

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.379-008.64-056.7

**ШИШКО**  
**Ольга Николаевна**

**АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС, МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ  
И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ У ПАЦИЕНТОВ  
С ПРЕДИАБЕТОМ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук  
по специальности 14.01.02 – эндокринология

Минск 2017

Научная работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет»

**Научный руководитель:** **Мохорт Татьяна Вячеславовна,**  
доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой эндокринологии  
учреждения образования «Белорусский  
государственный медицинский университет»

**Официальные оппоненты:** **Холодова Елена Алексеевна,**  
доктор медицинских наук, профессор,  
заслуженный деятель науки Республики  
Беларусь

**Мойсеенок Андрей Георгиевич,**  
доктор биологических наук, профессор,  
член-корреспондент Национальной академии  
наук Беларуси, заведующий отделом  
витаминологии и нутрицевтики Института  
биохимии биологически активных  
соединений Национальной академии наук  
Беларуси

**Оппонирующая организация:** учреждение образования «Гомельский  
государственный медицинский университет»

Защита состоится 06 июня 2017 года в 13.30 на заседании совета по защите диссертации Д 03.18.10 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, телефон: 8 (017) 272 55 98, e-mail: uchsovet@bsmu.by.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» мая 2017 года.

Ученый секретарь совета  
по защите диссертаций,  
кандидат медицинских наук, доцент



А.В. Волчек

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность изучения сахарного диабета 2 типа (СД 2 типа) и состояний, предшествующих его развитию, т. е. предиабета, избыточной массы тела (ИзбМТ) и ожирения, обусловлена его высокой распространенностью, затратами на лечение и уровнем смертности [W. Rowley, 2017; H. Chang, 2016; A. Ofstad, 2016]. Поскольку именно сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти при сахарном диабете (СД) [K. Iglay, 2016], важно выявление факторов, сопутствующих развитию ишемической болезни сердца (ИБС).

У пациентов с СД 2 типа при диагностике заболевания выявляются микро- или макрососудистые осложнения [K. Iglay, 2016; R. Tumer, 1999]. Не всегда сохраняется зависимость развития осложнений от степени метаболической компенсации СД, отмечаются различия в спектре развивающихся осложнений. В качестве потенциальных ранних маркеров сосудистых осложнений представляет интерес изучение антиоксидантного статуса (АОС), состояния микроциркуляторного русла, оценка генетических предикторов. Роль оксидативного стресса (ОС) в патогенезе сосудистых осложнений манифестного СД 2 типа известна, но активные исследования в данном направлении продолжаются [M. Tibaut, 2016, L. Koppe, 2016]. Недостаточно информации по оценке активности антиоксидантных систем при предиабете. Практически отсутствуют данные по комплексной оценке маркеров ОС и микроциркуляции. Из многочисленных генов-кандидатов для оценки риска развития сосудистых осложнений СД 2 типа наибольший интерес представляют эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF) и ингибитор активатора плазминогена 1 (PAI-1), поскольку носительство определенного генотипа ассоциировано с кардиоваскулярной патологией, хронической болезнью почек (ХБП), а также с ожирением [D. Schneider, 2012, C. Coffey, 2011].

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Связь работы с научными программами (проектами) и темами**

Работа выполнялась в рамках темы научно-исследовательской работы ГУ «Республиканский научно-практический центр «Кардиология»: «Разработать алгоритм клиничко-генетического тестирования для определения степени риска прогрессирования атеротромбоза у пациентов со стабильной стенокардией и нарушениями углеводного обмена», № регистрации: 20112790, подпрограмма «Сердце и сосуды», ГНТП «Новые технологии диагностики и лечения 2011–2015», а также соответствует основному научному направлению кафедры эндокринологии УО «Белорусский государственный медицинский университет» «Механизмы компенсации метаболических нарушений при

эндокринопатиях», утвержденной Государственным центром регистрации НИР и ОКР (№ регистрации 20140455 от 14.04.2014 г.).

### **Цель и задачи исследования**

**Цель исследования:** выявить особенности изменений, характеризующих микроциркуляцию бульбарной конъюнктивы, АОС, а также определить полиморфизмы генов, предрасполагающих к развитию ИБС и снижению скорости клубочковой фильтрации (СКФ) у пациентов с предиабетом и СД 2 типа.

