, або GMP-140 – platelet activation-dependent granule (молекула адгезії P-селектин)
- PAF – platelet-activating factor (фактор активації тромбоцитів)
- PAI – plasminogen activator inhibitor 1 (інгібітор тканинного активатора плазміногену)
- PDGFs – platelet-derived growth factors (тромбоцитарні фактори росту)
- Pg – prostaglandin (простагландин)
- PgI₂ – prostacyclin (простациклін)
- PI-3K – phosphatidylinositide 3-kinase (фосфатидил-інозитол-3-кіназа)
- PKC – protein kinase C (протеїнкіназа C)
- PPARs – peroxisome proliferator-activated receptor (пероксисомний проліфератор)
- RAGE – receptor for advanced glycation end-product (рецептор AGEs)
- ROS – reactive oxygen species (активні форми кисню)
- SEM – standard error of the mean (стандартна помилка середнього)

SD – standard deviation (стандартне відхилення)
TF – tissue factor (тканинний фактор)
TGF α , β – transforming growth factor alpha, beta (трансформуючий фактора росту α , β)
TM – thrombomodulin (тромбомодулін)
TNF – tumor necrosis factor (фактор некрозу пухлини)
tPA – tissue plasminogen activator (тканинний активатор плазміногену)
TxA₂ – thromboxane A₂ (тромбоксан)
VCAMs – vascular cell adhesion molecules (молекули адгезії судинної стінки)
VEGFs – vascular endothelial growth factors (судинні ендотеліальні фактори росту)
vWF – von Willebrand factor (фактор фон Віллебранду)
WHO – World Health Organization (Всесвітня Організація Охорони Здоров'я)
АГ – артеріальна гіпертензія
АДФ – аденозиндіфосфорна кислота
АКС – альбумін-креатинінове співвідношення
АТ – артеріальний тиск
АТФ – аденозинтрифосфорна кислота
БМ – базальна мембрана
БМК – базальна мембрана клубочка
БАР – біологічно активні речовини
ГМК – гладко-м'язові клітини
ГХ – гіпертонічна хвороба
ДАТ – діастолічний артеріальний тиск
ДВЗ-синдром – синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
ДХН – діабетична хвороба нирок
ЕД – ендотеліальна дисфункція
ЕЗВД – ендотелій-залежна вазодилатація
ЕК – ендотеліальна клітина
ЕР – ендоплазматичний ретикулум

ІМ – інфаркт міокарда
ІМТ – індекс маси тіла
ІР – інсулінорезистентність
ІХС – ішемічна хвороба серця
КА – коефіцієнт атерогенності
ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності
ЛПДНЩ – ліпопротеїди дуже низької щільності
ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності
ЛППП – ліпопротеїни проміжної щільності
МАУ – мікроальбумінурія
НАД – нікотинамідаденіндинуклеотид
НАДФ – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат
ОС – оксидативний стрес
ПОЛ – перекисне окислення ліпідів
ПКМ – позаклітинний матрикс
РААС – ренін-ангіотензін-альдостеронова система
САТ – систолічний артеріальний тиск
САС – симпатoadреналова система
ССЗ – серцево-судинні захворювання
ССС – серцево-судинна система
ТГ – тригліцериди
ХНН – хронічна ниркова недостатність
ХХН – хронічна хвороба нирок
ЦД – цукровий діабет
ЦЕК – циркулюючі ендотеліальні клітини
ЧСС – частота серцевих скорочень
ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Поширеність цукрового діабету (ЦД) набула характеру неінфекційної пандемії ХХІ століття. З 1980 року чисельність людей, що страждають на ЦД, зросла 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 [1].

ЦД безперервно прогресує і небезпечний 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 [23], а стрімке зростання захворюваності ЦД у всьому світі і в Україні, поряд з наслідками прогресування пошкоджень нирок, пов'язаними із загрозою життю, інвалідизацією, 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 [5].

Як відомо, ЦД 2 типу відноситься до захворювань із спадковою схильністю, а патогенез ускладнень ЦД 2 типу пов'язують з гіперглікемією, гіперінсулінемією, інсулінорезистентністю (ІР), артеріальною гіпертензією (АГ) та дисліпідемією [44]. Відповідно до сучасної гіпотези судинних ускладнень, первинне ушкодження починається на рівні ендотелію судин і, таким чином, ендотеліальна дисфункція (ЕД) займає одне з головних місць в розвитку і прогресуванні мікро- і макросудинних ускладнень. ЕД виникає в силу різних причин, але провідне місце, згідно з даними літератури, займає гіперглікемія і глікозилювання білків [35].

Асоціація кардіоваскулярної патології та метаболічний розладів є тригерний механізмом патофізіологічного каскаду, який асоціюється з розвитком і прогресування ЕД, ІР, гіперглікемії, дисліпідемії, мікроальбумінурії (МАУ), а також прозапальних і протромботичних станів. Комбінація цих механізмів призводить до формування ланцюжка

несприятливих кардіоваскулярних ускладнень, які негативно впливають на показники захворюваності та смертності [2]. Тому розробка методів ранніх предикторів метаболічних порушень, які розвиваються при ЦД і сприяють формуванню ЕД, має важливе медичне і соціальне значення [20].

Незважаючи на те, що в останні роки активно вивчається роль ЕД при багатьох серцево-судинних захворюваннях (ССЗ), в тому числі і при ЦД, стан ендотелію при ЦД 1 і 2 типу вивчено недостатньо [80]. Багато в чому це пов'язано з тим, що прямі методи визначення структурного стану ендотелію складно 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 [81]. На підставі кількості циркулюючих ендотеліоцитів, можна судити про активність ендотеліальної десквамації, і, отже, про ступінь пошкодження ендотелію, яка є морфологічною основою ендотеліальної дисфункції [92].

Існує кілька різних способів визначення циркулюючих ендотеліальних клітин, які зводяться або до морфологічними характеристиками, тобто виділення клітин з урахуванням їх кількості та їх характеристик, або до визначення цих клітин за маркерами, які експресуються на поверхні ендотеліоцитів [105]. Хоча передбачається, що визначення циркулюючих ендотеліоцитів по поверхневих антигенів є більш точним методом діагностики, до остаточного часу не існує єдиного протоколу дослідження і не ясно, яка комбінація ендотеліальних маркерів володіє найбільшою специфічністю, що дозволяє повністю відокремити десквамовані ендотеліальні клітини від інших циркулюючих в крові клітин [101]. У той же час, морфологічні характеристики ендотеліоцитів досить чітко описані і мають ряд структурних відмінностей як від клітин червоної, так і білої крові і при мікроскопії віднести їх до іншого класу і виду клітин практично неможливо [146].

У зв'язку з високою ефективністю використання даного методу, 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 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 дослідження. Вивчити роль ендотеліальної дисфункції в патогенезі ДХН за цукрового діабету 1 і 2 типу.

Поставлена мета обумовила вирішення наступних завдань:

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. Сформувати 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 – основного ендотеліального вазодилататора.

5. Провести оцінку впливу індивідуально підбраної 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 ендотеліальна дисфункція оборотним процесом і прийняти рішення про необхідність ангиопротекторної терапії у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

8. Розробити методику, яка дозволить оцінювати ефективність нефропротекторної і ангиопротекторної терапії у пацієнтів із ЦД

Об'єкт дослідження: особливості порушення ендотелію в патогенезі ДХН за цукрового діабету 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: загальноклінічні, лабораторні, біохімічні, морфологічні, інструментальні, аналітичні, статистичні.

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 десквамованих з ендотеліальної стінки клітин, про що свідчить підвищений вміст ЦЕК на кінцевої 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 оксиду азоту в крові. Встановлено, що висока ступінь пошкодження ендотелію у пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу не завжди характеризується одночасною наявністю ендотеліальної дисфункції, виявленої на підставі кількості утворення оксиду азоту. Також було виявлено, що рівень стабільних метаболітів оксиду азоту 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 цукрознижуючої 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 ендотеліальна дисфункція 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.

У роботі встановлено, що концентрація в плазмі крові циркулюючих ендотеліальних клітин 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 серцево-судинних захворювань 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.

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.

Отримані результати досліджень мають велику практичну цінність для медичної галузі при лікуванні цукрового діабету як у нефрологічно здорових пацієнтів, так і при наявності розвиненого ускладнення цукрового діабету – діабетичної хвороби нирок. Рекомендовано дотримуватися даної схеми цукрознижувальної терапії у пацієнтів без ниркової патології і з ДХН I-III стадії.

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.

Отже, в результаті застосування нами методу лінійної регресії була побудована прогностична модель, яка здатна прогнозувати рівень ЦЕК після

10 днів стаціонарного лікування в залежності від вихідного рівня ендотеліоцитемії в результаті використання нашої стратегії лікування ЦД 1 і 2 типу. Коефіцієнт детермінації цієї моделі становив 63%.

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 здобувача. 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 наукова робота, 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 на 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) і 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 покажчик включає 152 джерел: 58 – кирилицею та 94 – латиницею), додатки. Робота ілюстрована 40 таблицями, 30 малюнками.

РОЗДІЛ 1

ПРОБЛЕМА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ 1 І 2 ТИПУ (Огляд літератури)

1.1. Цукровий діабет як клінічна і медико-соціальна проблема

Цукровий діабет – це група хронічних метаболічних захворювань, що характеризуються стійкою гіперглікемією, яка виникає або тоді, коли підшлункова залоза виробляє недостатньо інсуліну, або пов'язане з порушенням його функції або рецепції, обумовлена впливом різноманітних екзогенних, імунних, ендокринних і генетичних факторів або їх поєднанням [1,2,3].

За визначенням експертів Всесвітньої організації охорони здоров'я (WHO – *World Health Organization*), діабет – найважливіша проблема будь-якого віку і всіх країн. Будучи одним з найбільш поширених захворювань серед людей середнього та похилого віку, діабет вражає в даний час від 1,2 до 13,3% населення планети. Якщо подивитися на структуру всіх ендокринних захворювань, частота ЦД досягає 70% [4].

ЦД є серйозною науково-медичною, соціальною та економічною проблемою в більшості країн світу. Експерти WHO стверджують, що ЦД набув характеру «неінфекційної епідемії XXI століття». Світова поширеність цукрового діабету серед осіб старше 18 років становить близько 10% і продовжує стабільно зростати по всьому світу. За даними WHO, число людей, які страждають на цукровий діабет, з 1980 року збільшилася з 108 мільйонів майже в чотири рази [5].

За офіційними даними Міжнародної діабетичної федерації (IDF – *International Diabetes Federation*), на 2019 рік кількість людей у віці від 20 до 79 років, які хворіють на ЦД, становить 463 мільйони, серед яких близько 90% становить ЦД 2 типу [1]. Це означає, що 1 з 11 дорослих страждає на цукровий діабет.

Також за даними IDF, 1 млн 106 тис. дітей і підлітків до 18 років мають діагноз ЦД 1 типу. Загальний показник смертності у пацієнтів із ЦД приблизно на 15% вище, в порівнянні з особами без ЦД [6]. За прогнозом на 2045 рік, ця цифра досягне 700 мільйонів. На *рис. 1.1* зображено зростання ЦД за останні 10 років, а також прогнозовані цифри поширеності діабетом на 20-30 і 2045 року.

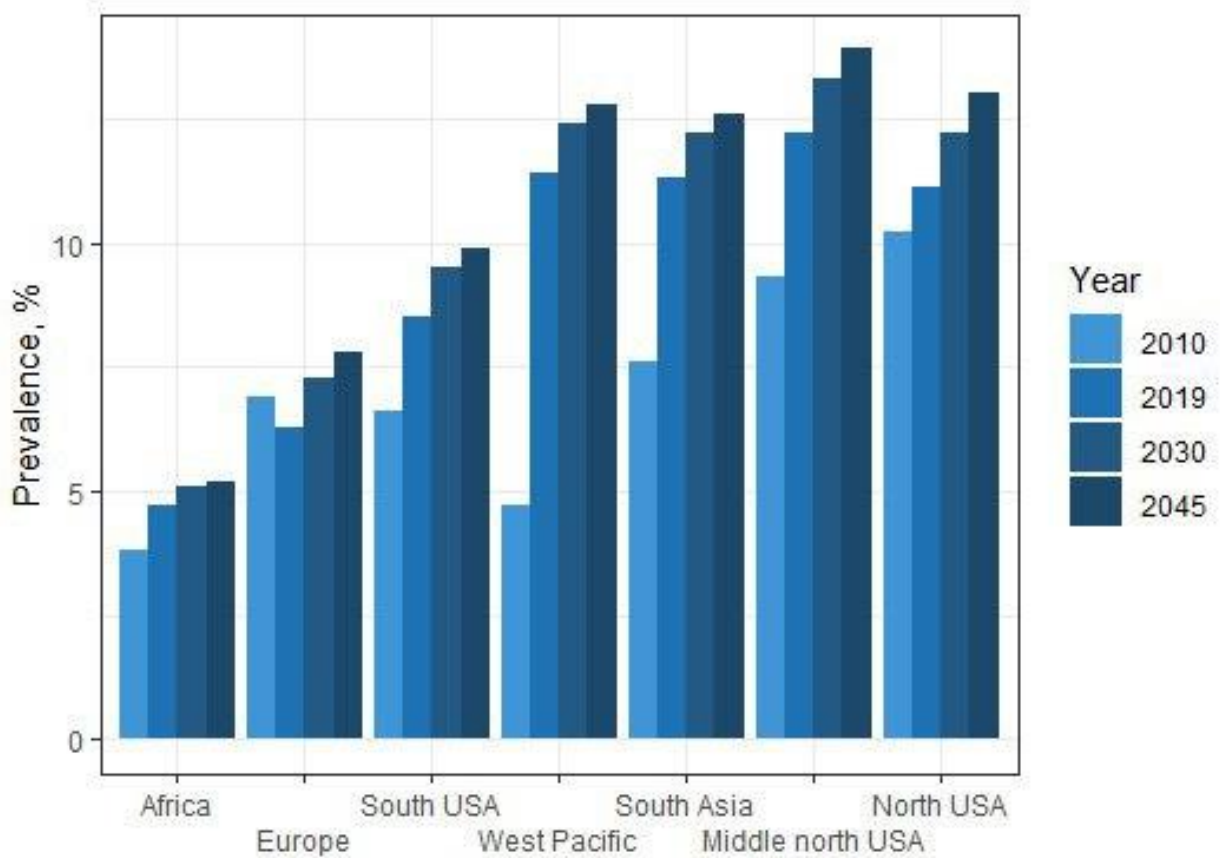


Рисунок 1.1. Скоригована за віком порівняльна поширеність цукрового діабету на всіх континентах, %. Дані представлені за 2010, 2019, 2030 і 2045 рр.

Проблема цукрового діабету актуальна і для України. Згідно з останніми даними WHO по Україні, ЦД на 2016 рік був у 9,1% населення. Серед чоловіків діабет був реєстрований у 8,3%, серед жінок відсоток був вищим і склав 9,7%, і ці цифри продовжують рости.

На поширення ЦД впливає велика кількість чинників навколишнього середовища, генетичні та демографічні особливості популяції, концентрація факторів ризику захворювання. За даними світової статистики, більше одного з трьох дорослих у віці старше 18 років мають надлишкову вагу і більш одного з 10 страждають ожирінням. В Україні ці цифри майже в 2 рази вищі: число осіб з надлишковою масою тіла серед усіх вікових груп становить 57,3%, число осіб з ожирінням в Україні в середньому становить 21,7%, а фізично неактивні 14,4% населення України. Також варто відзначити, що серед осіб старше 15 років палять 27% українців, серед чоловіків реєструється 48% курців, серед жінок – 11% жінок, що палять [7].

На сьогоднішній день, важливість проблеми ЦД визначає не тільки його значне поширення, але і швидкий темп розвитку ускладнень. У пацієнтів із ЦД виявляються важкі порушення, які все частіше є причинами летальної інвалідизації або летальних випадків. Разом з тим, ЦД є однією з основних причин таких захворювань, як хронічна хвороба (ХХН), сліпота, ампутації нижніх кінцівок, а також підвищення серцево-судинної захворюваності та смертності [8,9].

Коли пацієнти із ЦД тривало знаходяться в стані декомпенсації, це має тяжкі наслідки не тільки для здоров'я і благополуччя, тому що діабет та його ускладнення різко впливають на фінанси окремих осіб і їх сімей, а також економіки націй в цілому [5].

Виникнення первинної або вторинної інсулінової недостатності, яка є провідною патогенетичною ланкою ЦД, проявляється явищами гіперглікемії, полідипсії, поліфагії, поліурії, глюкозурії, тобто безпосередніми наслідками зміни вуглеводного обміну. Разом з тим, ЦД починається як хвороба обміну, а закінчується як судинна патологія, яка проявляється мікро- і макроангіопатіями.

Згідно з останнім перегляду Американської діабетичної асоціації (ADA – *American Diabetes Association*), прийнятому в 2010 році, виділяють 1 і 2 типу діабету, гестаційний ЦД та інші специфічні типи ЦД [10]. Ще на

початку XXI століття ЦД 1 типу називали інсулінозалежний, а ЦД 2 типу – інсулінонезалежний. І, незважаючи на те, що ці терміни ще можна зустріти в непрофільних статтях в медичній літературі, така термінологія є невірною, тому що у великої кількості пацієнтів з ЦД 2 типу, на певному етапі перебігу захворювання виникає потреба в екзогенному введенні інсуліну в зв'язку з прогресуючим зниженням секреції інсуліну β -клітинами підшлункової залози [11].

У своїх доповідях WHO наголошує на необхідності активізації профілактики і лікування цього захворювання. Необхідні заходи включають розширення середовища, що сприяє зміцненню здоров'я і зниження факторів ризику діабету, таких як відсутність фізичної активності та нездорове харчування, а також зміцнення національного потенціалу, щоб допомогти людям з діабетом отримувати лікування і догляд, які їм необхідні для лікування їх захворювання [5].

Хороший контроль за перебігом ЦД включає ряд необхідних заходів, які доповнюють один одного. Так, поряд із заходами з пропаганди дотримання дієтотерапії і підтримки активного способу життя, навчання пацієнтів самоконтролю і догляду за собою, це і використання оригінальних і генеричних лікарських засобів, в тому числі інсулінів та аналогів інсуліну, з метою досягнення цільових рівнів компенсації вуглеводного обміну для кожного конкретного пацієнта, а також регулярний скринінг для раннього виявлення і лікування діабетичних судинних ускладнень [5].

1. 2. Ендотеліальна дисфункція як головний учасник мікро- і макросудинних ускладнень цукрового діабету

У складній проблемі судинних порушень тривалий час описувалася фінальна частина процесу – атеросклероз судин. І, хоча клінічний результат визначається ступенем ураження судин на рівні медії, між тим, процес практично завжди починається на рівні ендотелію. Саме внутрішній шар клітин в судинах першим підпадає під вплив порушення обміну глюкози.

Ендотеліальні клітини є інсулін-незалежними клітинами, оскільки поглинання глюкози відбувається за допомогою транспортера глюкози (GLUT – *glucose transporter*) 1 типу, на який інсулін не впливає [3].

Функції цього органу-системи багатогранні і неоціненні для цілого організму. Ендотелій регулює процеси тканинного гомеостазу, судинний тонус, коагуляцію, міграцію і проліферацію клітин, бере участь в синтезі і метаболічній активації ряду біологічно активних речовин (БАР), бере участь в реакціях запалення, механізмах регенерації і фіброзу, визначає фільтраційну здатність нирок, дифузію води та електролітів, продуктів метаболізму, синтезує компоненти базальної мембрани (БМ) та ін. [12,13].

На *рис. 1.2* нами представлені основні відомі в даний час функції ендотелію.



Рисунок 1.2. Функції ендотелію

Ендотеліальні клітини (ЕК) безперервно забезпечують обмін речовин між кров'ю або лімфою і тканинами шляхом екзоцитозу, трансцитозу і

ендоцитозу, а також фільтрації. Ендотелій є бар'єром з високою виборчою проникністю, що регулює потоки рідини, іонів і макромолекул між судинним простором і іншими тканинами. Разом з тим, ендотелій не виступає в якості обмежуючої мембрани для газів крові, жиророзчинних речовин і ліпідів. У мікроциркуляторному руслі ендотеліоцити виконують переважно обмінну функцію, а в магістральних судинах – метаболічну і синтетичну, основа яких полягає в синтезі ендотеліну, брадикініну, ейкозаноїдів і оксиду азоту (NO – *nitric oxide*), в інактивації ацетилхоліну, катехоламінів, серотоніну, гістаміну та ін. [3].

Одна з основних функцій ендотелію полягає в збалансованому виділенні регуляторних субстанцій, що визначають цілісну роботу системи кровообігу [13,14]. Оксид азоту є основним вазодилататором, що розслаблює гладкі м'язи судин і знижує системний судинний опір і, як наслідок, знижує артеріальний тиск (АТ). NO інгібує міграцію і проліферацію гладко-м'язових клітин (ГМК), зменшує адгезію лейкоцитів до ендотелію, пригнічує агрегацію тромбоцитів і секрецію гранул, грає важливу роль в структурному ремоделюванні кровоносних судин, пригнічує окислення ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), пригнічує продукцію ендотеліну-1 (ЕТ-1) і його дію, знижує проникність ендотелію, пригнічує експресію молекул адгезії, розширює ниркові судини і сприяє діурезу і натрійурезу, пригнічує секрецію наднирниковими залозами альдостерону, пригнічує тромбоцитарно-ендотеліальні взаємодії, пригнічує адгезію тромбоцитів до ендотеліального моношару, пригнічує синтез прозапальних цитокінів, а також бере участь в модуляції барорецепторних рефлексів [15,16].

Поряд з регуляцією тонуусу судинної стінки, ендотелій бере участь в регуляції згортання крові за допомогою синтезу факторів, що регулюють активність тромбоцитів, каскад згортання, а також стан фібринолітичної системи [14].

Патофізіологія дисфункції ендотелію при ЦД – складна взаємодія між декількома пов'язаними з гіперглікемією патологічними явищами, які

ушкоджують ЕК. Вплив ЦД на судинне русло, фокусуючись на молекулярних механізмах, включає в себе оксидативний стрес (ОС), пошкодження ендотеліальної стінки, хронічне низькорівневе запалення, дисфункцію мітохондрій і ендоплазматичного ретикулума, резистентність до інсуліну, дисліпідемію і ін. [3].

ЕД вперше була описана в 1990 році на судинах передпліччя людини при гіпертонічній хворобі (ГХ) і визначалася як порушена вазодилатація при дії специфічних стимулів, таких як ацетилхолін або брадикінін [17].

В даний час під дисфункцією ендотелію розуміють порушення рівноваги між різними системами ендотеліальних медіаторів – утворенням вазодилатуючих, атромбогенних, протизапальних, антипроліферативних чинників, з одного боку, і ендотеліальних вазоконстриктивних, протромботичних, прозапальних і проліферативних речовин – з іншого. Дисфункція ендотелію може бути самостійною причиною порушення кровообігу в органі, оскільки нерідко провокує ангіоспазм або тромбоз судин. З іншого боку, порушення регіонарного кровообігу також може призводити до дисфункції ендотелію. ЕД може привести до структурних пошкоджень в організмі: прискорення апоптозу, некрозу, десквамації ендотеліоцитів [18].

Процес десквамації відображає оновлення ендотелію, який втратив здатність виконувати властиві йому функції внаслідок старіння або впливу ушкоджуючих факторів. В основі десквамації ендотелію лежать активація протеїназ, некроз і/або апоптоз ендотеліоцитів. При пошкодженні і апоптозу відбувається порушення функціонування протеїнів, які забезпечують з'єднання ендотеліоцитів з БМ, що призводить до десквамації ендотеліоцита.

Тривалість перебування ЦЕК в крові становить близько 24-42 годин, протягом яких відбувається їх захоплення і руйнування макрофагами печінки, легенів і селезінки. Апоптозу і некрозу ендотеліоцитів, підвищенню продукції протеїназ, що розривають з'єднання ендотеліоцитів з підлеглою інтимою, сприяють прозапальні цитокіни, вільні радикали і активні форми

кисню. Джерелом цих БАР можуть бути лейкоцити, особливо адгезовані на ендотелію. Ендотелій характеризується високою стабільністю, що підтверджується рідкісним виявленням апопичних ендотеліоцитів в інтимі судин в нормі [19].

При ЕД відбувається зміна властивостей артеріальної стінки: потовщується субендотеліальний шар за рахунок утворення позаклітинного матриксу (ПКМ), змінюється проникність для макромолекул плазми, в результаті чого збільшується відкладення протеїнів, ліпідів, збільшується кількість прозапальних клітин [18].

ЕД характеризується одним або декількома комбінацією наступних ознак: порушення ендотелій-залежної вазодилатації (ЕЗВД) і гемодинаміки, порушення фібринолітичної здатності, підвищення синтезу факторів росту, підвищення адгезивності ендотеліального шару судини, підвищення експресії прозапальних генів, надмірне утворення реактивних форм кисню (ROS – *reactive oxygen species*), підвищення ОС, підвищення проникності клітинної шару, а також прискорене злущування ендотелію капілярів, ослаблення міжклітинних з'єднань і зниження регенерації ендотеліоцитів і ін. [20]. ЕД також включає в себе знижену продукцію NO, посилену інактивацію вазодилататорів, ослаблену дифузію NO до нижче лежачих гладко м'язових клітин (ГМК), знижену доступність запасів L-аргініну, посилене руйнування NO вільними радикалами кисню, підвищене утворення вазоконстрикторів [21].

При ЕД порушується синтез білків, а також відбувається порушення експресії і утворення глікопротеїдів на ендотеліоцитах. Це сприяє закріпленню моноцитів і лейкоцитів і їх міграції через БМ [2]. Гіперактивність симпатoadреналової (САС), ренін-ангіотензин-альдостеронової (РААС), ендотелінових і інших судинозвужувальних систем є додатковими факторами серцево-судинного ризику при ГХ, ішемічній хворобі серця (ІХС), хронічній серцевій недостатності, у пацієнтів із ЦД, а також є найважливішими механізмами ураження органів-мішеней з

розвитком кардіоваскулярних ускладнень і важких клінічних станів, в т.ч. інфаркту міокарда, інсульту і раптової смерті [22].

Функціональна перебудова ендотелію під впливом патологічних чинників проходить кілька стадій. Схематичне представлення концепції ендотеліальної дисфункції зображено на *рис. 1.3* [23].



Рисунок 1.3. Схематичне представлення концепції ЕД (рис).

I стадія – перший тип ендотеліальної активації, швидка фаза. На I стадії підвищується синтетична активність ЕК і на поверхні активованого ендотелію вивільняються раніше синтезовані білки, такі як ендотеліальні молекули адгезії і атромботичні молекули: молекула адгезії Р-селектин (P-selectin або GMP-140 - *platelet activation-dependent granule*), тромбін, гепарин, фактор фон Віллебранда (vWF – *von Willebrand factor*), антитромбін III (АТ III – *antithrombin III*) і тромбомодулін (ТМ – *thrombomodulin*) тим самим, не потребуючи синтез білків *de novo* [23].

II стадія – другий тип ендотеліальної активації, пізня фаза. На II стадії

порушується збалансована секреція факторів, що регулюють тонус судин, систему гемостазу, процеси міжклітинної взаємодії, порушується природна бар'єрна функція ендотелію, підвищується його проникність для різних компонентів плазми в результаті вироблення таких факторів, як ендотеліально-лейкоцитарна молекула адгезії – Е-селектин (E-selectin, або ELAM-1 – *endothelium-leukocyte adhesion molecule*), молекула міжклітинної адгезії-1 (ICAM-1 – *intercellular adhesion molecule 1*), молекула адгезії судинної стінки 1 (VCAM-1 – *vascular cell adhesion molecule 1*), тканинний фактор (TF – *tissue factor*), моноцитарний хемотаксичний протеїн-1 (MCP-1 – *monocyte chemoattractant protein-1*) і ін. При надмірній стимуляції ЕК, як конститутивні, так і індуковані захисні гени не здатні протидіяти стимуляції, і неконтрольована активація ендотеліоцитів може привести до апоптозу і некрозу ЕК [3].

В результаті ендотеліальної активації відбуваються зміни, що призводять до морфологічного перегрупування ЕК – збільшення розміру клітин і цитоплазматичних органел, але без порушення цілісності ендотелію.

III стадія, необоротна. На цій стадії відбувається апоптоз ЕК, який є результатом неконтрольованої ендотеліальної активації, яка характеризується фрагментацією ендотелію і відділенням ендотеліоцитів від інтими.

VI стадія, необоротна: некроз ЕК в результаті хронічного виснаження, мітохондрії підлягають прогресуючого набряку, що приводить до загибелі клітин. Некроз ЕК супроводжується порушенням процесів регенерації ендотелію [24].

Наші дані дозволяють нам виділити ще одну стадію ЕД, стадію ендотеліальної недостатності, яка слідує за ендотеліальною активацією з подальшим виходом в загибель ЕК [25- 27].

Первісна концепція активації ендотеліоцитів ґрунтувалася на ультраструктурних і невеликих мікроскопічних змінах судинного ендотелію, що спостерігаються при туберкуліновій реакції, в реакціях гіперчутливості

сповільненого типу і при контактному дерматиті. Концепція ендотеліальної активації без очевидних доказів пошкодження або ділення ендотелію була доповнена інформацією про посилену експресію специфічних протеїнів і різних БАР, що беруть участь в імунитеті, а також в процесах запалення і згортання крові [24].

Прийнято вважати, що перша і друга стадії ЕД, які характеризуються активацією ендотеліоцитів, є оборотним процесом. У той час як третя і четверта стадії, при яких спостерігається апоптоз і некроз ЕК – незворотним, а цільове лікування не може зупинити патологічний процес і не може відновити нормальну структуру і функцію ЕК [23].

Разом з тим, чи є ЕД оборотним або необоротним процесом досі залишається предметом дискусії. У літературі представлені суперечливі дані про позитивний вплив медикаментозної терапії на ЕД, засновані на використанні різних методів оцінки ендотелію [9,28].

У численних дослідженнях захворювань серцево-судинної системи (ССС) було показано, що клінічно ефективна антигіпертензивна терапія не відновлює порушену ЕЗВД [29,30]. У той же час в інших клінічних випробуваннях була показана можливість відновлення ЕД за допомогою гіпотензивних препаратів [27,31].

У дослідженнях при гострих порушеннях мозкового кровообігу була продемонстрована тенденція до регресу десквамації ендотелію у пацієнтів на 10-й день спостереження, що є сприятливою відповіддю, яка пов'язана з ослабленням ушкоджуючих судинну стінку механізмів і проведеними лікувальними заходами [32].

Крім того, позитивний вплив на ендотелій було відзначено у низки препаратів, включаючи блокатори РААС, антагоністи мінералокортикоїдних рецепторів, статини, бетаблокатори III покоління. Втім, мова йде лише про часткове відновлення функції ендотелію, яка, навіть за умови одночасного застосування наведених вище лікарських речовин, як правило, не досягає референтних значень [33]. Додаткові можливості коригування порушеної

функції ендотелію продемонстровані у таких препаратів, як аргініну глютамат і мельдоній [34].

Разом з тим, в деяких дослідженнях було виявлено, що багато препаратів, у тому числі і церивастатин, аторвастатин, симвастатин, пентоксифілін, вітамін Е і вітамін С не впливають на ЕД [35]. На відміну від вищезгаданих думок було висловлено припущення про те, що ЕД може бути оборотним процесом при певних інтервенційних стратегіях [36].

Також слід зазначити, що гемодіаліз може надавати шкідливу дію на структурно-функціональний стан ендотелію у пацієнтів з термінальною нирковою недостатністю [37].

Оскільки ЕД пов'язана з дисбалансом між продукцією вазодилаторів і вазоконстрикторів, тромбогенних і атромбогенних факторів, ангіогенних субстанцій їх інгібіторів, виділяють вазомоторну, тромбофілічну, адгезивну і ангіогенну форми [38,39].

Адгезивна форма ЕД обумовлена порушенням взаємодії лейкоцитів і ЕК, постійно протікаючим фізіологічним процесом, що здійснюється за участю спеціальних адгезивних молекул. Підвищена адгезивність ендотелію і неконтрольована зупинка лейкоцитів складають основу адгезивної форми ЕД і грають важливу роль в патогенезі запалення при атеросклерозі та інших патологічних процесах.

Розвиток тромбофілічного варіанту ЕД обумовлен порушенням співвідношення таких чинників, як vWF, фактор активації тромбоцитів (PAF – *platelet-activating factor*), тромбоксан А₂ (ТхА₂ – *thromboxane A₂*), TF і ін., які індукують адгезію і агрегацію тромбоцитів, тромбогенез, пригнічують фібриноліз і атромбогенних речовин, до яких відносяться NO, простациклін (Pgl₂ – *prostacyclin*), ТМ, тканинний активатор плазміногену (tPA – *tissue plasminogen activator*) і ін. з переважанням перших. У той же час, в фізіологічних умовах розвитку атромбогенних речовин в ендотелії переважає над синтезом тромбогенних, що забезпечує збереження рідкого стану крові при пошкодженнях судинної стінки [39].

Значне зниження тромборезистентності судин спостерігається при атеросклерозі, АГ, ЦД, пухлинних захворюваннях і ін. Деендотелізація судин з оголенням БМ і накопиченням продуктів розпаду клітин, фібрину, еритроцитарних складів, продуктів гемолізу і інших чинників, що підвищують внутрішньосудинну агрегацію тромбоцитів, призводять до розвитку хронічного синдрому дисемінованого внутрішньо-судинного згортання, а також інших ускладнень [40].

Ангіогенна форма ЕД пов'язана з патологічним ангиогенезом – надмірною активністю VEGFs і інших ростових факторів, і порушенням в системі регуляторів ангиогенезу. При ангиогенній формі ЕД порушення регуляції неоангиогенезу можуть спостерігатися на різних етапах, від збільшення проникності ендотелію і руйнування БМ, міграції, проліферації і дозрівання ендотеліоцитів, до ремоделювання судин без зв'язку з функціональними потребами [3,41].

Вазомоторна форма ЕД обумовлена порушенням співвідношення між ендотеліальними вазоконстрикторами і вазодилататорами. Згідно з принципом антагоністичної регуляції, синтез вазоконстрикторних речовин відбувається, як правило, при стимуляції вироблення вазодилататорів. Вазомоторна форма ЕД має важливе значення в механізмах як системного підвищення АТ, так і локального ангиоспазму [38,39].

Разом з тим, ряд захворювань мають або різні форми ЕД, або комбінацію всіх форм, що особливо наочно можна продемонструвати на прикладі патогенезу атеросклерозу. Так, розвиток атеросклеротичної бляшки вдає із себе ланцюг як синергічних, так і взаємозамінних подій, про що свідчить її шарувата структура на зрізі [42]. При прогресуванні ЕД і активації всіх перерахованих вище реакцій, на певному етапі виникає дестабілізація бляшки, її надрив і проникнення всередину тромботичних мас. Ядро бляшки містить у великій кількості окислені ЛПНЩ, проникаючи в інтиму судини через пошкоджений ендотелій. Ці ліпопротеїди накопичуються в ксантомних, або «пінистих» клітинах, утворених з моноцитів, макрофагів і ГМК. У той же

час, частина окислених ЛПНЩ проникає в ушкоджену судинну стінку всередині моноцитів крові, які захоплюють окислені ліпопротеїди через спеціальні рецептори [43].

1. 3. Основні ланки патогенезу ендотеліальної дисфункції при цукровому діабеті

В основі патогенезу судинних ускладнень ЦД виділяють широкий спектр обмінних порушень, які значно прискорюють розвиток ЕД і атеросклерозу. Основні фактори, які беруть участь в розвитку мікро- та макросудинних порушень при ЦД 1 і 2 типу, такі як хронічна гіперглікемія, дисліпопротеїнемія, порушення гемореологічних властивостей крові, підвищення артеріального тиску, гіперліпідемія (ожиріння), низькорівневе системне запалення, макро- і мікроелементози, а також інші фактори викликають хибні кола патологічних процесів з прогресуванням порушень в стінці судин. Таким чином, активація цих систем погіршує ендотеліальну функцію, посилює вазоконстрикцію, збільшує запалення і сприяє прогресуванню діабетичних ангіопатій. Разом з тим, гіперглікемія вважається первісною причиною розвитку ендотеліальної дисфункції, пов'язаної з ЦД [44,45].

Тривала дія гіперглікемії асоційована насамперед з посиленням ферментативного і неферментативного глікозилювання білків і ліпідів, активацією протеїнкінази С (РКС – *protein kinase C*), розвитком реактивних форм кисню і кінцевих продуктів глікозилювання. З іншого боку, зміни в ендотелії внаслідок гіперглікемії призводять також до порушення регуляції тону судин, зміни рівня АТ, проникності судин, що в подальшому, очевидно, сприяє інфільтрації стінки судин ліпідами або ліпопротеїдними комплексами з подальшими добре відомими морфологічними елементами атеросклерозу [44,45]. Нами запропонована схема патологічного впливу гіперглікемії на ендотелій і БМ, яка зображена на *рис. 1.4*.



Рисунок 1.4. Патологичний вплив гіперглікемії на ендотелій і базальну мембрану.

В умовах гіперглікемії стимулюється поліоловий шлях окислення глюкози, і за допомогою ферменту альдозоредуктази глюкоза перетворюється в сорбітол, виснажуючи відновлену форму коenzиму нікотинамід-адениндинуклеотидфосфата (НАДФН). Альдозоредуктаза в фізіологічних умовах функціонує трохи і інактивує токсичні альдегіди алкоголю. НАДФН бере участь у відновленні антиоксидантних структур, таких як глутатіон і токоферол, а також є невід'ємним компонентом синтаза оксиду азоту (NOS – *NO-synthase*). Таким чином, коли знижується концентрація НАДФН, послаблюється антиоксидантний захист, посилюється кількість вільних радикалів і зменшується синтез NO [3].

Сорбітол, погано проникаючи через плазмолемму і накопичуючись в клітинах, веде до дисбалансу в клітинному гомеостазі, підвищуючи осмолярність, що призводить до розвитку дегенерації клітин. Крім того, накопичення сорбітолу в нейронах пригнічує синтез найважливішого компонента мієліну – міоїнозитулу, що є субстратом для синтезу мембранного фосфатидилінозитулу, ендогенного регулятора мікросомальної Na^+/K^+ /АТФази, а також для численних сигнальних молекул-кіназ, що володіють здатністю приєднувати до інозитулу фосфатну групу [46,47].

Сорбітол активує діацилгліцерол/РКС сигнальний шлях. Підвищення перетворення сорбітолу у фруктозу під впливом сорбітолдегідрогенази збільшує синтез діацилгліцерола. Діацилгліцерол є клітинним регулятором, що активує РКС, переважно ізоформу β , в основному локалізовану в серці і аорті. РКС – суперсімейство ізоензимів і грає важливу роль в регуляції ендотеліальної проникності, вазоконстрикції, клітинному рості, ангиогенезі і адгезії лейкоцитів. Разом з тим, індуковані гіперглікемією ROS сприяють ЕД за допомогою РКС-залежної активації НАДФН-оксидази. Далі під дією РКС, а також під впливом інсуліну і ангіотензину II (АТ-II – *angiotensin II*), відбувається індукція ферменту, що утворює супероксид НАДФН-оксидази в ЕК і ГМК, розщеплення ендотеліальної NOS і інгібування PI-3K, знижує ендотеліальну синтазу оксиду азоту (eNOS – *endothelial NO synthase*). Активація НАДФН-оксидази, як відомо, є одним з найважливіших джерел ROS [48,49].

РКС блокує активність і експресію розчинної гуанілатциклази, ферменту, за допомогою якого NO реалізує свої ефекти. Під впливом РКС підвищується рівень ET-1, і, крім цього, в умовах псевдогіпоксичного стану, виробляються численні БАВ, такі як судинні ендотеліальні фактори росту (VEGFs – *vascular endothelial growth factors*), фактор росту фібробластів (FGF – *fibroblast growth factor*) і трансформує фактора росту β (TGF- β – *transforming growth factor beta*), що сприяють розвитку діабетичної ангиопатії [46,50].

