

Зв'язок сироваткових рівнів маркерів ендотеліальної дисфункції з ускладненнями цукрового діабету 2-го типу



С. В. Зябліцев¹, О. П. Чернобривцев¹,
М. В. Зябліцева², А. А. Грішов¹, Ю. О. Панченко³

¹ Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ

² Приватний вищий навчальний заклад «Київський медичний університет»

³ Київська міська клінічна офтальмологічна лікарня «Центр мікрохірургії ока»

На даний час сформовано уявлення про роль судинного ендотелію як динамічної регулюючої системи, що відіграє важливу роль у фізіологічних і патологічних процесах [1, 2]. Ендотеліальні клітини виконують роль бар'єра, регулюють тонус судин, кровообіг, реологічні властивості крові, функцію тромбоцитів як у нормі, так і при патологічних процесах, зокрема при цукровому діабеті (ЦД) [1, 3, 4]. Ендотеліальна дисфункція (ЕДФ) формується при запаленні, атеросклерозі, артеріальній гіпертензії, кардіоміопатії, гіперглікемії [5—7]. В останньому випадку ендотелій зазнає пошкоджувального впливу внаслідок глюкозотоксичності, надмірної дії стимулювальних гіпертензивних та запальних факторів, активаторів тромбоутворення, інтенсифікації оксидантного стресу [3, 6, 8]. До розвитку ЕДФ при ЦД 2-го типу (ЦД2) призводять такі чинники: 1) підвищений оксидантний стрес і системне запалення; 2) деградація і проліферація глікокаліксу; 3) порушення міжклітинних контактів ендотеліоцитів та гематотканинного бар'єра; 4) посилення адгезії лейкоцитів і екстравазація; 5) індукція прокоагулянтів і антифібринолітичних систем [9]. При цьому пошкоджений ендотелій включається в подальший патогенез ЦД2, зумовлюючи прогресування гіпоксії та запалення [3, 5]. Основними маркерами ЕДФ є гормон ендотелію ендотелін (ЕТ1), азоту оксид (NO), ендотеліальна NO-синтаза (eNOS),

фактор некрозу пухлин альфа (TNF- α) і маркер оксидантного стресу — дієнові кон'югати (ДК), які накопичуються у крові та спричиняють ЕДФ [4, 5, 10].

Визначаючи патогенетичну роль маркерів ЕДФ у розвитку ускладнень ЦД2 важливо було оцінити не тільки значення окремих маркерів (що було зроблено у наших попередніх дослідженнях — [11—13]), але й встановити їхні критичні (сигнальні) рівні у крові, за яких цей вплив здійснюється. Такі рівні можна було б вважати діагностичними (маркерними) щодо тих чи інших ускладнень.

Мета роботи — визначити зв'язок сироваткових рівнів маркерів ЕДФ (ЕТ1, eNOS, NO, TNF- α , ДК) з ускладненнями ЦД2.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 152 пацієнти віком від 34 до 80 років (у середньому $53,9 \pm 8,4$) року з ЦД2. Жінок було 95 (62,5 %), чоловіків — 57 (37,5 %). За тривалістю захворювання пацієнтів розділили таким чином: до 1 року — 5 (3,3 %), від 1 до 3 років — 40 (26,3 %), від 4 до 5 років — 23 (15,1 %), від 6 до 7 років — 12 (7,9 %), від 8 до 10 років — 31 (20,4 %), від 11 до 15 років — 26 (17,1 %), більше 15 років — 15 (9,9 %). ЦД2 було виявлено у близьких родичів 35 (23,0 %) хворих.

Згідно з клінічними рекомендаціями [14, 15] і за результатами клініко-лабораторних обстежень

Зябліцев Сергій Володимирович, д. мед. н., проф. кафедри патофізіології. 03058, м. Київ, просп. Перемоги, 34. E-mail: zsv1965@gmail.com; Чернобривцев Олександр Петрович, асистент кафедри патофізіології, 03058, м. Київ, просп. Перемоги, 34. E-mail: sasha.chernobryvtsev@gmail.com; Зябліцева Маргарита Валеріївна, к. мед. н., асистент кафедри внутрішніх та професійних хвороб. 02099, м. Київ, вул. Бориспільська, 2. E-mail: mega_margo24@ukr.net; Грішов Андрій Андрійович, студент 1 медичного факультету, м. Київ, 03058, просп. Перемоги, 34. E-mail: perseykit@gmail.com; Панченко Юлія Олександрівна, к. мед. н., лікар-офтальмолог. E-mail: panchenko@laserplus.com.ua

виявляли сенсорну полінейропатію, ретинопатію, хронічну діабетичну хворобу нирок (діабетичну нефропатію), яку відповідно до рекомендацій [16] окремо визначали за мікроальбумінурією (МАУ) та швидкістю клубочкової фільтрації (ШКФ), макроангіопатію нижніх кінцівок і артеріальну гіпертензію.