### **Задачи исследования:**

1. Определить особенности параметров микроциркуляции бульбарной конъюнктивы при предиабете, СД 2 типа, ИзбМт, ожирении, а также выявить взаимосвязь между изменениями микроциркуляции и ИБС у пациентов с СД 2 типа.

2. Установить особенности АОС у пациентов с предиабетом, СД 2 типа, ИзбМТ, ожирением I ст., а также у пациентов с СД 2 типа и ИБС.

3. Провести анализ распределения полиморфизмов G/C гена VEGF и полиморфизмов 4G/5G гена PAI-1 в зависимости от наличия сопутствующей ИБС и изменения СКФ у пациентов с СД 2 типа.

4. Установить совокупность изменений АОС и микроциркуляции конъюнктивы в сочетании со стандартными факторами риска развития и прогрессирования СД 2 типа, включая сочетание с ИБС с целью создания компьютерной программы поддержки принятия решения (ПППР).

**Объект исследования.** Объектом исследования были 196 пациентов, из них 59 – с предиабетом (нарушением гликемии натощак или нарушением толерантности к глюкозе), 81 – с СД 2 типа, 56 – с ИзбМТ или ожирением I ст. составили группу сравнения, в качестве группы контроля был набран 41 практически здоровый человек.

**Предмет исследования:** показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса: активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР) и концентрации окисленного глутатиона (GSSG), восстановленного глутатиона (GSH) и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), суммарная антиоксидантная активность плазмы (АОА); показатели микроциркуляции бульбарной конъюнктивы: сосудистые, внутрисосудистые и внесосудистые изменения; полиморфизмы G/C гена VEGF и 4G/5G гена PAI-1.

### **Научная новизна**

1. Выявлены особенности микроциркуляции бульбарной конъюнктивы у пациентов с предиабетом и СД 2 типа, к которым относятся: большое количество артериоло-венулярных анастомозов (AVA), выраженное снижение соотношения диаметра артериол и венул (AVD), выраженный периваскулярный

отек (PVO), меандрическая извитость капилляров ( $Mean_c$ ), микротромбоз в венулах ( $Mtr_v$ ), сладж в артериолах ( $Sl_a$ ) и капиллярах ( $Sl_c$ ).

2. Установлено, что генотип G/C гена VEGF и генотип 5G/5G гена PAI-1 ассоциированы с наличием ИБС у пациентов с СД 2 типа, а генотип G/G гена VEGF чаще встречался у пациентов с нормальной СКФ.

3. Доказано, что наиболее значимыми показателями микроциркуляции бульбарной конъюнктивы, ассоциированными с ИБС при СД 2 типа, являются: увеличенное число AVA, выраженный PVO и  $Sl_a$ , в то время как изменения АОС характеризуются снижением активности СОД и концентрации GSH, повышением активности КАТ, ГП, а также концентраций GSSG и ТБКРС.

4. Впервые определено, что  $Sl_c$  чаще встречается у пациентов с генотипом 5G/5G гена PAI-1,  $Mean_c$  – у пациентов с генотипом 4G/4G гена PAI-1, снижение числа функционирующих капилляров (FC) – при наличии генотипа G/G гена VEGF и 4G/5G гена PAI-1, снижение концентрации GSSG, повышение концентрации GSH и активность ГП – при наличии генотипа 4G/5G гена PAI-1.

5. Впервые создана ПППР на основании базы данных, включающей показатели микроциркуляции бульбарной конъюнктивы, АОС и стандартные факторы риска развития ИБС и СД 2 типа.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. У пациентов с предиабетом и манифестным СД 2 типа выявлены особенности показателей микроциркуляции, характеризующиеся увеличением числа артериоло-венулярных анастомозов, уменьшением соотношения диаметра артериол и венул, меандрической извитостью капилляров, микротромбозом венул, сладж-образованием в артериолах и капиллярах, периваскулярным отеком, наиболее выраженные у пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС. Парциальные и общий конъюнктивальный индексы оптимальны для оценки выраженности нарушений микроциркуляции. Меандрическая извитость капилляров является наиболее чувствительным и специфичным параметром микроциркуляции у пациентов с СД 2 типа, а количество артериоло-венулярных анастомозов – у пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС.