VEGFs грає ключову роль в патогенезі мікроангіопатій, регулюючи проліферацію ЕК судин в різних тканинах. При ЦД, VEGFs може стимулювати експресію адгезивних молекул ЕК і викликати судинне запалення, що, в свою чергу, посилює ураження ендотелію [51]. Це підтверджується численними дослідженнями, в яких було продемонстровано підвищений рівень VEGFs у пацієнтів із ЦД, а також був виявлений взаємозв'язок між рівнем VEGFs і розвитком діабетичних мікроангіопатій [52]. Підвищують експресію VEGFs гіперглікемія, збільшення внутриклубочкового тиску, цитокіни: EGF, TGF- β , тромбоцитарний фактор росту (PDGFs – *platelet-derived growth factors*), інсуліноподібний фактор росту (IGFs – *insulin-like growth factors*), АТ-II, інтерлейкін 1 (IL – *interleukin*) IL-6 і ін., недолік NO, підвищений рівень ET-1, простагнандінов, ТхА₂, механічний стрес, кінцеві продукти глікозилювання (AGEs – *advanced glycation end-products*), РКС, супероксиддисмутаза, хемокіни [53]. Вплив VEGFs на судинний гомеостаз залежить від його локальної концентрації. Недолік призводить до ЕД за рахунок зменшення синтезу NO і Pgl₂. Дуже високий рівень VEGFs стимулює патологічний ангиогенез – розвиток гломерулоїдних тілець, які представляють собою судинні агрегати, або набряк тканин [54].

Більш детально вивчена роль VEGFs в патогенезі діабетичної ретинопатії. Надмірна секреція VEGFs в сітківці призводить до неоваскуляризації, геморагій, сприяє підвищенню судинної проникності і, як результат, викликає погіршення зору і сліпоту [56].

Поряд зі зниженням судинорозширювальних речовин, спостерігається достовірне збільшення рівня судинозвужуючих речовин і прокоагулянтів, які порушують мікроциркуляцію і ведуть до ішемії навколишніх тканин і до прогресування пошкодження [14,49].

За ЦД під дією гіперглікемії відбувається глікозилювання білків та інших макромолекул – це неферментативна реакція глюкози, фруктози і галактози з аміногрупами білкових молекул, ліпідів і нуклеїнових кислот з

утворенням інтермедіатів, які беручи участь в серії повільних хімічних реакцій. В результаті цієї реакції утворюються незворотні з'єднання, відомі як кінцеві продукти глікозилювання. В умовах, коли глюкоза не може повністю метаболізуватися гліколітичним шляхом, надлишок глюкози перетворюється в N-Ацетил-глюкозамін, який, в поєднанні з серином і треоніном, сприяє внутрішньоклітинним патологічним процесам, в тому числі і на генетичному рівні [51,57]. Кількість AGEs прямо пропорційна рівню глюкози в крові, і навіть помірне підвищення глікемії збільшує їх розвиток [51].

AGEs в плазмі сприяють формуванню окислених ЛПНЩ, які з легкістю проходять в субендотелій і беруть участь в атерогенезе. Посилена продукція і накопичення AGEs, пов'язаних з гіперглікемією, також викликають підвищення їх експресії VEGFs *in vitro* [51].

Поряд з цим, розвиток AGEs призводить саме по собі до продукції ROS чи через рецептор AGEs (RAGE – *receptor for advanced glycation end-product*). AGEs за допомогою зв'язування з RAGE активують експресію генів прозапальних цитокінів, таких як фактор некрозу пухлини α (TNF- α – *tumor necrosis factor alpha*) і IL-6. Ці запальні цитокіни індукують ендотеліальну експресію інгібітора тканинного активатора плазміногену PAI-1 (PAI-1 – *plasminogen activator inhibitor*). За ЦД збільшується також експресія RAGE [58,59].

Фермент гліоксалаза-1 бере участь у деградації і виведенні AGEs з організму. Підвищена експресія гліоксази-1 знижує ОС і карбонільний стрес, викликані продукцією AGEs, що дозволяє припустити, що модуляція активності ферментів сприяє гальмуванню розвитку ускладнень ЦД [60].

Внаслідок неферментного глікозилювання утворюються глікозильовані форми майже всіх білків – гемоглобіну, альбуміну, ліпопротеїдів, колагену, білків кришталика ока з порушенням їх функції та утилізації. Глікозильований гемоглобін (HbA_{1c} – *glycated hemoglobin*) володіє підвищеною спорідненістю до кисню, і в умовах гіперглікемії, коли

підвищується рівень HbA_{1c} в крові, тканини піддаються гіпоксії [57].

Глікозилювання альбуміну порушує транспорт білірубіну, жирних кислот і лікарських речовин, а також він накопичується в БМ ниркових клубочків і капілярах інших органів і тканин. Глікозилювання білків кришталіка порушує світлопропускання. В результаті глікозилювання мієліну відбувається розвитку діабетичної полінейропатії внаслідок уповільнення передачі імпульсів по нервових волокнах. При глікозилюванні ліпопротеїдів відповідні рецептори перестають їх розпізнавати, в результаті чого подовжується час циркуляції глікозилюваних ліпопротеїдів в судинному руслі і, як наслідок, прогресує атеросклероз. Змінюються властивості глікозилюваного колагену, стаючи менш розчинним і більш стійким до дії колагенази і зв'язуючись з альбуміном і з імуноглобуліном G, викликає підвищене утворення імунних комплексів. Приєднання альбуміну збільшує товщину БМ, а імуноглобулін утворює мембрано-ушкоджуючий комплекс [46,61].

За рахунок зв'язування з рецепторами на ЕК і макрофагах, глікозилювані білки посилюють вироблення цитокінів і факторів згортання, що призводить до надмірного тромбоутворення, вазоспазму і погіршується перфузія тканин. Підвищується включення глюкози в гексозаміновий шлях в умовах гіперглікемії, що підсилює транскрипцію генів запальних цитокінів, що грають певну роль в патогенезі судинного запалення і проатерогенеза тканин [62].

При пошкодженні і викиданні в кровотік БАР, ендотелій судин вже сам виступає в ролі продуцента патогенних факторів, що сприяють розвитку і прогресуванню діабетичних мікро- та макроангіопатії [63].

Розвиток ОС при ЦД супроводжується збільшенням продукції ROS та азоту і призводить до окислювальної модифікації ліпідів, білків, ДНК, активації прозапальних молекул і, в кінцевому підсумку, затримує реплікацію ендотеліоцитів і прискорює апоптоз. Більш того, ОС, індукований гіперглікемією, запускає механізми ушкодження β -клітин і тим самим

збільшує прогресування ЦД. Активація процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), утворення модифікованих ліпопротеїнів, посилення накопичення їх в пінистих клітинах стають важливими компонентами ЕД при ЦД [2,63,64].

При ОС утворюються вільні радикали – молекули, які мають на зовнішній орбіті неспарені електрони, що надає їм підвищену реакційну здатність. Вільні радикали прагнуть отримати другий електрон від інших молекул, приводячи тим самим до порушення їх структури і функції. Вільні радикали являють собою гетерогенну групу, але найбільша їх кількість належить до сполук реактивного кисню. Окислення глюкози призводить до утворення таких ROS, як супероксид аніон, гідропероксид, гідроксильний радикал, пероксильних радикал. Також утворюються частинки активного азоту: окис азоту, нітроген діоксид, пероксинітрит [65].

Підвищена кількість ROS, особливо супероксида аніона, викликає порушення синтезу і активності NO – головної антиатерогенної речовини ендотелію. Супероксид аніон з'єднується з NO, утворюючи сильний оксидант – пероксинітрит, в результаті чого NO втрачає свої біологічну активність і антипроліферативні властивості [66]. Пероксинітрит пошкоджує клітини шляхом нітрування білків. Нітрування пригнічує роботу K^+ -каналів, які відповідальні за вазорелаксацію. Також пероксинітрит здатний пошкоджувати дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК). При пошкодженні ДНК активується нуклеарний фермент полі-АДФ-рібозополімераза, що призводить до виснаження внутрішньоклітинної концентрації нікотинамідаденіндинуклеотида (НАД⁺). Це, в свою чергу, знижує рівень гліколізу, уповільнює транспорт електронів і утворення аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ), блокує активність гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогенази, сприяючи розвитку ЕД і діабетичних судинних ускладнень [67].

Пероксинітрит окислює тетрагідробіоптерін, що сприяє роз'єднанню eNOS і продукуванню супероксиду аніону замість синтезу NO. Надмірне

утворення супероксидних і гідроксильних радикалів ініціює окислення ЛПНЩ. Вважається, що ліпопротеїди, які зазнали глікоксидації, набувають більш високий атерогенний потенціал. Перекисно-модифіковані ЛПНЩ можуть в силу своєї токсичності пошкоджувати ендотеліальний покрив артерій і накопичуватися в субендотеліальному просторі. Атерогенні ЛПНЩ в субендотеліальному просторі набувають здатність стимулювати секрецію таких БАР, як хемотоксини, мітогени, ряд чинників росту, які стимулюють міграцію з медії в інтиму ГМК і фібробластів, їх проліферацію і синтез сполучної тканини [66].

Необхідно підкреслити, що перекисно-модифіковані ЛПНЩ інактивують і затримують утворення NO, підсилюють секрецію ET-1, тим самим, сприяють спазму артерій. Перекисно-модифіковані ЛПНЩ здатні змінювати структуру ДНК і викликати цитотоксичну дію, внаслідок чого порушуються регенеративно-проліферативні процеси в ЕК і формується проатерогенний стан. В результаті дії ROS відбувається індукція експресії молекул адгезії ICAM-1 і VCAM-1. Це призводить до адгезії моноцитів, лімфоцитів до ендотеліальної стінки і до полегшення проникнення переповнених ліпідами моноцитів, ліпідів, тромбоцитів в субендотеліальний простір. Відбуваються акумулювання ліпідів в судинній стінці, проліферація і міграція в інтиму артерій ГМК і посилення продукції ними колагену і еластину, розвиток мікроагрегатів тромбоцитів, що, в кінцевому підсумку, і приводить до розвитку атеросклерозу і тромбозу [66].

Утворені в надмірній кількості вільні радикали стимулюють локальну експресію в міоцитах індукцібельної синтази оксиду азоту (iNOS – *inducible nitric oxide synthase*). Внаслідок гіперактивації iNOS відбувається придушення активності мітохондріальної креатинкінази – ферменту, який відповідає за транспорт синтезованої в мітохондріях енергії у вигляді фосфокреатина в цитозоль клітин, що, відповідно, поглиблює їх енергодефіцит [68].

ОС виступає тригером іншого важливого механізму ураження

ендотелію при ЦД – системного запалення низької інтенсивності за рахунок збільшення продукції макрофагами прозапальних цитокінів [68].

Нарешті, ROS здатні деполімеризувати глікозаміноглікани, зокрема, гіалуронову кислоту, приводячи до зниження концентрації глікозаміногліканів в глікокаліксі, що також сприяє пошкодженню ендотелію [69].

В умовах ЦД утворення ROS відбувається за рахунок безлічі процесів: як наслідок активації РКС, поліолового шляху окислення глюкози, підвищеного утворення AGEs і ін. Варто відзначити, що підвищений рівень ряду прозапальних цитокінів і БАР, що спостерігається при ЦД, таких як $TNF\alpha$, $TGF-\beta$, IL-1, AT-II, PDGFs і ін., також сприяє продукції ROS [70,71,72].

Вираженість ПОЛ, що проявляється підвищенням показників малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів плазми і еритроцитів, відповідає прогресуванню порушень вуглеводного обміну, а система антиоксидантного захисту характеризується значною активністю показників відновленого глутатіону і каталази вже на доклінічному етапі порушень вуглеводного обміну. При цьому встановлена позитивна кореляція між ступенем активації перекисного окислення ліпідів і вираженістю ЦД [73].

Дихальний ланцюг мітохондрій також є важливим місцем гіперпродукції ROS. В процесі відновлення кисню вивільняється енергія, яка запасується в макроергічних зв'язках сполук фосфору – АТФ і креатинфосфату. Далі за рахунок енергії макроергів відбуваються численні клітинні процеси, таких як сигналізація, транспорт, метаболізм і проліферація. У фізіологічних умовах практично весь кисень використовується в мітохондріях для синтезу АТФ, а 1-2% перетворюється в супероксид аніон в фізіологічних дозах, беручи участь в ЕЗВД у відповідь на напругу зсуву, а також у передачі міжклітинних сигналів через продукцію ROS [74]. Наявність білків Bcl-2 у зовнішній мембрані мітохондрій перешкоджає мітохондріальному стресу, окислювальному пошкодженню

білків і підтримує низький рівень радикалів і пероксидів.

В умовах ЦД, підвищується синтез супероксида. Саме мітохондрії є головним джерелом продукції вільних радикалів, причиною індукованих ними пошкоджень клітинних структур і, в кінцевому рахунку – апоптозу. Утворення нової мітохондрії регулюється рецепторами, що активуються пероксисомним проліфератором (PPARs – *peroxisome proliferator-activated receptor*), зокрема PPAR gamma coactivator 1- α і ядерним дихальним фактором (NRF-1 – *nuclear respiratory factor 1*). Важливо, що цей процес залежить від eNOS і біоактивності NO [75].

Протягом свого короткого життєвого циклу мітохондрія зазнає певних змін: за фазою злиття з утворенням мереж слідує фаза розподілу з утворенням дрібних окремих мітохондрій. Баланс між цими процесами називається динамікою мітохондрій. До кінця життєвого циклу мітохондрії шляхом брунькування відділяється дисфункціональна дочірня мітохондрія, яка містить пошкоджені клітинні елементи, і потім ліквідується з клітки шляхом аутофагоцитозу. Таким чином, розщеплення, або брунькування, можна розглядати як адаптивний процес, який готує до видалення пошкоджені компоненти мітохондрії. У патологічному стані відбувається зрушення в бік розщеплення мітохондрії і пригнічення аутофагоцитозу, що призводить до зменшення мітохондріальних мереж і накопичення дисфункціональних мітохондрій в клітині. Ці дисфункціональні мітохондрії мають властивість утворювати підвищену кількість ROS і сприяють порушенню освіти АТФ [76].

Пошкодження внутрішньої мембрани мітохондрій, викликані ОС, ведуть до неспецифічного Ca^{2+} -залежного збільшення проникності цієї мембрани за рахунок окислення тіолових груп мембранних білків. При цьому з мітохондрії вивільняються відносно низькомолекулярні метаболіти: цитохром С, НАДФ⁺ і ін. Крім того, вільні жирні кислоти (FFAs – *free fatty acids*), які використовуються в якості дихальних субстратів, відкривають пори у внутрішній мембрані мітохондрій. В кінцевому підсумку, підвищення

проникності мітохондріальної мембрани і вихід низькомолекулярних метаболітів сприяє апоптозу клітини [69,77].

За ЦД відбувається порушення біогенезу мітохондрій, йде зниження їх маси і збільшення дисфункціональних мітохондрій, порушується аутофагоцитоза, все це призводить до порушення функції мітохондрій. Зниження окислення FFAs в мітохондріях і/або зменшення мітохондріальної маси може сприяти підвищенню концентрації діацилгліцерола і активації РКС з усіма витікаючими з цього наслідками [70,76].

Підвищена кількість вільних радикалів, що продукуються мітохондріями, пошкоджують мітохондріальну ДНК, що підсилює мітохондріальну дисфункцію. В останніх наукових дослідженнях була продемонстрована зв'язок між ЕД, порушеним мітохондріальним біогенезом і посиленням продукції вільних радикалів в артеріолах пацієнтів із ЦД в порівнянні зі здоровими особами [78].

Ендоплазматичний ретикулум (ЕР) є сховищем Ca^{2+} клітини і ферментів глікозилювання і відповідає за посттрансляційною модифікацію, згортання і складання знову синтезованих секреторних і мембранозв'язаних білків. Білки, синтезовані полірибосомами на поверхні ЕР, через пори в його мембрані проходять всередину ЕР, де піддаються нативній конформації і глікозилюються за участю спеціалізованих білків – молекулярних шаперонов. Утворення S-S-містків скріплює третинну структуру білків за участю протеїн-дісульфідізомерази. Межі ЕР залишають тільки правильно упаковані і конформіровані білки. Невірно упаковані протеїни залишаються в ЕР і піддаються переконформації або деградують. Поряд з мітохондріями, ЕР також може бути первинним місцем виникнення стрес-індукованих змін в клітці [70,77].

Гіперінсулінемія є одною з основних ланок патогенезу ЦД 2 типу, тому що підвищений синтез інсуліну необхідний для компенсації ІР. Процесінг проінсуліну в інсулін відбувається в ЕР, і вважається, що ця підвищена потреба в гормоні, поряд зі збільшеною кількістю циркулюючих FFAs і

гіперглікемією, ініціює стрес ER в β -клітинах. Хронічний стрес ER призводить до загибелі β -клітин, що посилює гіперглікемію [77,78].

Знаходячись під тривалим впливом гіперглікемії, ЕК починає продукувати фактори, що прискорюють процеси атерогенезу: підвищується секреція вазоконстрикторів, активується експресія молекул адгезії, посилюється агрегація тромбоцитів, проліферація ГМК та ін. [79].

Вважається, що на розвиток ускладнень ЦД 2 типу по-різному впливають різні патологічні фактори. Наприклад, в дослідженні Зяблицева С.В. і ін. [80] шляхом побудови моделей багатофакторної логістичної регресії було продемонстрована роль ET-1, TNF- α , дієнових кон'югат, NO і eNOS в розвитку ускладнень ЦД 2 типу, таких як: ретинопатія, нефропатія, сенсорна полінейропатія, макроангіопатія нижніх кінцівок і АГ. Було встановлено, що ET-1 безпосередньо впливав на розвиток усіх досліджуваних ускладнень ЦД 2 типу, крім макроангіопатій нижніх кінцівок. TNF- α впливав на розвиток ретинопатії, нефропатії і АГ. Накопичення в крові NO сприяло розвитку макроангіопатій нижніх кінцівок. Дієнові кон'югати і eNOS мали негативний коефіцієнт регресії і знижували ступінь нефропатії.

Нарівні з ендотелієм, негативному впливу від гіперглікемії піддається і базальна мембрана. БМ в нормі володіє негативним зарядом, який створюється глікозаміногліканами, а внаслідок глікозилювання білків БМ втрачає негативний заряд. В результаті глікозилювання білків БМ відбувається потовщення її стінки, деформація і порушення функції: знижується еластичність судинної стінки, підвищується проникність і порушується транскапілярний транспорт [81].

При ЦД порушується обмін глікопротеїдів, протеогліканів і сіалових кислот, що входять до складу БМ і утворюють активний поверхневий шар клітин ендотелію, що також призводить до втрати негативного заряду БМ [82].

Стойка гіперглікемія викликає гіперосмію і перехід частини рідини з клітки в міжклітинний простір, що супроводжується підвищенням

внутрішньо-судинного обміну. Результатом є активація діяльності ССС через систему натрійуретичного гормону, рівень якого зростає при збільшенні об'єму циркулюючої крові і наповненні передсердя кров'ю, що і викликає зростання швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ). Збільшення добового діурезу виникає по осмотичному типу, а при водному навантаженні ефективність водовидільної здатності нирок знижується, що є наслідком гіперосмії [83].

Важливе значення в патогенезі ЦД і ССЗ грають механізми каскадної активації прозапальних цитокінів. Гіперглікемія може індукувати активацію Fas/FasL-рецепторно-лігандної системи, що лежить в основі одного з основних рецептор-залежних шляхів апоптозу. Механізм активації Fas/FasL-шляху багатофакторний. Підвищення панкреатичної продукції ІЛ-1 β у відповідь на гіперглікемію призводить до активації NF- κ B, підвищенню експресії рецептора апоптозу Fas (APO-1 або CD95), апоптозу β -клітин підшлункової залози, і, як наслідок, залучається Fas ліганд (FasL) - тригер апоптозу [84].

Крім того, в культурі ГМК людини запальні цитокіни провокують апоптоз, що також може надавати дестабілізуючий вплив на області атеросклеротичних бляшок, схильних до травматизації [85].

Однак біохімічні та клітинні зв'язки між підвищеним рівнем глюкози в крові та структурними і функціональними порушеннями ендотелію залишаються зрозумілими не в повному обсязі. Зрозумілим є одне, що саме ендотелій є об'єктом ушкодження і від його функціонального стану залежить характер і ступінь порушень, які мають місце в організмі, в тому числі, і судинні ускладнення при ЦД.

Тим часом, незважаючи на важливість цієї проблеми, в сучасній клінічній практиці, так і в експериментальній, оцінка функціонального стану ендотелію представляє певні труднощі. Не дивлячись на те, що в даний час розроблені методики визначення в крові практично всіх ендотеліальних БАР, не всі ендотеліальні маркери мають однакову діагностичну цінність.

Існують підтвердження клінічної доцільності визначення низки біомаркерів, що характеризують різні функціональні стану ендотелію:

- атромбогенність судинної стінки – NO, t-PA, TM та ін.;
- тромбогенність судинної стінки – vWF, PAI-1, PAI-2 та ін.;
- регуляція адгезії лейкоцитів – P-и E-селектини, ICAM-1, VCAM-1 та ін. молекули адгезії;
- регуляція тону судин – ET-1, NO, PgI₂ та інші фактори;
- регуляція росту судин – VEGFs, основний фактор росту фібробластів (b-FGF – *basic fibroblast growth factor*) и др. [86,87].
- регенеративна здібність ЕК – ендотеліальні прогеніторні клітини (EPCs – *endothelial progenitor cells*) [88]

По суті справи, останнім часом частіше використовується оцінка функціонального стану ендотелію за рівнем продукції оксиду азоту і його метаболітів, за факторами гемостазу, що виробляються стінкою судин, по ендотеліну і т.д. Ці показники характеризують зміни функції ендотеліальних клітин, але не вказують на ступінь пошкодження і порушення цілісності ендотелію. Таким маркером пошкодження ендотеліального шару є визначення десквамованих циркулюючих ендотеліоцитів (ЦЕК).

ЦЕК – зрілі диференційовані клітини, які відділяються від стінки ендотелію в процесі його пошкодження, і тому можуть виступати прямим клітинним маркером дисфункції ендотелію [13,89,90].

У нормі загибель і потрапляння в кровоносне русло ендотеліальних клітин відбувається в певній «фізіологічній» кількості. За даними літератури, нормативним значенням рівня ЦЕК в венозній крові є 0-4 x 10⁴ клітин в літрі крові [91,92,93]

ЦЕК вперше були описані Bouvier С.А. і Hladovec J. в 1973 і 1978 рр. Hladovec в 1978 році спостерігав феномен так званої ендотеліоцитемії (ендотеліемії) у щурів після введення їм ендотоксину, гіалуронідази, стрептокінази і вазоактивних лікарських препаратів і розробив метод, що

дозволяє виділити і оцінити кількість циркулюючих ендотеліальних клітин в плазмі [94,95].

ЦЕК – об'єкти полігональної форми, з загнутими краями, діаметром приблизно 20-50 μM і товщиною близько 1 μM . ЦЕК мають плоску форму, витягнуте, розташоване в центрі ядро і характеризуються вираженою морфологічної неоднорідністю [96]. У той же час EPCs – похідні гемангіобластов кісткового мозку, в діаметрі становлять не менше 20 μM і несуть на собі маркери «незрілих» клітин [88].

Ендотеліоцити можуть від'єднуватися від стінки судини як у вигляді життєздатних клітин, так і у вигляді клітинних фрагментів. Також ЦЕК можуть бути представлені в периферичній крові апоптотичними клітинами, які можна відрізнити шляхом фарбування пропідієм йодиду, так як при апоптозі порушена цілісність плазматичної мембрани [97]. ЦЕК і ендотеліальні мікрочастинки можуть брати участь у формуванні провоспального фенотипу судинної стінки, грати роль в атерогенезе, погіршенні ангиогенезу, сприяти судинній кальцифікації артеріальної жорсткості [98,99].

Кількість ЦЕК в периферичній крові у здорових людей дуже мала, так як при відсутності патологічних станів процес оновлення ендотелію повільний, а нежиттєздатні ЦЕК швидко видаляються з кровотоку ретикуло-ендотеліальною системою. Кількість ЦЕК характеризує ступінь пошкодження судинної стінки [99-101].

Багаторічний досвід визначення ЦЕК по J. Hladovec у пацієнтів із ССЗ і за ЦД у багатьох країнах свідчить про високу ефективність і доцільність використання даного методу [95,99,102,103].

Згідно з даними літератури, кількість ЦЕК корелює з іншими маркерами ушкодження і активації ендотелію, такими як vWF, TM, E-селектин, а також потік-залежною дилатацією артерій, що підтверджує їх діагностичну цінність [92,100].

В даний час в клінічній лабораторній практиці для підрахунку кількості ЦЕК проводиться і використовуються і інші методики, наприклад, CD146-опосередкована іммуномагнітна ізоляція або за допомогою проточної цитофлуориметрії [89].

CD146-опосередкована іммуномагнітної ізоляції заснована на інкубації клітин крові з магнітними кульками, які пов'язані з моноклональними антитілами, що розпізнають поверхневий антиген, який експресується на ЕК – анти-CD146. Підрахунок ЦЕК після їх відділення концентратором магнітних частинок проводиться за допомогою імунофлюоресцентної мікроскопії. Ізольовані зрілі ЕК повинні бути ядерними клітинами великого діаметра, які пов'язують більше п'яти магнітних кульок і фарбуються лектином *Ulex Europaeus Agglutinin 1*, який селективно розпізнає ЦЕК шляхом зв'язування з фукозою на поверхні цих клітин [101]. Обмеження цієї методики пов'язані, головним чином, з неможливістю повного відділення ЦЕК від інших циркулюючих в крові клітин, тривалістю процедури дослідження і відсутністю автоматизації [104].

В основі методу проточної цитометрії лежить реєстрації сигналів світлорозсіювання і флюоресценції лазерного променя від кожної окремо взятої клітини. Сигнал прямого світлорозсіювання дає уявлення про розмір клітини, а бокового світлорозсіювання – про співвідношення ядро цитоплазма, наявності гранул і інших внутрішньоклітинних включень, що дозволяє в цілому судити про морфологію клітини і виділяти різні популяції клітин для подальшого аналізу. Оскільки нежиттєздатні клітини, фрагменти зруйнованих клітин (дебрис) і тромбоцити дають слабе світлорозсіювання, їх можна виключити з аналізу за допомогою дискримінатора приладу. Сигнал флюоресценції, що виходить від флюоресцентних міток моноклональних антитіл до поверхневих антигенів клітин, реєструється системою світлофільтрів і фотопомножувачів в діапазоні довжин хвиль, відповідних флуорохрому, що дозволяє диференціювати клітини в залежності від їх CD-приналежності.

Для ідентифікації ЦЕК часто використовується маркер CD146-PE (фікоеритрин) і в якості панлейкоцитарного маркеру CD45-PC5 (фікоеритрин + ціанін 5), який в тому числі пов'язує і активовані Т-лімфоцити. Деякими зарубіжними дослідниками з метою підвищення чутливості методики додатково використовується маркер CD31 для виключення з аналізу без'ядерних клітин, таких як тромбоцити, і фрагментів зруйнованих ЕК. Слід враховувати, що зруйновані клітини мають схильність до неспецифічного зв'язування з CD-маркерами [101,105].

Метод проточної цитометрії для визначення кількості ЦЕК вперше був застосований А. Widemann et al. у хворих з неопластичними захворюваннями, проте до цих пір не існує єдиного протоколу дослідження, тому що ЦЕК експресують велику кількість поверхневих маркерів [89,101].

На ЦЕК виявляються специфічні для ендотеліоцитів маркери, такі як CD146, TM, VEGFR-2, CD144, а також vWF, PECAM-1, CD34, CD36 і CD51, або інтегрин αV та ін. VEGFR-2 і CD34 також є маркерами гемангіобластов і гематопоетичних клітин-попередників. Більшість виявлених ЦЕК мають мікросудинного походження внаслідок наявності CD36. У зв'язку з тим, що на поверхні ЦЕК експресується велика кількість різних маркерів, визначення ЦЕК методами CD146-опосередкованої іммуномагнітної ізоляції або проточної цитометрії викликає певні труднощі. Все більш складні антигенні фенотипи можуть бути більш специфічними для ЦЕК, але в той же час мати нижчу відтворюваність, що обмежує їх застосування в клінічній практиці [19].

1. 4. Роль дисфункції ендотелію в патогенезі діабетичної хвороби нирок

Діабетична нефропатія у вигляді вузликового гломерулосклерозу була вперше описана ще в 1936 р Р. Kimmelstiel і С. Wilson і протягом тривалого часу ця поразка розглядалась в якості головного прояву діабетичної нефропатії [106].

Діабетична нефропатія відноситься до одного з основних мікросудинних ускладнень ЦД 1 і 2 типу. В середньому, цим ускладненням страждає кожна друга людина з ЦД 2 типу через 10-15 років від початку захворювання, а при ЦД 1 типу порушення реєструються набагато раніше [106,107].

У зв'язку з ростом числа пацієнтів із нирковою недостатністю, що розвилася в результаті різних нозологічних форм, в 2002 році національним нирковим фондом США (KDOQI-2002) було рекомендовано об'єднати захворювання нирок з відомою причиною, а також з патологією, що супроводжується зниженням ШКФ менше 60 мл/хв/1,73 м² протягом 3 міс. і більше навіть при відсутності лабораторно-інструментальних ознак ураження нирок, незалежно від діагнозу, в термін «хронічна хвороба нирок». У перегляді KDOQI-2007 для позначення ХХН у хворих на ЦД запропонований термін «діабетична хвороба нирок» (ДХН) [108].

Діабетична хвороба нирок – невід'ємний компонент кардіоренального континууму, який визначає взаємозв'язок патологічних процесів ССС і нирок [9].

ДХН відображає специфічне ураження нирок у хворих на ЦД, що призводить до формування вузликового або дифузного гломерулосклерозу і виявляється МАУ і/або зниженням ШКФ. Розвиток ДХН пов'язан зі структурними і функціональними змінами, викликаними метаболічними і гемодинамічними факторами, які можуть призводити до необоротних життєзагрозливих наслідків, в т.ч. в слідстві зниження негативного заряду клітинних мембран, порушення транспорту катіонів, підвищення реабсорбції Na, порушення метаболізму ліпідів і т.д.

ДХН є основною причиною ХХН в розвиненому світі і зачіпає близько 15-25% пацієнтів із ЦД 1 типу і 30-40% пацієнтів із ЦД 2 типу. У всьому світі термінальна ХНН, що виникла внаслідок ЦД, залишається провідною причиною смертності хворих із ЦД 1 типу, у хворих на ЦД 2 типу вона займає друге місце серед причин смерті, поступаючись лише ССЗ [108].

ШКФ є головним критерієм для визначення конкретних стадій ХХН, і цей найважливіший показник функціонального стану нефрона обраний тому, що від нього залежить виконання нирками всіх гомеостатических функцій, в тому числі і основної функції сечоутворення. Дослідження показують, що ступінь зниження ШКФ прямо корелює з різними клінічними і метаболічними змінами, що виникають у міру прогресування ХХН [489]. Зниження ШКФ на кожні 10 мл/хв асоціюється зі збільшенням кількості кардіоваскулярних ускладнень на 20%, а загальної летальності на 33%, тобто наявність ХХН є сильним незалежним чинником ризику несприятливого перебігу і смертності пацієнтів із ССЗ [109].

В даний час виділяють 5 стадій ХХН, проте з урахуванням ниркового і серцево-судинного прогнозів, 3 стадію запропоновано розділяти на дві подстадії: IIIa (при ШКФ від 59 до 45 мл/хв), для якої більш характерно прогресування серцево-судинної патології, ніж ХХН, і IIIб стадію (при ШКФ від 44 до 30 мл/хв), коли ризик прогресування ХХН вище, ніж ризик серцево-судинних ускладнень [108].

III стадію ХХН прийнято вважати початком розвитку хронічної ниркової недостатності, у міру прогресування якої відбувається порушення роботи основних гомеостатичних функцій нирок, що відповідають за регуляцію водно-сольового і кислотно-лужного балансу, що супроводжується пошкодженням всіх органів і тканин, створюючи загрозу для життя. Ознаки, пов'язані з розвитком ХХН, починають виявлятися з третьої стадії ХХН, коли падіння ШКФ поєднується з появою симптомів уремичної інтоксикації, максимально наростаючи до 5 стадії, коли приєднуються анемія переважно через зменшення продукції еритропоєтину, порушення фосфорно-кальцієвого обміну з формуванням вторинного гіперпаратиреозу через зменшення внутришньониркового синтезу 1,25-дигідрокси-холекальциферолу і розвиток метаболічного ацидозу [110].

Якщо розглядати чинники ризику, що сприяють розвитку ХХН, то можна виділити фактори, які ініціюють розвиток ХХН: наявність ЦД 1 і 2

типу, ГХ, інфекцій і обструкцій сечових шляхів, сечокам'яної хвороби, токсичних лікарських препаратів, і, відповідно, фактори прогресування ХХН, т.к. гіперглікемія, дисліпідемія, АГ, протеїнурія, МАУ і анемія. На розвиток ХХН впливають і ряд факторів, що не залежать безпосередньо від пацієнта з ЦД, до яких відносяться: біологічні вік, вага, низька маса тіла при народженні або недоношеність, тому що формування і дозрівання функціонуючих нефронів відбувається на 38 тижні внутрішньоутробного розвитку, зменшені розміри нирок, обтяжений сімейний анамнез і, відповідно, патогенетична схильність, а також екологічні і соціальні фактори, такі як паління, вживання алкоголю, низький матеріальний дохід, часті стреси [111].

Незважаючи на численні дослідження, патогенетичні механізми, що лежать в основі ДХН, ще не повністю з'ясовані. Патофізіологічні зміни ДХН проявляються як МАУ і гіперфільтрація на ранніх стадіях захворювання з подальшим прогресуванням альбумінурії і зниженням ШКФ на пізніх стадіях захворювання нирок. Варто зауважити, що у пацієнтів із ЦД 2 типу момент постановки діагнозу часто не збігається з початком захворювання, так як довгий час ЦД може носити безсимптомний характер, тому скринінг ДХН у таких хворих необхідно проводити відразу з моменту верифікації діагнозу ЦД.

Головним механізмом зміни функції нирок у хворих на ЦД, які розвиваються до прояву МАУ, вважається гіперфільтрація, що є пристосувальною реакцією організму на підвищення рівня глюкози, тому що внаслідок збільшення об'єму крові з'являється необхідність позбавитися від зайвої рідини, що проявляється збільшенням клубочкової фільтрації [112]. Разом з тим, варто зазначити, що загальні втрати білка на цій стадії можуть бути наслідком збільшення ШКФ в відносно не пошкоджених нирках [113].

Феномен гіперфільтрації і внутрішньоклубочкової гіпертензії був відкритий в 1996 році В.М. Brenner [114]. Посилення клубочкової фільтрації обумовлено збільшенням швидкості внутрішньогломерулярного кровотоку,

в основі котрого лежить дилатація артеріол. Збільшення діаметрів внутрішньониркових артеріолярних мікросудин пов'язано з дією численних чинників [115].

Перш за все, це пов'язано з хронічною гіперглікемією, яка викликає спочатку функціональні, а потім і структурні зміни в нирках. У той же час гіперглікемія має судинорозширювальний ефект [116]. При цьому в клітинах нирок накопичується сорбітол і знижується міоїнозитол, що також сприяє вазодилатації. Підвищення рівня глюкози посилює в нирці експресію рецепторів до інсуліноподібних факторів росту, зокрема IGF-1, які стимулюють калекреїн-кінінову систему, збільшуючи нирковий кровообіг і клубочкову фільтрацію [117].

Ще один механізм гіперперфузії полягає в вазодилатуючому ефекті глюкагону, синтез якого підвищується за ЦД. Дія цього гормону, ймовірно, опосередковується через внутришньониркову простагландинову систему [118]. Гіперглікемія викликає дисбаланс між судинозвужувальними і судинорозширювальними її компонентами в бік переважання другого. В результаті знижується тонус приносячих артеріол і зростає кровотік, а, отже, і клубочкова фільтрація [119].

У нормі процес гемофільтрації проходить через 3 бар'єри: ендотелій капілярів клубочка, власне БМ і щільну діафрагму подоцитів. Загальна поверхня капілярів клубочка складає приблизно $1,5 \text{ м}^2$, і близько 30% всієї ендотеліальної поверхні судин організму локалізовано в нирках [120,121].

Гломерулярний ендотелій фенестрованого типу, що є як функціональною, так і морфологічною характеристикою. Тонкі і пористі сегменти ендотеліальної цитоплазми, або поля фенестрації, пропускають основний потік фільтрується рідини, але через фенестри не проходять формені елементи крові і великі молекули. Без ендотеліоцитів нирка не змогла б виконувати свою основну функцію по очищенню низькомолекулярних відходів з кровоносного русла [120].

Нирки сильніше інших органів і тканин залежать від функціонального

стану ендотелію судин, тому що крім гіперглікемії, до факторів, що ушкоджують клубочки нирок приєднується механічне пошкодження тиском. Гідростатичний тиск крові в приносячій частини капілярів клубочка 60-70 мм рт. ст., вище, ніж в капілярах інших тканин приблизно на 30 мм рт. ст., і, за рахунок судинного опору, знижується на 2-5 мм рт. ст. в виносячій частині капілярів [120-122].

За ЦД в ДХН залучені різні клітини, включаючи гломерулярні подоцити, мезангіальні і гломерулярні ЕК, а також епітеліальні клітини трубочок, інтерстиціальні фібробласти і судинні ЕК. Морфологічні зміни нирок найчастіше проявляються потовщенням БМ, розширенням мезангія і формуванням вузликів Кіммельстіла-Вілсона. Щодо каналців нефрона, то переважно ураження зазнають проксимальні відділи, що підлягають впливу метаболічних і гемодинамічних порушень [123]. Ступінь ураження каналців залежить від таких факторів, як високий рівень глюкози і зміст AGEs, а також великої кількості білка, який профільтровується через гломерулярний капілярний бар'єр [124]. Передбачається, що за ЦД раніше всього пошкоджується ендотелій, який є першим шаром на шляху ультрафільтрації в капілярах клубочків [125,126].

Гломерулярний ендотелій, що становить до 20% поверхні ендотелію, служить бар'єром для ефективної абсорбції, секреції і фільтрації. Після того, як до 30% об'єму крові фільтрується клубочком, кров надходить у еферентні артеріоли і володіє підвищеною в'язкістю [127].

Ендотеліальна система в нирках не тільки відрізняється від ендотелію інших органів і систем, але також володіє гетерогенністю, характерною для кожного судинного елемента нирки. ЕК ниркових артерій, артеріол, капілярів, венул, вен і клубочкових капілярів мають відмінні фенотипічні і функціональні особливості. На кожному етапі, від гіперосмолярних, гіпоксичних зон внутрішньої мозкової речовини до кори нирки, ендотеліоцити на окремих ділянках виконують різні функції з метою підтримки гомеостазу в нирках. У зв'язку з цим ЕК, отримані з різних ділянок

нирок, демонструють індивідуальні структурні і функціональні властивості, зокрема, характеризуються різною експресією хемокінів. Ця мінливість може також призводити до диференціальної сприйнятливості до апоптозу і диференціальною відповіддю на зміни або стимули мікрооточення [126].

Роль ендотелію в регуляції судинного тонуусу і нирковій гемодинаміці опосередкована взаємодією продукуєчими ендотелієм потужними БАР. Знаходячись під тривалим впливом гіперглікемії, знижується біодоступність NO і секреція Pgl₂, підвищується секреція ET-1, активація експресії молекул адгезії, посилюється агрегація тромбоцитів, ОС, проліферація ГМК [128].