ЦД2 1-го ступеня тяжкості не був виявлений у жодного пацієнта, 2-го — діагностовано у 120 (78,9 %), 3-го — у 32 (21,1 %). Пацієнтів із ЦД2 2-го ступеня було розділено на дві групи: 1-шу склали 57 (37,5%), 2-гу — 63 (41,4 %) особи. Критерієм їхнього розподілу було обрано компенсацію ЦД2 за рівнем глікованого гемоглобіну (HbA1c): до 1-ї групи були включені пацієнти в стані компенсації або задовільної компенсації гіперглікемії (HbA1c на рівні 7—9 %), до 2-ї — з низьким глікемічним контролем, які перебували у стані декомпенсації (HbA1c вище 9 %). Пацієнти із ЦД2 3-го ступеня тяжкості склали 3-тю групу. До контрольної групи було залучено 95 практично здорових осіб відповідного віку та статі без порушень вуглеводного обміну і клінічної маніфестації відповідних симптомів, схожих з мікро- і макросудинними ускладненнями ЦД2.

З використанням імуноферментного методу визначали вміст маркерів ЕДФ у плазмі крові: ET1 (Biomedica Immunoassays, Австрія), eNOS (BCM Diagnostics, США) і TNF- α (Bender Medsystems, Австрія). Інтенсивність забарвлення продукту ферментативної реакції кількісно вимірювали на фотометрі PR2100 SANOFI DIAGNOSTIC PASTEUR (Франція). Рівень NO у крові визначали спектрофотометрично за його кінцевими метаболітами (NOx) у реакції Грися за довжини хвилі 546 нм. Рівень ДК ненасичених жирних кислот визначали за методом Z. Placer у модифікації В. Б. Гаврилова (1983).

Для статистичної обробки отриманих даних використовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA). За даними тестів Колмогорова—Смірнова і χ -квадрат був встановлений відмінний від нормального характер розподілу варіаційних рядів ($p < 0,05$). Парні незалежні вибірки порівнювали із застосуванням критерію Манна—Уїтні (U) і Крускала—Уолліса (H). У всіх випадках статистичного оцінювання значущість відмінностей враховували при значенні $p < 0,05$. Для визначення зв'язку маркерів ЕДФ з ускладненнями ЦД2 виконували серію однофакторних логістичних регресійних обчислень з використанням пакета GLZ (StatSoft, Inc., США). Як залежну змінну для кожного рівняння використовували біномінальні категоріаль-

ні показники, які демонстрували наявність або відсутність того чи іншого ускладнення ЦД. Як незалежні змінні застосовували безперервні кількісні значення рівнів у крові ET1, NOx, eNOS, TNF- α і ДК.

Дане дослідження було виконано в три етапи. На першому етапі з допомогою регресійного аналізу оцінювали вплив кожного маркера ЕДФ на окремі ускладнення ЦД. За результатами аналізу відбирали маркери, вплив яких статистично відрізнявся від нульової гіпотези. На другому етапі розраховували вільний показник і β -коефіцієнти регресійних рівнянь прогнозування ускладнень для відібраних предикторів за формулою:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 \cdot MED)}} \quad (1),$$

де: P — ймовірність ускладнення ЦД2; β_0 — значення вільного показника; β_1 — β -коефіцієнт для маркера; MED — вміст у крові відповідного маркера ендотеліальної дисфункції. Одиниці виміру: ET1 (фмоль/мл), NOx (мкмоль/л), eNOS (пг/мл), TNF- α (пг/мл), ДК (Од/мл).

Шляхом аналізу чутливості, специфічності і правильності для кожної регресійної моделі визначали оптимальне значення розрахункової ймовірності, вище якої прогнозували відповідне ускладнення (точка відсічі). На третьому етапі розраховували критичні концентрації кожного з маркерів ЕДФ для окремих ускладнень ЦД2 за формулою:

$$MED = \frac{-\ln\left(\frac{1}{P} - 1\right) - \beta_0}{\beta_1} \quad (2),$$

де: MED — вміст у крові відповідного маркера. Одиниці виміру: ET1 (фмоль/мл), NOx (мкмоль/л), eNOS (пг/мл), TNF- α (пг/мл), ДК (Од/мл); P — оптимальна ймовірність ускладнення.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати визначення вмісту в крові маркерів ЕДФ представлено на рисунку. Вміст ET1 у групах підвищувався у 3,7—4,7 разу. Статистичний аналіз за критерієм U (Mann—Whitney U-Test) показав, що всі відмінності були статистично значущими ($p < 0,001$), крім різниці рівня ET1 між пацієнтами 2-ї та 3-ї груп ($p = 0,206$). Рівень у крові NOx також зростав порівняно з таким в осіб контрольної групи (в 1,4—1,5 разу). Найвищим (у 1,5 разу) він був у 2-й групі ($p < 0,001$). Разом із тим між показниками у 1-й та 3-й групах достеменної різниці не виявлено ($p = 0,581$). Вміст eNOS був нижчим у групах хворих порівняно з таким в осіб контроль-