Не менш важливу роль в патогенезі ДХН грає інсулін і порушення внутрішньоклітинних шляхів інсулінового сигналу в ендотелії ниркових клубочків і каналців. І хоча вважається, що нирки не відносяться до «класичних» інсулін-чутливих тканин і органів, у всіх ниркових структурах виявлено значну кількість рецепторів до інсуліну і IGF, а також гібридних рецепторів, що вказує на інсуліночутливості ниркових клітин [122].

Молекула інсуліну у вигляді мономера має невеликий розмір, що дозволяє їй вільно проникати з кров'яного русла в просвіт каналця через нирковий фільтраційний бар'єр [129,130].

Інсулін впливає на всі три типи клітин, що входять в структуру ниркових клубочків: ендотеліоцити, подоцити і мезангіальні клітини, і по-різному відповідають на інсуліновий сигнал. Зокрема, інсулін знижує нирковий глюконеогенез, локально розширює ниркові судини, підвищуючи ренальний кровотік і ШКФ, модифікує функцію іонотранспортних каналів, впливаючи на реабсорбцію солей, а також надає антиапоптотичну дію на гломерулярні клітини [131]. ЕК клубочків реагують на інсулін, швидко підвищуючи продукцію eNOS, тим самим забезпечуючи краще проникнення інсуліну і глюкози до подоцитів, які розташовані під ними [132].

Нарівні з ендотелієм, в патологічний процес втягується БМ. БМ клубочків (БМК) здійснює фіксацію ЕК, формує зовнішню опору для їх цитоскелету, а також відіграє важливу роль в транспорті речовин через

капілярну стінку. БМК є основною частиною фільтра, що перешкоджає проникненню з плазми крові великомолекулярних з'єднань. БМК має тришарову структуру товщиною 250-400 нм, складається з колагеноподібних філаментів, глікопротеїнів і ліпопротеїнів. Товщина пір БМК не більше 3 нм, що дозволяє здійснювати розміроселективну проникність для білкових молекул [120].

У нормі поверхня БМК володіє негативним зарядом, який створюється глікозаміногліканами, зокрема, гепаран-сульфатом, який входить до складу зовнішнього і внутрішнього шарів БМК. Отже, в БМК функціонує електростатичний фільтр, який відповідає за проходження молекули не тільки в залежності від її розміру і конфігурації, але і від її електричного заряду. За рахунок роботи електростатичного фільтра повинні ставитися перешкоди проходження через фільтраційний бар'єр альбумінів, чия молекулярна маса дозволяє пройти крізь пори БМК. При збереженій зарядоселективності БМК, альбумінурія не перевищує 30 мг/сут. При втраті негативного заряду БМК, підвищується альбумінурія [133].

За ЦД, в умовах гіперглікемії, одним з факторів, що призводить до втрати негативного заряду БМК, є глікозилювання білків БМК. В результаті глікозилювання білків БМК відбувається потовщення її стінки, деформація і порушення функції: знижується еластичність судинної стінки, підвищується проникність і порушується транскапілярний транспорт [81].

Проліферація ЕК призводить до демаскування рецепторів клітинної поверхні і руйнування щілинних контактів в міжендотеліальних контактах. Лише після відновлення безперервності ендотеліального пласта кількість і розміри щілиновидних з'єднань нормалізуються. Внаслідок недорозвиненості міжклітинних контактів, проникність новоутвореного пласта для макромолекул збільшена. Відновлення нормальної структури міжендотеліальних з'єднань і синтез БМ мають основне значення для нормалізації бар'єрної функції ендотелію. Разом з тим, підвищена проникність новоутвореного пласта може зберігатися протягом тривалого

терміну [134].

Слідом за змінами в ендотелії і БМК за розвитку ДХН зміни зачіпають і подоцити, – великі епітеліальні клітини, що утворюють внутрішній листок капсули клубочка. Від тіла подоцита відходять великі відростки, що діляться на малі відростки (цитоподії), які розташовуються майже перпендикулярно до великих відростків. Система пір фільтрації представлена щільною діафрагмою діаметром 5-12 нм, утвореної цитоподіями і розташованими між ними фібрилярними сполуками. У нормальних умовах подоцити синтезують білки БМК, колаген 4-го типу, ламінін, протеоглікани. В результаті зміни клітинної адгезії або механічного впливу, подоцити пошкоджуються і частково відокремлюються від БМК [120,122].

Подоцити реагують на постпрандіальну стимуляцію інсуліном подібно до м'язових клітин, шляхом швидкого посилення поглинання глюкози і скорочення. Дія інсуліну на подоцити здійснюється за допомогою стимулювання транслокації транспортерів глюкози – GLUT4 і GLUT1 [117], ремоделювання актинового цитоскелету і посилення надходження Ca^{2+} в клітини [135]. В даний час накопичен цілий ряд доказів того, що зниження інсулінової відповіді ниркових клітин лежить в основі ряду ускладнень, супутніх інсулінорезистентним станам, включаючи альбумінурію і АГ [136].

Мезангіоцити, розташовані між капілярними петлями клубочка, здатні продукувати компоненти внутрішньоклітинного матриксу: колаген 1-го, 3-го, 4-го типів, ламінін, фібронектин, протеоглікани і утилізувати їх. Проліферація мезангіальних клітин – важлива ланка розвитку ХХН. У склерозованих ниркових клубочках зростає продукція даними клітинами атипових інтерстиціальних колагенів 1-го і 3-го типів. При цьому контакт мезангія з колагеном 1-го типу викликає продукцію ними збільшеної кількості ТФР- β , який, в свою чергу, стимулює синтез клітинами білків внутрішньоклітинного матриксу, що сприяє ще більшому розвитку фіброзу. Порушення функції гломерулярних клітин веде до кількісних і якісних змін глікопротеїнів і протеогліканів БМК. Крім того, внаслідок посиленого

апоптозу подоцитів, обумовленого впливом ТФР- β , формуються синехії між БМК і капсулою Боумена [120,137].

Дисфункція гломерулярного ендотелію характеризується підвищенням активності вазоконстрикторів, таких як АТ-II, ЕТ, ТхА₂, молекул клітинної адгезії, а також посиленою ROS і прокоагулянтною активністю. Посилена експресія вазоконстрикторів індукує гемодинамічну дезадаптацію, що характеризується переважним звуженням еферентної артеріоли і, отже, відповідне зменшення перитубулярного кровотоку [138].

Крім капілярів клубочка, за ЦД, в меншій мірі, але також пошкоджуються капіляри перитубулярних мереж, локалізовані поблизу каналців нирок, в які реабсорбуються речовини з просвіту каналців. Прогресування ХХН характеризується зростання втрати гломерулярних і перитубулярних капілярів. Втрата гломерулярних капілярів асоційована з посиленням апоптозу ЕК і корелює з розвитком гломерулосклерозу [137].

Таким чином, в патогенезі підвищення клубочкової фільтрації на ранніх стадіях ЦД беруть участь численні метаболічні, гормональні та гемодинамічні механізми [139]. При цьому більше значення має дія не кожного з них окремо, а сумарний ефект, можливо на тлі індивідуальної гіперчутливості нирки до вказаних факторів.

Встановлено, що ДХН виникає далеко не у всіх випадках ЦД, а приблизно у половини пацієнтів. Це може бути непрямим доказом того, що ураження нирок розвивається на тлі спадкової схильності до нефропатії, а також при впливі інших епігенетичних факторів. Дослідження, проведені останнім часом, дозволили виявити кілька груп «генів-кандидатів», мутації яких мають велике значення для формування ДХН [140]. Перш за все, до них відносять гени, які беруть безпосередню участь в генезі самого ЦД, такий як регіон гена інсуліну, HLA і гени, що регулюють систему рецепторів до інсуліну. Певну роль відіграють гени, що детермінують рівень АТ – РААС, АПФ, рецептори АТ, а також гени, що регулюють транспорт катіонів Na і водню, концентрацію кінази С, гаптоглобіну, калекреїн-кінінової системи.

Важливе місце в механізмах реалізації спадкової схильності займають гени, що кодують компоненти гломерулярної БМ [141].

Отже, виявлення механізмів формування ДХН, моніторинг її розвитку є актуальним питанням не тільки діагностики, але і розробки патогенетичної терапії.

Результати даного розділу опубліковані в наступних роботах:

Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Быць Т.Н., Сусла А.Б. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненных сахарного диабета. Сообщение I. Эндотелиальная дисфункция: этиология, патогенез и методы диагностики. Эндокринология. 2017; 22 (2): 171-81.

Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Быць Т.Н. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненных сахарного диабета. Сообщение II. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненных сахарного диабета I и II типа.

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>.

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.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Методи дослідження

Дисертаційна робота базується на результатах клінічного спостереження, лабораторно-інструментальних і спеціальних методів дослідження 130 хворих на ЦД, а також подальшого лікування 50 пацієнтів, що знаходяться в терапевтичному відділенні Комунальне Некомерційне Підприємство «Одеський обласний клінічний медичний центр» Одеської обласної Ради» (КНП «ООКМЦ» ООР») в період з 2016 по 2021 роки.

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 оксиду азоту – нітрит і нітрат-аніонів, загальної кількості ЦЕК і циркулюючих ендотеліоцитів 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.

Для встановлення клінічного діагнозу, визначення тактики лікування, а також для оцінки його ефективності всі хворі були обстежені згідно з планом, прийнятим для ендокринного хворого. З'ясовували початок і тривалість захворювання, характер його перебігу, вид і результати раніше проведеного лікування. Це включало вивчення анамнезу життя і хвороби, клінічної симптоматики, проведення стандартних лабораторних та інструментальних тестів, а також спеціальних методів дослідження, що дозволяють оцінити структуру та функціональний стан ендотелію судин. Обстеження хворих починалося після госпіталізації і оформлення історії хвороби з вивченням скарг хворого, його анамнезу та загального стану організму шляхом дослідження систем і органів.

2.1.1. 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 огляді пацієнта оцінювали запах і поведінку пацієнта, загальний стан хворого, форму шиї, визначали антропометричні показники і пропорційність розвитку, стигми розвитку, відповідність фенотипу генотипу.

При об'єктивному обстеженні пацієнтів оцінювали стан шкіри, підшкірної жирової клітковини, видимих слизових, кісткові деформації, наявність набряків, їх консистенцію, вираженість і розподіл, стан лімфатичних вузлів.

При оцінці шкірних покривів звертали увагу на наявність гіперпігментації, зокрема, на чорний акантоз, гіперкератоз, ксантомні плями, стрії, жирну сіборею шкіри, вугровий висип, на наявність патологічних елементів шкіри і їх характер, на стан волосяного покриву, нігтів.

Здійснювалася пальпація щитовидної залози, молочних або грудних залоз. Додатково проводилася оцінка дихальної, серцево-судинної, травної, кісткової і сечо-статевої систем.

Верифікацію діагнозів проводили згідно з наказами МОЗ України №436 від 03.07.2006 року та № 1118 від 21.12.2012 року. Діагноз ЦД 1 типу

верифікували згідно діагностичних критеріїв ADA 2016 і уніфікованого клінічного протоколу первинної, екстреної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги «Цукровий діабет 1-го типу у молодих людей і дорослих» № 1021 від 29.12.2014 року.

Діагноз ЦД 2 типу встановлювали відповідно до загальних рекомендацій ADA і Європейської асоціації з вивчення діабету (EASD – *The European Association for the Study of Diabetes*) за критеріями діагностики ЦД. Критерієм диференціації компенсації і декомпенсації був рівень глікозильованого гемоглобіну.

Відповідно до сучасних уявлень, тяжкість перебігу ЦД визначається саме наявністю ускладнень: легкий перебіг визначається при відсутності макро- і мікросудинних ускладнень і полінейропатії; середній ступінь тяжкості – при наявності початкових стадій ретино- і нефропатії і полінейропатії, важкий перебіг – при наявності виражених стадій ретино- і нефропатії, вегетативної полінейропатії і макроангіопатії [80].

Верифікацію ожиріння проводили відповідно до рекомендацій Європейської асоціації з вивчення ожиріння (EASO – *European Association for the Study of Obesity*). Для постанови діагнозу визначали індекс маси тіла (ІМТ), який розраховували як відношення маси тіла до росту в квадраті згідно ВООЗ (1998). Нормальну вагу вважали за ІМТ від 18,5 до 24,9 кг/м². ІМТ менше 18,5 кг/м² брали за дефіцит маси тіла. ІМТ в діапазоні від 25 до 29,9 кг/м² брали за надмірну вагу. Ожиріння діагностували по ІМТ > 30 кг/м²; ІМТ 30-34,9 кг/м² – ожиріння I ступеня, ІМТ 35-39,9 кг/м² – ожиріння II ступеня, від 40 до 44,9 кг/м² – III ступеня, ІМТ більше 45 кг/м² – ожиріння IV ступеня.

При постановці діагнозу ДХН використовувалися сучасні рекомендації національного ниркового фонду США (KDOQI – *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*). ДХН виставлялася на підставі наявності наступних критеріїв [108]:

1. Стійкі патологічні зміни в сечовому осаді, зокрема, альбумінурії > 30

мг/сут або альбумін-креатинінове співвідношення (АКС) > 30 мг/г або 3 мг/ммоль на протязі > 3 місяців.

2. Стійкі зміни електролітного складу крові і сечі, зумовлені каналцевими розладами.

3. Структурні порушення у вигляді аномалій, змін розмірів і форми нирок, кіст і т.д.

4. Патологічні зміни тканини нирок, виявлені при біопсії.

5. Зниження ШКФ < 60 мл/хв/1,73 м² з наявністю або без ознак пошкодження нирок.

ШКФ, відповідно до сучасних рекомендацій KDOQI, визначали за формулою GFR-EPI:

$$\text{ШКФ} = 141 \times \min(S_{Cr}/k, I) \times \max(S_{Cr}/k, I) - 1,200 \times 0,993^{\text{вік}} \times [1,018 \text{ для жінок}], \text{ де}$$

S_{Cr} – креатинін сироватки (мг/дл); k – 0,7 для жінок і 0,9 – для чоловіків.

Під значенням «стійкості» приймають термін 3 місяці тому, що в дані терміни гострі варіанти пошкоджень нирок або завершуються одужанням, або призводять до хронізації процесу і, разом з тим, ХХН може встановлюватися і після однократного дослідження при виявленні необоротних структурних змін нирок або зниженні ШКФ менше 60 мл/хв [108].

Діабетична периферична нейропатія виставлялася на підставі суб'єктивних і об'єктивних ознак у пацієнтів з ЦД при відсутності інших причин пошкодження периферичних нервів. До суб'єктивних ознак відносилися: оніміння, ниючий, пекучий, стріляючий біль, «повзання мурашок», гіперестезія, аллодінія. Об'єктивні ознаки ураження периферичної нервової системи включали зниження температурної, больовий, вібраційної чутливості, почуття тиску, суглобово-м'язового почуття, колінних і/або ахіллових рефлексів, а також гіпотрофія і слабкість дистальних м'язів.

Верифікацію гіпертонічної хвороби (ГХ), визначення стадії і ступеня

захворювання проводили відповідно до критеріїв Європейського товариства гіпертензії (ESH – *European Society of Hypertension*)/Європейського товариства кардіологів (ESC – *The European Society of Cardiology*). ГХ реєструвалась при систолічному артеріальному тиску (САТ) ≥ 140 мм рт. ст. і/або діастолічному артеріальному тиску (ДАТ) ≥ 90 мм рт. ст. у осіб, які не приймають антигіпертензивну терапію. Вимірювання АТ проводилися механічним тонометром, тричі з інтервалом 3-5 хвилин в спокійному оточенні після 5-хвилинного відпочинку. Проводилась оцінка частоти серцевих скорочень (ЧСС) і пульсу в спокої, за нормальну ЧСС брали 60-80 ударів/хв [142].

Показники ліпідного обміну оцінювалися відповідно до рекомендацій ESC і Європейського товариства атеросклерозу (EAS – *European Atherosclerosis Society*). ЛПНЩ розраховувалися за формулою W.T. Friedewald (1972) [80].

З метою виявлення супутньої патології, діагностики серцево-судинних ускладнень у пацієнтів із ЦД проводилися консультації суміжних фахівців. Діабетична ангіопатія судин сітківки виставлялася на підставі висновку окуліста.

2.1.2. 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.

Для лабораторного дослідження використовували сироватку крові, плазму крові і цільну кров. Первинне обстеження пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу включало: клінічні, біохімічні лабораторні методи дослідження, загальноприйняті при обстеженні хворих ендокринологічного профілю: загальний аналіз крові з визначенням гемоглобіну, еритроцитів, тромбоцитів, кольорового показника, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) і

лейкоцитарної формули кондуктометричним методом і загальний аналіз сечі з визначенням кольору, прозорості, питомої ваги, кислотність середовища (рН) і мікроскопії осаду. Біохімічний аналіз крові проводився за допомогою наборів реактивів фірми «BioSystems reagents and instruments» (Іспанія) і включав в себе визначення рівнів загального білка, загального білірубину, трансаміназ – аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), тимолової проби, α -амілази, сечовини і креатиніну. Загальний білірубін визначався фотометричним методом Л. Ендрашіка.

Глікемічний профіль включав в себе визначення рівня глікозильованого гемоглобіну 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.

Мікроскопію сечового осаду визначали за методом Нечипоренко за стандартною методикою за допомогою камери Горяєва. Рівень альбуміну в сечі визначали на напівавтоматичному імуноферментному аналізаторі Immunoshem 2100 № 9257 (США) за принципом конкурентного імуноферментного аналізу за допомогою набору «Гранум», оцінюючи показники за наступною шкалою: оптимальна альбумінурія (<29 мг/л), виражене підвищення (30-299 мг/л), дуже високий рівень альбумінурії (> 300 мг/л), нефротична стадія альбумінурії ≥ 2000 мг/л.

Ліпідний профіль оцінювали за концентрацією загального холестерину, тригліцеридів (ТГ), ЛПДНЩ, ЛПНЩ, ЛПВЩ, а також коефіцієнта атерогенності (КА). Зміст загального холестерину в сироватці крові визначали колориметричним, ензиматичними методом з естразою і оксидазою, використовуючи набори реактивів Liquick Cor-CHOL Cormay. Концентрація ЛПВЩ і тригліцеридів визначалася спектрофотометрично ферментативним методом за участю пов'язаних реакцій за допомогою

наборів виробництва BioSystems [143]. Після осадження ЛПДНЩ і ЛПНЩ за допомогою фосфовольфрамату і іонів Магнію з подальшим центрифугуванням суміші і дослідженням супернатанту, оцінювали рівень ЛПВЩ.

Вміст ЛПДНЩ розраховували за формулою:

$$\text{ЛПДНЩ, ммоль/л} = \text{ТГ} / 2,2$$

Рівень ЛПНЩ – різниця між загальним холестерином і холестерином у фракціях ЛПВЩ і ЛПДНЩ [144]:

$$\text{ЛПНЩ, ммоль/л} = \text{загальний холестерин} - (\text{ЛПВЩ} + \text{ЛПДНЩ})$$

Порушення ліпідного обміну діагностували при вмісті загального холестерину $\geq 5,0$ ммоль/л, ХС-ЛПНЩ $\geq 3,0$ ммоль/л. Факторами підвищеного серцево-судинного ризику вважали рівень ТГ більше 1,7 ммоль/л або зниження вмісту ХС-ЛПВЩ менше 1,0 ммоль/л і 1,2 ммоль/л у чоловіків і жінок відповідно [145].

2.1.3. Методи дослідження стану ендотелію

Для дослідження структурного і функціонального стану ендотелію, визначали наявність та ступінь ендотеліального ушкодження і рівень стабільних метаболітів оксиду азоту у хворих на ЦД 1 і 2 типу. Десквамацію ендотелію визначали за методом J. Hladovec [94].

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 (АДФ).

Біосубстрат: венозна гепаринізована кров – 8,0 мл, без видимих ознак гемолізу, взята натщесерце і зберігається на холоді при $+4^{\circ}\text{C}$ не більше 4 год.

Устаткування: світловий і фазовоконтрастний мікроскоп Micromed XS-3320 (бінокулярний), камера Горяєва, лейкоцитарний меланжер, предметні і покривні скла.

Реактиви: Гепарин, 0,9% розчин NaCl (фізрозчин), натрієва сіль аденозиндифосфата.

Хід дослідження. Для отримання багатої тромбоцитами плазми відразу після взяття кров центрифугували 10 хвилин зі швидкістю 1000 обертів на хвилину. Потім 1 мл плазми змішують з 0,2 мл натрієвої солі аденозиндифосфату в концентрації 1 мг/мл. Отриману суміш механічно перемішують протягом 10 хв акуратним струшуванням пробірок, після чого знову центрифугують в колишньому режимі для видалення агрегатів тромбоцитів. Вільний від тромбоцитів супернатант переносять в іншу ємність і центрифугують при 3000 оборотах на хвилину протягом 15 хвилин для осадження ЕК. Потім надосадочну плазму акуратно видаляють, а отриманий осад суспендують в 0,1 мл 0,9% розчину хлориду натрію і перемішують скляною паличкою. Готової суспензією заповнювали камеру Горяєва і підраховують ендотеліоцити в 2 сітках камери методом фазово-контрастної мікроскопії. З огляду на співвідношення між кількістю клітин в сітці і обсягом камери Горяєва, обсяг отриманої суспензії і обсягу плазми, розраховуємо кількість ЕК 1 мл плазми.

Також оцінювали як загальну кількість ЦЕК, так і концентрацію ЦЕК на різних стадіях розпаду: на початковій (S_1), стадії виражених змін (S_2) і на кінцевій стадії (S_3) [146,147].



Рисунок 2.1. Ендотеліальна клітина в камері Горяєва (фазово-контрастна мікроскопія, $\times 40$) початкова стадія розпаду. Мікрофотографія зроблена бінокулярним мікроскопом Micromed XS-3320 microscope і об'єктивом Plan 40Ph/0.25

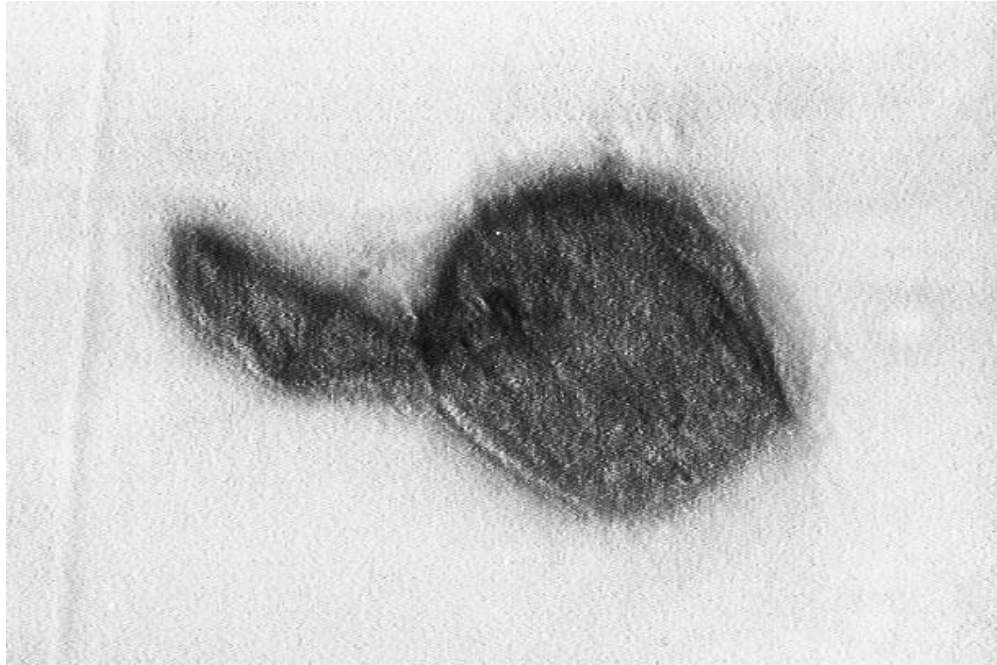


Рисунок 2.2. Ендотеліальна клітина в камері Горяєва (фазово-контрастна мікроскопія, $\times 40$) на стадії виражених змін і кінцевій стадії. Мікрофотографія зроблена бінокулярним мікроскопом Micromed XS-3320 microscope і об'єктивом Plan 40Ph / 0.25

Плазмову концентрацію NO_2 визначали фотокolorиметричним методом L.C.Green et al. з використанням реактиву Грісса, концентрацію NO_3 – після їх відновлення в нітрити з використанням цинкового пилю. Нормою вважали зміст NO_2 в межах 0,05-4,2 мкмоль/л; референтні значення для NO_3 – 20-40 мкмоль/л [148].

2.1.4. Інструментальні методи дослідження

Електро-кардіографія проводилася в лежачому положенні в 12-ти відведеннях електрокардіографом «КардіоСпектр» (Україна). Швидкість руху стрічки становила 50 мм/с, посилення 1 мВ = 10 мм.

При аналізі кожної ЕКГ особлива увага приділялася діагностиці рубцевих змін міокарда після перенесеного ІМ, міокардіальної ішемії, порушень ритму (фібриляція передсердь) і провідності (порушення AV провідності і блокади ніжок пучка Гіса), наявності гіпертрофії відділів серця.

Для підтвердження ознак структурного ураження нирок всім пацієнтам проводилося ультразвукове дослідження нирок на апараті ALOKA ECHO CAMERA SSD-650 (Японія). Також проводилося ультразвукове дослідження органів черевної порожнини і за показаннями ехокардіографія, доплерографія судин ніхніх кінцівок, УЗД органів малого тазу, комп'ютерна томографія, мамографія і фіброгастродуоденоскопія за допомогою OLYMPUS CLE-F-10.

2.1.5. Методи статистичного аналізу

Статистична обробка та візуалізація даних проводилася за допомогою програм R (R Foundation) версії 3.5.1 [149], Microsoft Excel 2019 з пакетом Real Statistics Data Tool 2019 [150]. При описі кількісних даних були використані середні значення ($M - mean$) і їх стандартні відхилення ($SD - standard deviation$), мінімальні ($Min - minimum$) і максимальні ($Max - maximum$) значення, якісні - відсотки (%), а при порівнянні групових середніх, дані були представлені як M і стандартна помилка середнього ($SEM - standard error of the mean$). Q_1 , Q_2 і Q_3 означають перший (25%), другий (50%) і третій (75%) квартилі, відповідно. 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. Зв'язок і наявність кореляції між досліджуваними параметрами визначалася за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона (r). Коефіцієнт кореляції в діапазоні $0,5 \leq |r| < 1$ вказував на сильний кореляційний зв'язок, $0,3 \leq |r| < 0,5$ – на зв'язок середньої сили, $0 < |r| < 0,3$ – на слабкий кореляційний зв'язок. Різниця між групами визначалася за допомогою однофакторного

дисперсійного аналізу ANOVA. Значення $p < 0,05$ вважали статистично значущим.

Ми використовували програмне забезпечення R версії 3.5.1 для використання методів машинного навчання [150]. Класифікаційні моделі будувалися з використанням методу К найближчих сусідів (KNN – *k-nearest neighbors*). Прогностична ефективність побудованих прогнозних моделей оцінювалася з використанням точності, чутливості і специфічності, а також площ під кривими робочої характеристики приймача (ROC – *receiver operating characteristic*), значення AUC (*area under the curve*).

Проводили простий і множинний лінійний регресійний аналізи для оцінки прогнозу ступеня ендотеліальної десквамації у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу. Була застосована техніка кодування пустушок (*Dummy variable coding*) для кодування якісних змінних. Для оцінки прогностичної значимості моделі оцінювалися такі параметри, як коефіцієнт детермінації (R^2 – *coefficient of determination*), скоригований R^2 (*adjusted coefficient of determination*), статистична значимість коефіцієнтів регресії, статистичний критерій Стьюдента, 95% довірчі інтервали і чинник інфляції дисперсії (*variance inflation factor*).

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 1 І 2 ТИПУ

3.1. Клінічна характеристика пацієнтів

У дослідженні брало участь 150 піддослідних, з яких 130 хворих на ЦД 1 і 2 типу з важким перебігом захворювання, які склали основну групу, і 20 практично здорових осіб, порівнянних за статтю та віком, що входили в групу контролю.

Пацієнти відповідали всім критеріям включення і виключення. Критерії включення: чоловіки і жінки у віці від ≥ 18 років, здатні особисто прочитати і підписати інформовану згоду; пацієнти з клінічно діагностованим ЦД до моменту підписання інформованої згоди з погано контрольованим перебігом захворювання.

У дослідження не включали пацієнтів, які страждають когнітивними порушеннями або іншими психічними захворюваннями, діагностованими психіатром; з наявністю кардіоваскулярних подій (гострий період ІМ або цереброваскулярного інсульту, недавня коронарна реваскуляризація); пацієнтів, які брали участь в інших клінічних дослідженнях на період проведення даного дослідження; при наявності вагітності або періоду лактації; пацієнтів із захворюваннями периферичних судин, коагулопатіями, васкулітами або феноменом Рейно; пацієнтів з синдромом діабетичної стопи II класу по Вагнеру і вище, при наявності серцевої недостатності III, IV ст. по NYHA; пацієнтів із ДХН IV і V стадії і пацієнтів з цирозом печінки; пацієнтів із ЦД, які отримують ліпідознижуючі засоби, потенційно здатні впливати на функціональний стан ендотелію.

Додатково, для осіб групи контролю були наступні критерії включення: відсутність ЦД в анамнезі, відсутність діагностованої ХХН та іншої серцево-судинної патології.

Серед пацієнтів основної групи було 44,62 % (n = 58) чоловіків і 55,38% (n = 72) жінок, співвідношення чоловіків і жінок – 1:1,24. З обстежуваних пацієнтів, на ЦД 1 типу хворіло 23,85% (n = 31) пацієнтів, ЦД 2 типу – 76,15% (n = 99) людина. Вік пацієнтів перебував у межах від 18 до 80 років, середній вік склав $54,64 \pm 14,2$ року. Найбільше число пацієнтів (n = 54) мало вік від 50 до 65 років. Тривалість ЦД склала в середньому $11,73 \pm 8$ років. Пацієнти із ЦД 1 типу хворіли в середньому $7,87 \pm 6,45$, у пацієнтів із ЦД 2 типу захворювання тривало в середньому $12,93 \pm 8,08$ років. Дані тривалості ЦД серед пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу в залежності від статі представлені на *рис. 3.1*.

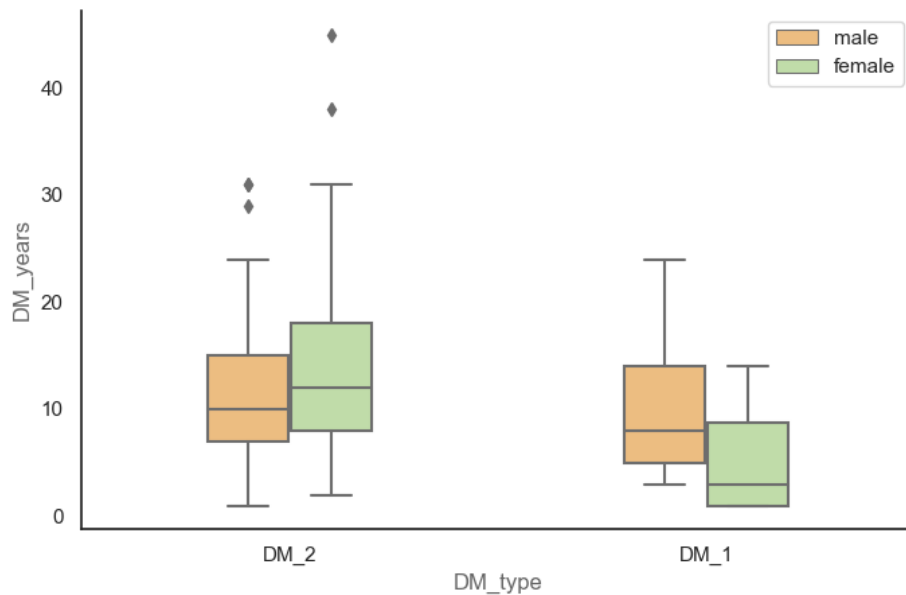


Рисунок 3.1 Тривалість ЦД серед пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу з розподілом за статевою ознакою.

Примітка: дані представлені як медіана та інтерквартильні діапазони.

Вуглеводний обмін характеризувався різним ступінем компенсації: HbA_{1c} знаходився в діапазоні від 5,7 до 11,3%. Середній рівень HbA_{1c} становив $8,34 \pm 1,11\%$.

У 10,77% (n = 14) обстежуваних пацієнтів вихідний рівень HbA_{1c} був $\leq 7\%$, 19,23% (n = 25) пацієнтів мали HbA_{1c} в діапазоні від 7 до 8%. У

34,62% (n = 45) пацієнтів HbA_{1c} варіював від 8 до 9%. Концентрацію $HbA_{1c} > 9\%$ мало найбільша кількість пацієнтів – 35,38% (n = 46).

Декомпенсація ЦД, що характеризується $HbA_{1c} \geq 7,5\%$, глікемією $> 11,5$ ммоль/л і глюкозурією спостерігалася у 78,46% пацієнтів (n = 102) основної групи, серед яких було 21,57% пацієнтів (n = 22) із ЦД 1 типу і 78,43% пацієнтів (n = 80) із ЦД 2 типу. Середній рівень HbA_{1c} у хворих на ЦД 1 типу був $8,29 \pm 1,01\%$. У пацієнтів із ЦД 2 типу середня концентрація HbA_{1c} склала $8,36 \pm 1,15\%$. На *рис. 3.2* відображено стан вуглеводного обміну у хворих на ЦД 1 і 2 типу, з огляду на статеві відмінності.

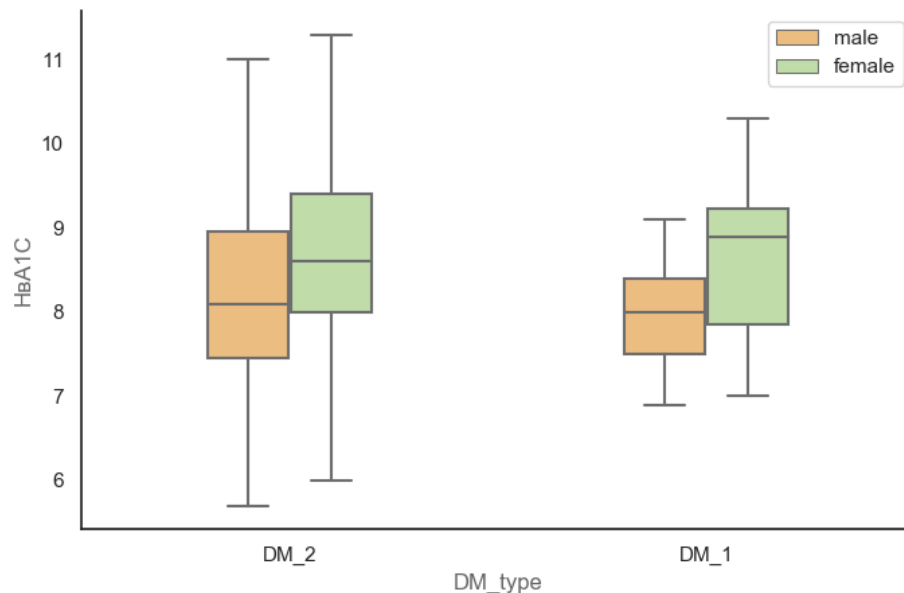


Рисунок 3.2. Концентрація HbA_{1c} у хворих на ЦД 1 і 2 типу з розподілом за статевою ознакою.

Примітка: дані представлені як медіана та інтерквартильні діапазони.

У обстежуваних пацієнтів із ЦД, вихідний рівень креатиніну був у діапазоні від 52 до 168 мкмоль/л. Середній рівень креатиніну становив $85,94 \pm 20,98$ мкмоль/л. У групі пацієнтів із ЦД 1 типу рівень креатиніну варіював від 53 до 111 мкмоль/л із середньою концентрацією $78,03 \pm 15,43$ мкмоль/л. У групі пацієнтів із ЦД 2 типу, концентрація креатиніну

коливалася від 52 до 168 мкмоль/л, із середнім значенням $88,42 \pm 21,92$ мкмоль/л.

Вихідний рівень сечовини у пацієнтів із ЦД коливався від 2 до 16 ммоль/л із середньою концентрацією $5,93 \pm 2,13$ ммоль/л. У групі пацієнтів із ЦД 1 типу, концентрація сечовини коливалася від 2 до 7,9 ммоль/л, із середнім значенням $4,8 \pm 1,71$ ммоль/л. У групі пацієнтів із ЦД 2 типу, рівень сечовини був в діапазоні від 2,4 до 16 ммоль/л, середній рівень склав $6,27 \pm 2,13$ ммоль/л.

Серед обстежуваних пацієнтів із ЦД, ШКФ ≥ 90 мл/хв/1,73м² спостерігалася у 43 пацієнтів. Серед них було 67,4% (n = 29) чоловіків і 32,5% (n = 14) жінок із середнім віком $45,69 \pm 16,08$ років. Тривалість ЦД в середньому склала $9,18 \pm 6,33$ років. ЦД 1 типу був діагностований у 48,84% (n = 21), ЦД 2 типу – у 51,16% (n = 22) обстежуваних пацієнтів. Середній рівень HbA_{1c} – $8,28 \pm 0,95\%$, сечовини – $4,82 \pm 1,55$ ммоль/л.

ШКФ від 89 до 60 мл/хв/1,73м² реєструвалася у 60 обстежуваних пацієнтів, з яких було 55% (n = 33) чоловіків і 45% (n = 27) жінок. Середній вік пацієнтів цієї групи склав $56,56 \pm 10,1$ років, тривалість ЦД – $11,91 \pm 6,96$ років. ЦД 1 типу хворіла 15% (n = 9) людина, ЦД 2 типу – 85% (n = 51). Концентрація HbA_{1c} склала $8,46 \pm 1,19\%$, середній рівень сечовини – $5,66 \pm 1,61$ ммоль / л.

ШКФ в діапазоні від 59 до 45 мл/хв/1,73м² була у 22 пацієнтів, серед яких було 36,3% (n = 8) чоловіків і 63,6% (n = 14) жінок. Вік пацієнтів в середньому склав $65,45 \pm 10,83$ років, ЦД тривав в середньому $16,27 \pm 11,83$ років. ЦД 1 типу спостерігався у 4,5% (n = 1) обстежуваних пацієнтів, ЦД 2 типу – у 95,45% (n = 21). Середній рівень HbA_{1c} – $8,27 \pm 1,25\%$, сечовини – $7,69 \pm 2,83$ ммоль/л.

ШКФ нижче 45 мл/хв/1,73м² спостерігалася у 5 пацієнтів із ЦД 2 типу, з яких було 3 жінки і 2 чоловіків. Вік пацієнтів цієї групи склав $61 \pm 7,77$ рік, захворювання тривало в середньому $11,4 \pm 3,28$ років. Рівень HbA_{1c} в середньому склав $7,76 \pm 0,99\%$, концентрація сечовини – $8,36 \pm 1,53$ ммоль/л.

В якості контролю були особи ($n = 20$), які не страждають ендокринними і ССЗ, зіставні за статтю та віком із пацієнтами із ЦД. Середній вік осіб контрольної групи склав $55,95 \pm 14,47$ років, і знаходився в діапазоні від 32 до 80 років. У всіх осіб групи контролю глікемія була в нормі, концентрація HbA_{1c} склала в середньому $5,37 \pm 0,5\%$ і не перевищувала 6%.

Концентрація сечовини варіювала від 2,6 до 7,8 ммоль/л із середнім рівнем $4,61 \pm 1,21$ ммоль/л. Рівень креатиніна в крові був в середньому $73,2 \pm 8,5$ мкмоль/л з мінімальним значенням 59 мкмоль/л і максимальною концентрацією 90 мкмоль/л. ШКФ в середньому склала $94,78 \pm 13,76$ мл/хв/1,73 м², перебуваючи в межах від 72,8 до 123,1 мл/хв/1,73м². У жодного обстежуваного групи контролю не була діагностована ХХН.

3.2. Характеристика ендотеліальної десквамації у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу

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

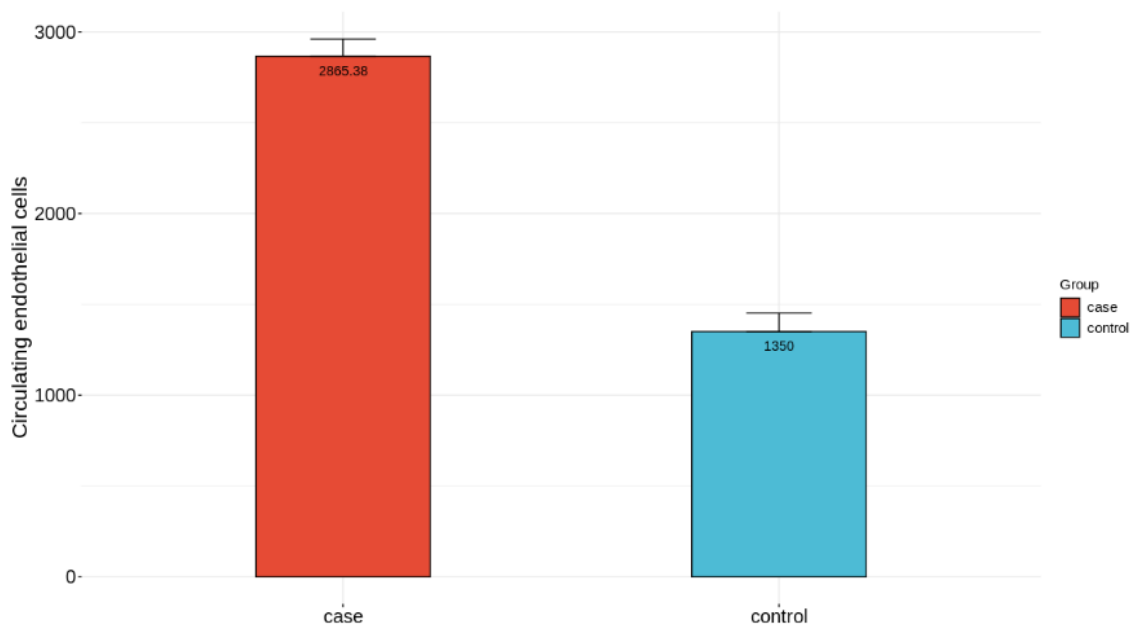


Рисунок 3.3. Рівень ЦЕК у пацієнтів із ЦД і практично здорових осіб.

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

У обстежуваних пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу, концентрація ЦЕК варіювала від 1200 до 11200 клітин/мл. Середня концентрація ЦЕК у пацієнтів із ЦД склала $2865,38 \pm 99,54$ клітин/мл. Рівні ендотеліоцитемії в групі пацієнтів із ЦД і групі контролю зображено на *рис. 3.3*.

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

Випадковим чином було вибрано дві третини даних для навчання моделі, а залишена третина – для тестування. З метою вирішення завдання незбалансованої вибірки, був застосований алгоритм SMOTE (Synthetic Minority Oversampling Technique) [151]. Результати оцінювалися за допомогою 10-кратної перехресної перевірки з 30 повторами.

Найвищу прогностичну важливість мали рівень HbA_{1c} і показник ендотеліоцитемії, 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, рівень циркулюючих ендотеліальних клітин є важливим предиктором розвитку ЕД і діабетичних ангіопатій не тільки серед пацієнтів з ЦД, а й інших ССЗ у осіб без ендокринної патології.

Серед пацієнтів з ЦД 1 типу, концентрація ЦЕК перебувала 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 циркулюючих ендотеліоцитів склала $2905,05 \pm 122,85$ клітин/мл.

Характеристика даних загального рівня ЦЕК в плазмі крові пацієнтів із ЦД та у практично здорових осіб представлена в *табл. 3.1*.

Таблиця 3.1

Рівні ендотеліоцитемії в групі контролю і серед пацієнтів із ЦД

Показник	Група контролю	Основна група	ЦД 1 тип	ЦД 2 тип
	n = 20	n = 130	n = 31	n = 99
M ± SD	1350*	2865,28	2738,71	2905,05
SD	457,1	1078,81	764,05	1160,43
Min	500	1200	1300	1200
Q1	1075	2225	2350	2200
Q2	1300	2700	2700	2700
Q3	1725	3300	3200	3300
Max	2100	11200	4300	11200
SEM	102,21	99,54	134,11	122,85

Примітка: * – статистично значуща різниця між групою контролю і пацієнтів із ЦД за критерієм Фішера F ($p < 0,05$).

Було виявлено, що у пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу визначається статистично значуще підвищення рівня ендотеліоцитемії в порівнянні з практично здоровими особами, що відображено в *табл. 3.1* ($p < 0,05$). Разом з тим, різниці між групами пацієнтів із діабетом 1 і 2 типу по загальному рівню циркулюючих в плазмі ендотеліоцитів не було виявлено.

Візуалізація даних рівня і розподілу ЦЕК серед пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу відображені на *рис. 3.4*.

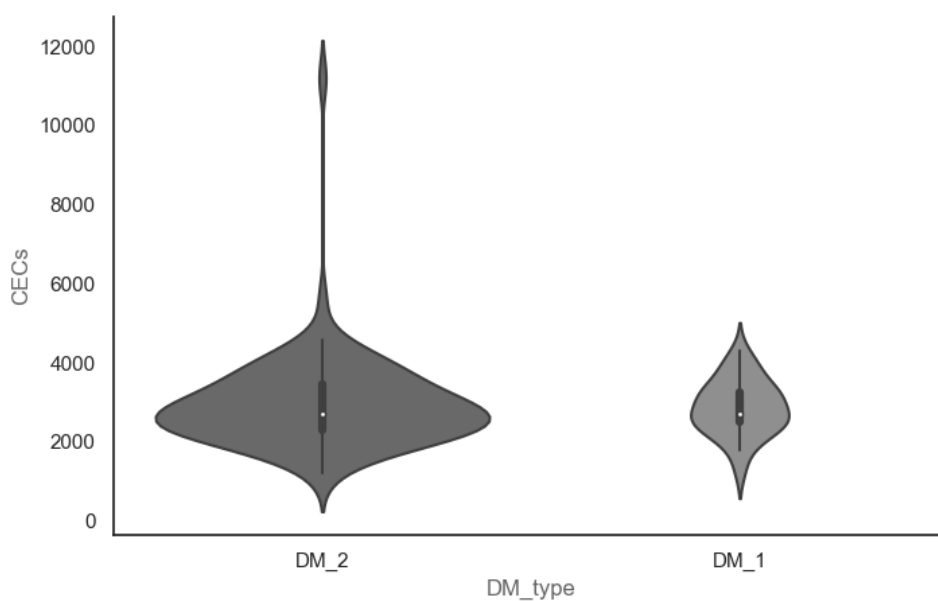


Рисунок 3.4. Концентрація ЦЕК у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

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

Таблиця 3.2

Рівні ЦЕК на S₁, S₂, S₃ стадіях розпаду в основній групі пацієнтів із ЦД

Показник	Початкова стадія розпаду, клітин/мл	Стадія виражених змін, клітин/мл	Кінцева стадія розпаду, клітин/мл
M	552,07	1820	493,07
SD	434,58	669,76	257,35
Min	0	700	100
Q1	300	1400	300
Q2	400	1800	500
Q3	700	2100	600
Max	2900	6800	1500
SEM	40,71	62,16	23,64

У пацієнтів із ЦД, концентрація ЦЕК, що знаходилися в початковій стадії розпаду, становила 19,27% при середньому рівні ендотеліоцитемії $552,07 \pm 40,71$ клітин/мл. На другій стадії розпаду, кількість ЦЕК склала 63,52% при середній концентрації ЦЕК – $1820 \pm 62,16$ клітин/мл. Десквамованих ендотеліоцитів, що знаходилися на кінцевій стадії розпаду, в плазмі крові було 17,21% при рівні ендотеліоцитемії – $493,07 \pm 23,64$ клітин/мл. Дані по ЦЕК в залежності від стадії розпаду в основній групі пацієнтів із діабетом наведені в *табл. 3.2*.

Характеристика даних рівня ЦЕК на S1, S2, S3 стадіях розпаду у хворих на ЦД 1 і 2 типу представлена в *табл. 3.3* і *табл. 3.4*, відповідно.

Таблиця 3.3

Рівні ЦЕК на різних стадіях розпаду в групі пацієнтів із ЦД 1 типу

Показник	Початкова стадія розпаду, клітин/мл	Стадія виражених змін, клітин/мл	Кінцева стадія розпаду, клітин/мл
M	670,96	1629,03	438,7
SD	397,65	524,2	213,97
Min	100	700	100
Q1	400	1150	300
Q2	500	1700	500
Q3	900	1900	500
Max	1500	2700	900
SEM	76,48	98,03	39,58

Таблиця 3.4

Рівні ЦЕК на різних стадіях розпаду серед пацієнтів із ЦД 2 типу

Показник	Початкова стадія розпаду, клітин/мл	Стадія виражених змін, клітин/мл	Кінцева стадія розпаду, клітин/мл
M	516,16	1879,79	510,1
SD	440,94	700,87	268,21
Min	0	900	100
Q1	250	1500	300
Q2	400	1800	500
Q3	700	2100	700
Max	2900	6800	1500
SEM	46,94	74,53	28,26

У групі контролю, початкова стадія розпаду ендотеліоцитів в середньому склала 18,52% із середнім рівнем ендотеліоцитемії $250 \pm 32,84$ клітин/мл, стадія виражених змін становила 69,63%. Відсоток ЦЕК на кінцевій стадії розпаду був в середньому 11,85% із середнім рівнем ЦЕК – $160 \pm 24,49$ клітин/мл. Результати дослідження ендотеліальної десквамації в групі контролю представлені в *табл. 3.5*.

У порівнянні з контролем, підвищення ЦЕК на кінцевій стадії апоптозу дає можливість зробити припущення, що відбувається прискорений розпад ендотеліоцитів.

Отримані дані дозволяють зробити висновок, що визначення ЦЕК є чутливим методом виявлення ендотеліального ушкодження, а підвищення рівня ЦЕК може розглядатися як ранній предиктор мікро- і макросудинних ускладнень ЦД.

Таблиця 3.5

Показники ЦЕК на різних стадіях розпаду в групі контролю

Показник	Початкова стадія розпаду, клітин/мл	Стадія виражених змін, клітин/мл	Кінцева стадія розпаду, клітин/мл	Загальна кількість ЦЕК, клітин/мл
M	250	940	160	1350
SD	146,89	313,55	109,54	457,1
Min	100	400	0	500
Q1	100	775	100	1074
Q2	250	900	200	1300
Q3	400	1125	225	1725
Max	500	1500	300	2100
SEM	32,84	70,11	24,49	102,21

Висновки до підрозділу 3.1

1. Виявлено, що у пацієнтів із ЦД визначається підвищення рівня ендотеліоцитемії в порівнянні з практично здоровими особами ($p < 0,05$), що є прогностично несприятливою ознакою прогресування мікро- і макросудинних ускладнень цукрового діабету. 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.

2. Встановлено, що незважаючи на відмінності в етіології і особливості патогенезу ЦД 1 і 2 типу, у обстежуваних пацієнтів спостерігається схожа картина ендотеліального ушкодження.

3. 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 S_3 у порівнянні у пацієнтів з діабетом в порівнянні з рівнем ЦЕК на S_3 у практично здорових осіб.

3.3. Ендотеліальна десквамація у пацієнтів із ЦД в залежності від статі, віку, тривалості ЦД і компенсації вуглеводного обміну

Пацієнти із ЦД 1 і 2 типу були розділені за статевою ознакою. Серед жінок, які хворіють на ЦД, середній рівень ЦЕК склав $3176,86 \pm 178,31$ клітин/мл, перебуваючи в діапазоні від 1700 до 4400 клітин/мл. У обстежуваних чоловіків, які хворіють на ЦД, середня концентрація циркулюючих ендотеліоцитів склала $2615,27 \pm 89,98$ клітин/мл, з мінімальним і максимальним значенням 1200 і 4400 клітин/мл, відповідно. Вихідна концентрація ЦЕК у жінок з ЦД вище, ніж у чоловіків з ЦД на 21,41%.

У групі пацієнтів із ЦД, між чоловіками і жінками виявлена статистично значуща різниця за рівнем ендотеліоцитемії ($p < 0,05$), що представлено на *рис. 3*.

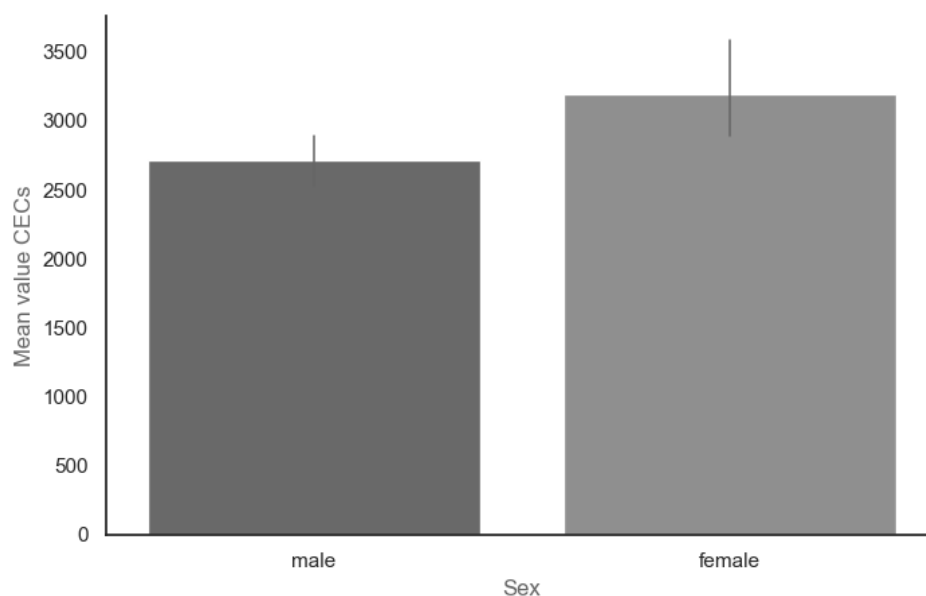


Рис. 3.5 Концентрація ЦЕК серед пацієнтів із ЦД в залежності від статі.

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

Також, на *рис. 3.6* зображено, що в групі пацієнтів із ЦД 2 типу, залежність від статі зберігається, що є статистично значущим результатом ($p < 0,05$). Варто зазначити, що у пацієнтів із ЦД 1 типу, різниці між групами виявлено не було.

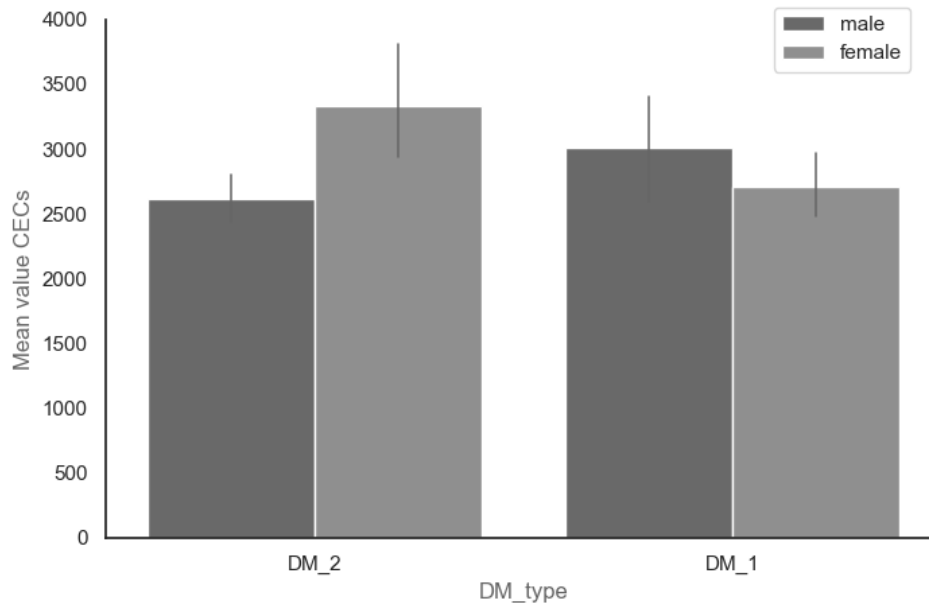


Рисунок 3.6. Концентрація ЦЕК серед чоловіків і жінок із ЦД 1 і 2 типу.

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

У *табл. 3.6* представлено рівень ендотеліоцитемії на трьох стадіях розпаду серед пацієнтів основної групи, розподіленої за статевою ознакою

Таблиця 3.6

Розподіл ЦЕК за стадіями розпаду серед чоловіків і жінок із ЦД

Стадії розпаду ендотеліоцитів	Чоловіки	Жінки
	n = 72	n = 58
Початкова стадія, клітин/мл	491,66 ± 47,34 (275; 700)	629,31 ± 67,28 (300; 875)
Стадія виражених змін, клітин/мл	1675 ± 61,68* (700; 2000)	2000 ± 108,1 (1625; 2275)
Кінцева стадія розпаду, клітин/мл	450 ± 27,36 (300; 600)	546,55 ± 292,72 (300; 700)

Примітка: дані представлені як $M \pm SEM$ (Q1; Q3); * – статистично значуща різниця між групами за критерієм Фішера F ($p < 0,05$).

Також, в залежності від віку, пацієнти із ЦД були розділені на 3 групи: першу групу склали пацієнти до 50 років із середнім віком $38,48 \pm 1,47$ років, другу – від 51 до 64 років із середнім віком $58,46 \pm 0,84$ років. У третю групу входили пацієнти із ЦД старше 65 років, у яких середній вік склав $69,45 \pm 1,01$ років. У першій групі ($n = 43$) середній рівень ЦЕК склав $2588,37 \pm 109,87$ клітин/мл, у другій групі ($n = 54$) – $2737,03 \pm 91,66$ клітин/мл, в третій групі ($n = 33$) середній рівень ЦЕК склав $3436,36 \pm 290,85$ клітин/мл.

На *рис. 3.7* відображено також розподіл вікових груп за статевою ознакою.

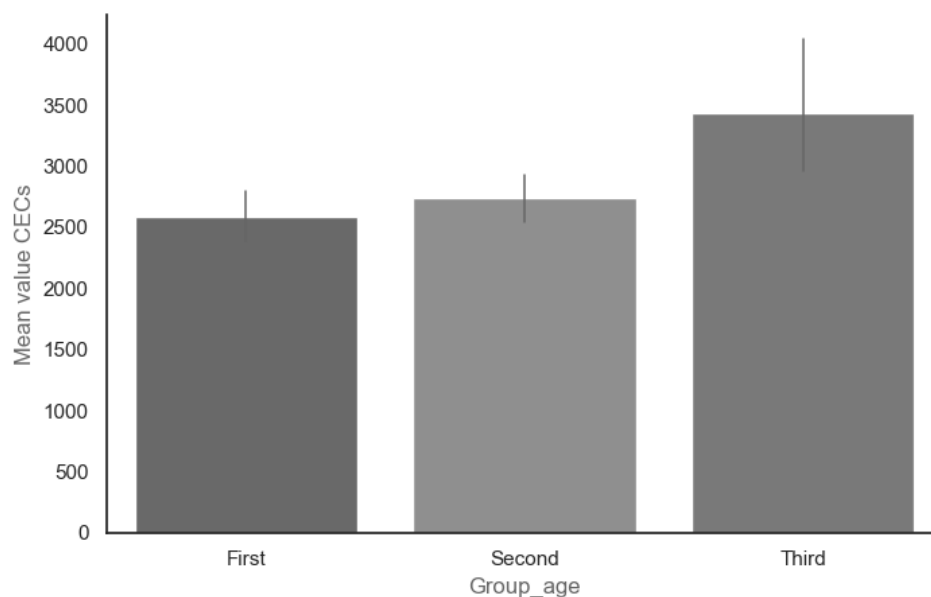


Рисунок 3.7. Концентрація ЦЕК серед пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу в різних вікових групах: до 50 років, 51-64 року, і старше 65 років.

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

Зі збільшенням віку пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу, була тенденція до посилення десквамації ендотелію ($r = 0,18$; $p < 0,05$). Нами була виявлена статистично значуща різниця за кількістю ЦЕК в групі пацієнтів старше 65 років ($p < 0,05$). Разом з тим, збільшення числа ЦЕК серед пацієнтів 3 групи

було за рахунок жінок, які хворіють на ЦД 2 типу. Можливо, це є наслідком естрогендефіцитного стану у жінок в пост менопаузальному періоді.

Концентрація ендотеліоцитемії на різних стадіях розпаду серед пацієнтів основної групи в залежності від віку представлено в *табл. 3.7*.

Таблиця 3.7.

Розподіл ЦЕК за стадіями розпаду в різних вікових групах

Стадії розпаду ендотеліоцитів	До 50 років	Від 50 до 64 років	Старше 65 років
	n = 43	n = 54	n = 33
Початкова стадія, клітин/мл	562,79 ± 61,86 (300; 500)	444,44 ± 50,28** (200; 500)	718,18 ± 106,53 (400; 900)
Стадія виражених змін, клітин/мл	1579,07 ± 69,01* (1250; 1900)	1824,07 ± 59,26 (1525; 2075)	2127,27 ± 194,49 (1600; 2300)
Кінцева стадія розпаду, клітин/мл	446,51 ± 33,18* (300; 550)	470,37 ± 32,54** (300; 600)	590,9 ± 59,14 (300; 800)

Примітка: дані представлені як $M \pm SEM$ (Q1; Q3). * – статистично значуща різниця між першою і третьою групами; ** – статистично значуща різниця між другою і третьою групами за критерієм Фішера F ($p < 0,05$).

Залежно від тривалості ЦД, обстежувані пацієнти поділялися на 4 групи. Першу групу склали пацієнти (n = 28) зі стажем діабету до 5 років включно, з яких ЦД 1 типу хворіло 16 осіб, ЦД 2 типу – 12 осіб. До другої групи входили особи (n = 41), які страждали на діабет від 6 до 10 років, з яких ЦД 1 і 2 типу хворіло 5 і 36 осіб, відповідно. Третя група складалася з пацієнтів (n = 29), у яких тривалість захворювання варіювала від 11 до 15 років включно, ЦД 1 типу був у 7 пацієнтів, ЦД 2 типу – у 22 пацієнтів. У четверту групу входили пацієнти (n = 32), у яких ЦД тривав понад 15 років, з яких ЦД типу спостерігався у більшості пацієнтів – у 29 чоловік.

Серед пацієнтів першої групи, концентрація загального рівня ЦЕК в плазмі крові була $2617,85 \pm 128,74$ клітин/мл, і перебувала в діапазоні від

1300 до 4300 клітин/мл. У другій групі середній рівень ендотеліоцитемії склав $2724,39 \pm 128,42$ клітин/мл з min і max значеннями 1200 і 4200 клітин/мл, відповідно. Рівень ЦЕК в третій групі в середньому склав $2906,89 \pm 174,95$ клітин/мл, і перебувала в діапазоні від 1900 до 5600 клітин/мл. У четвертій групі середня концентрація десквамованих ендотеліоцитів в плазмі крові становила $3225 \pm 302,45$ клітин/мл з min і max значеннями 1300 до 11200 клітин/мл, відповідно.

Виявлено тенденцію до зростання рівня ендотеліоцитемії з підвищенням тривалості захворювання ($r = 0,18$; $p = 0,05$).

Всі пацієнти із ЦД були розділені на 4 групи в залежності від ступеня компенсації вуглеводного обміну. Першу групу склали пацієнти із $HbA_{1c} < 7\%$ ($n = 14$) із середнім рівнем HbA_{1c} $6,52 \pm 0,14\%$. До другої групи входили пацієнти з HbA_{1c} від 7 до 8% ($n = 25$); середня концентрація HbA_{1c} склала $7,52 \pm 0,07\%$. Третя група складалася з пацієнтів, у яких HbA_{1c} знаходився в діапазоні від 8 до 9% ($n = 45$) із середньою концентрацією $8,31 \pm 0,08\%$. Четверту групу склали пацієнти із ЦД, у яких вихідний рівень HbA_{1c} був $> 9\%$ ($n = 46$), а середня концентрація HbA_{1c} склала $9,37 \pm 0,12\%$.

У групі пацієнтів із $HbA_{1c} < 7\%$, середня концентрація ЦЕК склала $2714,28 \pm 172,23$ клітин/мл. При HbA_{1c} від 7 до 8%, середній рівень ЦЕК був $2972 \pm 196,97$ клітин/мл, при рівні HbA_{1c} від 8% до 9% – $3006,676 \pm 109,99$ клітин/мл, при $HbA_{1c} > 9\%$, кількість ЦЕК було найвищим і склало в середньому $2715,21 \pm 222,56$ клітин/мл.

Нами не було виявлено кореляції між рівнем ЦЕК і рівнем глікозильованого гемоглобіну у хворих на ЦД 1 і 2 типу ($r = 0,05$; $p > 0,05$).

Дані розподілу ЦЕК за стадіями розпаду у пацієнтів з різною стадією компенсації вуглеводного обміну представлено в *табл. 3.8*.

Таблиця 3.8

**Розподіл ЦЕК за стадіями розпаду в залежності від рівня
глікозильованого гемоглобіну**

Стадії розпаду ендотеліоцитів	HbA _{1c} < 7 %,	HbA _{1c} 7-8 %	HbA _{1c} 8-9 %	HbA _{1c} > 9%
	n = 14	n = 25	n = 45	n = 46
Початкова стадія, клітин/мл	500 ± 103,15 (225; 775)	584 ± 69,99 (300; 800)	644,44 ± 478,42 (300; 900)	463,04 ± 69,48 (225; 500)
Стадія виражених змін, клітин/мл	1692,86 ± 120,97 (1400; 2050)	1908 ± 154,49 (1400; 2300)	1797,77 ± 57,95 (1600; 2000)	1832,6 ± 136,0 5 (1400; 2300)
Кінцева стадія розпаду, клітин/мл	521,42 ± 67,57 (400; 600)	480 ± 43,59 (300; 00)	566,66 ± 44,26* (300; 700)	419,56 ± 37,29 (300; 500)

Примітка: дані представлені як $M \pm SEM$ (Q1; Q3); * – статистично значуща різниця між третьою і четвертою групами за критерієм Фішера F ($p < 0,05$).

Виявлено кореляційні зв'язки між ШКФ і загальним рівнем ендотеліоцитемії серед пацієнтів із діабетом у віці до 50 років ($r = 0,41$; $p < 0,05$) і серед жінок, які хворіють на ЦД ($r = 0,3$; $p < 0,05$).

Висновки до підрозділу 3.2

1. У дослідженні було виявлено, що серед чоловіків і жінок, хворих на ЦД 2 типу, в групі жінок концентрації ЦЕК була вище, що було статистично значущим результатом ($p < 0,05$).

2. Встановлено 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.

3. У дослідженні зазначено, що тривалість захворювання і ступінь

компенсації діабету не чинили істотного впливу на рівень ендотеліоцитемії. Отже, визначення концентрації ендотеліоцитемії є незалежним предиктором ступеня тяжкості ЦД і ймовірності розвитку і прогресування діабетичних мікро- і макросудинних ускладнень.

4. Підвищений рівень ендотеліальної десквамації може сприяти розвитку і прогресуванню ЕД, принаймні, розглядатися як початковий етап дисфункції і недостатності ендотелію.

3.4. Функціональний стан ендотеліальної стінки у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу

Отримані дані про збільшення ЦЕК дозволили припустити, що пошкодження ендотеліоцитів може привести до дисфункції ендотелію. У зв'язку з цим ми звернули свою увагу на стабільні метаболіти оксиду азоту. При тривалому впливі патогенних факторів або при порушенні цілісності ендотелію відбуваються поступове виснаження і перекручення функції ендотеліоцитів, і розвивається ЕД. Відповідно до сучасних уявлень, порушення в системі оксиду азоту є провідним компонентом ЕД.

У дослідженні метаболітів оксиду азоту брали участь 53 пацієнта із ЦД, серед яких було 58,5% чоловіків ($n = 33$) і 41,4% жінок ($n = 22$). ЦД 1 типу хворіло 20,4% пацієнтів ($n = 11$), ЦД 2 типу – 79,2% ($n = 42$).

Дані за віком пацієнтів, тривалістю ЦД, рівнем HbA_{1c} , NO_2^- , NO_3^- і ЦЕК представлені в *табл. 3.9*.

Середній рівень NO_2^- у пацієнтів склав $3,19 \pm 1,7$ мкмоль/л. У 75,4% пацієнтів ($n = 40$) рівень NO_2^- в плазмі крові був в межах норми і склав $2,3 \pm 0,9$ мкмоль/л. У 24,5% пацієнтів ($n = 13$) визначався підвищений рівень NO_2^- , який склав в середньому $5,8 \pm 0,9$ мкмоль/л.

Таблиця 3.9

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 ⁻ і 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

При цьому, був виявлений прямий кореляційний зв'язок між NO₂⁻ і NO₃⁻ високої сили ($r = 0,65$; $p < 0,05$), відображений на рис. 3.8.

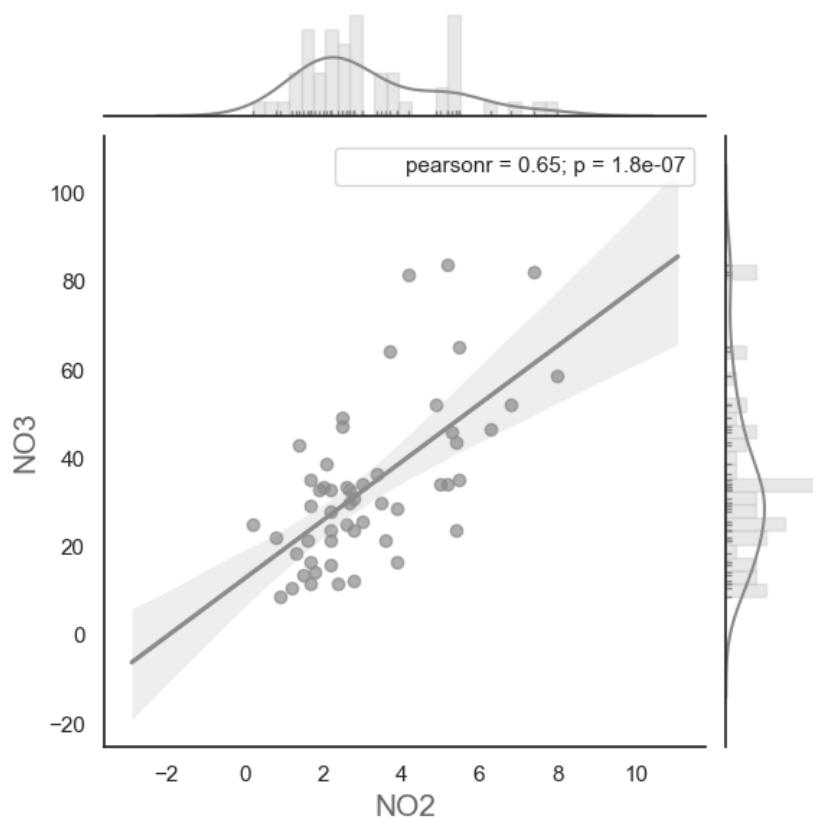


Рисунок 3.8 Кореляційний зв'язок між рівнем NO₂⁻ і NO₃⁻.

Концентрація NO_3^- в середньому склала $33,8 \pm 18$ мкмоль/л і коливалася від 8,7 до 83,7 мкмоль/л. Підвищений рівень NO_3^- відзначався у 26,4% пацієнтів ($n = 14$), і склав $59,3 \pm 14,8$ мкмоль/л. У 52,8% пацієнтів концентрація NO_3^- була в межах норми, в середньому складаючи $29,5 \pm 5,2$ мкмоль/л. Знижений рівень NO_3^- відзначався у 20,7% ($n = 11$) із середньою концентрацією $13,7 \pm 3$ мкмоль/л.

Варто відзначити, що немає підстав трактувати підвищені рівні NO_2^- і NO_3^- як тільки показники активації eNOS, так як збільшення концентрації оксиду азоту може відбуватися внаслідок активації iNOS в макрофагах, що сприяє посиленню реакцій нітрозилування з утворенням пероксинітриа – одного з найсильніших целлюлярних отрут, що ушкоджують ендотеліоцити.

Пряма залежність між плазмовим вмістом NO_3^- і концентрацією ЦЕК була виявлена серед пацієнтів у віці до 50 років ($r = 0,45$, $p < 0,05$).

Відомо, що процес появи і прогресування ЕД може починатися навіть із гіперактивації утворення ендотеліальних БАР. Отже, нормальні рівні NO_2^- і NO_3^- у пацієнтів з вираженою ендотеліоцитемією можна розцінювати як наслідок компенсаторної гіперактивації синтезу NO, що спостерігається на першій і другій стадіях ЕД.

Ми здійснювали оцінку NO_2^- і NO_3^- в залежності від віку, розділяючи пацієнтів на 3 групи: молодше 50 років ($n = 17$), від 51 до 64 ($n = 19$), старше 65 років ($n = 17$).

У першій групі рівень NO_2^- склав $3,4 \pm 1,5$ мкмоль/л, у другій групі – $3,4 \pm 2,4$ мкмоль/л. У третій групі концентрація NO_2^- склала $2,6 \pm 1,3$ мкмоль/л. Дані по нітрит-аніону представлені на *рис. 3.9*.

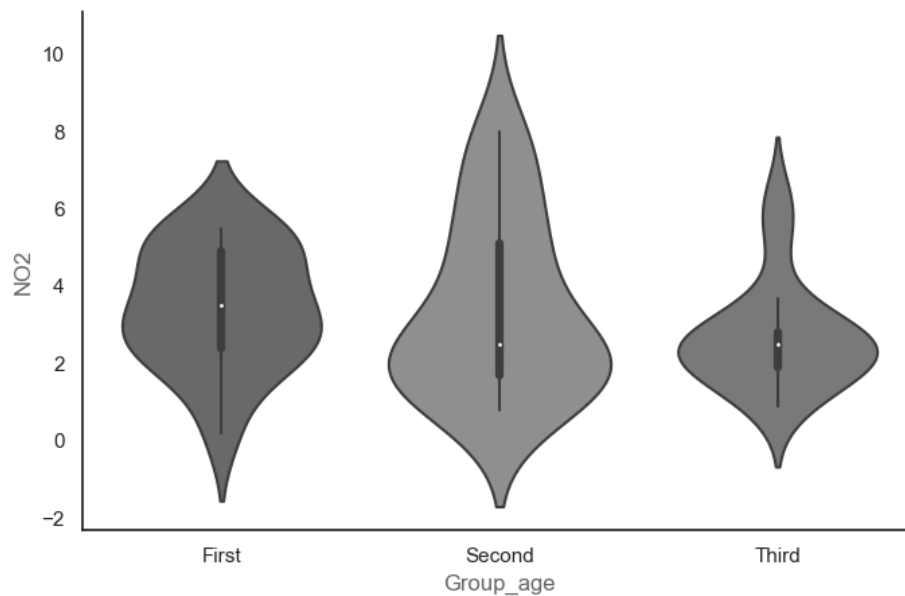


Рис. 3.9. Концентрація NO_2 - у пацієнтів із ЦД в трьох вікових групах: молодша 50 років, 51-64 року, старше 65 років.

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

За нітрат-аніони дані були наступні: у першій групі NO_3^- був в концентрації $34 \pm 16,4$ мкмоль/л, у другій – $36,7 \pm 22,4$ мкмоль/л, у третій групі – $30,3 \pm 14,2$ мкмоль/л. Результати аналізу NO_3^- представлені на *рис. 3.10*.

За рівнем концентрації NO_2 - і NO_3^- не було виявлено статистично значущої різниці між пацієнтами із ЦД 1 і 2 типу в різних вікових групах. Залежно від тривалості ЦД, дані по NO_2 - і NO_3^- були наступними. У першій групі пацієнтів, які хворіють на ЦД до 5 років, середній рівень NO_2 - і NO_3^- був $2,91 \pm 0,64$ мкмоль/л і $39,01 \pm 9,5$ мкмоль/л, відповідно. У другій групі, у пацієнтів зі стажем діабету від 6 до 10 років включно, рівень NO_2 - склав $3,45 \pm 0,39$ мкмоль/л, рівень NO_3^- – $33,58 \pm 4,68$ мкмоль/л.

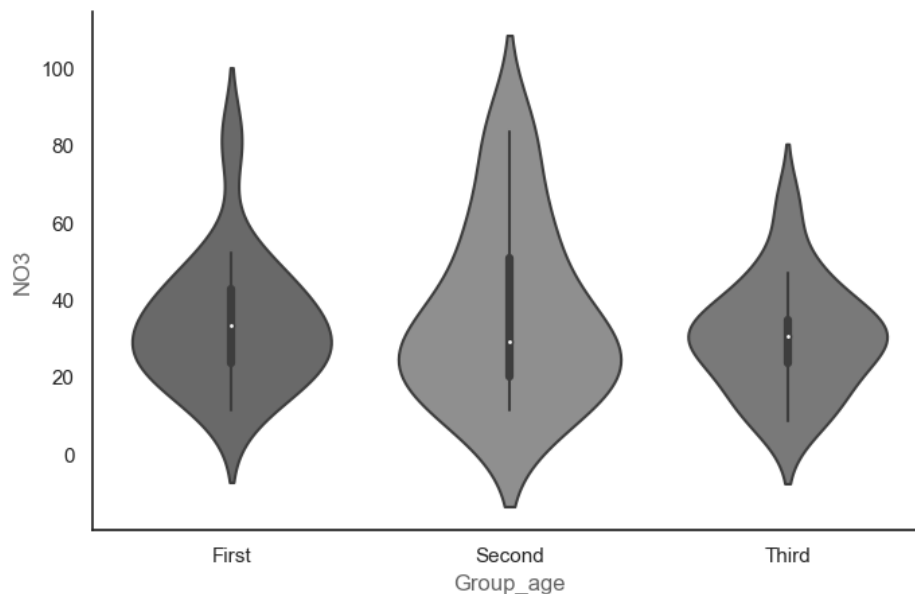


Рисунок 3.10. Концентрація NO_3^- у пацієнтів із ЦД в трьох вікових групах: молодше 50 років, 51-64 р., старше 65 років.

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

Рівні NO_2^- і NO_3^- у пацієнтів третьої групи зі стажем діабету від 11 до 15 років включно були в середньому $2,57 \pm 0,47$ мкмоль/л і $24,56 \pm 0,39$ мкмоль/л, відповідно. Серед пацієнтів четвертої групи зі стажем діабету понад 15 років, середні показники для NO_2^- були $3,34 \pm 0,49$ мкмоль/л, для NO_3^- – 37 мкмоль/л. Кореляційні зв'язки між рівнем NO_2^- і NO_3^- і тривалістю ЦД не були виявлені.

Відомо, що гіперглікемія є основним фактором пошкодження ендотелію за ЦД. Однак, нами був виявлений лише слабкий прямий кореляційний зв'язок між HbA_{1c} і NO_3^- ($r = 0,29$; $p < 0,05$).

Ми припускаємо, що нормальні рівні стабільних метаболітів NO свідчать про первісну достатню компенсацію ендотеліального ушкодження. Також наші дані дозволяють припустити, що компенсаторні можливості організму, зокрема ендотелію, дуже значні і довго не виснажуються у пацієнтів із ЦД.

Висновки до підрозділу 3.3

1. Встановлено, що високий ступінь пошкодження ендотелію у пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу не завжди характеризується одночасною наявністю ендотеліальної дисфункції, виявленої на підставі кількості утворення

оксида азоту, тому що концентрація ЦЕК в плазмі крові відображає тяжкість структурних, але не функціональних змін ендотелію. У пацієнтів із ЦД з вираженою ендотеліоцитемією у 75,4% рівні NO_2 і у 52,8% рівні NO_3 були в межах норми.