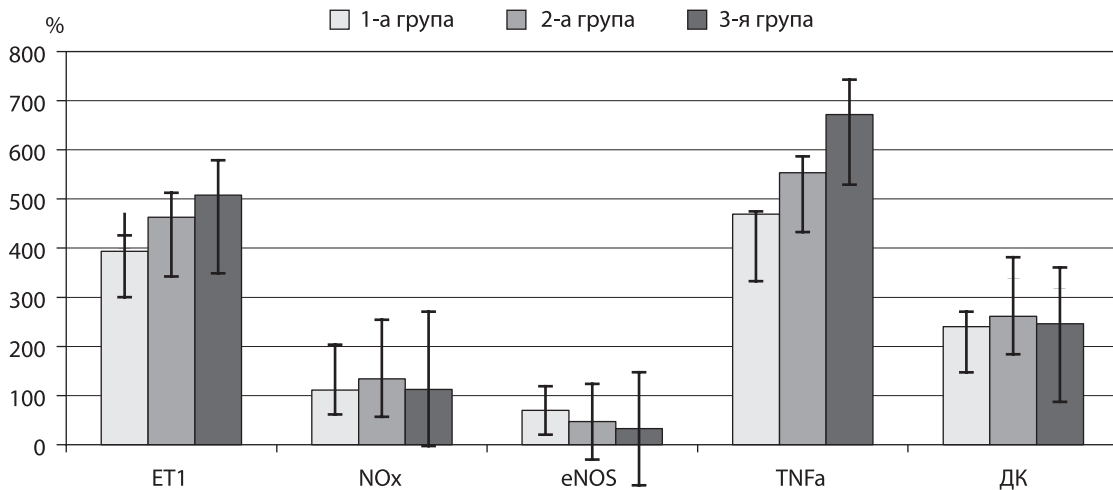


Рисунок. Вміст маркерів ЕДФ у групах хворих (наведено у % порівняно з таким у контрольній групі, який прийнято за 100 %). Статистична значущість розбіжностей між групами за критерієм H (Kruskal—Wallis ANOVA by Ranks—test); $p < 0,001$ для всіх маркерів

ної групи (в 1,3—1,9 разу; $p < 0,001$ для всіх порівнянь). Вміст TNF- α багаторазово підвищувався, особливо в 3-й групі (у 6,5 разу). Також відзначено і досить високу статистичну значущість розбіжностей між усіма групами ($p \leq 0,001$). Вміст ДК у пацієнтів усіх груп був суттєво підвищеним (у 2,3—2,7 разу; $p < 0,001$) порівняно з таким в осіб контрольної групи.

Визначено певні закономірності розвитку ЕДФ у міру збільшення тяжкості ЦД2. Вміст у крові ET1, TNF- α , NOx та ДК багаторазово достеменно підвищувався, що в цілому відповідало тяжкості патологічного процесу, особливо щодо TNF- α . Вміст у крові eNOS

знижувався відповідно до тяжкості патологічного процесу.

Результати регресійного аналізу і оцінку зв'язку маркерів ЕДФ з ускладненнями ЦД2 наведено в табл. 1.

Вміст ET1 впливав на всі ускладнення ЦД2. Рівень NOx асоціювався з макроангіопатією нижніх кінцівок і артеріальною гіпертензією; eNOS — з нефропатією за МАУ і макроангіопатією нижніх кінцівок; TNF- α — з ретинопатією, макроангіопатією нижніх кінцівок, нефропатією за ШКФ, макроангіопатією нижніх кінцівок і артеріальною гіпертензією; ДК — з нефропатією за МАУ і макроангі-

Таблиця 1

Зв'язок маркерів ендотеліальної дисфункції з ускладненнями ЦД2

| Ускладнення | Wald, p | | | | |
|---------------------------------|-------------------|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | ET1 | NOx | eNOS | TNF- α | ДК |
| Полінейропатія | 5,912 0,015 | 0,683 0,408 | 2,633 0,105 | 0,518 0,472 | 2,726 0,099 |
| Ретинопатія | 16,850 4,0e-05 | 0,002 0,963 | 2,821 0,093 | 3,701 0,049 | 0,550 0,458 |
| Нефропатія за НКФ | 21,871 3,0e-06 | 0,032 0,857 | 3,655 0,056 | 7,054 0,007 | 2,504 0,113 |
| Нефропатія за МАУ | 18,864 1,4e-05 | 0,119 0,730 | 9,945 0,002 | 2,171 0,141 | 4,355 0,037 |
| Макроангіопатія нижніх кінцівок | 10,888 9,7e-04 | 4,564 0,033 | 15,582 7,9e-05 | 22,116 4,1e-06 | 17,974 2,2e-05 |
| Артеріальна гіпертензія | 10,652 0,001 | 3,932 0,049 | 2,766 0,096 | 3,899 0,042 | 4,619 0,032 |

Примітка. Wald — Wald-статистика для регресійних рівнянь; p — значущість відмінності від нульової гіпотези (прийнята при $p < 0,05$).