2. Виявлено, що рівень стабільних метаболітів оксиду азоту не залежав від віку пацієнтів, тривалості ЦД і ступеня компенсації вуглеводного обміну.

Результати даного розділу опубліковані в наступних роботах:

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>.

Gozhenko A.I., Kuznetsova N. 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.

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.

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

Характеристики эндотелиальной дисфункции у больных сахарным диабетом. Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Быць Т.Н., Кузнецова Е.Н., Демидов С.М., Поветкина Т.Н., Гоженко А.И. *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2018; 2(52): 116-22.

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.

РОЗДІЛ 4

СТАН ЕНДОТЕЛІУ В УМОВАХ КОМПЕНСАЦІЇ ПОРУШЕНЬ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ У ХВОРИХ НА ЦД 1 І 2 ТИПУ

4.1. Зміна ендотеліальної десквамації у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу після 10-денного стаціонарного лікування в ендокринологічному відділенні

З метою підтримати або спростувати можливість відновлення ендотелію, нами було проведено дослідження десквамації ендотелію у пацієнтів із ЦД до і після 10-денного стаціонарного лікування.

Лікування пацієнтів проводилося у відповідності з наступними критеріями. Антигіпертензивна терапія у пацієнтів із діабетом, асоційованим з ГХ, призначалася до цільових рівнів АТ. Для нормалізації глікемії була призначена гіпоглікемічна терапія відповідно до рекомендацій Європейської асоціації з вивчення діабету (EASD – *European Association for the Study of Diabetes*)/ADA. У пацієнтів із ЦД 1 типу були призначені базисно-болюсні схеми аналогових інсулінів, пацієнти із ЦД 2 типу отримували пероральні цукрознижувальні препарати: метформін (Metformin), глімеперід (Glimperiridum) ± воглібоз (Voglibose) ± людський базальний інсулін. Для максимального наближення до цільових рівнів вуглеводного обміну всім пацієнтам рекомендувалася модифікація способу життя з використанням дієт і збільшенням фізичної активності. Інфузійна терапія проводилася з урахуванням супутньої патології та темпів прогресування ускладнень діабету, таких як мікроангіопатії, макроангіопатії і полінейропатії.

У дослідженні брали участі 20 пацієнтів із ЦД 1 типу ($n = 8$) і ЦД 2 типу ($n = 12$). Серед обстежуваних було 13 чоловіків і 7 жінок. Середній вік пацієнтів склав $47,6 \pm 17,7$ років, тривалість ЦД складала в середньому $9,5 \pm 6,3$ років.

ІМТ у пацієнтів в середньому склав $28,8 \pm 6,2$ років. Надлишкова маса тіла спостерігалася у 65% (ІМТ 25-29,9 кг/м²), з яких ожиріння (ІМТ > 30 кг/м²) було відзначено у 92,3%.

Всі фактори серцево-судинного ризику серед пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу представлені на *рис. 4.1*.

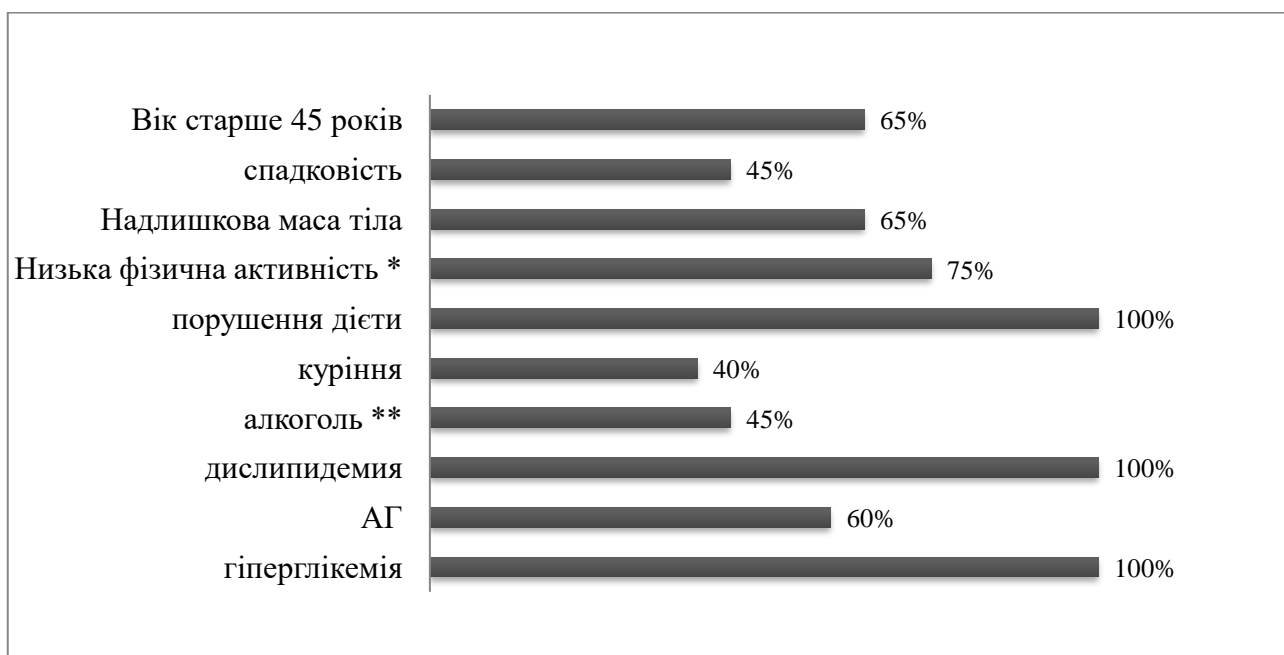


Рисунок 4.1. Фактори серцево-судинного ризику серед обстежуваних пацієнтів із ЦД.

Примітка: * фізична активність менше 5 разів за попередній тиждень;

** вживання алкоголю як мінімум 1 раз за попередній тиждень.

Середній рівень САТ становив 129 ± 20 мм рт. ст. Середній рівень ДАТ становив $74,2 \pm 6,1$ мм рт. ст.

Дисліпидемія 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, ТГ – $1,87 \pm 1,7$ ммоль/л.

Загальна характеристика пацієнтів із ЦД представлена в *табл. 4.1*.

Таблиця 4.1

Результати клініко-лабораторного обстеження хворих на ЦД 1 і 2 типу

Показники	ЦД 1 тип	ЦД 2 тип
Вік, років	31 ± 15,3	58,6 ± 7,7
Тривалість ЦД, років	7,1 ± 8,1	11 ± 4,3
ІМТ, кг/м ²	23,7 ± 3,8	32,2 ± 5,1
САТ, мм рт. ст.	116,8 ± 5,9	137 ± 23,5
ДАТ, мм рт. ст.	73,1 ± 7	75 ± 5,6
ЧСС, уд/хв	77,6 ± 14,9	76 ± 11,6
НbA _{1c} , %	8,3 ± 1,3	8,3 ± 0,4
Загальний холестерин, ммоль/л	5,5 ± 0,8	7,2 ± 2,5
ЛПВЩ, ммоль/л	1,6 ± 0,3	1,3 ± 0,3
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,4 ± 0,2	1,1 ± 1,1
ЛППЩ, ммоль/л	3,5 ± 0,8	4,7 ± 1,6
ТГ, ммоль/л	1 ± 0,5	2,4 ± 2,4
КА	2,6 ± 0,8	4,8 ± 4,2
Мочевина, ммоль/л	4,9 ± 1,6	7,1 ± 3,4
Креатинін, ммоль/л	76,7 ± 16	92,9 ± 17,2
ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	105,9 ± 16,6	74,8 ± 19,5

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

Всі пацієнти перебували в стадії декомпенсації. Концентрація НbA_{1c} перебувала в діапазоні від 7,1 до 10,1%, в середньому складаючи $8,3 \pm 0,8\%$. Рівень фруктозаміну коливалася від 3,2 до 8,4 ммоль/л, і 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. 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 ($p < 0,05$).

Дані представлені в *табл. 4.2*.

Таблиця 4.2

Показники вуглеводного обміну і артеріального тиску до лікування і на 11 день стаціонарного лікування

Показники	До лікування	Після лікування	Цільові рівні
Глюкоза плазми натщесерце, ммоль/л	12,2 ± 2,7*	5,83 ± 0,9	3,9-5,5
Постпрандіальна глікемія, ммоль/л	13,5 ± 3*	6,6 ± 1,1	3,9-7,8
Фруктозамін, ммоль/л	5,1 ± 1,4*	3,6 ± 0,9	1,9-2,9
САТ, мм.рт.ст.	129 ± 20	119,5 ± 6,6	100-129
ДАТ, мм.рт.ст.	74,2 ± 6,1	74,2 ± 9,4	60-79

Примітка: дані представлені як $M \pm SD$. * Статистично значуща різниця між групами за критерієм Фішера F ($p < 0,05$).

Ступінь десквамації ендотеліоцитів визначали як до лікування, коли вуглеводний обмін був в стадії декомпенсації, так і після стаціонарного лікування, коли була досягнута нормоглікемія і рівень артеріального тиску згідно цільовим значенням у кожного пацієнта.

Вихідний рівень ЦЕК у пацієнтів варіювався від 1300 до 3900 клітин/мл із середньою концентрацією $2385 \pm 649,1$ клітин/мл. В результаті лікування було досягнуто значне зниження рівня ЦЕК ($r = 0,77$; $p < 0,05$).

На *рис. 4.2* графічно зображені результати впливу комплексного стаціонарного лікування на ступінь ендотеліального ушкодження. Рівень ендотеліального пошкодження знизився на 24,5%, в середньому складаючи $1780 \pm 514,6$ клітин/мл ($p < 0,05$).

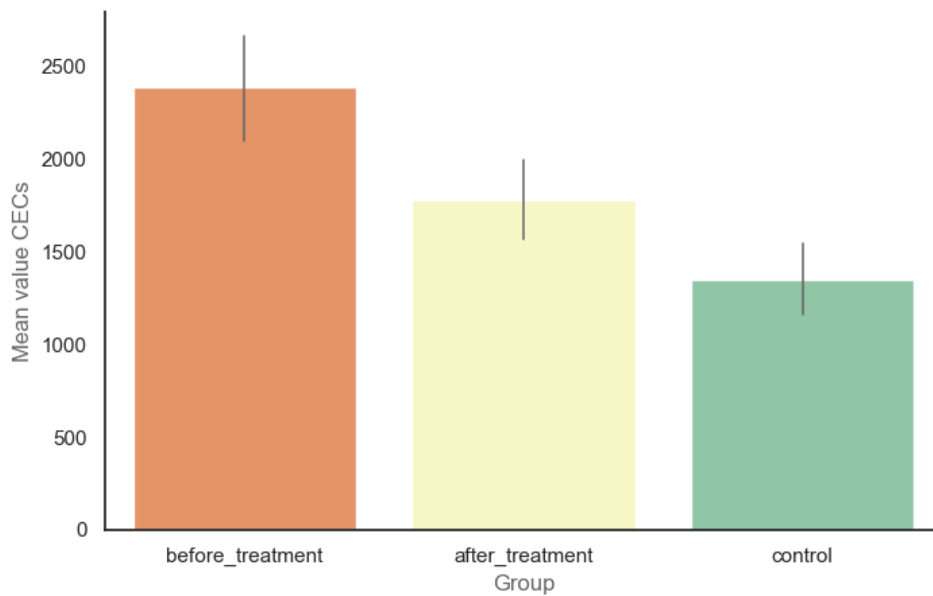


Рисунок 4.2. Вплив медикаментозної терапії на ступінь десквамації ендотелію у пацієнтів із ЦД в порівнянні з групою контролю

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

Вихідний рівень і рівень ендотеліоцитемії після стаціонарного лікування представлений в *табл. 4.3*.

Таблиця 4.3

Рівень ендотеліальної десквамації в динаміці лікування ЦД

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

Примітка: дані представлені як $M \pm SEM$. * Статистично значуща різниця між групами за критерієм Фішера F ($p < 0,05$).

Рівень ендотеліальної десквамації в динаміці лікування в залежності від типу ЦД представлено на *рис. 4.3*. Статистично значущої різниці за показниками ендотеліального пошкодження між групами пацієнтів із ЦД 1 і 2 цієї не було.

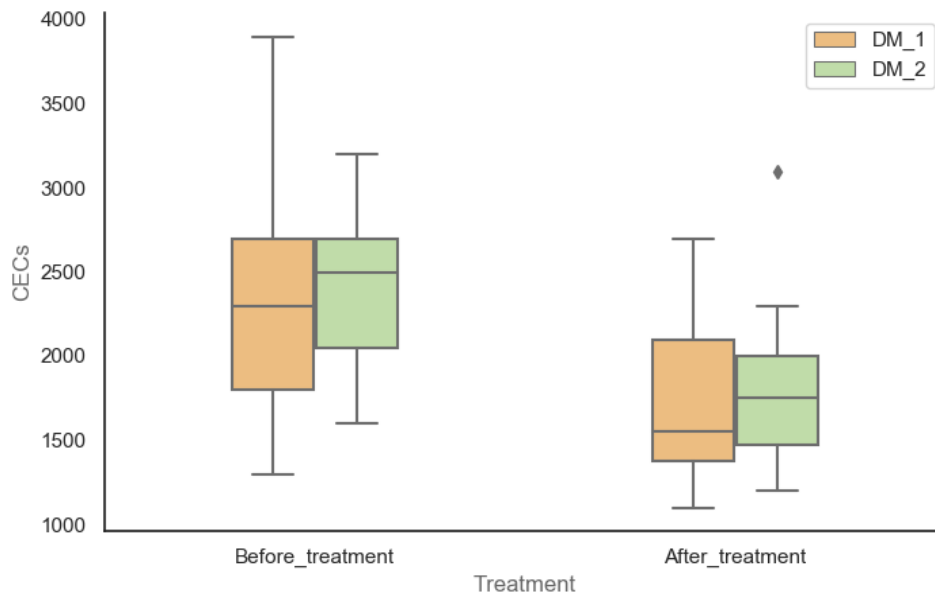


Рисунок 4.3. Рівень ендотеліального ушкодження у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу в динаміці лікування.

Примітка: дані представлені як медіана і інтерквартильні діапазони.

Висновки до підрозділу 4.1

1. 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 ($p < 0,05$).

2. 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.

3. На підставі результатів нашого дослідження ми припускаємо, що ендотеліальна дисфункція є, мабуть, оборотним процесом незалежно від стадії, що є обґрунтуванням ефективності ангиопротекторної терапії.

4.2. Стан ендотеліальної стінки в динаміці лікування у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу

Для того, щоб визначити тривалість ангиопротекторного ефекту, проведено дослідження оцінки ендотеліальної десквамації початково, після стаціонарного лікування і через 3 місяці від моменту госпіталізації у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

У дослідженні взяли участь 50 пацієнтів із ЦД 1 та 2 типу, які відповідали усім критеріям включення та жодному критерію невключення.

Дослідження мало комплексний характер та включало оцінку впливу терапії на метаболічний контроль, ендотелій судин, ліпідний обмін та показники функціонального стану нирок впродовж 3 місяців дослідження.

За виключеннями 11-денного стаціонарного лікування та візиту після 3 місяців лікування, систематичного моніторингу пацієнтів не проводили.

Усім пацієнтам було проведене клінічне, лабораторне та інструментальне обстеження згідно із графіком.

Графік проведення запланованих інструментальних та лабораторних досліджень представлений в *табл. 4.4*.

Таблиця 4.4

Графік проведення інструментальних та лабораторних досліджень

День	Вихідні дослідження	Контролі дослідження через 10 днів	Заключні дослідження
Визначення лабораторних досліджень: загальний аналіз крові, біохімічні показники крові (загальний білок, лужна фосфатаза, амілаза, тімолова проба, сечовина, білірубін, АЛТ, АСТ), загальний аналіз сечі	+		
Визначення інструментальних досліджень: ЕКГ, О Rg ОГК, УЗД брюшинного відділу, забрюшинного простору та щитоподібної залози	+		
Консультація окуліста	+		
Глюкоза крові натще та постпрандіальна глікемія	+	+	
Фруктозамін	+	+	
Глікозильований гемоглобін	+		+
Креатинін крові	+	+	+
Розрахунок швидкості клубочкової фільтрації	+	+	+
Альбумін сечі	+		+
Альбумін/креатинінове співвідношення			+
Ліпидограма крові (ТГ, ЛПВЩ, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, КА)	+		+
Циркулюючі ендотеліальні клітини (загальна кількість та кількість на різних стадіях апоптозу)	+	+	+

4.2.1. Вихідна характеристика пацієнтів

Серед пацієнтів із ЦД були 25 чоловіків (50 %) та 25 жінок (50 %). Середній вік пацієнтів складав $56,32 \pm 12,4$ 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, у пацієнтів із ЦД 2 типу захворювання тривало в середньому $11,28 \pm 7,6$ років.

Детальну характеристику обстежених пацієнтів із ЦД наведено в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

Стан вихідних клінічних характеристик у досліджуваних пацієнтів

Характеристики	Значення
Вік, роки	$56,32 \pm 12,4$ (27; 78)
Чоловіки, n	25 (50 %)
Жінки, n	25 (50 %)
Цукровий діабет 1 тип, n	11 (22 %)
Цукровий діабет 2 тип, n	39 (78 %)
Тривалість ЦД, роки	$10,3 \pm 7,3$ (1; 38)
ІМТ, кг/м ²	$30,27 \pm 5,5$ (19,4; 48,4)
Куріння, n	33 (66 %)
Алкоголь, n	34 (68 %)
Спадковість, n	26 (52 %)
Діабетична ретинопатія, n	49 (98 %)
Діабетична хвороба нирок, n	38 (76 %)
Діабетична полінейропатія, n	45 (90 %)
Ішемічна хвороба серця, n	38 (76 %)
Макросудинні захворювання, n	5 (10 %)
Інша ендокринна патологія, n	16 (32 %)
Пієлонефрит, n	33 (66 %)
Гіпертонічна хвороба, n	37 (74 %)
Ожиріння, n	25 (50 %)

Примітки: дані представлені як $M \pm SD$ (min; max).

Середній рівень ІМТ становив $30,27 \pm 5,5$ кг/м², 18 пацієнтів (36 %) мали надлишкову вагу, ожирінням страждало 25 (50 %) пацієнтів із ЦД, з яких I стадія ожиріння спостерігалася у 18 пацієнтів (36 %), II стадія – у 5 пацієнтів (10 %), а у 2 пацієнтів (4 %) була діагностована III стадія ожиріння.

У 45 пацієнтів (90 %) із ЦД відзначалося зниження порогу вібраційної чутливості, яка оцінювалася за допомогою градуйованого камертона з частотою 128 Гц, який встановлювався на кісткові виступи нижніх кінцівок. Під час обстеження очного дна у 49 пацієнтів (98 %) виявили непроліферативну ретинопатію судин сітківки по Kohner E., Porta M.

Інші ендокринні захворювання, які включали гіпоталамічний синдром, гіпотиреоз, хронічний полінодозний еутіреодний зоб та аутоімунний тиреоїдит діагностовано у 16 пацієнтів (32 %).

У *табл. 4.5* та *табл. 4.6* виведено усереднений показник по кожній із характеристик, що бралися до уваги при призначенні нової тактики ведення пацієнтів із ЦД та призначення лікарських засобів для корекції супутньої патології та діабетичних ускладнень.

Концентрації креатиніну у 14 пацієнтів (28 %) перевищувала верхню межу референсного інтервалу. Середнє значення ШКФ у пацієнтів склало $73,17 \pm 18,7$ мл/хв/1,73м². Загалом, нормальна ШКФ спостерігалась у 7 пацієнтів (14 %) і складала $104,68 \pm 10,27$ мл/хв/1,73м², ШКФ була незначно зниженою у 31 пацієнта (62%) із ЦД із середнім значенням $75 \pm 8,9$ мл/хв/1,73м². ШКФ в діапазоні від 59 до 45 мл/хв/1,73м² спостерігалася у 9 (18 %) пацієнтів, а середній рівень був $53,79 \pm 4,8$ мл/хв/1,73м², і ШКФ у межах від 30 до 44 мл/хв/1,73м² було діагностовано у 3 пацієнтів (6 %), і становила в середньому $38,83 \pm 5,6$ мл/хв/1,73м².

За результатами кореляційного аналізу, між показниками функції нирок встановлювалися суттєві зв'язки. Найбільш високі значення коефіцієнтів лінійної кореляції відзначались у парах: концентрації сечовини і креатиніну ($r = 0,6$; $p < 0,05$), ШКФ і концентрація сечовина ($r = -0,57$; $p < 0,05$), та ШКФ і концентрація креатиніну ($r = -0,76$; $p < 0,05$).

Таблиця 4.6

Стан вихідних лабораторних характеристик у досліджуваних пацієнтів

Характеристики	Значення
Гемоглобін	148,36 ± 14,7 (103; 176)
Еритроцити	4,72 ± 0,3 (3,5; 5,56)
Кольоровий показник	0,93 ± 0,03 (0,84; 1)
Білірубін	14,32 ± 4,9 (9; 35)
АЛТ	35,52 ± 36,2 (14; 260)
АСТ	45,18 ± 68,9 (10; 508)
Тімолова проба	2,54 ± 1,8 (0,5; 9)
α-амилаза	42,78 ± 24,2 (10; 149)
Загальний білок	73,52 ± 6,2 (58; 88)
Сечовина, ммоль/л	5,84 ± 1,8 (2,2; 10,7)
Креатинін, ммоль/л	91,46 ± 20,2 (56; 166)
ШКФ, мл/хв/1,73м ²	73,17 ± 18,7 (60; 153)
Глікемія натщесерце, ммоль/л	13,72 ± 3,4 (7,5; 26,5)
Постпрандіальна глікемія, ммоль/л	14,62 ± 4,5 (3; 27,4)
Фруктозамін, ммоль/л	4,4 ± 1 (2,7; 7,8)
HbA _{1c} , %	8,42 ± 1,2 (5,7; 11,3)
Загальний холестерин, ммоль/л	5,95 ± 2,3 (3,2; 18,9)
ЛПВЩ, ммоль/л	1,24 ± 0,4 (0,3; 2,6)
ЛПНЩ, ммоль/л	3,53 ± 2 (0,21; 13,9)
ЛПДНЩ, ммоль/л	1,13 ± 0,7 (0,22; 4,4)
Тригліцериди, ммоль/л	2,58 ± 1,7 (0,5; 9,8)
КА, ммоль/л	4,43 ± 4,4 (1; 30,5)
САТ, мм.рт.ст.	128,5 ± 16 (90; 180)
ДАД, мм.рт.ст.	75,1 ± 9,3 (50; 100)
Пульс, уд/хв.	77,16 ± 13 (55; 102)
Альбумін в сечі, г/л	0,06 ± 0,07 (0,01; 0,3)
Лейкоцитурія, n	17 (34 %)
Еритроцитурія, n	2 (4 %)
Глюкозурія, n	23 (46 %)
Зміни за даними УЗД, n	6 (12 %)

Примітки: дані представлені як M ± SD (min; max).

Вуглеводний обмін характеризувався різною стадією компенсації: HbA_{1c} знаходився в діапазоні від 5,7 до 11,3 %. Середній рівень HbA_{1c} становив $8,42 \pm 1,2$ %. У пацієнтів із ЦД 1 типу середня концентрація HbA_{1c} була $8,29 \pm 1,1$ %, а у пацієнтів з ЦД 2 типу – $8,45 \pm 1,3$ %. Данні по двом групам пацієнтів представлені на *рис. 4.4*.

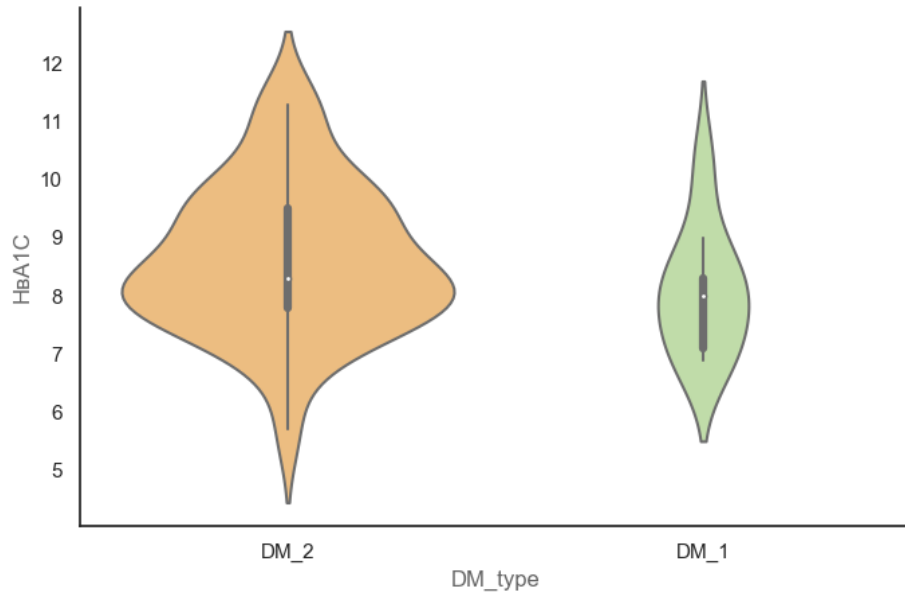


Рисунок 4.4. Рівень глікозильованого гемоглобіну в залежності від типу ЦД

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

Відомо, що гіперглікемія веде до порушення метаболізму жирних кислот. Аналіз ліпідемічного профілю крові виявив значні статистично вагомі відмінності у пацієнтів із ЦД від норми. Зокрема, у 42 (84 %) обстежуваних спостерігалось перевищення цільових значень ЛПНЩ, у 43 (86 %) обстежуваних спостерігалось перевищення цільових значень загального холестерину, передбачуваних рекомендаціями ESC (2016).

Результати кореляційного аналізу показали статистично значущі кореляційні зв'язки між більшістю параметрів ліпідемічного профілю: загальний холестерин і ЛПНЩ ($r = 0,95$; $p < 0,05$), загальний холестерин і КА ($r = 0,81$; $p < 0,05$), ТГ і ЛПНЩ ($r = 0,99$; $p < 0,05$), ЛПНЩ і КА ($r = 0,81$; $p < 0,05$), а також між цими параметрами і більшістю інших досліджуваних

клініко-лабораторних характеристик. Стан вихідних параметрів у досліджуваних пацієнтів в залежності від типу ЦД наведено в *табл. 4.7*.

Таблиця 4.7

Стан вихідних лабораторних характеристик у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу

Характеристики	ЦД 1 типу n = 11	ЦД 2 тип n = 39
Гемоглобін	149,54 ± 16,1	148,02 ± 14,4
Еритроцити	4,77 ± 0,3	4,7 ± 0,3
Кольоровий показник	0,93 ± 0,04	0,94 ± 0,03
Білірубін	17,45 ± 6,8	13,43 ± 4
АЛТ, Од/л	55,36 ± 70,65*	29,92 ± 15,3*
АСТ, Од/л	79,09 ± 143,3*	35,74 ± 17,3*
Тімолова проб, Од.	2,37 ± 1,9	2,56 ± 1,84
α-амилаза, Од/л	37,36 ± 11,1	44,3 ± 26,7
Загальний білок, г/л	70,27 ± 7	74,43 ± 5,7
Сечовина, ммоль/л	4,53 ± 1,5*	6,2 ± 1,8*
Креатинін, ммоль/л	81,81 ± 13,7	94,17 ± 21
ШКФ, мл/хв/1,73м ²	89,85 ± 17,87	68,46 ± 16,3
Глікемія натщесерце, ммоль/л	13,26 ± 2,6	13,85 ± 3,7
Постпрандіальна глікемія, ммоль/л	14,22 ± 3,9	14,73 ± 4,7
Фруктозамін, ммоль/л	4,45 ± 1	4,49 ± 1
HbA _{1c} , %	8,29 ± 1,1	8,45 ± 1,3
Загальний холестерин, ммоль/л	5,21 ± 1,25	6,19 ± 2,5
ЛПВЩ, ммоль/л	1,46 ± 0,5	1,18 ± 0,3
ЛПНЩ, ммоль/л	0,65 ± 0,3	1,27 ± 0,8
ЛПДНЩ, ммоль/л	3,15 ± 1,4	3,63 ± 2,2
ТГ, ммоль/л	1,4 ± 0,75*	2,91 ± 1,8*
КА, ммоль/л	3,1 ± 2,5	4,96 ± 4,8
САТ, мм.рт.ст.	121,36 ± 8,6	130,51 ± 17,12
ДАТ, мм.рт.ст.	75 ± 7,4	75,21 ± 9,8
Пульс, уд/хв.	74,72 ± 14,8	77,84 ± 12,6
Альбумін в сечі, г/л	0,03 ± 0,04	0,07 ± 0,08

Примітка: Дані представлені як M ± SD. * Статистично значуща різниця між групами за критерієм Фішера F (p < 0,05).

Не виявлено істотних відмінностей між групами пацієнтів із ЦД 1 типу та ЦД 2 типу за рядом показників, окрім таких, як АЛТ, АСТ, сечовина, ШКФ та ТГ.

Залежно від віку, пацієнти із ЦД були розділені на 4 групи: першу групу склали пацієнти до 50 років із середнім віком $44,26 \pm 9,7$ років, другу групу – від 50 до 59 років із середнім віком $51,91 \pm 8,2$ роки. Третю групу склали пацієнти у віці від 60 до 69 років, в середньому вік склав $62,85 \pm 3$ роки. У четверту групу входили пацієнти старше 70 років, а середній вік склав $72,11 \pm 3,9$ роки.

У *табл. 4.8* відображено стан вуглеводного і ліпідного обміну у пацієнтів різного віку із ЦД.

Таблиця 4.8

Вихідні показники вуглеводного і ліпідного обміну у різних вікових групах

Показники	Вік ≤ 49	Вік 50-59	Вік 60-69	Вік ≥ 70
	n = 15	n = 12	n = 14	n = 9
Глікемія натщесерце, ммоль/л	$13,92 \pm 2,8$	$12,4 \pm 2,4$	$14,15 \pm 4,5$	$14,47 \pm 3,3$
Постпрандіальна глікемія, ммоль/л	14,12	$13,72 \pm 3,5$	$15,53 \pm 6,2$	$15,22 \pm 3,7$
Фруктозамін, ммоль/л	$4,57 \pm 0,9$	$4 \pm 0,8$	$4,32 \pm 0,7$	$5,25 \pm 1,2$
HbA _{1c} , %	$8,54 \pm 1,1$	$8 \pm 1,1$	$8,41 \pm 1,6$	$8,76 \pm 0,8$
Загальний холестерин, ммоль/л	$6,09 \pm 0,5$	$6,05 \pm 1,4$	$6 \pm 0,8$	$5,63 \pm 1$
ЛПВЩ, ммоль/л	$1,32 \pm 0,5$	$1,21 \pm 0,3$	$1,21 \pm 0,2$	$1,21 \pm 0,5$
ЛПДНЩ, ммоль/л	$1,13 \pm 0,1$	$1,16 \pm 0,5$	$1,14 \pm 0,3$	$1,09 \pm 0,1$
ЛПНЩ, ммоль/л	$3,7 \pm 0,3$	$3,62 \pm 0,8$	$3,6 \pm 0,5$	$2,99 \pm 0,8$
ТГ, ммоль/л	$2,47 \pm 0,3$	$2,58 \pm 1,2$	$2,57 \pm 0,8$	$2,75 \pm 0,2$
КА	$5,04 \pm 0,5$	$4,32 \pm 1,4$	$4,19 \pm 0,8$	$4,61 \pm 0,4$

Примітки: дані представлені як $M \pm SD$

На вихідному візиті середній рівень HbA_{1c} був найвищим у пацієнтів у віці ≥ 70 років і складало $8,76 \pm 0,8$ % і найнижчим у хворих у віці від 50 до 59 років із рівнем у $8 \pm 1,1$ %.

Концентрація ЦЕК коливалася від 1200 до 4600 клітин/мл. Середня концентрація ЦЕК у пацієнтів із ЦД склала 2530 ± 694 клітин/мл. Визначення клініко-лабораторних параметрів показало, що при незадовільному глікемічному контролі в основній групі рівні циркулюючих ендотеліоцитів були різко підвищеними в порівнянні з групою контролю ($p < 0,05$).

Концентрація ЦЕК у жінок становила в середньому $2692 \pm 677,5$ клітин/мл, у чоловіків – $2368 \pm 685,39$ клітин/мл.

У групі пацієнтів із ЦД 1 типу, рівень ЦЕК був від 1300 до 3900 клітин/мл, і в середньому склав $2745,45 \pm 704,7$ клітин/мл. Серед пацієнтів із ЦД 2 типу, концентрація ЦЕК перебувала в діапазоні від 1200 до 4600 клітин/мл, із середнім значенням $2469,23 \pm 687,9$ клітин/мл. Дані рівня і розподілу ЦЕК серед пацієнтів ЦД 1 і ЦД 2 типу відображені на *рис. 4.5*.

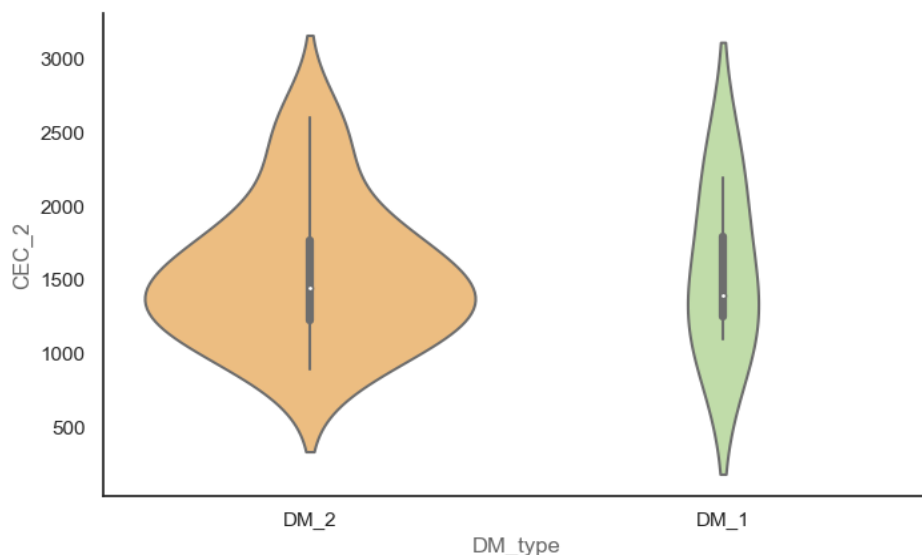


Рисунок 4.5. Концентрація ЦЕК у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

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

Рівень ендотеліоцитемії був проаналізований в залежності від віку пацієнтів. Загальний тест дисперсійного аналізу показав, що статистично значуща різниця за рівнем ЦЕК не була виявлена між ступенем ендотеліальної десквамації та віком пацієнтів. Разом із тим, була тенденція до наростання рівня ЦЕК із віком.

В залежності від тривалості ЦД, всі пацієнти були розділені на 4 групи. В першу групу входило 15 пацієнтів із тривалістю ЦД до 5 років, із середньою тривалістю $3 \pm 1,4$ роки. Другу групу склало 16 пацієнтів із стажем ЦД від 6 до 10 років із середньою тривалістю $8,56 \pm 1,26$ років. У третю групу входило 8 пацієнтів із ЦД, який тривав від 11 до 15 років, із середнім значенням $13 \pm 1,4$ років. Четверту групу склало 11 пацієнтів, у яких ЦД був діагностований більше, ніж 15 років тому, і тривалість в середньому склала $20,8 \pm 6,6$ років.

Значущої різниці між рівнем циркулюючих ендотеліоцитів та тривалістю діабету виявлено не було.

У пацієнтів із ЦД, концентрація ЦЕК, що знаходилися в початковій стадії розпаду, становила 12,9 % при середньому рівні ендотеліоцитемії $328 \pm 214,7$ клітин/мл. На другій стадії розпаду, кількість ЦЕК складала 70,6 % при середній концентрації ЦЕК – $1788 \pm 470,1$ клітин/мл. Десквамованих ендотеліоцитів, що знаходилися на кінцевій стадії розпаду, в плазмі крові було 16,4 % при рівні ендотеліоцитемії – $416 \pm 197,2$ клітин/мл.

Дані по ЦЕК в залежності від стадії розпаду наведені в *табл. 4.9*.

Групи були зіставними за співвідношенням загальної кількості ЦЕК та ЦЕК на різних стадіях розпаду.

Таблиця 4.9

Вихідні рівні ЦЕК у пацієнтів із ЦД

Показники	Всього	ЦД 1 тип	ЦД 2 тип	Група контролю
	n = 50	n = 11	n = 39	n = 25
$\Sigma_{\text{цек}}$, клітин/мл	2530 ± 694	2745,4 ± 704,7	2469,23 ± 687,9	1228 ± 415,8
S ₁ , клітин/мл	328 ± 214,7	409 ± 175,8	305,1 ± 221,1	236 ± 152,4
S ₂ , клітин/мл	1788 ± 470,1	1918,1 ± 511,5	1751,2 ± 458,1	844 ± 304,2
S ₃ , клітин/мл	416 ± 197,2	418,1 ± 147	415,3 ± 210,9	148 ± 104,56

Примітки: дані представлені як $M \pm SD$.

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 ($r = 0,76$; $p < 0,05$).

Таблиця 4.10

Вихідні рівні ЦЕК у пацієнтів із ЦД в залежності від наявності діабетичної хвороби нирок

Показники	Без діабетичної хвороби нирок	З діабетичною хворобою нирок
	n = 12	n = 38
$\Sigma_{\text{цек}}$, клітин/мл	2500 ± 493,5 (1600; 3200)	2539,47 ± 751,76 (1200; 4600)
S ₁ , клітин/мл	316,66 ± 169,6 (100; 700)	331,5 ± 229,1 (0; 900)
S ₂ , клітин/мл	1783,33 ± 380,9 (1000; 2300)	1789,47 ± 499,6 (800; 2100)
S ₃ , клітин/мл	408,33 ± 131,1 (200; 600)	418,42 ± 215,42 (100; 1100)

Примітки: дані представлені як $M \pm SD$ (min; max).

Результати аналізу рівня ЦЕК в залежності від наявності ДХН наведено в табл. 4.10. Проведені дослідження не виявили статистично значущих відмінностей між ступенем ендотеліальної десквамації та наявністю ДХН ($p > 0,05$).

4.2.2. Методика ведення пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу

Першочерговими заходами по лікуванню ЦД є модифікація образу життя, що передбачає режим максимально допустимого фізичного навантаження і корекція дієти.

Основні принципи дієти:

1. Рівномірність. 3-5 разів на добу з інтервалами між прийомами їжі не більше 4-х годин

2. Повне виключення моно- і дисахаридів (за винятком необхідності купірування гіпоглікемічних станів), таких як цукор і цукрозамінники, мед, кондитерська випічка, всі вироби з пшениці, борошно, слабоалкогольні напої, фруктові соки; виноград, диня, персик; солодкі газовані напої.

3. Різке обмеження складних вуглеводів. Додатково до основних продуктів харчування на один прийом їжі на вибір:

Перше блюдо з овочами або крупами

1 кусочок темного хліба.

Гарніри: крупи та овочі, що пройшли термічну обробку, квашення або маринування; салати з вареними овочами – 3 столових ложки, або 45 г.

Фрукти – 250,0 г; кавун – 0,5 кг.

Морозиво «Пломбір» – до 100 г.

4. Основа харчування – м'ясо, риба і морепродукти, птиця, молочні продукти, яйця, овочі сирі. Також в рамках щоденного раціону харчування бульйон, вуха, холодець, сік томатний без обмеження.

5. Діабетичні печива, цукерки та шоколад не вживати

6. Рекомендовано харчуватися натуральними продуктами. Ерзаци, ковбаси, напівфабрикати, маргарин - не бажано.

7. Гриби та горіхи мають індивідуальний вплив на вуглеводний обмін, який неможливо спрогнозувати заздалегідь.

Дієта застосовується в клінічній практиці з 2000 року на більш ніж на 10 000 пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу. Її застосування дозволяє досягти компенсації вуглеводного обміну без підрахунку хлібних одиниць. Інформація подається коротко, схематично, універсально і містить повну інформацію.

Для досягнення задовільної компенсації ЦД, необхідна інсулінотерапія з моменту виявлення захворювання при ЦД 1 типу, та у значній кількості пацієнтів із ЦД 2 типу. У обстежуваних пацієнтів на тлі попередньої пероральної цукрознижуючої терапії в комбінації з базальним інсуліном, цільовий рівень HbA_{1c} не було досягнуто або контроль був втрачений у зв'язку з прогресуючим характером ЦД 2 типу.

Пацієнтів переводили з попередньої терапії на аналог інсуліну гларгін і/або комбінацію пероральних цукрознижуючих препаратів за узгодженим рішенням лікаря і пацієнта і відповідно до інструкції по застосуванню препаратів.

Усі пацієнти із ЦД 1 типу отримали інсулінотерапію за базисно-болюсною схемою у вигляді комбінації аналога інсуліну гларгін та людського інсуліну короткої дії. Добова доза інсуліну гларгіну складала в середньому $23,2 \pm 2,9$ МО, інсулін короткої дії призначався 3 рази на день у дозах від 2 до 6 МО, в середньому складаючи $3,81 \pm 0,6$ МО.

У пацієнтів із ЦД 1 типу, при переводі з людського інсуліну середньої тривалості, інсулін гларгін призначався в половинній дозі від попередньої добової дози людського інсуліну з подальшим коригуванням 1 раз в 3 дня. Цей алгоритм титрації відомий як *treat-to-target*, або «лікування до досягнення мети». Середня доза базального інсуліну знижувалася на $11,3 \pm 7$ МО, що в середньому склало 35,4 %.

Частині пацієнтів із ЦД 2 типу вперше була назначена 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. Попередня доза базального інсуліну у пацієнтів із ЦД ($n = 37$) складала у середньому $32,88 \pm 2,4$ МО, і була більшою за назначену дозу інсуліну гларгіну на 61,4 % ($p < 0,05$).

Для ведення ЦД 2 типу існує широкий вибір терапевтичних методик, тому вибір належного лікування є непростим завданням. Відомо, що більшість пацієнтів із тривалим перебігом ЦД 2 типу з часом потребує призначення інсуліну враховуючи прогресуючий характер захворювання, і інсулінотерапія признається в середньому через 9 років після маніфестації ЦД 2 типу. Зараз з'являється все більше доказів, що ранній початок інсулінотерапії дозволяє ефективніше досягати адекватного контролю глікемії. Чимало міжнародних керівництв містять рекомендації про необхідність призначення інсуліну, якщо на тлі модифікації способу життя та лікування комбінацією 2-3 пероральних протидіабетичних препаратів не досягаються і не підтримуються цільові рівні глікемії.

В якості цукрознижувальної терапії, пацієнтам із ЦД 2 типу для компенсації вуглеводного обміну була призначена комбінація глімепіриду, метформіну, воглібозу та аналогу інсуліну гларгіну. Дана комбінація препаратів володіє рядом переваг.

Глімепірид, похідне сульфонілсечовини 3 покоління. Його важливою відмінністю від інших препаратів даного класу є подвійний механізм дії, що включає не тільки стимуляцію секреції інсуліну, а й зменшення інсулінорезистентності, що реалізується за рахунок збільшення концентрації і активності GLUT-4 в клітинах периферичних тканинах. Для глімепіриду характерна глюкозозалежна стимуляція секреції інсуліну, що забезпечує близький до фізіологічного профіль інсулінемії і не виснажує бета-клітини підшлункової залози.

Комбінація метформіну і глімепіриду впливає на основні ланки патогенезу ЦД 2 типу, такі як зниження секреції інсуліну, підвищення секреції глюкагону, інсулінорезистентність, гіперпродукція глюкози

печінкою. Крім вираженого гіпоглікемічного ефекту, згідно ADA 2018, метформін володіє доведеною кардіопротекцією, а глімепіриду та інсуліну притаманні нефропротекторні властивості.

В свою чергу воглібоз не стимулює секрецію ендогенного інсуліну, а зниження постпрандіальної гіперглікемії відбувається шляхом уповільнення темпів вивільнення глюкози зі складних вуглеводів за рахунок конкуренції з полісахаридами за місця зв'язування на відповідних ферментах шлунково-кишкового тракту.

Інсулін гларгін призначався з дози, еквівалентної 50 % загальної добової дози інсуліну середньої тривалості дії в складі раніше застосовуваної терапії. Титрація дози гларгіну у інсулін наївних пацієнтів із ЦД 2 типу, починалася з 4 МО, з подальшим коригуванням 1 раз в 3 дня. Добова доза інсуліну гларгіну складала в середньому $19,33 \pm 3$ МО. Це було нижче на $11,38 \pm 7$ МО за попередню дозу людського інсуліну, а зниження в середньому склало 36,2 %.

Серед пацієнтів із ЦД із супутньою патологією щитоподібної залози, замісну терапію левотироксином отримувало 7 пацієнтів із ЦД 2 типу, із клінічно та лабораторно підтвердженим гіпотиреозом.

У хворих на ЦД 2 типу, при наявності супутньої артеріальної гіпертензії, препаратами вибору були інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту, блокатори рецепторів ангіотензину II та блокатори кальцієвих каналів. Також були назначені бета-блокатори та діуретики.

У *табл. 4.11* відображена назначена пероральна протидіабетична та гіпотензивна терапія пацієнтам із ЦД 2 типу.

Таблиця 4.11

Назначені пероральні протидіабетичні препарати та гіпотензивна терапія пацієнтам із ЦД 2 типу

Пероральні протидіабетичні препарати	
Метформін	n = 39 (100 %)
Глімепірид	n = 39 (100 %)
Воглібоз	n = 21 (53,8 %)
Гіпотензивна терапія	
Інгібітори АПФ	n = 21 (53,8 %)
Блокатори рецепторів ангіотензину II	n = 7 (17,9 %)
Блокатори кальцієвих каналів	n = 11 (28,2 %)
Бета-блокатори	n = 17 (43,5 %)
Діуретики	n = 3 (7,6 %)
Ацетилсаліцилова кислота	n = 34 (87,1%)

Призначення ацетилсаліцилової кислоти обумовлено тим, що за ЦД порушується баланс між системами коагуляції і фібринолізу, приводячи до високого ризику тромботичних ускладнень, а також серцево-судинних захворювань.

Обов'язковою умовою успішної терапії ЦД є вплив на всі відомі ланки патогенезу даного захворювання. Підбір комплексної терапії та досягнення компенсації вуглеводного обміну проводилось із урахуванням супутньої патології та темпів прогресування мікро- та макросудинних ускладнень ЦД.

У табл. 4.12 представлена інфузійна терапія, яка була призначена пацієнтам за період стаціонарного лікування.

Таблиця 4.12

Назначена інфузійна терапія пацієнтам із ЦД 1 та 2 типу в залежності від ускладнень, які розвинулись на фоні ЦД

Інфузійна терапія	Доза	Всього n = 50	ЦД 1 тип n = 11	ЦД 2 тип n = 39
L-орнітину-L-аспартату	500 мг/мл, по 10 мл на 200 физ-ра, в/в, крапельно. № 5-10	n = 49 (98 %)	n = 11 (100 %)	n = 38 (97,4 %)
Альфа-ліпоєфа кислота	600 мг в/в, крапельно, на 200 физ-ра. № 10	n = 50 (100 %)	n = 11 (100 %)	n = 39 (100 %)
Мельдоній	100 мг/мл, по 10 мл, в/в, струйно. № 10	n = 50 (100 %)	n = 11 (100 %)	n = 39 (100 %)
Емоксипін	10 мг/мл, по 4 мл, в/м. № 10.	n = 12 (24 %)	n = 4 (36,3 %)	n = 8 (20,5 %)
Вітаміни групи В	По 2 мл, в/м. № 5	n = 46 (43,5 %)	n = 11 (100 %)	n = 35 (89,7 %)
Еноксапарин натрію	1000 анти-Ха МО/0,1 мл, по 0,2-0,4 мл, п/к. № 5	n = 38 (76 %)	n = 5 (45,4 %)	n = 33 (84,6 %)
Цитіколін натрію	1000 мг/4 мл, в/в, крапельно, на 200 физ-ра, № 5	n = 26 (52 %)	n = 8 (72,7 %)	n = 18 (46,1 %)
Ніцерголін	4 мг, по 4 мл, в/м. № 5	n = 8 (16 %)	n = 1 (9 %)	n = 7 (17,9 %)
Фосфатидилхолін	50 мг/мл, по 10 мл, в/в, струйно, № 10	n = 49 (98 %)	n = 11 (100 %)	n = 38 (97,4 %)

4.2.3. Лабораторні характеристики результатів обстеження пацієнтів на 11 день дослідження

Показники глюкози плазми натще, постпрандіальної глікемії та фруктозаміну і розподіл обстежених за типом ЦД, статтю та віком наведено в *табл. 4.13*.

Вихідні рівні глюкози плазми натще, постпрандіальної глікемії та фруктозаміну були співставні у групах пацієнтів із ЦД 1 та 2 типу, а також в групах жінок та чоловіків.

Таблиця 4.13

Динаміка рівнів глюкози плазми натще, постпрандіальної глікемії, фруктоза міну, та розподіл за типом ЦД, статтю та віком

Показники		Глюкоза плазми натще, ммоль/л		Постпрандіальна глікемія, ммоль/л		Фруктозамін, ммоль/л		
Розподіл	n	Вихідний	Після стац. лікуванн я	Вихідний	Після стац. Лікуван ня	n	Вихідний	Після стац. лікуванн я
Всього	50	13,72 ± 0,5	6,53 ± 0,2	14,62 ± 1,1	6,67 ± 0,3	46	4,48 ± 0,2	3,72 ± 0,2
ЦД 1 типу	11	13,26 ± 1,4	6,38 ± 0,4	14,22 ± 3,5	6,24 ± 0,8	11	4,45 ± 0,8	3,85 ± 0,5
ЦД 2 типу	39	13,85 ± 0,5	6,57 ± 0,2	14,73 ± 1	6,79 ± 0,3	35	4,49 ± 0,2	3,68 ± 0,2
Жінки	25	13,56 ± 0,7	6,42 ± 0,1	14,63 ± 1,4	6,4 ± 0,5	24	4,33 ± 0,3	3,67 ± 0,3
Чоловік и	25	13,88 ± 0,6	6,63 ± 0,3	14,6 ± 1,5	6,94 ± 0,3	22	4,64 ± 0,4	3,78 ± 0,3
Вік ≤ 49	9	14,47 ± 0,8	6,41 ± 0,1	15,22 ± 2,1	6,98 ± 0,6	8	5,25 ± 0,6	4,36 ± 0,1
Вік 50- 59	15	13,92 ± 0,8	6,79 ± 0,2	14,12 ± 2,1	6,9 ± 0,6	15	4,57 ± 0,4	3,86 ± 0,3
Вік 60- 69	12	12,4 ± 1,4	5,94 ± 0,2	13,75 ± 1	6,56 ± 0,3	12	4 ± 0,6	3,21 ± 0,1
Вік ≥ 70	14	14,15 ± 1,3	6,82 ± 0,3	15,5 ± 2	6,31 ± 0,7	11	4,32 ± 0,2	3,64 ± 0,3

Примітки: дані представлені як M ± SEM

У дослідженні було продемонстровано, що по завершенню стаціонарного лікування, середній рівень глюкози плазми натще знизився з $13,72 \pm 0,5$ до $6,53 \pm 0,2$ ммоль/л ($p < 0,05$). 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 за період стаціонарного лікування знизився на 0,75 ммоль/л, із статистично значущою різниці в 16,7 %

($p < 0,05$). Результати аналізу рівня ендотеліальної десквамації після стаціонарного лікування представлені в *табл. 4.14*.

Таблиця 4.14

Рівень ЦЕК після стаціонарного лікування в залежності від типу ЦД

Показники	Всього	ЦД 1 тип	ЦД 2 тип
	n = 50	n = 11	n = 39
$\Sigma_{\text{цек}}$, клітин/мл	1792 \pm 117,9	1818,18 \pm 311,9	1784,61 \pm 126,9
S1, клітин/мл	240 \pm 29,3	218,1 \pm 103	246,1 \pm 26,5
S2, клітин/мл	1268 \pm 94,6	1300 \pm 175,5	1258,9 \pm 113,8
S3, клітин/мл	286 \pm 37,9	309 \pm 137,6	279,4 \pm 28,9

Примітки: дані представлені як $M \pm SEM$

Однофакторний дисперсійний аналіз підтвердив асоціацію між вихідним рівнем циркулюючих ендотеліоцитів та рівнем ЦЕК після стаціонарного лікування ($F = 39,4$; $p < 0,05$). Рівень ендотеліоцитемії після стаціонарного лікування знижувався в середньому на $738 \pm 67,8$ клітин/мл і складав 29,1 %, що було статистично значимим результатом ($p < 0,05$). На *рис. 4.6* представлена динаміка зниження рівня пошкодження ендотелію у пацієнтів із ЦД після стаціонарного лікування назначеною терапією.

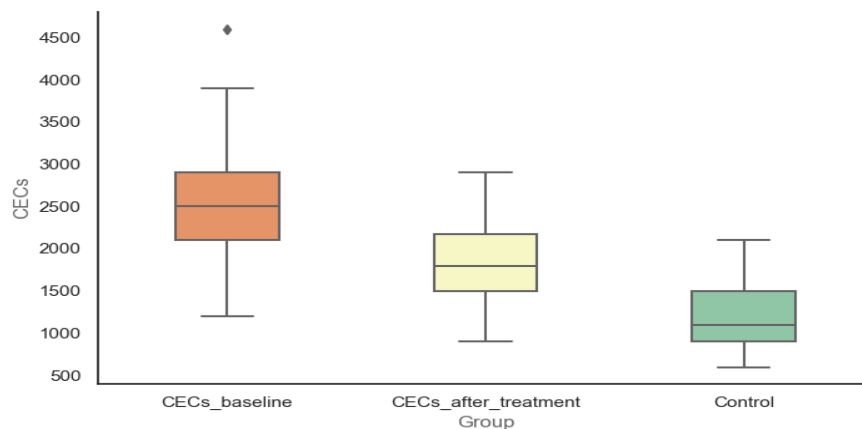


Рисунок. 4.6. Динаміка рівня ендотеліоцитемії у пацієнтів із ЦД після стаціонарного лікування, та порівняння із групою контролю

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

Таблиця 4.15

Вихідний рівень та рівень ендотеліальної десквамації після 11-денного стаціонарного лікування та різниця між показниками в залежності від ШКФ у пацієнтів із ЦД

Показники		ШКФ ≥ 90 мл/хв/1,73м ²	ШКФ 60-89 мл/хв/1,73м ²	ШКФ 59-45 мл/хв/1,73м ²	ШКФ 35-44 мл/хв/1,73м ²
		n = 7	n = 30	n = 9	n = 4
$\Sigma_{\text{цек}}$, клітин/ мл	Вихідний	2828,57 \pm 200	2366,66 \pm 346,9	2711,11 \pm 394,49	2825 \pm 523,8
	Після стац. лікування	1900 \pm 450	1733,33 \pm 199,8	1844,44 \pm 119	1925 \pm 321,4
	Різниця	928,57 \pm 250	633,33 \pm 199,3	866,66 \pm 413	900 \pm 202,7
S ₁ , клітин/ мл	Вихідний	400 \pm 100	310 \pm 89,7	322,22 \pm 125,8	350 \pm 88,1
	Після стац. лікування	214,28 \pm 50	243,3 \pm 47,1	266,66 \pm 100	200 \pm 100
	Різниця	185,7 \pm 150	66,66 \pm 81,6	55,55 \pm 125,8	150 \pm 88,1
S ₂ , клітин/ мл	Вихідний	2014,28 \pm 200	1700 \pm 246,3	1866,66 \pm 150	1875 \pm 392,9
	Після стац. лікування	1442,85 \pm 500	1220 \pm 158,1	1322,22 \pm 85,3	1200 \pm 145,2
	Різниця	571,42 \pm 300	480 \pm 135,5	544,44 \pm 118,14	675 \pm 251,66
S ₃ , клітин/ мл	Вихідний	428,57 \pm 100	356,66 \pm 40,8	522,22 \pm 179,6	600 \pm 66,6
	Після стац. лікування	242,8 \pm 100	273,33 \pm 37,2	255,55 \pm 75	525 \pm 176,3
	Різниця	185,7 \pm 100	83,33 \pm 40,8	266,66 \pm 184,8	75 \pm 133,33

Примітки: дані представлені як M \pm SEM

Вихідний рівень, ступень ендотеліального пошкодження та їх динаміка, і розподіл показників за ШКФ наведено в *табл. 4.15*. Зниження рівня

ендотеліальної десквамації спостерігалось в усіх групах пацієнтів із ЦД, незалежно від функціонального стану нирок.

4.2.4. Прогноз рівня ендотеліоцитемії на момент закінчення стаціонарного лікування

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.

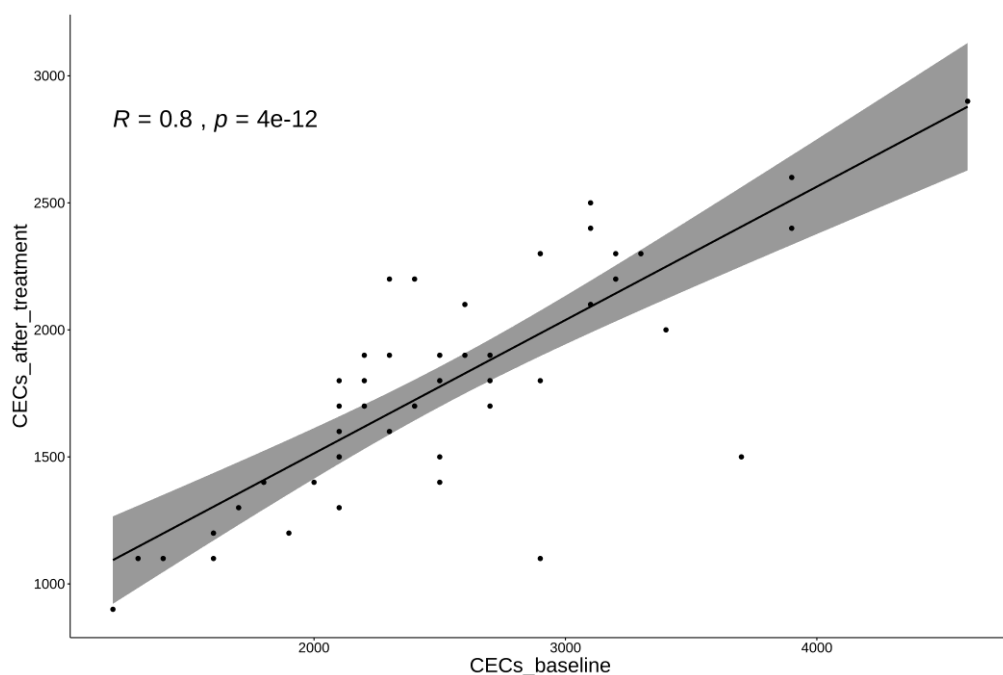


Рисунок 4.7 Діаграма розсіювання, що відображає кореляційний зв'язок між вихідною концентрацією ЦЕК і рівнем ендотеліоцитемії через 10 днів від початку дослідження

На діаграмі розсіювання (рис. 4.7) представлено зв'язок між вихідним рівнем ЦЕК і кількістю ЦЕК після 10-денного стаціонарного лікування у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу, а також зображені 95%-довірчі інтервали ($r = 0,8$, $p < 0,05$).

R^2 дорівнював 0,63, що свідчить про те, що вихідний рівень ендотеліоцитемії може пояснити рівень ЦЕК після стаціонарного лікування на 63%.

Таблиця 4.16

Оцінка якості моделі за допомогою дисперсійного аналізу ANOVA

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-value</i>
Regression	1	6505472	6505472	84.13771	3.96E-12
Residual	48	3711328	77319.34		
Total	49	10216800			

Примітка: *df* – ступені свободи, *SS* – сума квадратів, – середній квадрат, *F* – F-критерій Фішера, *p-value* – стат.значимість.

Табл. 4.16 виводить основні результати дисперсійного аналізу ANOVA: ступеня свободи, суми квадратів, середні квадрати, значення F-критерію Фішера, а також рівні значущості. Оскільки дисперсійний аналіз ANOVA показав статистичну значущість, можна прийти до висновку, що дана модель добре описує дані.

Таблиця 4.17

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 _{s_b}	0.524974	0.057232	9.172661	3.96E-12	0.4099	0.640047

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

У *табл. 4.17* наведені коефіцієнти лінійної регресії, стандартні помилки коефіцієнтів регресії, статистичний критерій Стюдента, статистична значимість коефіцієнтів регресії, а також 95% довірчі інтервали.

Рівняння побудованої нами моделі має такий вигляд:

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

Виходячи з *табл. 4.17*, наше рівняння набуває вигляду:

$$\hat{Y}_i = 463.817 + 0.524974 * \text{CECs}_b$$

За допомогою цієї моделі ми можемо прогнозувати, як зміниться рівень ендотеліоцитемії в результаті запропонованої стратегії стаціонарного лікування. Припустимо, до нас приходить пацієнт із ЦД 2 типу з вихідним рівнем ЦЕК 3000 клітин/мл. Отже, ми очікуємо, що через 10 днів кількість ЦЕК в плазмі крові знизиться до 2038,73 клітин/мл.

Отже, в результаті застосування нами методу лінійної регресії була побудована прогностична модель, яка здатна прогнозувати рівень ЦЕК після 10 днів після лікування в залежності від вихідного рівня ендотеліоцитемії в результаті використання нашої стратегії лікування ЦД 1 і 2 типу. Коефіцієнт детермінації цієї моделі становив 63%.

4.2.5. Результати 3-місячного дослідження

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 $8,42 \pm 0,2 \%$ до $7,36 \pm 0,3 \%$, що відповідає статистично значущій різниці в $-1,05 \pm 0,2 \%$ ($p < 0,05$).

З *табл. 4.18* видно, що кількість пацієнтів із рівнем $\text{HbA}_{1c} \leq 7,0\%$ підвищилася з 14 до 52 %.

Таблиця 4.18

Динаміка HbA_{1c} за 3 місяці лікування та розподіл за рівнями HbA_{1c}

Розподіл за рівнями HbA _{1c}	≤ 6,5 %	≤ 7,0%	≤ 8,0 %	> 8,0 %	Середній рівень HbA _{1c}
Вихідний	n = 3	n = 4	n = 14	n = 29	n = 50
	6,03 ± 0,3	7,15 ± 0,4	7,7 ± 0,2	9,18 ± 0,2	8,42 ± 0,2
Заключний	n = 11	n = 15	n = 12	n = 12	n = 50
	6,19 ± 0,1	6,83 ± 0,04	7,52 ± 0,2	8,93 ± 0,1	7,36 ± 0,3

Примітки: дані представлені як M ± SEM

Динаміка рівня HbA_{1c} за 3 місяці у обстежуваних пацієнтів із ЦД залежно від віку наведено в *табл. 4.19*. На заключному візиті середній рівень HbA_{1c} корелював із віком пацієнтів ($r = 0,46$; $p < 0,05$), що відображено на *рис.4.8*. Найкращого результату лікування досягнуто в групі пацієнтів, молодших за 50 років, причому в більшості випадків за рахунок пацієнтів із ЦД 1 типу.

Таблиця 4.19

Середні рівні HbA_{1c} у різних вікових групах

HbA _{1c} у різних вікових групах	Вік ≤ 49	Вік 50-59	Вік 60-69	Вік ≥ 70
	n = 15	n = 12	n = 14	n = 9
Вихідний	8,54 ± 0,3	8 ± 0,1	8,41 ± 0,7	8,76 ± 0,3
Заключний	6,87 ± 0,1	7,38 ± 0,3	7,73 ± 0,2	7,56 ± 0,5

Примітки: дані представлені як M ± SEM

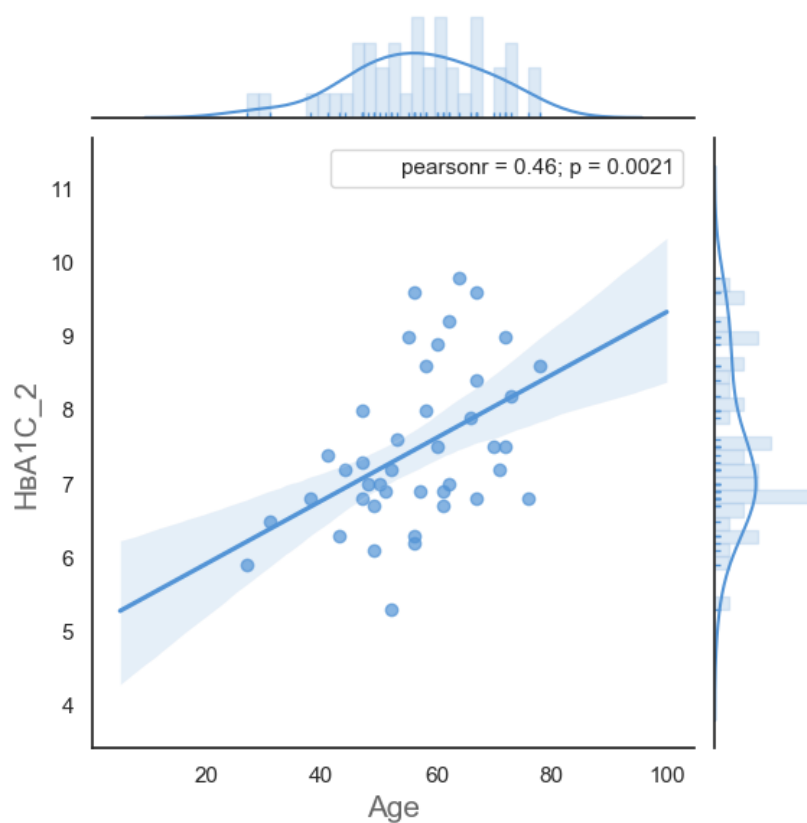


Рисунок 4.8 Діаграма розсіювання, що відображає кореляційний зв'язок між заключним рівнем HbA_{1c} та віком.

Особливості змін ліпідного обміну у хворих на ЦД після 3 місяців лікування наведено в *табл. 4.20*.

Таблиця 4.20

Порівняльна таблиця вихідного та заключного рівнів показників ліпідного обміну

Показники	Вихідний рівень	Заклучний рівень
Загальний холестерин, ммоль/л	$5,97 \pm 0,38$	$5,72 \pm 0,4$
ЛПВЩ, ммоль/л	$1,24 \pm 0,06$	$1,36 \pm 0,09$
ЛПДНЩ, ммоль/л	$1,13 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,1$
ЛПНЩ, ммоль/л	$3,53 \pm 0,1$	$3,39 \pm 0,3$
ТГ, ммоль/л	$2,58 \pm 0,2$	$2,47 \pm 0,4$
КА	$4,5 \pm 0,7$	$3,65 \pm 0,7$

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

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.

Заключний рівень показників ліпідограми у різних вікових групах представлено в *табл. 4.21*.

Таблиця 4.21

Заключний рівень показників ліпідного обміну в різних вікових групах.

Показники	Вік ≤ 49	Вік 50-59	Вік 60-69	Вік ≥ 70
	n = 12	n = 12	n = 13	n = 8
Загальний холестерин, ммоль/л	4,9 ± 0,1*	6,57 ± 1,9	5,55 ± 0,7	5,97 ± 0,79
ЛПВЩ, ммоль/л	1,45 ± 0,1	1,28 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,45 ± 0,1
ЛПДНЩ, ммоль/л	1,17 ± 0,1	0,95 ± 0,7	1 ± 0,3	1,38 ± 0,3
ЛПНЩ, ммоль/л	2,6 ± 0,2*	4,5 ± 1,2	3,25 ± 0,5	3,17 ± 0,6
ТГ, ммоль/л	2,48 ± 0,4	2,17 ± 1,6	2,27 ± 0,8	3,2 ± 0,8
КА	2,76 ± 0,5	4,67 ± 2,4	3,61 ± 0,8	3,52 ± 0,7

Примітка: дані представлені як $M \pm SEM$. * Статистично значуща різниця між першою і другою групою за критерієм Фішера F ($p < 0,05$).

Як видно з *табл. 4.21*, у хворих на ЦД статистично значущої різниці за віком практично між всіма показниками ліпідного обміну через 3 місяці лікування виявлено не було. Значущих відмінностей виявлено у групі хворих на ЦД молодших за 50 років та в групі із віком від 50 до 59 років за рівнем загального холестерину та ЛПНЩ. Рівень загального холестерину та ЛПВЩ був суттєво вищий у групі хворих із віком від 50 до 59 років ($p < 0,05$).

Таблиця 4.22

Порівняльна таблиця вихідного та заключного рівнів показників ліпідограми в залежності від типу ЦД

Показники	ЦД 1 тип		ЦД 2 тип	
	Вихідний рівень n = 11	Заклучний рівень n = 9	Вихідний рівень n = 39	Заклучний рівень n = 36
Загальний холестерин, ммоль/л	5,21 ± 0,5	5,35 ± 0,06	6,19 ± 0,5	5,82 ± 0,5
ЛПВЩ, ммоль/л	1,46 ± 0,1	1,64 ± 0,2	1,1 ± 0,08	1,29 ± 0,1
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,65 ± 0,2	0,5 ± 0,1	1,27 ± 0,1	1,25 ± 0,2
ЛПНЩ, ммоль/л	3,15 ± 0,5	3,47 ± 0,2	3,63 ± 0,3	3,37 ± 0,4
ТГ, ммоль/л	1,4 ± 0,5	1,03 ± 0,3	2,91 ± 0,4	2,86 ± 0,4
КА	3,1 ± 0,7	2,36 ± 0,6	4,96 ± 0,4	3,97 ± 0,8

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

В табл. 4.22 представлена динаміка показників ліпідного обміну у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу за 3 місяці. Тенденція до нормалізації ліпідограми спостерігається в обох групах.

Як видно із табл. 4.23, вихідний рівень альбуміну в сечі в середньому складав $0,06 \pm 0,01$ г/л, креатиніну крові – $91,46 \pm 4,3$ мкмоль/л, і були вищими у пацієнтів із ЦД 2 типу.

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

Таблиця 4.23

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
Заключна ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	78,58 ± 7,3	89,89 ± 3,9	75,39 ± 3,4
Заключний рівень альбуміну в сечі, г/л	0,04 ± 0,007	0,02 ± 0,009	0,04 ± 0,009
Заключний рівень креатиніну в сечі, ммоль/л	7,53 ± 0,7	8,27 ± 2	7,32 ± 0,8
АКС, 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 $F (p < 0,05)$.

На *рис. 4.9* представлено рівень ШКФ на різних етапах даного дослідження.

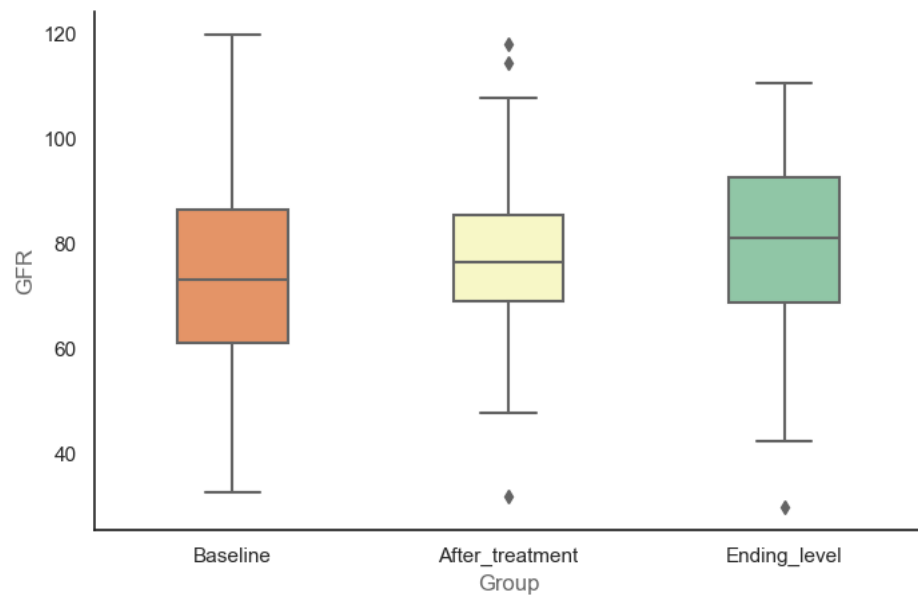


Рисунок 4.9. Порівняльна характеристика ШКФ серед пацієнтів із ЦД за період дослідження.

Примітка: дані представлені як медіана та інтерквартильні діапазони.

На рис. 4.10 представлена динаміка рівнів ендотеліальної десквамації за 3х місячний період дослідження на 3х етапах, на вихідному етапі, через 10 днів після стаціонарного лікування і на заключному етапі.

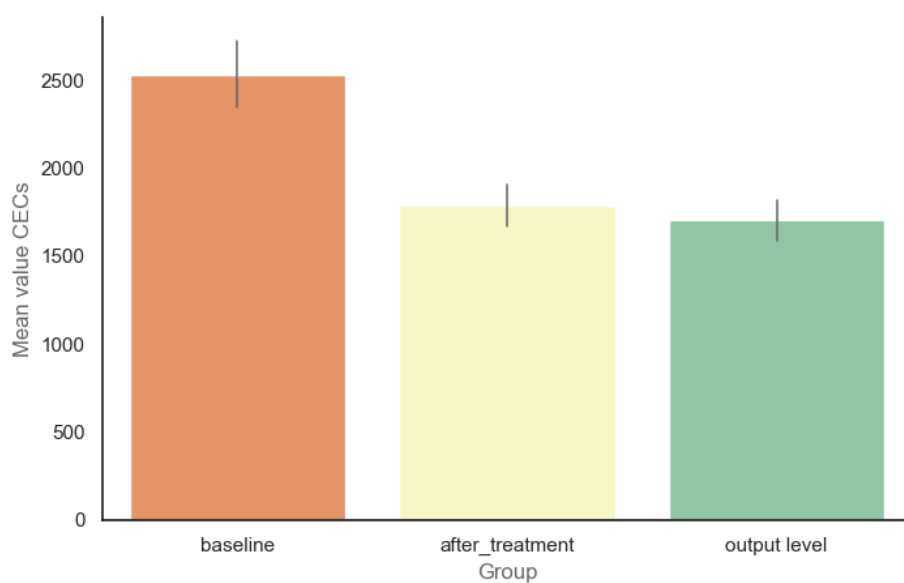


Рис. 4.10 Динаміка рівнів ЦЕК за період дослідження

Примітка: дані представлені як $M \pm SEM$

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, що зображено на *рис. 4.10* ($p < 0,05$).

Істотних відмінностей між заключним рівнем ЦЕК і рівнем ЦЕК після стаціонарного лікування не виявлено.

Рівень ендотеліоцитемії через 3 місяці з початку даного дослідження представлено в *табл. 4.24*.

Таблиця 4.24

Заключний рівень ЦЕК в залежності від типу ЦД

Показники	Всього	ЦД 1 тип	ЦД 2 тип
	n = 50	n = 11	n = 39
$\Sigma_{\text{цек}}$, клітин/мл	1706 ± 58,9	1609,09 ± 124,4	1733,33 ± 67,6
S ₁ , клітин/мл	190 ± 17,1	163,63 ± 28,8	197,43 ± 20,3
S ₂ , клітин/мл	1186 ± 56	1145,45 ± 119	1197,43 ± 64,4
S ₃ , клітин/мл	302 ± 20,9	281,81 ± 61,1	307,69 ± 21,4

Примітки: дані представлені як $M \pm SEM$

Заключний рівень ЦЕК у плазмі крові пацієнтів із ЦД 1 типу не мав статистично значущих відмінностей від рівня ендотеліоцитемії хворих на ЦД 2 типу.

На *рис. 4.11* представлені дані розподілу ЦЕК за типом ЦД на трьох етапах дослідження – на початку дослідження, через 10 днів стаціонарного лікування і на заключному візиті.

Як видно з *рис. 4.11*, статистично значущої різниці за показниками ендотеліального пошкодження між групами пацієнтів із ЦД 1 і 2 не було.

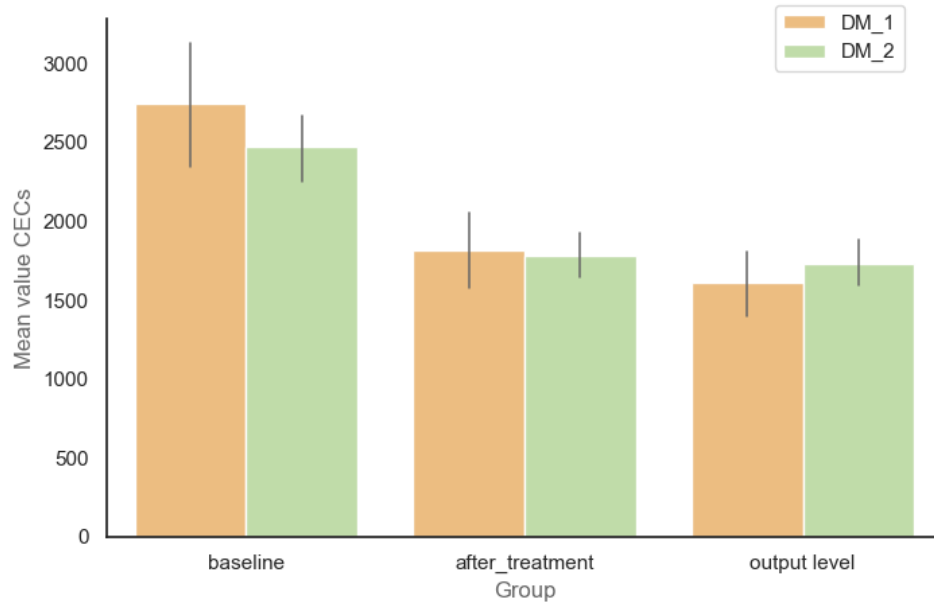


Рис. 4.11. Динаміка рівнів ЦЕК за трьох місячний період дослідження в залежності від типу ЦД

Примітка: дані представлені як $M \pm SEM$

Не помічено значущої різниці між ступенем ендотеліального пошкодження і статтю пацієнтів із ЦД, що зображено на рис. 4.12.

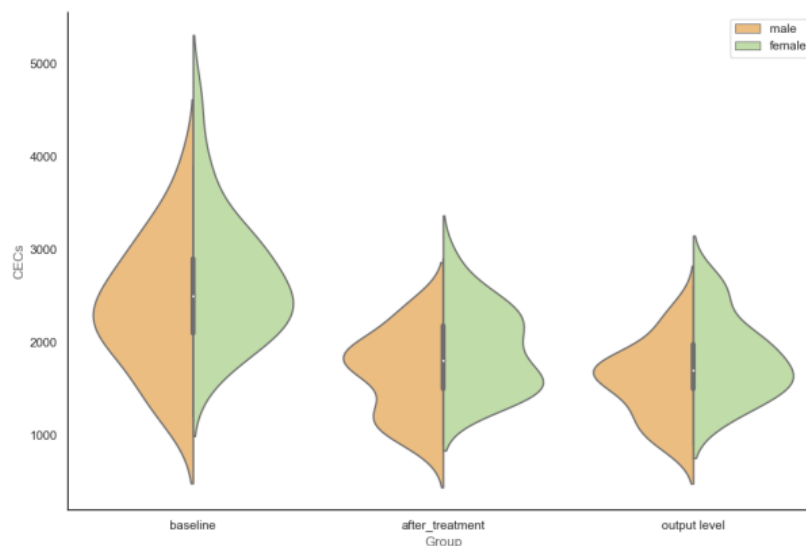


Рис. 4.12 Рівень ендотеліального пошкодження у чоловіків і жінок із ЦД у динаміці лікування.