Класифікаційні характеристики моделей прогнозування ускладнень ЦД за вмістом у крові маркерів ЕДФ

| Залежна змінна | Значення ймовірності (p) | Правильний позитивний прогноз, % | Правильний негативний прогноз, % | Правильність, % |
|--------------------|--------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------|
| Вміст ET1 | | | | |
| P(ПНП) | 0,900 | 50,00 | 50,00 | 50,0 |
| P(РП) | 0,866 | 51,26 | 49,58 | 50,2 |
| P(НПшкф) | 0,489 | 75,64 | 71,62 | 73,7 |
| P(НПмау) | 0,762 | 81,10 | 76,00 | 80,3 |
| P(МАНК) | 0,221 | 65,62 | 71,67 | 70,0 |
| P(АГ) | 0,464 | 61,97 | 67,90 | 65,1 |
| Вміст NOx | | | | |
| P(МАНК) | 0,205 | 53,12 | 50,83 | 51,3 |
| P(АГ) | 0,471 | 60,56 | 61,53 | 61,5 |
| Вміст eNOS | | | | |
| P(НПмау) | 0,852 | 61,42 | 64,00 | 61,8 |
| P(МАНК) | 0,216 | 65,63 | 63,33 | 63,8 |
| Вміст TNF-α | | | | |
| P(РП) | 0,765 | 59,66 | 51,52 | 57,9 |
| P(НПшкф) | 0,484 | 60,26 | 58,11 | 59,2 |
| P(МАНК) | 0,175 | 75,00 | 70,83 | 71,7 |
| P(АГ) | 0,449 | 56,34 | 55,56 | 55,9 |
| Вміст ДК | | | | |
| P(НПмау) | 0,819 | 61,42 | 64,00 | 62,8 |
| P(МАНК) | 0,161 | 75,00 | 63,33 | 65,8 |
| P(АГ) | 0,438 | 66,20 | 56,79 | 61,2 |

Примітка. P — ймовірність полінейропатії (ПНП), ретинопатії (РП), нефропатії за ШКФ (НПШКФ), нефропатії за МАУ (НПМАУ), макроангіопатії нижніх кінцівок (МАНК) та артеріальної гіпертензії (АГ).

опатією нижніх кінцівок і артеріальною гіпертензією.

З іншого боку, полінейропатія залежала тільки від підвищення вмісту в крові ET1; ретино- і нефропатія за ШКФ — від вмісту ET1 і TNF-α, нефропатія за МАУ — від вмісту ET1, eNOS і ДК; макроангіопатія нижніх кінцівок і артеріальна гіпертензія — від вмісту всіх маркерів (крім зв'язку артеріальної гіпертензії з eNOS).

Математичні моделі, що були побудовані за формулою (1), мали задовільні класифікаційні характеристики прогнозування відповідних ускладнень ЦД2 (табл. 2).

Отже, за даними регресійного аналізу оцінювали вплив кожного з маркерів ЕДФ. Регресійні рівняння прогнозування ускладнень відповідали критеріям правильності прогнозу, що підтверджувало патогенетичне значення маркерів ЕДФ для виникнення відповідних ускладнень.

Надалі на основі отриманих результатів аналізу були розраховані критичні концентрації для кожного маркера ЕДФ (формула 2), що мають значення для окремих ускладнень ЦД2 (табл. 3).

Відмічено, що вміст ET1 вище 1,990 фмоль/мл асоціювався з нефропатією за рівнем МАУ, а вище 2,309 фмоль/мл — з розвитком інших ускладнень. Підвищення вмісту в крові TNF-α вище 102 і 105,1 пг/мл визначало ретинопатію та нефропатію відповідно. Розвиток нефропатії за рівнем МАУ, крім ET1, підтверджувало зниження вмісту у крові eNOS нижче 250,4 пг/мл та ДК нижче 5,368 Од/мл. Для всіх маркерів встановлено критичні рівні формування макроангіопатії нижніх кінцівок та майже для всіх (крім eNOS) — розвитку артеріальної гіпертензії.

ET1 є основним гормоном ендотелію, який має вазоактивний, натрійуретичний, проліферативний та гемостатичний ефект [17]. Існують три ізоформи пептиду, які експресуються у різних тканинах (най-

Критичні значення маркерів ЕДФ для ускладнень ЦД2

| Ускладнення | ЕТ1, фмоль/мл | NO, мкмоль/л | eNOS, пг/мл | TNF-α, пг/мл | ДК, Од/мл |
|---------------------------------|---------------|--------------|-------------|--------------|-----------|
| Полінейропатія | > 2,309 | — | — | — | — |
| Ретинопатія | > 2,404 | — | — | > 102,0 | — |
| Нефропатія за ШКФ | > 2,253 | — | — | > 105,1 | — |
| Нефропатія за МАУ | > 1,990 | — | < 250,4 | — | < 5,368 |
| Макроангіопатія нижніх кінцівок | > 2,447 | < 6,298 | < 218,4 | > 114,5 | < 5,194 |
| Артеріальна гіпертензія | > 2,311 | < 6,290 | — | > 102,0 | < 5,328 |

більш активним є ЕТ1), та два типи рецепторів: EDNRA і EDNRB. Перші представлені у гладких м'язах міоцитів та активують вазоконстрикцію і затримку натрію, що підвищує артеріальний тиск, другі — розташовані на клітинах ендотелію та підвищують екскрецію натрію, збільшення діурезу і утворення NO, що в цілому знижує артеріальний тиск. Фізіологічні концентрації ЕТ1 активують EDNRB (гіпотензивний ефект), а високі — EDNRA (гіпертензивний ефект).

У наших попередніх дослідженнях [11] було доведено патогенетичну роль високого рівня ЕТ1 при ЦД2, що залежало від поліморфізму його рецепторів. Також результати дослідження [18] переконливо підтвердили, що ЕДФ та система ЕТ1 і його рецепторів бере активну участь у формуванні судинних ускладнень. При ЦД2 визначено підвищену експресію ЕТ1 і рецепторів EDNRA, що відповідало тяжкості нефропатії [17]. Поліморфізм гена EDNRB має зв'язок з діабетичною ретинопатією [19], а використання антагоністів ЕТ1 для лікування діабетичної хвороби нирок на доклінічному етапі в експерименті знижувало протеїнурію і справляло нефропротекторну дію [20]. У цьому аспекті результати наших досліджень також підтвердили достеменний зв'язок високого вмісту ЕТ1 з розвитком ускладнень ЦД2. При цьому найбільш чутливою виявилася нефропатія, для якої критичним було підвищення вмісту ЕТ1 у 3,6, для інших ускладнень — у 4,2 разу (див. табл. 3).

NO є ендотелій-релаксуючим фактором, який запобігає дії вазоконстрикторів на судинний ендотелій клітини судинної стінки [1, 2]. Вміст NO при ЦД2 зростає, що не залежало від тяжкості хвороби (див. табл. 1) та узгоджувалося з даними літератури [4, 5]. Це було пов'язане з активацією індукцибельної NO-синтази (iNOS) під впливом патогенетичних факторів гіперглікемії [7]. У цьому аспекті зв'язок вмісту в крові NOx з макроангіопатією нижніх кінцівок та

артеріальною гіпертензією (див. табл. 2) свідчив про його важливу роль у розвитку судинних пошкоджень, що було пов'язане зі зниженням вмісту NOx (нижче 6,3 мкмоль/л; див. табл. 3). Отже, доречно припустити, що при гіперглікемії підвищений вміст у крові NOx може бути захисним (протекторним) чинником.

Також у наших дослідженнях визначено, що у міру збільшення тяжкості ЦД2 гальмувалась експресія eNOS та прогресивно знижувався її рівень в крові, що відповідає даним [21]. Зниження вмісту eNOS можна розглядати як біомаркер оксидантного стресу [22]. Отже, ці дані пояснюють значення зниження вмісту в крові eNOS для макроангіопатії нижніх кінцівок та нефропатії за МАУ.

TNF-α відіграє важливу роль у формуванні інсулінорезистентності на пострецепторному рівні [23], оскільки завдяки фосфорилуванню субстрату інсулінового рецептора (IRS-1) і його гальмуванню [24] він запобігає активації шляхів PI3K/Akt- і Erk/MAP-кіназ та поглинанню глюкози [25]. Високий рівень TNF-α відзначено переважно у пацієнтів 3-ї групи, що свідчило про залежність активації цитокінового каскаду від тяжкості ЦД2 та узгоджувалося з даними літератури [23] і результатами наших попередніх досліджень [12]. У формуванні ускладнень ЦД2 мало значення підвищення вмісту TNF-α у 4,5 разу та більше (див. табл. 3).

У наших попередніх дослідженнях також було визначено роль ДК як ключового параметра інтенсифікації оксидантного стресу при ЦД2 [26]. ДК і малоновий діальдегід прогресивно накопичувалися у крові протягом перших 5 років хвороби, після чого лишалися на стабільно високому рівні. Рівень ДК нижче 5,2—5,4 Од/мл асоціювався з макроангіопатією нижніх кінцівок, артеріальною гіпертензією та нефропатією за МАУ (див. табл. 3).

Отже, встановлено зв'язок маркерів ЕДФ з ускладненнями ЦД і визначено їхні критичні значення. Цей

факт свідчить про принципову можливість застосування деяких з цих факторів (особливо ET1 і TNF- α , які мали зв'язок майже з усіма ускладненнями) для прогнозування ускладнень. Такі результати є підґрунтям для проведення подальших досліджень з визначення прогностичних маркерів ускладнень ЦД2.

ВИСНОВКИ

При ЦД2 вміст у крові ET1, TNF- α , NOx та ДК багаторазово достеменно підвищувався, що в цілому відповідало тяжкості захворювання, особливо щодо TNF- α і ET1. Вміст у крові eNOS знижувався відповідно до тяжкості патологічного процесу.

Встановлено критичні значення вмісту в крові маркерів ЕДФ для ускладнень ЦД2, що доводить їхню патогенетичну значущість у розвитку судинних ускладнень ЦД2 та свідчить про можливість використання для прогнозування їхнього розвитку.