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

У табл. 4.25 аналізовано рівень ЦЕК за період даного дослідження.

Таблиця 4.25

**Рівень ендотеліальної десквамації у різних групах пацієнтів із ЦД
за період 3-місячного дослідження**

Показники		Загальний рівень ЦЕК, клітин/мл		
Розподіл	n	Вихідний	Після стац. лікування	Заключний
Всього	50	2530 ± 204,8	1792 ± 117,9	1706 ± 58,9
ЦД 1 типу	11	2745,45 ± 554,3	1818,18 ± 311,9	1609,09 ± 124,4
ЦД 2 типу	39	2468,23 ± 217,4	1784,61 ± 26,9	1733,33 ± 67,6
Жінки	25	2692 ± 262,9	1920 ± 157,9	1824 ± 79,6
Чоловіки	25	2368 ± 294,3	1664 ± 162,2	1588 ± 84,7
Вік ≤ 49	15	2425 ± 666,4	1646,66 ± 242,89	1540 ± 111,3
Вік 50-59	12	2578,51 ± 391,9	1716,66 ± 295,8	1600 ± 85,2
Вік 60-69	14	2833,33 ± 248,2	1950 ± 245,7	1871,42 ± 127,7
Вік ≥ 70	9	2386,66 ± 385,4	1888,88 ± 143,6	1866,66 ± 151,1

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

Зниження ступеню ендотеліоцитемії спостерігалось в усіх групах пацієнтів із ЦД. Найнижчий заключний рівень ЦЕК спостерігався у пацієнтів віком до 50 років, та у чоловіків із ЦД, та складало в середньому $1540 \pm 111,3$ клітин/мл та $1588 \pm 84,7$ клітин/мл, відповідно.

Результати оцінки ендотеліальної десквамації залежно від тривалості ЦД представлені в *табл. 4.26*.

Досліджувані показники ендотеліальної десквамації істотно не відрізнялись на трьох етапах лікування в групах пацієнтів із різною тривалістю ЦД. Найнижчий рівень ЦЕК спостерігався у пацієнтів із ЦД ($n = 16$) із стажом захворювання від 6 до 10 років, що на заключному візиті складало $1518,75 \pm 95,3$ клітин/мл. Найвищий рівень ендотеліоцитемії був

зафіксований у пацієнтів із тривалістю ЦД в діапазоні від 11 до 15 років, із заключним рівнем ЦЕК $1887,5 \pm 100$ клітин/мл.

Таблиця 4.26

Динаміка рівня ЦЕК за період дослідження у пацієнтів із різною тривалістю ЦД

Тривалість ЦД	n	Загальний рівень ЦЕК, клітин/мл		
		Вихідний	Після стац. лікування	Заклучний
До 5 років	15	$2526,66 \pm 129,4$	$1766,66 \pm 92$	$1693,63 \pm 79,1$
6-10 років	16	$2431,25 \pm 243,4$	$1668,75 \pm 134,8$	$1518,75 \pm 95,3$
11-15 років	8	$2787,5 \pm 128,8$	$2037,5 \pm 116,6$	$1887,5 \pm 100$
Більше 15 років	11	$2490,9 \pm 189,7$	$1827,27 \pm 156,48$	$1863,63 \pm 17,8$

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

У табл. 4.27 відображені дані рівня ЦЕК в плазмі крові серед обстежуваних пацієнтів із ЦД в залежності від вихідного та заключного рівнів HbA_{1c} .

Таблиця 4.27

Вихідний та заключний рівні ЦЕК залежно від HbA_{1c} у пацієнтів із ЦД

Показники	Загальний рівень ЦЕК, клітин/мл	
	Вихідний	Заклучний
$HbA_{1c} \leq 6,5 \%$	$2366,66 \pm 642,9$ n = 3	$1790,9 \pm 155,6$ n = 11
$HbA_{1c} \leq 7,0\%$	$3150 \pm 306,8$ n = 4	$1653,33 \pm 149,7$ n = 15
$HbA_{1c} \leq 8,0 \%$	$2650 \pm 158,6$ n = 14	$1650 \pm 60,9$ n = 12
$HbA_{1c} > 8,0 \%$	$2403,44 \pm 120$ n = 29	$1750 \pm 107,4$ n = 12

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

Аналізуючи дані, не було встановлено кореляції у досліджуваних пацієнтів між рівнем ендотеліоцитемії та глікозильованим гемоглобіном.

Проаналізовано дані 50 пацієнтів із нормальною функцією нирок і з ДХН I-III стадій. Дані представлені у *табл. 4.28*.

Таблиця 4.28

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 $M \pm SEM$

Статистично значуще зниження ступеня ендотеліоцитемії спостерігалось у всіх групах пацієнтів із ЦД, розділених за ШКФ. Так в групі пацієнтів зі ШКФ ≥ 90 мл/хв/1,73м² (n = 7), зниження ендотеліальної десквамації за трьох місячний період було найбільшим і знизилось з 2828,57 \pm 181,6 клітин/мл до 1771,42 \pm 180 клітин/мл, і склало 1057,17 клітин/мл – 37,37 % ($p < 0,05$).

У пацієнтів зі ШКФ 60-89 мл/хв/1,73м² (n = 31), ЦЕК знизилися з 2393,54 \pm 124,1 клітин/мл до 1635,48 \pm 76,2 клітин/мл, що склало 758,06 клітин/мл – 31,67% ($p < 0,05$). У пацієнтів зі ШКФ 59-45 мл/хв/1,73м² (n = 9), зниження рівня ЦЕК було на 866,67 клітин/мл – 31,97%, і знизилось з 2711,11 \pm 241,7 клітин/мл до 1844,4 \pm 133,5 клітин/мл ($p < 0,05$). І у пацієнтів зі ШКФ 35-44 мл/хв/1,73м² (n = 3), рівень ендотеліоцитемії

знизився з 2700 ± 350 клітин/мл до $1866,66 \pm 150$ клітин/мл, що склало 833,34 клітин/мл – 30,86% ($p < 0,05$).

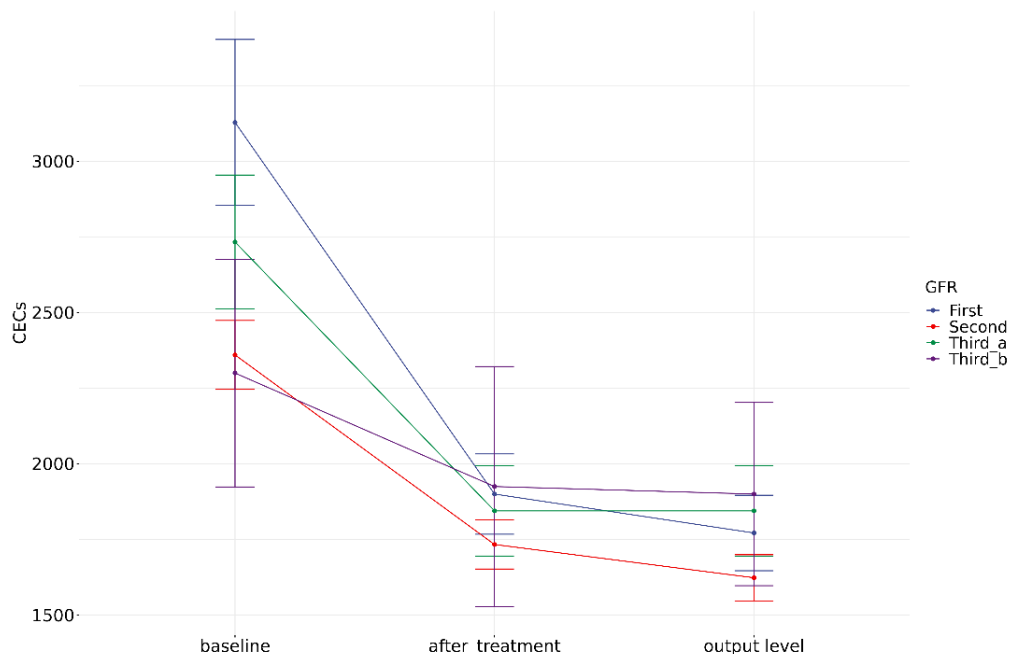


Рисунок 4.13 Динаміка рівня ендотеліоцитемії за 3 місяці у пацієнтів із ЦД в залежності від вихідної ШКФ.

Лабораторні дані, що характеризують ендотеліальну дисфункцію, суттєво не розрізнялися між групами пацієнтів із різною ШКФ, і незважаючи на різні вихідні нефропатичні зміни у даних хворих, статистично значуще зниження рівня ендотеліальної десквамації спостерігалось в усіх групах пацієнтів із ЦД. Візуалізацію даних представлено на *рис. 4.13*.

4.2.6. Прогноз рівня ендотеліоцитемії через 3 місяці від початку дослідження

При побудові моделі множинної лінійної регресії враховували тип ЦД і рівні ендотеліальної десквамації у пацієнтів після стаціонарного лікування і через 3 місяці від початку дослідження.

Аналіз прогностичної значимості вихідних параметрів здійснювали з оцінкою основних характеристик, де $R^2 = 0.83$, а скоригований $R^2 = 0,85$, $p < 0,05$, що підтверджує високу якість моделі.

Таблиця 4.29

Оцінка якості моделі за допомогою дисперсійного аналізу ANOVA

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>p-value</i>
Модель	2	7681720	3840860	140.3212	1.52E-20
Залишки	47	1286480	27371.92		
Загально	49	8968200			

Примітка: *df* – ступені свободи, *SS* – сума квадратів, *MS* – середній квадрат, *F* – F-критерій Фішера, *p-value* – стат. значимість.

У табл. 4.29 представлені результати дисперсійного аналізу ANOVA: ступені свободи, суми квадратів, середні квадрати, значення F-критерію Фішера і рівні значущості. Оскільки дисперсійний аналіз ANOVA показав статистичну значущість, як видно з табл. 4.29, можна прийти до висновку, що дана модель добре описує дані.

Таблиця 4.30

Параметри лінійної моделі

	<i>coeff</i>	<i>std err</i>	<i>t stat</i>	<i>p-value</i>	<i>lower</i>	<i>upper</i>	<i>vif</i>
Константа	45.44608	106.5519	0.426516	0.671679	-168.909	259.8008	
CEC _{str}	0.860005	0.051785	16.60734	2.69E-21	0.755827	0.964182	1.000947
Тип ЦД	153.1097	56.5086	2.709494	0.009374	39.42907	266.7904	1.000947

Примітка: *CEC_{str}* – рівень ЦЕК після 10-денного стац. лікування, *coeff* – коефіцієнт лінійної регресії, *std err* – стандартна помилка коефіцієнта регресії, *t stat* – статистичний критерій Стюдента, *p-value* – статистична значимість коефіцієнтів регресії, *lower* і *upper* – нижня і верхня межі 95% довірчого інтервалу, *vif* – фактор інфляції дисперсії.

У *табл. 4.30* наведені коефіцієнти лінійної регресії, стандартні помилки коефіцієнтів регресії, статистичний критерій Стьюдента, статистична значимість коефіцієнтів регресії, 95% довірчі інтервали, а також фактор інфляції дисперсії.

Методом кодування пустушок закодували ЦД 1 типу як 0, ЦД 2 типу як 1.

Виходячи з *табл. 4.30*, наше рівняння набуває вигляду:

$$\hat{Y}_i = 45.44608 + 0.860005 * \text{CEC}_{\text{str}} + 153.1097 * \text{DM_type}.$$

За допомогою цієї моделі множинної лінійної регресії, ми можемо прогнозувати, як зміниться ступінь ендотеліальної десквамації у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу через 3 місяці від початку дослідження, які пройшли курс лікування діабетичної мікро- і макроангіопатії.

Припустимо, до нас приходить пацієнт із ЦД 1 типу, у якого після 10-денної корекції судинних ускладнень рівень ЦЕК знизився до 1800 клітин/мл. Отже, ми очікуємо, що через 3 місяці кількість ЦЕК в плазмі крові складе 1593,45 клітин/мл, що говорить про стійкість ангіопротекторного ефекта.

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. Коефіцієнт детермінації цієї моделі становив 83%, скоригований коефіцієнт детермінації склав 85%, що підтверджує доцільність провідності ангіопротекторної терапії у пацієнтів як із ЦД 1, так і з ЦД 2 типу.

Висновки до підрозділу 4.2

1. Дослідження продемонструвало перевагу застосування комбінації пероральної цукрознижувальної терапії та використанням аналога інсуліну гларгін пацієнтів із ЦД 2 типу, а також комбінації аналога інсуліну гларгін та інсуліну короткої дії у пацієнтів із ЦД 1 типу в порівнянні з попередньою тактикою лікування. Для компенсації вуглеводного обміну потребувалась істотно нижча доза аналогу інсуліну гларгін, ніж попередня добова доза базального інсуліну середньої дії ($p < 0,05$). Назначена цукрознижувача терапія здатна підтримувати знижений рівень ендотеліальної десквамації впродовж 3 місяців у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу ($p < 0,05$).

2. 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 ($p < 0,05$).

3. Результати аналізу функціонального стану нирок впродовж 3 місяців свідчать, що за умов призначеної схеми ведення пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу, можна запобігти або уповільнити прогресування захворювання нирок у пацієнтів із ЦД.

4. На підставі результатів нашого дослідження ми припускаємо, що ендотеліальна дисфункція є зворотним процесом незалежно від типу ЦД, що обґрунтовує доцільність проведення ангіопротекторної терапії.

5. 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.

Результати даного розділу опубліковані в наступних роботах:

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.

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.

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)*, vol. 18, no. 8, 2019, pp 16-20. DOI:10.9790/0853-1808061620

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.

РОЗДІЛ 5

ЕНДОТЕЛІАЛЬНА ДИСФУНКЦІЯ І РЕНАЛЬНА ДИСФУНКЦІЯ

На сьогоднішній день, більшість наукових фахівців розглядають фактори ЕД як можливі ранні маркери прогресування ДХН за ЦД. Однак, внаслідок гетерогенності ендотеліоцитів, важко узагальнити дані про можливий вплив ендотелію на патогенетичні ланки ЦД. В мікроциркуляції нирок як аферентні, так і еферентні артерії, артеріоли і гломерулярні ендотеліальні клітини є мішенями ЦД.

Відомо, що основні лабораторні методи оцінки функціонального стану нирок за рівнем величини клубочкової фільтрації стають досить інформативними, коли нефункционуючими виявляються менш 60-70% нефронів, а МАУ з'являється, коли вражені 20-25% нефронів [152].

Раніше в нашій лабораторії були підтверджені літературні дані про порушення нирок у хворих на ЦД і розвитком у них ДХН. Однак патогенез ДХН до кінця не вивчений. Нами висловлено припущення про те, що пошкодження гломерулярного ендотелію є одним з основних ланок патогенезу ДХН. З метою перевірки можливого даного механізму нами вивчена функція нирок в зіставленні з ЕД у пацієнтів з ЦД.

Різні методики застосовуються для оцінки ЕД, але їх цінність як предикторів ризику розвитку і прогресування ДХН залишається предметом дискусій. Ми пропонуємо в якості раннього маркера пошкодження нирок проводити визначення плазмового змісту ЦЕК – загально визнаного морфологічного маркера пошкодження ендотелію.

Це припущення було перевірено в дослідженні, в якому брало участь 60 пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

Серед пацієнтів з ЦД були 34 чоловіки (56,6%) і 26 жінки (43,3%). Середній вік пацієнтів склав $55,56 \pm 13,9$ років. Тривалість ЦД склала в середньому $13,6 \pm 8,6$ років. Пацієнти з ЦД 1 типу хворіли в середньому

$9,33 \pm 6,6$, у пацієнтів із ЦД 2 типу захворювання тривало в середньому $14,75 \pm 8,8$ років.

HbA_{1c} знаходився в діапазоні від 5,8 до 10,6%. Середній рівень HbA_{1c} становив $8,29 \pm 1$ %. У пацієнтів із ЦД 1 типу середня концентрація HbA_{1c} була $8,26 \pm 0,7$ %, а у пацієнтів із ЦД 2 типу – $8,13 \pm 1,5$ %. У пацієнтів визначався важкий перебіг ЦД, зі схильністю до гіпоглікемії і кетоацидозу, а також характеризувалося розвитком ДХН.

Про функціональний стан нирок судили за показниками сечового синдрому, МАУ і протеїнурії, ШКФ, рівню креатиніну і сечовини в плазмі. ШКФ визначали за формулою GFR-EPI.

Сечовий синдром був виявлений у 35% пацієнтів (n = 21) із ЦД 1 і 2 типу. Глюкозурія спостерігалася у 28,3% пацієнтів (n = 17) із середнім рівнем 118 ± 44 ммоль/л.

Дані сечового синдрому в залежності від ШКФ представлені на *рис. 5.1*.

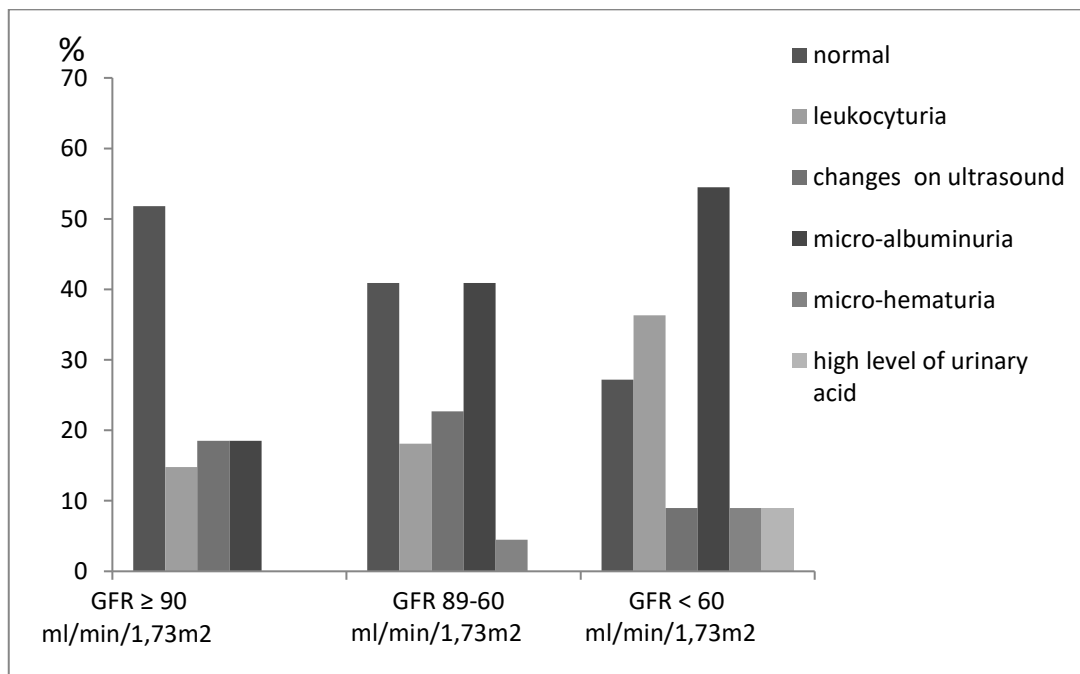


Рисунок 5.1. Зміни в сечовому осаді і результати ультразвукового обстеження нирок у хворих на ЦД 1 і 2 типу в залежності від ШКФ.

Примітка: дані представлені в вигляді відсотків.

Залежно від ШКФ, всі пацієнти були розділені на 3 групи: першу склали пацієнти із ЦД ($n = 27$) зі ШКФ ≥ 90 мл/хв/1,73м², в другу групу входили пацієнти ($n = 22$), у яких ШКФ була в діапазоні від 89 до 60 мл/хв/1,73м². У третю групу входили пацієнти із ЦД ($n = 11$), у яких реєструвалася ШКФ нижче 60 мл/хв/1,73 м².

Серед пацієнтів першої групи, у 8 пацієнтів був виявлений сечовий синдром. У 1 пацієнта сечовий синдром проявлявся як МАУ і лейкоцитурія, у 4 пацієнтів спостерігалася ізольована МАУ, а у 3 пацієнтів – ізольована лейкоцитурія. У той же час у 5 пацієнтів, у яких не було виявлено сечовий синдром, при ультразвуковому дослідженні реєструвалися патологічні зміни в нирках. У 15 пацієнтів не було виявлено ниркової патології.

У другій групі, сечовий синдром був виявлений у 13 пацієнтів із ЦД. У 1 пацієнта сечовий синдром проявлявся у вигляді МАУ, мікрогематурії і лейкоцитурії, у 2 пацієнтів – МАУ і лейкоцитурія. У 4 пацієнтів була виявлена ізольована МАУ і у 1 пацієнта – ізольована лейкоцитурія. За даними ультразвукового дослідження, у 5 пацієнтів були діагностовані патологічні зміни в нирках. 9 пацієнтів із ЦД другої групи були нефрологічно здоровими.

Серед пацієнтів третьої групи, сечовий синдром реєструвався у 7 пацієнтів. У 1 пацієнта сечовий синдром проявлявся у вигляді МАУ, мікрогематурії і лейкоцитурії, у 1 пацієнта в якості лейкоцитурії і МАУ, у 1 пацієнта – ізольована лейкоцитурія, і у 4 пацієнтів була виявлена ізольована МАУ. У 1 пацієнта, крім лейкоцитурії, був виявлений високий рівень сечової кислоти. За даними ультразвукового дослідження, у 1 пацієнта були виявлені конкременти обох нирок до 5 мм. У 3 пацієнтів не було ніяких відхилень за результатами сечового осаду і УЗД.

Ступінь пошкодження ендотелію визначали в трьох групах пацієнтів модифікованим методом J. Nladovес з визначенням загальної кількості ЦЕК і розподілу ЦЕК за стадіями розпаду [146]. Маркери ендотеліального ушкодження та ЕД, а також деякі загальноклінічні показники представлені в

табл. 5.1, яка дозволяє зіставити маркери пошкодження нирок і ЕД в залежності від рівня ШКФ.

Таблиця 5.1

Показники клінічного обстеження, а також результати стабільних метаболітів NO і ЦЕК у пацієнтів з ЦД в залежності від ШКФ

Показники	ШКФ ≥ 90 мл/хв/1,73 м ²	ШКФ 89-60 мл/хв/1,73 м ²	ШКФ < 60 мл/хв/1,73 м ²
Вік, роки	49,5 \pm 14,8*	58,5 \pm 9,8	64,4 \pm 12,6
Тривалість ЦД, роки	11 \pm 6,2	15 \pm 8,3	17,2 \pm 12,6
HbA _{1c} , %	8,3 \pm 0,8	8,3 \pm 1,2	7,9 \pm 1,2
Сечовина, ммоль/л	5 \pm 1,5**	6,1 \pm 1,7	7,7 \pm 2,3
Креатинін, ммоль/л	72,8 \pm 12	78,4 \pm 13,9***	107,1 \pm 31,9
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	3 \pm 1,6	3,5 \pm 2,1	2,8 \pm 1,1
NO ₃ ⁻ , мкмоль/л	32,3 \pm 3	36 \pm 19,3	33,9 \pm 14,9
Загальна к-сть ЦЕК, клітин/мл	3077,7 \pm 617,2	3527,2 \pm 1927	3418,1 \pm 785,8
ЦЕК на S ₁ , клітин/мл	896,2 \pm 371,5	672,7 \pm 595,3	854,5 \pm 522,2
ЦЕК на S ₂ , клітин/мл	1692,5 \pm 466,5*	2186,3 \pm 1226,8	1890,9 \pm 474,2
ЦЕК на S ₃ , клітин/мл	488,8 \pm 217,2	668,1 \pm 345,5	672,7 \pm 205,3

Примітка: Дані представлені як M \pm SEM.

* Статистично значуща різниця між першою і другою групами;

** статистично значуща різниця між першою і третьою групами;

*** статистично значуща різниця між другою і третьою групами за критерієм Фішера F ($p < 0,05$).

Загальна концентрація ЦЕК в першій групі склала 3077,7 \pm 617,2 клітин/мл, що було вище на 12,8% в порівнянні з другою групою і на 10% в порівнянні з третьою групою. Варто відзначити, що між пацієнтами першої

та третьої груп була виявлена статистично значуща різниця між загальною кількістю ЦЕК і віком ($p < 0,05$).

Разом з тим, кореляційних зв'язків між показниками сечового синдрому і рівнем ендотеліоцитемії нами виявлено не було. Можна припустити, що прояви сечового синдрому є вторинними по відношенню до судинних пошкоджень в нирках. Таким чином, можливо, пошкодження ендотелію зі зміною заряду БМК призводить до збільшення проникності базальної мембрани для білків, що проявляється появою МАУ з прогресуванням аж до розвитку протеїнурії. Подальший розвиток патологічного процесу в клубочках призводить, в кінцевому підсумку, до їх склерозу і загибелі нефронів і, отже, до зниження ШКФ.

Аналізуючи процентне співвідношення ЦЕК на різних стадіях розпаду, ми виявили, що у пацієнтів зі ШКФ ≥ 90 мл/хв/1,73 м² на початковій стадії розпаду було в середньому 29,2% ЦЕК, при ШКФ 89-60 мл/хв/1,73 м² –18% від загальної кількості ЦЕК і у пацієнтів із ЦД зі швидкістю ШКФ < 60 мл/хв/1,73 м² концентрація ЦЕК, що знаходяться на початковій стадії розпаду, склала 23,5%. Нами була виявлена статистично значуща різниця між процентним співвідношенням ЦЕК на початковій стадії розпаду в першій і другій групі пацієнтів ($p < 0,05$).

Для оцінки комплексу структурно-функціональних порушень визначали концентрацію стабільних метаболітів оксиду азоту у 53 пацієнтів із ЦД.

Був виявлений кореляційний зв'язок середньої сили ($r = 0,3$) між NO₃- і HbA_{1c}, а також кореляційні зв'язки між NO₃- і HbA_{1c} в кожній групі пацієнтів, розділених за ШКФ. Найсильніший кореляційний зв'язок спостерігався серед пацієнтів зі ШКФ нижче 60 мл/хв/1,73 м² ($r = 0,56$). У групі пацієнтів з нормальною ШКФ слабкий прямий кореляційний зв'язок між NO₂- і HbA_{1c} був також виявлений ($r = 0,28$).

Серед пацієнтів зі ШКФ від 90 до 60 мл/хв/1,73м² були виявлені зворотні кореляційні зв'язки між NO₂- і віком ($r = -0,25$) і між тривалістю ЦД і NO₃- ($r = -0,28$) слабкої сили.

У групі пацієнтів зі ШКФ нижче 60 мл/хв/1,73м² були виявлені кореляційні зв'язки між рівнем стабільних метаболітів оксиду азоту: прямі кореляційні зв'язки сильної і середньої сили між NO₃- і тривалістю ЦД ($r = 0,65$), і між NO₃- і віком ($r = 0,45$), зворотний кореляційний зв'язок між NO₂- і віком середньої сили ($r = -0,45$).

Оцінюючи зв'язки між стабільними метаболітами оксиду азоту та рівнем ЦЕК на різних стадіях розпаду, були виявлені кореляційні зв'язки слабкою, середньої і сильної сили між показниками NO₂- і NO₃- і рівнем ЦЕК на початковій, стадії виражених змін і на кінцевій стадії апоптозу.

Ми виявили зворотний кореляційний зв'язок між рівнем ЦЕК на початковій стадії розпаду і концентрацією NO₂- в плазмі крові у пацієнтів із ЦД ($r = -0,3$). Також цей зв'язок зберігалася серед пацієнтів кожної групи, розділеної за ШКФ. Зворотний кореляційний зв'язок найвищої сили спостерігалася серед пацієнтів зі ШКФ нижче 60 мл/хв/1,73м² ($r = -0,44$).

Варто відзначити, що при поділі загальної групи пацієнтів із ШКФ, було виявлено, що серед пацієнтів з нормальною ШКФ спостерігалася прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,25$) між NO₂- і рівнем ЦЕК в стадії виражених змін, а серед пацієнтів в групах зі ШКФ від 90 до 69 мл/хв/1,73м² і зі ШКФ нижче 60 мл/хв/1,73м², був виявлений зворотний кореляційний зв'язок між даними показниками слабкої й середньої сили $r = -0,29$ і $r = -0,34$, відповідно.

Між NO₂- і рівнем ЦЕК в кінцевій стадії був виявлений прямий кореляційний зв'язок середньої сили ($r = 0,3$). При поділі пацієнтів за ШКФ, сильний прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,55$) був виявлена в групі пацієнтів, що мають ШКФ нижче 60 мл/хв/1,73м².

Між NO₃- і рівнем ЦЕК на початковій стадії був виявлений кореляційний зв'язок слабкої сили ($r = 0,27$) в групі пацієнтів з нормальною

ШКФ. Між NO_3^- і рівнем ЦЕК в кінцевій стадії був виявлений прямий кореляційний зв'язок середньої сили ($r = 0,3$), яка зберігався у всіх трьох групах пацієнтів, розділених за ШКФ, з найбільшим значенням в групі пацієнтів зі ШКФ в діапазоні від 90 до 60 мл/хв/1,73м² ($r = 0,37$).

Компенсаторна активація синтезу оксиду азоту присутня як у пацієнтів із ЦД з нормальною функцією нирок, так і у пацієнтів з ХХН I-III стадій.

Ми вважаємо, що ДХП у пацієнтів із ЦД є наслідком негативного впливу метаболічних і гемодинамічних факторів на ендотелій і БМ з вторинними структурними змінами в каналцях і інтерстиції, що приводять до прогресування ДХП і формуванням ХХН. Отже, ендотеліальна дисфункція, мабуть, є основною патогенетичною ланкою ДХН, яка викликає ушкодження ендотелію клубочків з розвитком підвищення проникності гломерулярних капілярів, що лежить в основі МАУ і в цілому сечового синдрому.

Активація синтезу NO навіть в умовах пошкодження ендотелію сприяє включенню ниркового резерву і відносну стабільність ШКФ. Але подальше прогресування ЦД з пошкодженням гломерулярного ендотелію веде до загибелі клубочків і прогресуванню ХХН з розвитком ниркової недостатності.

Висновки до підрозділу 5.1

1. Показана тенденція посилення десквамації ендотелію у пацієнтів зі зниженою ШКФ. 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.

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

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.

Результати даного розділу опубліковані в наступних роботах:

Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Кузнецов С. Г., Быць Т. Н. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе диабетической болезни почек. *Почки*. 2018; 7 (1): 18-24.

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>.

Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Кузнецов С.Г., Быць Т.Н. Роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе диабетической болезни почек. *Інтегративні 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; 144 с., с. 26.

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. – 187 с., с. 116-7.

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.

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ І ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Цукровий діабет є однією з серйозних науково-медичних, соціальних і економічних проблем в більшості країн світу і навіть був визначений як «неінфекційна епідемія 21 століття». Поширеність цукрового діабету серед осіб старше 18 років становить близько 10% і продовжує стабільно зростати по всьому світу. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, число людей, які страждають на цукровий діабет, з 1980 року збільшилася з 108 мільйонів майже в чотири рази [5].

Відомо, що на поширення цукрового діабету впливає велика кількість чинників навколишнього середовища, генетичні та демографічні особливості популяції, а також концентрація факторів ризику даного захворювання. На сьогоднішній день, важливість проблеми цукрового діабету визначає не тільки його значне поширення, але і швидкий темп розвитку ускладнень. У пацієнтів з цукровим діабетом виявляються важкі порушення, які все частіше є причинами інвалідизації або летальних випадків [7]. Так, цукровий діабет є однією з основних причин таких захворювань, як хронічна хвороба нирок, сліпота, гангрена нижніх кінцівок, а також сприяє підвищенню серцево-судинної захворюваності та смертності [8,9].

Виникнення первинної або вторинної інсулінової недостатності, яка є провідною патогенетичною ланкою цукрового діабету, проявляється явищами гіперглікемії, полідипсії, поліфагії, поліурії, глюкозурії, тобто безпосередніми наслідками порушення вуглеводного обміну. Разом з тим, цукровий діабет починається як хвороба обміну, а закінчується як судинна патологія, яка проявляється мікро- і макроангіопатії [10].

У складній проблемі судинних порушень тривалий час описувалася переважно фінальна частина процесу - атеросклероз судин. І, хоча клінічний результат визначається дійсно ступенем ураження судин на рівні медії, між тим, процес практично завжди починається на рівні ендотелію. Саме

внутрішній шар клітин в судинах першим підпадає під вплив порушення обміну глюкози. Тривала дія гіперглікемії в даний час визнана одним з основних факторів патогенезу діабетичних судинних ускладнень, асоційованого, перш за все, з посиленням ферментативного і неферментативного глікозилювання білків і ліпідів, активацією протеїнкінази С, освітою реактивних форм кисню і кінцевих продуктів глікозилювання. З іншого боку, зміни в ендотелії внаслідок гіперглікемії сприяє порушенню регуляції тонуусу судин, зміни рівня артеріального тиску, проникності, що в подальшому, по-видимому, сприяє інфільтрації стінки судин ліпідами або ліпопротеїдними комплексами з подальшими добре відомими морфологічними елементами атеросклерозу [3,44].

В даний час накопичена чимала інформація про роль ендотелію в фізіології серцево-судинній системі і підтримці гомеостазу. У відповідь на різні фізико-хімічні та нейрогуморальні стимули, ендотелій створює рівновагу між синтезом судинозвужувальних і судинорозширювальних, прозапальних і протизапальних, проліферативних і антипроліферативних, а також тромбоутворюючих і атромбогенних факторів відповідно до потреб обміну речовин певній галузі судини, формуючи систему зворотного зв'язку, що підтримує тонус і поверхню судинного русла в нормі [13].

Показано також, що ендотелій дуже часто втягується в патогенез багатьох захворювань. Налічується понад 200 факторів, що ушкоджують ендотелій і являються причинами розвитку і прогресування ендотеліальної дисфункції, основними з яких є ішемія і гіпоксія тканин, вік-асоційовані порушення, біомеханічні і фізичні дії, а також різні продукти обміну речовин, екзогенні токсини і інші патогенні чинники, які перебувають в системному і тканинному кровотоці. Ступінь вираженості, поширеності та тривалості патологічного відповіді ендотеліоцитів залежить від характеру, інтенсивності, тривалості дії шкідливого чинника або їх комбінації, а також від резистентності ендотеліального шару [16].

Патофізіологія дисфункції ендотелію при цукровому діабеті – це комплексна взаємодія між декількома пов'язаними з гіперглікемією патологічними явищами, які ушкоджують ендотеліальні клітини. Вплив цукрового діабету на судинне русло, ґрунтуючись на молекулярні механізми, включає в себе оксидативний стрес, пошкодження ендотеліальної стінки, хронічне низькорівневе запалення, дисфункцію мітохондрій і ендоплазматичного ретикулуму, резистентність до інсуліну, дисліпідемію і ін. [3].

За ЦД відбувається пошкодження базальної мембрани, міжендотеліальних контактів і самої ендотеліального шару судин. Пошкоджені ендотеліоцити можуть потім функціонувати як активні сигнальні перетворювачі метаболічних, гемодинамічних і запальних чинників, які змінюють функцію і морфологію стінки судини і взаємодіють з сусідніми клітинами, які можуть активувати каскад запальних, проліферативних і профібротичних реакцій з розвитком і прогресуванням дисфункції ендотелію [21].

Однак біохімічні та клітинні зв'язки між підвищеним рівнем глюкози в крові та структурно-функціональними порушеннями ендотелію залишаються в повному обсязі не розкритими. Зрозумілим є одне, що саме ендотелій є практично завжди об'єктом ушкодження, і від його функціонального стану залежить характер і ступінь наступних порушень, які мають місце в організмі, в тому числі, і судинні ускладнення за цукрового діабету.

В кінцевому підсумку, пошкодження судин за ЦД відокремлює ендотеліальну клітину від судинної стінки, і супроводжується наростанням чисельності ЦЕК в периферичному кровотоці, кількість яких можливо визначити [18].

У сформованій практиці доведено, що ендотеліоцит після десквамації гине і розпадається не відразу, а проходить через ряд стадії, в результаті чого повністю деградує і утилізується макрофагами. Отже, на підставі кількості циркулюючих ендотеліоцитів, в тому числі з урахуванням стадії розпаду,

можна судити про активність ендотеліальної десквамації, і, отже, про ступінь пошкодження ендотелію, яка є морфологічною основою ендотеліальної дисфункції [20].

У зв'язку з цим, однією з цілей даного дослідження було встановити наявність і ступінь ендотеліального ушкодження у пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу та ролі цих порушень в патогенезі ДХН шляхом визначення концентрації ЦЕК. Десквамацію ендотелію оцінювали за допомогою модифікованого методу J. Hladovec [13,90].

По-перше, ми встановили, що ЕД зростає за ЦД – у 130 пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу, рівень ендотеліоцитемії знаходився в діапазоні від 1200 до 11200 клітин/мл, середня концентрація ЦЕК склала $2865,38 \pm 99,54$ клітин/мл.

Встановлено, що у 20 осіб групи контролю, порівнянних за статтю та віком, ЦЕК присутні в кількості від 500 до 2100 клітин/мл, в середньому складаючи $1350 \pm 102,21$ клітин/мл.

При цьому, було виявлено, що у пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу визначається статистично значуще підвищення рівня ендотеліоцитемії в порівнянні з практично здоровими особами ($p < 0,05$), що в середньому становило $2738,71 \pm 134,11$ клітин/мл і $2905,05 \pm 122,85$ клітин/мл, відповідно, в той час як статистично значущої різниці між групами не було виявлено.

Також було виявлено, що у пацієнтів із ЦД як 1, так і 2 типу відбувається прискорений розпад десквамованих з ендотеліальної стінки клітин, про що свідчить підвищений вміст ЦЕК на кінцевій стадії розпаду в порівнянні у пацієнтів з діабетом в порівнянні з рівнем ЦЕК на кінцевій стадії розпаду у практично здорових осіб.

Отримані дані про збільшення ЦЕК дозволили припустити, що пошкодження ендотеліоцитів може привести до дисфункції ендотелію. Для підтвердження цієї думки, ми звернули свою увагу на стабільні метаболіти оксиду азоту. При тривалому впливі патогенних факторів або при порушенні цілісності ендотелію відбуваються поступове виснаження і перекручення

функції ендотеліоцитів, і розвивається ЕД. Відповідно до сучасних уявлень, порушення в системі оксиду азоту є провідним компонентом ЕД.

Однак, на 53 пацієнтах з ЦД 1 і 2 типу було встановлено, що високий ступінь пошкодження ендотелію не завжди характеризується одночасною наявністю ендотеліальної дисфункції, виявленої на підставі кількості утворення стабільних метаболітів оксиду азоту. Так, серед пацієнтів з вираженою ендотеліоцитемією, у 75,4% пацієнтів рівень NO_2^- і у 52,8% рівень NO_3^- був в межах норми. Тобто концентрація ЦЕК в плазмі крові відображає тяжкість структурних, але не завжди функціональних змін ендотелію.

Шляхом побудови класифікаційної моделі k-найближчих сусідів (точність 94,5%, специфічність 100%, чутливість 96,6%, AUC 96,3%) було виявлено, що рівень циркулюючих ендотеліальних клітин є важливим предиктором розвитку ЕД і діабетичних ангіопатій.

Таким чином, в зв'язку з високою ефективністю визначення ЦЕК по J. Nadoves, виникає можливість оцінити не тільки ступінь пошкодження ендотелію у пацієнтів з цукровим діабетом, а й реакцію ендотелію на коливання рівня глікемії, особливо в динаміці процесу лікування. І в дисертаційному дослідженні ми постаралися відповісти, чи супроводжуються сучасні методи корекції рівня глюкози і АТ в крові зниженням десквамації ендотелію.