Усі етапи дослідження виконували відповідно до етичних стандартів Гельсінської декларації (1964 р. з поправками) та з дозволу Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (протокол № 122 від 29.05.2019 р.). Усі пацієнти дали інформовану згоду на участь у дослідженні.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мали конфлікту інтересів при написанні цієї статті.

Джерела фінансування. Робота виконана у рамках держбюджетної НДР кафедри патофізіології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця «Роль генетичних поліморфізмів у патогенезі метаболічних порушень при цукровому діабеті 2 типу», № держреєстрації 0115U005799, строки виконання — 2016—2017 рр.

ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

- Pi X, Xie L, Patterson C. Emerging Roles of Vascular Endothelium in Metabolic Homeostasis. *Circ Res.* 2018;123(4):477-494. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313237.
- Kuznetsova AS, Gozhenko AI, Kuznetsova ES et al. Endothelium. *Physiology and pathology: monograph.* Odessa: Fenix, 2018:284 [in Russian].
- Cutiongco MFA, Chua BMX, Neo DJH et al. Functional differences between healthy and diabetic endothelial cells on topographical cues. *Biomaterials.* 2018;153:70-84. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.037.
- Blum A, Socea D, Sirchan R. Vascular responsiveness in type 2 diabetes mellitus (T2DM). *QJM.* 2016;109(12):791-796. doi: 10.1093/qjmed/hcw081.
- Polovina MM, Potpara TS. Endothelial dysfunction in metabolic and vascular disorders. *Postgrad Med.* 2014;126(2):38-53. doi: 10.3810/pgm.2014.03.2739.
- Carrizzo A, Izzo C, Olivetti M et al. The Main Determinants of Diabetes Mellitus Vascular Complications: Endothelial Dysfunction and Platelet Hyperaggregation. *Int J Mol Sci.* 2018;19(10):E2968. doi: 10.3390/ijms19102968.
- Babik B, Peták F, Agócs S et al. Diabetes mellitus: endothelial dysfunction and changes in hemostasis. *Orv Hetil.* 2018;159(33):1335-1345. doi: 10.1556/650.2018.31130. In Hungarian
- Raminderjit K, Manpreet K, Jatinder Singh corresponding. Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: molecular insights and therapeutic strategies. *Cardiovasc Diabetol.* 2018;17:121. doi: [10.1186/s12933-018-0763-3].
- Bermejo-Martin JF, Martín-Fernandez M, López-Mestanza C et al. Shared Features of Endothelial Dysfunction between Sepsis and Its Preceding Risk Factors (Aging and Chronic Disease). *J Clin Med.* 2018;7(11):E400. doi: 10.3390/jcm7110400.
- Knapp M, Tu X, Wu R. Vascular endothelial dysfunction, a major mediator in diabetic cardiomyopathy. *Acta Pharmacol Sin.* 2018;Jun 4. doi: 10.1038/s41401-018-0042-6.
- Ziablitssev SV, Chernobryvtsev OP, Ziablitssev DS, Starodubskaya OO. Pathogenetic role of endothelin-1 and polymorphism of its receptors in type 2 diabetes. *Fiziol Zh.* 2019;65(2):22-30. [in Ukrainian].
- Ziablitssev SV, Chernobryvtsev OP, Ziablitssev DS. Significance of alpha tumor necrosis factor in the development of nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *Clinical endocrinology and endocrine surgery.* 2019;65(1):72-80. [in Ukrainian].
- Ziablitssev SV, Chernobryvtsev OP, Zyablitssev DS. Indicators of endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus as determinative factors of development of complications. *International Endocrine Journal.* 2018;4(7):661-7. [in Ukrainian].
- Pankiv VI. Diabetes mellitus: diagnostic criteria, etiology and pathogenesis. *International Endocrinology Journal.* 2013;8(56):53-64. [in Ukrainian].
- Type 2 Diabetes Complications. Web-resource: www.endocrineweb.com/conditions/type-2-diabetes.
- KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the

- Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int. Suppl.* 2013;3(1):1-150.
17. Zanatta CM, Crispim D, Sortica DA et al. Endothelin-1 gene polymorphisms and diabetic kidney disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr.* 2015;7:103. doi: 10.1186/s13098-015-0093-5.
 18. Li W, Abdul Y, Ward R, Ergul A. Endothelin and diabetic complications: a brain-centric view. *Physiol Res.* 2018;67 (Suppl. 1):S83–S94.
 19. Bregar D, Cilenšek I, Mankoč S et al. The joint effect of the endothelin receptor B gene (EDNRB) polymorphism rs10507875 and nitric oxide synthase 3 gene (NOS3) polymorphism rs869109213 in Slovenian patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic retinopathy. *Bosn J Basic Med Sci.* 2018;18(1):80-86. doi: 10.17305/bjbm.2017.2244.
 20. Georgianos PI, Agarwal R. Endothelin A receptor antagonists in diabetic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2017;26(5):338-344. doi: 10.1097/MNH.0000000000000342.
 21. Lian K, Guo X, Huang Q et al. Reduction Levels and the Effects of High-Molecular-Weight Adiponectin via AMPK/eNOS in Chinese Type 2 Diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2016;124(9):541-547. doi: 10.1055/s-0042-109262.
 22. Banerjee M, Vats P. Reactive metabolites and antioxidant gene polymorphisms in Type 2 diabetes mellitus. *Redox Biol.* 2014;2:170-177. doi: 10.1016/j.redox.2013.12.001.
 23. Liu C, Feng X, Li Q et al. Adiponectin, TNF- α and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine.* 2016;86:100109. doi: 10.1016/j.cyto.2016.06.028.
 24. Cops KD, White MF. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. *Diabetologia.* 2012;55(10):2565-2582. doi:10.1007/s00125-012-2644-8.
 25. Takaguri A. Elucidation of a new mechanism of onset of insulin resistance: effects of statins and tumor necrosis factor- α on insulin signal transduction. *Yakugaku Zasshi.* 2018;138(11):1329-1334. doi: 10.1248/yakushi.18-00116. [In Japanese].
 26. Ziablitsev SV, Mokrii VY, Cristal MV. The value of polymorphism Pro12Ala gene in violation of lipid peroxidation and antioxidant protection in patient with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Education, Health and Sport formerly of Health Sciences.* 2016;6(9):626-636.

РЕЗЮМЕ

Зв'язок сироваткових рівнів маркерів ендотеліальної дисфункції з ускладненнями цукрового діабету 2-го типу

С. В. Зябліцев¹, О. П. Чернобривцев¹, М. В. Зябліцева², А. А. Грішов¹, Ю.О. Панченко³

¹ Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ

² Приватний вищий навчальний заклад «Київський медичний університет»

³ Київська міська клінічна офтальмологічна лікарня «Центр мікрохірургії ока»

Ендотеліальна дисфункція (ЕДФ) формується при цукровому діабеті 2-го типу (ЦД2) і в подальшому бере участь у патогенезі захворювання. Основними маркерами ЕДФ є гормон ендотелію — ендотелін (ЕТ1), азоту оксид (NO), ендотеліальна NO-синтаза (eNOS), фактор некрозу пухлин альфа (TNF- α) і маркер оксидантного стресу – дієнові кон'югати (ДК).

Мета роботи — встановити зв'язок сироваткових рівнів маркерів ЕДФ (ЕТ1, eNOS, NO, TNF- α , ДК) з ускладненнями ЦД2.

Матеріали та методи. Обстежили 152 пацієнтів з ЦД2 та 95 практично здорових осіб (контрольна група). За результатами клініко-лабораторних обстежень встановлювали стадію захворювання та виявляли наявність ускладнень. У плазмі крові визначали вміст ЕТ1 (Biomedica Immunoassays, Австрія), eNOS (BCM Diagnostics, США) і TNF- α (Bender Medsystems, Австрія). Вміст у крові NO визначали за його кінцевими метаболітами (NOx) у реакції Грися, рівень ДК ненасичених жирних кислот — за Z. Placer у модифікації В. Б. Гаврилова. Для статистичної обробки отриманих даних використовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

Результати та обговорення. Вміст у крові ЕТ1, TNF- α , NOx та ДК багаторазово достеменно підвищувався, що відповідало тяжкості захворювання (особливо TNF- α і ЕТ1), рівень eNOS — знижувався. Концентрація ЕТ1 вище 1,990 фмоль/мл асоціювалася з нефропатією за рівнем мікроальбумінурії, а вище 2,309 фмоль/мл — з розвитком інших ускладнень. Зростання вмісту в крові TNF- α вище 102 і 105,1 пг/мл визначало ретинопатію та нефропатію відповідно. Розвиток нефропатії за рівнем мікроальбумінурії, крім ЕТ1, підтверджував зниження вмісту в крові eNOS нижче 250,4 пг/мл та ДК нижче 5,368 Од/мл. Для всіх маркерів встановлено критичні рівні для формування макроангіопатії нижніх

кінцівок та майже для всіх (крім eNOS) — артеріальної гіпертензії.

Висновки. Встановлено зв'язок маркерів ЕДФ з ускладненнями ЦД2 і визначено критичні значення, що свідчать про принципову можливість застосування маркерів (особливо ET1 і TNF- α) для прогнозування розвитку ускладнень ЦД2.

Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу, ускладнення, ендотеліальна дисфункція.

РЕЗЮМЕ

Связь сывороточных уровней маркеров эндотелиальной дисфункции с осложнениями сахарного диабета 2-го типа

С. В. Зяблицев¹, А. П. Чернобривцев¹, М. В. Зяблицева², А. А. Гришов¹, Ю. А. Панченко³

¹ *Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, Киев*

² *Частное высшее учебное заведение «Киевский медицинский университет»*

³ *Киевская городская клиническая офтальмологическая больница «Центр микрохирургии глаза», Киев, Украина*

При сахарном диабете 2-го типа (СД2) формируется эндотелиальная дисфункция (ЭДФ), которая в дальнейшем участвует в патогенезе заболевания. Основными маркерами ЭДФ являются гормон эндотелия эндотелин (ЭТ1), азота оксид (NO), эндотелиальная NO-синтаза (eNOS), фактор некроза опухолей альфа (TNF- α) и маркер оксидантного стресса — диеновые конъюгаты (ДК).