Нами було проведено дослідження, в якому було встановлено, що в результаті комплексного стаціонарного лікування, при якому була досягнута нормоглікемія у пацієнтів з цукровим діабетом як 1, так і 2 типу, кількість циркулюючих ендотеліоцитів в порівнянні з вихідним рівнем значно знижується.

У 20 пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу визначали вихідну ступінь десквамації ендотеліоцитів, яка в середньому становила $2385 \pm 649,1$ клітин/мл, коли вуглеводний обмін був в стадії декомпенсації. Через 10 днів після стаціонарного лікування, коли була досягнута нормоглікемія і рівень

артеріального тиску, середня концентрація ЦЕК склала $1780 \pm 514,6$ клітин/мл. Так, в результаті було досягнуто зниження рівня ЦЕК на 24,5%.

Ці результати дозволили припустити, що ендотеліальна дисфункція і ендотеліальні пошкодження є, мабуть, оборотними процесами незалежно від стадії, що є обґрунтуванням ефективності ангіопротекторної терапії.

Для того, щоб визначити тривалість ангіопротекторного ефекту, було проведено дослідження з оцінкою впливу медикаментозної терапії на метаболічний контроль, ендотелій судин, ліпідний обмін і показники функціонального стану нирок початково, після стаціонарного лікування і через 3 місяці від моменту госпіталізації у 50 пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

З моменту дослідження всім пацієнтам з ЦД 1 типу була призначена інсулінотерапія за базисно-болусною схемою у вигляді комбінації аналога інсуліну гларгин і людського інсуліну короткої дії. Як цукрознижувальної терапії, пацієнтам з ЦД 2 типу для компенсації вуглеводного обміну була призначена комбінація гліметіриду, метформіну \pm воглібозу і аналога інсуліну гларгіну. Частина пацієнтів із ЦД 2 типу вперше була призначена інсулінотерапія.

Підбір комплексної терапії та досягнення компенсації вуглеводного обміну проводилося з урахуванням супутньої патології та темпів прогресування мікро- і макросудинних ускладнень ЦД.

Також показники циркулюючих ендотеліальних клітин вкрай необхідні для того, щоб контролювати ефективність медикаментозної терапії та корекції порушень вуглеводного обміну, а також планувати лікування.

3-місячний курс призначеної цукрознижувальної терапії асоціювався з клінічно значущим поліпшенням глікемічного контролю. По завершенню 3-х місячного періоду застосування даної цукрознижувальної схеми, у пацієнтів з ЦД загальної групи ($n = 50$) середній рівень HbA_{1c} знижувався з $8,42 \pm 0,2\%$ до $7,36 \pm 0,3\%$, що відповідає статистично значущою різниці в $-1,05 \pm 0,2\%$ ($p < 0,05$). 52 % пацієнтів досягли рівнів глікованого гемоглобіну $\leq 7\%$.

Встановлено, що у пацієнтів із ЦД зазначалося статистично значуще зниження ступеня десквамації ендотелію як через 11 днів після стаціонарного лікування, так і через 3 місяці ($p < 0,05$).

Так, вихідний рівень ЦЕК в основній групі склав $2530 \pm 204,8$ клітин/мл, на 11 день – $1792 \pm 117,9$ клітин/мл, і на заключному візиті $1706 \pm 58,9$ клітин/мл. Істотних відмінностей між заключним рівнем ЦЕК і рівнем ЦЕК після стаціонарного лікування не виявлено, так і не було виявлено різниці між групами пацієнтів із ЦД 1 і 2 типу.

Оцінка функціонального стану ендотелію у пацієнтів із ЦД та ДХН, виходячи з рівня стабільних метаболітів оксиду азоту, показала, що компенсаторна активація синтезу оксиду азоту зберігається навіть при вираженому пошкодженні ендотелію не тільки у пацієнтів із нормальною функцією нирок, але і у пацієнтів з ДХН I-III ст. Активація синтезу NO навіть в умовах пошкодження ендотелію сприяє включенню ниркового резерву і відносну стабільність ШКФ. Але подальше прогресування ЦД з пошкодженням гломерулярного ендотелію веде до загибелі клубочків і прогресуванню ХХН з розвитком ниркової недостатності. Щоб визначити можливість запобігти або уповільнити прогресування ДХН у пацієнтів із ЦД було проведено аналіз функціонального стану нирок за трьох місячний період дослідження, який зіставляли з динамікою ендотеліальної десквамації.

Статистично значуще зниження ступеня ендотеліоцитемії спостерігалось у всіх групах пацієнтів із ЦД, розділених за ШКФ. Так в групі пацієнтів зі ШКФ ≥ 90 мл/хв/1,73м² ($n = 7$), зниження ендотеліальної десквамації було на 1057,17 клітин/мл, що склало 37,37%. У пацієнтів зі ШКФ 60-89 мл/хв/1,73м² ($n = 31$), ЦЕК знизилися на 758,06 клітин/мл (31,67%). У пацієнтів зі ШКФ 59-45 мл/хв/1,73м² ($n = 9$), зниження рівня ЦЕК було на 866,67 клітин/мл (31,97%). І у пацієнтів із ЦД зі ШКФ 35-44 мл/хв/1,73м² ($n = 3$), рівень ендотеліоцитемії знизився на 833,34 клітин/мл (30,86%). Так, в дослідженні було показано, що у пацієнтів зменшення ЕД в процесі лікування вказує на можливість часткового відновлення функції

нирок і збільшення ШКФ у пацієнтів із ЦД.

Ми вважаємо, що ДХН у пацієнтів із ЦД є наслідком негативного впливу метаболічних і гемодинамічних факторів на ендотелій і БМ з вторинними структурними змінами в каналцях і інтерстиції, що приводять до прогресування ДХН і формуванням ХХН. Отже, ендотеліальна дисфункція, мабуть, є основною патогенетичною ланкою ДХН, яка викликає ушкодження ендотелію клубочків з розвитком підвищення проникності гломерулярних капілярів, що лежить в основі МАУ і в цілому сечового синдрому.

У дисертації продемонстровано вплив медикаментозної терапії на стан ендотеліального шару, який заснований на визначенні рівня ЦЕК. І нами була продемонстрована тенденція до регресу десквамації ендотелію за рахунок позитивного ефекту ряду лікарських речовин.

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. Коефіцієнт детермінації цієї моделі становив 83%, скоригований коефіцієнт детермінації склав 85%, що підтверджує доцільність провідності ангіопротекторної терапії у пацієнтів як із ЦД 1, так і з ЦД 2 типу.

Таким чином, дані літератури та наші результати дозволяють вважати визначення циркулюючих ендотеліоцитів перспективним методом, несучим важливу інформацію про характеристику змін в судинах з можливістю розвитку подальших ускладнень. З іншого боку, ці результати дозволяють зрозуміти, що гіперглікемія є одним з основних чинників, які пошкоджують ендотелій, а досягнення компенсації вуглеводного обміну досить швидко викликає відповідну реакцію з боку ендотелію. Отже, корекція ЕД може стати новою стратегічно важливою в плані попередження ускладнень терапевтичної мішенню при лікуванні і профілактиці діабетичної судинних ускладнень при ЦД.

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.Nadoves. 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 цукрознижувальні 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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. International Diabetes Federation, IDF diabetes atlas, ninth ed., 2019 <https://idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/159-idf-diabetes-atlas-ninth-edition-2019.html>
2. Дедов И.И., Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия. М.: Универсум Паблишинг. 2000; 239 с.
3. 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.
4. Mozaffarian D., Benjamin E.J., Go A.S., Arnett D.K., Blaha M.J., Cushman M., et al. Heart disease and stroke statistics – 2016 update. A report from the American Heart Association. *Circulation*. 2016; 133(4): e38-360.
5. First World Health Organization Global report on diabetes. 2016: 1-88 <https://apps.who.int/iris/handle/10665>.
6. Tancredi M., Rosengren A., Svensson A.M., et al. Excess mortality among persons with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2015 Oct; 373(18): 1720-32.
7. World Health Organization. Noncommunicable Diseases (NCD) Country Profiles, 2018. URL: <https://www.who.int/nmh/publications/ncd-profiles-2018/en/>
8. 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.
9. Gozhenko A., Kuznetsova H., Kuznetsova K., Stroi D., Kuznetsov S. 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.

10. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2010; 33 Suppl 1 (Suppl 1): S62-9. doi:10.2337/dc10-S062.
11. World Health Organization. (2019). Classification of diabetes mellitus. World Health Organization. 36p. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO <https://apps.who.int/iris/handle/10665/325182>.
12. Шишкин А.Н., Лындина М.Л. Эндотелиальная дисфункция, метаболический синдром и микроальбуминурия. *Нефрология*. 2009; 13(3): 24-32.
13. Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Быць Т.Н., Сусла А.Б. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложнений сахарного диабета. Сообщение I. Эндотелиальная дисфункция: этиология, патогенез и методы диагностики. *Эндокринология*. 2017; 22 (2): 171-81.
14. Лупинская З.А. Эндотелий сосудов – основной регулятор местного кровотока. *Вестник КРСУ*. 2003; 7: 11-21.
15. Симоненко В.Б., Дулин П.А., Маканич М.А. Нейроэндокринные опухоли. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2010: 240 с.
16. Tichomirova M.A. Familial pituitary adenomas. *J. Int. Med*. 2009; 1: 29-33.
17. Vita J.A., Treasure C.B., Nabel E.G., McLenachan J.M., Fish R.D., Yeung A.C., Vekshtein V.I., Selwyn A.P., Ganz P. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation*. 1990; 81:491-7.
18. Головченко Ю.И., Трещинская М.А. Обзор современных представлений об эндотелиальной дисфункции. *Consil. med. Ukraina*. 2010; 11: 38-9.
19. Козловский В. И. и др. Методы определения числа циркулирующих в крови эндотелиоцитов: (метод. рекомендации);

Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Витебский государственный медицинский университет. Витебск, ВГМУ; 2008: 28 с.

20. Сусла О.Б. Клініко-патогенетичне обґрунтування шляхів оптимізації діагностики, лікування і профілактики кальцифікації серцево-судинної системи у хворих на хронічну хворобу нирок: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук: спец. 14.01.02 Внутрішні хвороби. Тернопіль. 2016; 44 с.

21. Williams S.B., Cusco J.A., Roddy M.A., Johnstone M.T., Creager M.A. Impaired nitric oxide – mediated vasodilation in patients with non–insulin–dependent diabetes mellitus. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996; 27:567-74.

22. Кузьмин О.Б. Хроническая болезнь почек и состояние сердечно-сосудистой системы. *Нефрология.* 2007; 11(1): 28-37.

23. Zhang J., Bottiglieri T., Peter A. McCullough. The Central Role of Endothelial Dysfunction in Cardiorenal Syndrome *Cardiorenal Med* 2017; 7: 104-17.

24. Zhang J., Defelice A.F., Hanig J.P., Colatsky T. Biomarkers of endothelial cell activation serve as potential surrogate markers for drug-induced vascular injury. *Toxicol Pathol.* 2010; 38: 856-71.

25. 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): 516-524. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.822050272>.

26. 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; Vol. 3: 23-6.

27. 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.

28. 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.
29. Schmieder R.E., Schobel H.P. Is endothelial dysfunction reversible? *Am J Cardiol* 1995; 76(2): 117A-21A [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(05\)80032-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(05)80032-3).
30. Panza J.A., Quyyumi A.A., Callahan T.S., Epstein S.E. Effect of antihypertensive treatment on endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21(5):1145-51 [https://doi.org/10.1016/0735-1097\(93\)90238-V](https://doi.org/10.1016/0735-1097(93)90238-V).
31. Taddei S., Virdis A., Ghiadoni L., Sudano I., Salvetti A. Effects of antihypertensive drugs on endothelial dysfunction: clinical implications. *Drugs* 2002; 62(2):265-84.
32. Завгородняя А.Н. Структурные особенности сосудистого эндотелия при острых церебральных ишемиях. *Международный медицинский журнал*. 2013; 2: 21-4.
33. Воронков Л.Г., Шкурат И.А, Луцак Е.А. Влияние милдроната на эндотелий-зависимую вазодилатацию у больных с хронической сердечной недостаточностью: двойное слепое перекрестное исследование. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2008; 2: 38-40.
34. Сусла А.Б. Влияние аргинина глутамата и мельдония на эндотелиальную дисфункцию и активность воспаления у больных с кальцификацией клапанов сердца на хроническом гемодиализе [Электронный ресурс]. *Медицина и образование в Сибири: электронный научный журнал*. 2013; 6. Режим доступа: http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1204.
35. Hadi H.A, Suwaidi J.A. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Vasc Health Risk Manag* 2007; 3(6):853-76.

36. Celermajer D.S. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J Am CollCardiol* 1997; 30(2):325-33 [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(97\)00189-7](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(97)00189-7).
37. Сусла А.Б. Мисула И.Р., Гоженко А.И. Влияние гемодиализа на эндотелиальную дисфункцию у пациентов с терминальной почечной недостаточностью. *Клиническая медицина*. 2017; 95(10): 935-9.
38. Arnold W.P., Mittal C.K., Murad F. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3': 5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1977; 74: 3203-7.
39. Шишкин А.Н., Лындина М.Л. Эндотелиальная дисфункция и артериальная гипертензия. *Артериальная гипертензия*. 2008; 14(4): 315-9.
40. Грацианский Н.А. Предупреждение обострений коронарной болезни сердца. *Кардиология*. 1998; 6 (6): 4-17.
41. Панина И.Ю., Румянцев А.Ш., Меншутина М.А. и др. Особенности функции эндотелия при хронической болезни почек. Обзор литературы и собственные данные. *Нефрология*. 2007; 11(4): 28-46.
42. Жданов В.С. Некоторые актуальные вопросы патологической анатомии коронарного атеросклероза. *Арх. патол.* 1993; 2: 39-45.
43. Kristensen S.D., Ravn H.B., Falk E. Insights into the pathophysiology of unstable coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 1997; 80(4): E5-9.
44. Laasko M. Cardiovascular disease in type 2 diabetes from population to man to mechanisms. *Diab. Care*. 2010; 33(2): 442-9.
45. Olenovych O.A., Pashkovska N.V. Carbohydrate metabolism parameters in case of administration of zinc-containing medications in complex treatment of diabetes mellitus. *Бук. мед. вісник*. 2016; 20 (77): 105-8.
46. Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Быць Т.Н. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложнений сахарного диабета. Сообщение II. *Эндокринология*. 2017; 22 (4): 381-9.

47. Пашковська Н.В., Пашковський В.М. Цукровий діабет і мозковий інсульт: сучасний погляд на проблему. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2018; 14(4): 11-22 doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0721.14.4.2018.140181>.

48. Tesfamariam B., Brown M.L., Cohen R.A. Elevated glucose impairs endothelium-dependent relaxation by activating protein kinase C. *J. Clin. Invest.* 1991; 87:1643-8. DOI:10.1172/JCI115179.

49. Singh T.P., Groehn H., Kazmers A. Vascular function and carotid intimal-medial thickness in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol.* 2003; 41(4): 661-5. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(02\)02894-2](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(02)02894-2).

50. Williams B. Factors regulating the expression of vascular permeability/ vascular endothelial growth factor by human vascular tissues. *Diabetologia.* 1997; 40 (2): 118-20. DOI: <https://doi.org/10.1007/s001250051423>.

51. Lim H.S., Chong A.Y., Freestone B., Blann A.D., Lip G.Y. The effect of multi-factorial intervention on plasma von Willebrand factor, soluble E-selectin and tissue factor in diabetes mellitus: implications for atherosclerotic vascular disease. *Diabet. Med.* 2005; 22 (3): 249-55.

52. Mahdy R.A., Nada W.M., Hadhoud K.M., El-Tarhony S.A. The role of vascular endothelial growth factor in the progression of diabetic vascular complications. *Eye (Lond).* 2010; 24 (10): 1576-84.

53. Awata T., Inoue K., Kurihara S., et al. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2002; 51: 1635-9. DOI: <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.5.1635>.

54. Шишко О.Н., Мохорт Т.В., Константинова Е.Э., Цапаева Н.Л., Моссе К.А. Роль эндотелиального фактора роста в патогенезе диабетической нефропатии. *Медицинский журнал.* 2003; 1(43): 132-5.

55. 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>.

56. Ma Y., Zhang Y., Zhao T., Jiang Y.R. Vascular endothelial growth factor in plasma and vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy patients after intravitreal injection of bevacizumab. *Am. J. Ophthalmol.* 2012; 153: 307-13.

57. Бойчук Т.М., Толстанов О.К., Грицюк М.И., Гоженко А.И. Гликозилирование белков при сахарном диабете: феномен образования и патогенетические последствия (обзор литературы). *Актуальные проблемы транспортной медицины*. 2013; 3: 52-59.

58. Lee H. B., Ha H., King G. L. Reactive Oxygen Species and Diabetic Nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003; 14 (Suppl. 2): 09-10.

59. Kislinger T., Fu C., Huber B. (epsilon) – (carboxymethyl) lysine adducts of proteins are ligands for receptor for advanced glycation end products that activate cell signaling pathways and modulate gene expression. *J. Biol. Chem.* 1999; 274 (44): 31740-9.

60. Mahmoud Djalali. The Effects of Vitamin D Supplementation on Serum Levels and Gene Expression of Some Inflammatory and Endothelial Biomarkers in Patients with Type-2 Diabetes Mellitus: A Study Protocol for a Randomized Double-Blind Controlled Trial. *IOSR Journal of Pharmacy (IOSRPHR)*. 2019; 9(1): 6-11.

61. Shadman Z., Khoshniat M., Poorsoltan N. Association of high carbohydrate versus high fat diet with glycated hemoglobin in high calorie consuming type 2 diabetics. *J Diabetes Metab Disord.* 2013; 12(1): 27. DOI: <https://doi.org/10.1186/2251-6581-12-27>.

62. Касаткина С.Г., Касаткин С.Н., Значение дисфункции эндотелия у больных сахарным диабетом 2 типа. *Фундаментальные исследования*. 2011; 7: 248-52.
63. Гоженко А.І., Котюжинська С.Г., Ковалевська Л.А. Предиктори атеросклерозу: нові досягнення. *Лікарська справа*. 2014; 11: 18-25.
64. Heitzer T., Schlinzig T., Krohn K. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001; 104: 2673-8.
65. Poitout V., Robertson R.P. Minireview: secondary β -cell failure in type 2 diabetes – a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology*. 2002; 143 (2): 339-42.
66. Chin J., Azhar S., Hoffman B. Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidized lipoproteins. *Clin. Invest*. 1992; 89: 10-8.
67. Garcia Soriano F., Virag L. Diabetic endothelial dysfunction: the role of poly (ADP-ribose) polymerase activation. *Nat Med*. 2001; 7: 108-13.
68. Воронков Л.Г., Паращенко Л.П. Периферична міопатія як терапевтична «мішень» при хронічній серцевій недостатності. *Серцева недостатність та коморбідні стани*. 2017; 2: 47-53.
69. Dogné S., Flamion B., Caron N. Endothelial Glycocalyx as a Shield Against Diabetic Vascular Complications: Involvement of Hyaluronan and Hyaluronidases. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2018; 38(7): 1427-39.
70. Барабой В.А., Резніков О.Г. Фізіологія, біохімія і психологія стресу. Монографія. Київ: Інтерсервіс, 2013; 314с.: 132-57.
71. Bogdan C. Regulation of lymphocytes by nitric oxide. *Methods Mol. Biol*. 2011; 677: 375-93.
72. Lee A.Y., Chung S.S. Contributions of polyol pathway to oxidative stress in diabetic cataract. *FASEB J*. 1999; 13: 23-30.

73. Singh R.P., Agarwal R. Prostate cancer prevention by silibinin. *Cur. Cancer Drug Targets*. 2004; 4(1): 1-11.
74. Duchen M.R. Roles of mitochondria in health and disease. *Diabetes*. 2004; 53: S96-S102.
75. Brand M. D., Affourtit C., Esteves T. C. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radic Biol Med*. 2004; 37: 755-67.
76. Lowell B.B., Shulman G.I. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science*. 2005; 307: 384-7.
77. Пушкарев В.М., Соколова Л.К., Пушкарев В.В., Тронько Н.Д. Биохимические механизмы, связывающие диабет и рак. Действие метформина. *Эндокринологія*. 2018; 2 (23): 167-79.
78. Widlansky M.E., Vita J. A., Wang J., Kizhakekuttu T. J., Arthur E. I. L., Gutterman D. D. Mitochondrial membrane hyperpolarization and reduced mitochondrial mass characterize the arteriolar endothelium and mononuclear cells of humans with Type 2 diabetes mellitus— in vivo and in vitro assessment of mitochondrial function. *Circulation*. 2009; 120: S1107.
79. Семидотская Ж.Д., Перерва Л.А. Показатели эндотелина-1 и фибронектина у больных диабетической нефропатией. *Український Терапевтичний Журнал*. 2004; 1: 66-8.
80. Зяблицев С.В., Чернобривцев О.П., Зяблицев Д.С. Показники ендотеліальної дисфункції при цукровому діабеті 2-го типу як визначальні чинники розвитку ускладнень. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2018; 14(7): 29-35 DOI: 10.22141/2224-0721.14.7.2018.148773.
81. Blann A.D., Lip G.Y. Endothelial integrity, soluble adhesion molecules and platelet markers in type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 1998; 15 (8): 634-42. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9136(199808)15:8<634::AID-DIA636>3.0.CO;2-8.

82. Lerman A., Hildebrand F.L., Aarhus L.L., Burnett J.C. Endotelin has biological actions at pathophysiological concentrations. *Circulation*. 1999; 83: 1808-14. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.83.5.1808>
83. Кузнецова Е.С., Кузнецов С. Г., Шухтин В.В., Бобрик Л.М., Гоженко А.И. Состояние функционального почечного резерва у больных с сахарным диабетом 2 типа. *Буковинський медичний Вісник*. 2015; 3(75): 85-9.
84. He X., Cheng R., Benyajati S., Ma J. PEDF and its roles in physiological and pathological conditions: implication in diabetic and hypoxia-induced angiogenic diseases. *Clinical Science (London, England: 1979)*. 2015; 128 (Pt 11):805-23. doi:10.1042/CS20130463.
85. Cohen J.J. Overview: Mechanisms of apoptosis. *Immunology today*. 1993; 14(3): 126-36.
86. Ikonomidis I., Kadoglou N.N., Tritakis V., et al. Association of Lp_{PLA2} with digital reactive hyperemia, coronary flow reserve, carotid atherosclerosis and arterial stiffness in coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2014; 234: 34-41.
87. Philpott A.C., Lonn E, Title L.M., et al. Comparison of new measures of vascular function to flow mediated dilatation as a measure of cardiovascular risk factors. *Am. J. Cardiol*. 2009; 103: 1610-5.
88. Blann A.D., Woywodt A., Bertolini F. Et al. Circulating endothelial cells. Biomarker of vascular disease. *Thromb. Haemost*. 2005; 93(2): 228-35.
89. Widemann A., Sabatier F., Amaud L., Bonello L., Al-Massarani G., Paganelli F. et al. CD146-based immunomagnetic enrichment followed by multiparameter flow cytometry: a new approach to counting circulating endothelial cells. *J. Thromb. Haemost*. 2008; 6(5): 869-76.
90. Почтарь В.Н., Третьякова Е.В., Насибуллин Б.А., Шафран Л.М. Структурно-функциональные изменения эндотелия при экспериментальной

гиперчувствительности замедленного типа. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2016; 27: 34-40.

91. Петрищев Н.Н. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. СПб.: СПбГМУ, 2003:184с.

92. Петрищев Н.Н., Беркович О.А., Власов Т.Д., Волкова Е.В. и др. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиальных клеток в крови. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2001; 1: 50-2 .

93. Golledge J., Quigley F. G. Pathogenesis of varicose veins. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2003, apr; 25(4): 319-24.

94. Hladovec J., Prerovsky I., Stanek V., Fabian J. Circulating Endothelial Cells in Acute Myocardial Infarction and Angina Pectoris. *Klin. Wochenschr.* 1978; 56(20): 1033-6.

95. Сусла О.Б., Мисула І.Р. заявник і патентовласник Державний вищий навчальний заклад Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського. Пат. 57841, Україна, А61В 10/00. Спосіб визначення вмісту циркулюючих ендотеліальних клітин у плазмі крові. № u 2010 11243. Заявл. 20.09.2010; опубл. 0.03.2011, бюл № 5.

96. Rowand J.L., Martin G., Doyle G.V., Miller M.C., Pierce M.S., Connelly M.C., et al. Endothelial Cells in Peripheral Blood of Healthy Subjects and Patients with Metastatic Carcinomas. *Cytometry A*. 2007; 71(2): 105-13.

97. Mariucci S., Rovati B., Chatzileontiadou S., Bencardino K., Manzoni M., Delfanti S. et al. A six-colour flow cytometric method for simultaneous detection of cell phenotype and apoptosis of circulating endothelial cells. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2009; 69(3): 433-8.

98. Buendia P, Montes de Oca A., Merino. J.A. Endothelial microparticles mediate inflammation-induced vascular calcification. *FASEB J*. 2015; 29(1): 173-81.

99. Сусла О.Б. Активність хронічного запалення і пошкодження ендотелію у хворих із кальцифікацією клапанів серця при діаліз-залежній хронічній хворобі нирок. Український журнал нефрології та діалізу. 2014. 4; 59-64.
100. Boos C.J., Lip. G.Y.H., Blann A.D. Circulating endothelial cells in cardiovascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 48: 1538-47.
101. Fadini G.P., Avogaro A. Cell-based methods for ex vivo evaluation of human endothelial biology. *Cardiovascular Research.* 2010; 87(1): 12-21.
102. Gao Y., Liu C., Zhang X., Gao J., Yang C. Circulating endothelial cells as potential markers of atherosclerosis. *Canadian Journal of Neurological Sciences.* 2008; 35(5): 638-42.
103. Erdbruegger U., Dhaygude A., Haubitz M., Woywodt A. Circulating Endothelial Cells: Markers and Mediators of Vascular Damage. *Current Stem Cell Research & Therapy.* 2010; 5(4): 294-302. doi:10.2174/15748881079335172.
104. Феоктистова В.С., Вавилова Т.В., Сироткина О.В., Болдуева С.А., Гайковая Л.Б., Леонова И.А. и др. Новый подход к оценке дисфункции эндотелия: определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток методом проточной цитометрии. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2015; 60 (4): 23-39.
105. Mancuso P., Antoniotti P., Quarna J., Called A., Rabascio C., Tacchetti C. et al. Validation of a standardized method for enumerating circulating endothelial cells and progenitors: flow cytometry and molecular and ultrastructural analyses. *Clin. Cancer. Res.* 2009; 15(1): 267-73.
106. Шестакова М.В., Шамхалова М.Ш., Ярек-Мартынова И.Я. и др. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: достижения, нерешенные проблемы и перспективы лечения. *Сахарный диабет.* 2011; 1: 81-8.
107. Kuznetsova E.S. Kuznetsov S.G., Bobryk L.M., Shuhtin V.V., Gozhenko A.I. A correlation between the renal functional reserve and glomerular

filtration rate in patients with type 2 diabetes Актуальные проблемы транспортной медицины. 2015; 1(39): 161-6.

108. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, classification, and stratification. Part 4. Definition and classification of stages of chronic kidney disease. *Am. J. Kidney Dis.* 2002; 39: S46-S75.

109. KDIGO 2013. Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney int.* 2013; 3(1): 1-150.

110. Кузнецова К.С. Роль функціонального ниркового резерву в патогенезі хронічної хвороби нирок у хворих на цукровий діабет I та II типу: автореф. дис. На здобуття наук.ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04. «Патологічна фізіологія». Суми. 2016; 20с.

111. Boychuk T.M., Olenovych O.A., Gozhenko A.I. Role of dyslipidemia in the development and progression of diabetic nephropathy. *Pharmacologyonline.* 2017.2; 169-74.

112. Boychuk T.M., Hozhenko A.I., Grytsiuk M.I. Феномен гіперфільтрації при експериментальному цукровому діабеті у щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2015; 14 (2): 4043.

113. Boychuk T.M., Grytsiuk M.I., Gozhenko A.I. Stages of development of streptozotocin-induced experimental diabetes mellitus. *Journal of Education, Health and Sport.* 2017; 7(9): 585-93. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1000402>.

114. Brenner B.M., Lawler E.V., Mackenzie H.S. The hyperfiltration theory: a paradigm shift in nephrology. *Kidney Int.* 1996; 49(6): 1774-7.

115. Hale L.J., Coward R.J. Insulin signaling to the kidney in health and disease. *Clin. Sci. (Lond.).* 2013; 124(6): 351-370.

116. Alaveras A.G., Thomas S.M., Sagriotis A., Viberti G.C. Promoters of progression of diabetic nephropathy: the relative roles of blood

glucose and blood pressure control. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1997; 12: 71-4.

117. Helal I., Fick-Brosnahan G.M., Reed-Gitomer B., Schrier R.W., et al. Glomerular hyperfiltration: definitions, mechanisms and clinical implications. *Nat. Rev. Nephrol.* 2012; 8(5): 293-300.

118. Reese P., Feldman H. More evidence that Cystatin C predicts mortality better than creatinine. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 20: 2088-90.

119. Viberti G-C. Pathophysiology of diabetic nephropathy. *Medicographia*. 1997; 19: 116-21.

120. Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Кузнецов С.Г., Быць Т.Н. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе диабетической болезни почек. *Почки*. 2018; 7 (1): 18-24.

121. Синяченко О.В., Зяблицев С.В., Чернобривцев П.А. Эндотелиальная дисфункция при гломерулонефрите. Монография. Донецк: ООО Типография «Новый Мир». 152 с.: 5-16.

122. Мухин Н. А. Нефрология: национальное руководство. Под ред. Н.А. Мухина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009: 720 с.

123. Грицюк М.І. Зміни окремих показників екскреторної функції нирок у динаміці експериментального цукрового діабету. *Буковинський медичний вісник*. 2017; 21(4): 48-53 DOI:10.24061/2413-0737. XXI.4.84.2017.122.

124. Бойчук Т.Н., Оленович О.А., Грицюк М.І., Гоженко А.І. Особливості порушень функціонального стану нирок у ранній період експериментального цукрового діабету. *Международный эндокринологический журнал*. 2017; 13(6): 463-7.

125. Дедов И.И., Шестаков М.В., Сахарный диабет. М: Универсум Паблицинг 2003. 455с.: 209-22.

126. 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>.

127. Синяченко О.В., Зяблицев С.В., Чернобривцев П.А. Эндотелиальная дисфункция при гломерулонефрите. Монография. Донецк: ООО Типография «Новый Мир». 152 с.: 17-107.

128. Boura-Halfon S., Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009; 296(4): 581-591. DOI: <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.90437.2008>.

129. Kurauti M.A., Costa-Júnior J.M., Ferreira S.M. et al. Interleukin-6 increases the expression and activity of insulin-degrading enzyme. *Sci. Rep.* 2017; 7: 46750.

130. Зинич О.В., Корпачев В.В., Кушнарєва Н.Н. Физиологическая роль инсулина и место новых аналогов инсулина ультрадлительного действия в достижении гликемического контроля у пациентов с сахарным диабетом и хронической болезнью почек. *Український медичний часопис.* 2017; 6(122): 3-6.

131. Samuel V.T., Petersen K.F., Shulman G.I. Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. *The Lancet.* 2010; 375(9733): 2267-77. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60408-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60408-4).

132. Kubota T., Kubota N., Kumagai H., et al. Impaired insulin signaling in endothelial cells reduces insulin-induced glucose uptake by skeletal muscle. *Cell Metab.* 2011; 13(3): 294-307.

133. Данилов Р.К. Руководство по гистологии, 2 изд., доп. и перер. Спб: СпецЛит. 2011; 511 с.: 242-250.

134. Алимов Г.А., Банин В.В., Бобрик И.И., Караганов Я.Л. и др. Общая морфология сосудистого эндотелия. Сосудистый эндотелий / под ред. Куприянова В.В., Бобрика И.И., Караганова Я.Л. К. : Здоров'я; 1986: 78-120 с.

135. Saleem M.A., Zavadil J., Bailly M. et al. The molecular and functional phenotype of glomerular podocytes reveals key features of contractile smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2008; 295(4): F959-70.
136. Horita S., Nakamura M., Suzuki M. et al. Selective Insulin Resistance in the Kidney. *Biomed. Res. Int.* 2016; 2016: 5825170.
137. Мухин Н.А. Нефрология. Национальное руководство *Nephrology: the national leadership*. Серия «Национальные руководства». Под ред. Н.А. Мухина. М: ГЭОТАР-Медиа. 2019. 720 с.
138. Tiwari S., Riazi S., Ecelbarger C.A. Insulin's impact on renal sodium transport and blood pressure in health, obesity, and diabetes. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2007; 293(4): F974-84 Futralku N, Futrakul P. Urgent call for reconsideration of chronic kidney disease. *World J Nephrol* 2012; 1(6): 155-9.
139. Schena F. P., Gesualdo L. Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005 Mar; 16 (Suppl 1): 30-3.
140. Tanaka N., Babazono T. Assessing geneticsusceptibility to diabetic nephropathy. *Nephrology (Carlton)*. 2005; 10: 17-21.
141. Barnas U., Schmidt A., Illievich A., et al. Evaluation of risk factors for the development of nephropathy in patients with DM: insertion/deletion angiotensin-converting enzyme gene polymorphism, hypertension and metabolic control. *Diabetologia*. 1997; 40: 327-31.
142. Graham I., Atar D., Borch-Johnsen K. [et al.] European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: full text. Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 2007; 14 (Suppl. 2): S1-S113.

143. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACCC Press, 2001.

144. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения: руководство для врачей. Спб.: Питер. Кам., 1999; 512 с.

145. Рекомендації Української Асоціації кардіологів з профілактики та лікування артеріальної гіпертензії [Посібник до Національної програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії; 4-е видання, виправлене і доповнене]. – К.: ПП ВМБ, 2008: 80 с.

146. Шафран Л.М., Третьякова О.В., Потапов Є.А. Спосіб визначення ендотеліальної дисфункції. Патент на корисну модель № 125773. Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 25.05.2018. Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: 25.05.2018.

147. 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>.

148. Green L.C., Wagner D.H., Glogowski J.G. Analysis of nitrate, nitrite and nitrate in biological fluids. Anal Biochem. 1982; 126(1): 131-8.

149. RStudio Team (2015). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

150. Real Statistics Data Tool 2019 для Microsoft Excel 2019 <https://www.real-statistics.com/free-download/>.

151. Nguyen B.P., Pham H.N., Tran H., [et al]. Predicting the Onset of Type 2 Diabetes using Wide and Deep Learning with Electronic Health Records. Computer Methods and Programs in Biomedicine. 2019; 105055. doi:10.1016/j.cmpb.2019.105055.

152. Перцева Н.О., Чуб Д.І. Особливості добового профілю артеріального тиску у хворих на цукровий діабет залежно від ендотеліальної дисфункції. *Международный эндокринологический журнал*. 2018; 14(2): 17-23 doi:<http://dx.doi.org/10.22141/2224-0721.14.2.2018.130556>.

ДОДАТКИ

Додатки А. Акти впровадження

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. ректора Одеського національного
медичного університету, д.мед.н., професор

Вастьянов Р.С.

« _____ 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** Особливості ендотеліальної дисфункції у хворих на цукровий діабет.
- 2. Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДП Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України, здобувач Кузнецова Ганна Сергіївна
- 3. Джерело інформації:** 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; 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>; 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; 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; Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Кузнецов С.Г., Быць Т. Н. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе диабетической болезни почек. *Почки*. 2018; 7 (1): 18-24; 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>; 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; 284 с.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету.
- 5. Термін впровадження:** 2019 р. – 2020 р.р.
- 6. Форма впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та практичних заняттях.
- 7. Зауваження та пропозиції** не вносились. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького, протокол №4 від 10 листопада 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Доцент кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, доцент

Поспелов О.М.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Особливості ендотеліальної дисфункції у хворих на цукровий діабет.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів:** ДП Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України, здобувач Кузнецова Ганна Сергіївна
3. **Джерело інформації:** Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Быць Т.Н., Сусла А.Б. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненный сахарного диабета. Сообщение I. Эндотелиальная дисфункция: этиология, патогенез и методы диагностики. *Эндокринология*. 2017; 22 (2): 171-81.; 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>. ; Gozhenko A.I., Kuznetsova N. 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.; Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Быць Т.Н. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненный сахарного диабета. Сообщение II. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненный сахарного диабета I и II типа. *Эндокринология*. 2017; 22 (4): 381-9. Гоженко А. И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Кузнецов С. Г., Быць Т. Н. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе диабетической болезни почек. *Почки*. 2018; 7 (1): 18-24.; Gozhenko A.I., Kuznetsova N.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>.; Кузнецова А.С., Гоженко А.И., Кузнецова Е.С., Шухтін В.В., Кузнецова Е.Н., Кузнецов С.Г. Эндотелий. Физиология и патология: монография. Одесса: «Феникс». 2018; 284с.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** КУ «Одеський обласний клінічний медичний центр».
5. **Термін впровадження:** 2019 р. – 2020 р.
6. **Форма впровадження:** матеріали використовуються у профілактиці та лікуванні захворювань нирок.

7. **Зауваження та пропозиції** _____ **не вносились** _____

Відповідальний за впровадження:
 Завідуючий поліклінічним відділенням
 КНП «ООКМЦ» ООР, к.м.н.

О. М. Лиходід

“ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Директор ДП УБРНДІ МТ
 МОЗ України,
 проф. А.І. Гоженко
 “_____” _____ 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: Особливості ендотеліальної дисфункції у хворих на цукровий діабет.

2. Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІБ авторів: ДП Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України, здобувач Кузнецова Ганна Сергіївна

3. Джерело інформації: Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Быць Т.Н., Сусла А.Б. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненный сахарного диабета. Сообщение I. Эндотелиальная дисфункция: этиология, патогенез и методы диагностики. *Эндокринология*. 2017; 22 (2): 171-81.; 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>. ; 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.; Гоженко А.И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Быць Т.Н. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненный сахарного диабета. Сообщение II. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе осложненный сахарного диабета I и II типа. *Эндокринология*. 2017; 22 (4): 381-9. Гоженко А. И., Кузнецова А.С., Кузнецова Е.С., Кузнецов С. Г., Быць Т. Н. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе диабетической болезни почек. *Почки*. 2018; 7 (1): 18-24.; 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>.; 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.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: ДП Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України

5. Термін впровадження: 2019 р. – 2020 р.

6. Форма впровадження: матеріали використовуються при проведенні науково-практичних робіт.

7. Зауваження та пропозиції не вносилися

Відповідальний за впровадження:
 Начальник медичного клінічного центру
 професійного здоров'я, к.мед.н., ст..н.сп.



Б. В. Панов

Список публікацій дисертанта

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

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. *Почки*. **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**; 187 с., 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 **2018**; 25 (3): 220-221 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2018.07.133>.

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**; 144 с., с. 26. *(Внесок здобувача - дисертант брав участь в проведенні клінічних досліджень, в підготовленні тез до друку)*.

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**. 276 с., 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., Кирпічнікова 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)*.

Додаток В**Апробація результатів дисертації**

- Научно-практична конференція «XVI-е читання ім. В.В. Підвисоцького» (Одеса, 19-20 червень 2017), (*усна доповідь, публікація тез*).
- Науково-практична конференція «XVII-е читання ім. В.В. Підвисоцького» (Одеса, 24-25 травня 2018), (*усна доповідь, публікація тез*).
- 8th International Congress of Pathophysiology (Братислава, Словачія, 5-8 вересня 2018), (*стендова доповідь*).
- 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), (*усна доповідь, публікація тез*).
- Практична конференція «Ендотеліальна дисфункція в патогенезі цукрового діабету та шляхи її корекції» (Одеса, 18 квітня 2019) (*усна доповідь*).
- Практична конференція «Ендотеліальна дисфункція: перспективна терапевтична мішень при діабетичній нефропатії» (Одеса, 20 лютого 2020) (*усна доповідь*).