Цель работы — установить связь сывороточных уровней маркеров ЭДФ (ЭТ1, eNOS, NO, TNF- α , ДК) с осложнениями СД2.

Материалы и методы. Обследованы 152 пациента с СД2 и 95 практически здоровых лиц (контрольная группа). По результатам клинико-лабораторных обследований устанавливали стадию заболевания и выявляли наличие осложнений. В плазме крови определяли содержание ЭТ1 (Biomedica Immunoassays, Австрия), eNOS (BCM Diagnostics, США) и TNF- α (Bender Medsystems, Австрия). С помощью спектрофотометрического метода определяли содержание в крови NO по его конечным метаболитам (NOx) в реакции Гриса и уровень ДК ненасыщенных жирных кислот по Z. Placer в модификации В. Б. Гаврилова. Для статистической обработки полученных данных использовали программу Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

Результаты и обсуждение. Содержание в крови ЭТ1, TNF- α , NOx и ДК многократно повышалось, что

соответствовало тяжести заболевания (особенно TNF- α и ЭТ1), уровень eNOS — снижался. Концентрация ЭТ1 выше 1,990 фмоль/мл ассоциировалась с нефропатией по уровню микроальбуминурии, а выше 2,309 фмоль/л — с развитием других осложнений. Повышение содержания в крови TNF- α выше 102,0 и 105,1 пг/мл определяло ретинопатию и нефропатию соответственно. Развитие нефропатии по уровню микроальбуминурии, кроме ЭТ1, подтверждало снижение содержания eNOS ниже 250,4 пг/мл и ДК ниже 5,368 Ед/мл. В отношении всех маркеров установлены критические уровни для формирования макроангиопатии нижних конечностей и почти для всех (кроме eNOS) — артериальной гипертензии.

Выводы. Установлена связь маркеров ЭДФ с осложнениями СД2 и определены критические значения, что свидетельствует о принципиальной возможности применения маркеров (особенно ЭТ1 и TNF- α) для прогнозирования развития осложнений СД2.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, осложнения, эндотелиальная дисфункция.

SUMMARY

Association of blood endothelial dysfunction markers with type 2 diabetes mellitus complications

S. V. Ziablitsev¹, O. P. Chernobrivtsev¹, M. V. Ziablitseva², A. A. Grishov¹, Yu. O. Panchenko³

¹ *O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine*

² *Private Higher Education Establishment «Kyiv Medical University»*

³ *Kyiv City Clinical Ophthalmological Hospital «Eye Microsurgery Center», Kyiv, Ukraine*

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is associated with endothelial dysfunction (ED) which contributes to pathogenesis of the disease. The major markers of ED are endothelial hormone — endothelin 1 (ET1), nitric oxide (NO), endothelial NO-synthase (eNOS), tumor necrosis factor (TNF- α) and oxidative stress marker — diene conjugates (DCs).

Objective — to assess of potential association of blood ED markers (ET1, eNOS, NO, TNF α , DCs) with T2DM complications.

Materials and methods. 152 patients with T2DM and 95 generally healthy subjects (control) were examined. According to the results of clinical and laboratory examinations, the stage of the disease and the presence of complications were determined.

Content of ET1 (Biomedica Immunoassays, Austria), eNOS (BCM Diagnostics, USA) and TNF- α (Bender Medsystems, Austria) were determined in blood plasma. NO level in blood was determined by its terminal metabolites (NOx) in the Gris reaction, and the content of DCs of unsaturated fatty acids by Z. Placer in VB Gavrilov modification. Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA) was used for statistical processing of the obtained data.

Results and discussion. The blood content of ET1, TNF α , NOx and DCs increased significantly, corresponding to the severity of the disease (especially for TNF- α and ET1); eNOS content was declining. ET1 higher than 1.990 fmol/ml determined nephropathy on the level of microalbuminuria, and above 2.309 fmol/ml — other complications. An increase in blood TNF- α

content above 102.0 pg/ml and 105.1 pg/ml determined retinopathy and nephropathy, respectively. The development of nephropathy by the level of microalbuminuria, in addition to ET1, was confirmed by a decrease in blood eNOS content below 250,4 pg/ml and DCs below 5,368 U/ml. Critical levels for the formation of lower extremity macroangiopathy and almost all (except eNOS) hypertension have been established for all markers.

Conclusions. The association of ED markers with diabetic complications was shown and thresholds (critical values) were set, indicating that the markers (especially ET1 and TNF- α), in particular, could be used to predict T2DM complications.

Key words: type 2 diabetes mellitus, complications, endothelial dysfunction.

Дата надходження до редакції 25.11.2019 р.