2. Установлены особенности показателей прооксидантно-антиоксидантного статуса: увеличение массы тела независимо от наличия СД 2 типа и предиабета ассоциировано с повышением концентрации окисленного глутатиона; суммарная антиоксидантная активность повышена при предиабете и обратно коррелирует с индексом массы тела при сочетании СД 2 типа и ИБС; снижение активности супероксиддисмутазы и концентрации восстановленного глутатиона выявляется при СД 2 типа; сочетание СД 2 типа и ИБС характеризуется снижением активности супероксиддисмутазы на 25%,

концентрации восстановленного глутатиона в 2 раза и повышением активности каталазы в 2 раза, глутатионпероксидазы на 25% и концентраций продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой в 2 раза и окисленного глутатиона на 10%, что может рассматриваться в качестве дополнительного критерия риска развития ИБС при наличии СД 2 типа.

3. У пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС установлена большая частота встречаемости генотипа G/C гена VEGF, а также генотипа 5G/5G гена PAI-1. Генотип G/G гена VEGF ассоциирован с нормальной скоростью клубочковой фильтрации при СД 2 типа.

4. На основании установленных измененных параметров микроциркуляции (количество функционирующих капилляров, соотношение диаметра артериол и соответствующих венул, артериоло-венулярные анастомозы, сетевидная структура микрососудистого русла, неравномерность калибра сосудов, меандрическая извитость венул и капилляров и сладж в венулах, капиллярах и артериолах, периваскулярный отек), а также показателей прооксидантно-антиоксидантного статуса (активности супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, концентрации окисленного глутатиона, восстановленного глутатиона и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой) создана компьютерная программа поддержки принятия решения, которая помогает оптимизировать работу с большим количеством вводимых данных и выделять категории пациентов с высокой вероятностью развития патологии.

#### **Личный вклад соискателя ученой степени**

Диссертационная работа является самостоятельным научным исследованием, выполненным автором. Направление темы диссертационного исследования предложено научным руководителем. Личное участие автора состояло в постановке цели и задач исследования, выборе объекта, предмета и методов исследования, проведении патентно-информационного поиска, анализе литературных данных, отборе пациентов, формировании групп исследования, анкетировании пациентов, определении антропометрических показателей, статистической обработке результатов. Автором лично выполнено обобщение полученных результатов, формулировка выводов, разработка практических рекомендаций, написана диссертационная работа. Изменения АОС, микроциркуляции при предиабете, ожирении и выделение характерных для СД 2 типа отличий представлены в статьях [2, 4, 5], степень участия – 80%, сборниках научных трудов [8, 9, 10], степень участия – 100%, материалах конференций [12, 13, 14, 15], степень участия – 80–100%, тезисах докладов [16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24], степень участия – 75–80%, инструкции по применению [26], степень участия – 75%. Влияние генетических полиморфизмов генов VEGF, PAI-1 на развитие ИБС и изменение СКФ при предиабете,

СД 2 типа представлены в статье [6], степень участия – 100%, сборнике научных трудов [10], степень участия – 100%, материалах конференции [11], степень участия – 80%, тезисах докладов [21, 25], степень участия – 80%. Опыт применения модели искусственных нейронных сетей (ИНС) для создания ПППР и прогнозирования возможности развития нарушений углеводного обмена (НУО) представлен в статье [7], степень участия – 90%.

### **Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов**

Основные положения работы были доложены на конгрессе Европейского Общества Кардиологов (Амстердам, 2013 г.), Республиканской научно-практической конференции с международным участием «8-я школа практического кардиолога» (Минск, 2013 г.), научной сессии Белорусского государственного медицинского университета (Минск, 2014 г.), 16-м Европейском эндокринологическом конгрессе (Вроцлав, 2014 г.), 50-м Ежегодном собрании Европейского общества по изучению диабета (Вена, 2014 г.), 7-й Международной конференции по передовым технологиям в лечении сахарного диабета (Вена, 2014 г.), 17-м Европейском конгрессе эндокринологов (Дублин, 2015 г.), II Международном симпозиуме «Метаболический синдром: эксперимент, клиника, терапия» (Гродно, 2015 г.), 18-м Европейском эндокринологическом конгрессе (Мюнхен, 2016 г.).

Результаты исследований внедрены в работу УЗ «Витебский областной эндокринологический диспансер», УЗ «Брестский областной эндокринологический диспансер», ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», что подтверждено актами по внедрению. По теме диссертации утверждена инструкция по применению «Диагностический алгоритм определения степени риска прогрессирования атеротромбоза у пациентов со стабильной стенокардией и нарушениями углеводного обмена», утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь 06.06.2014, № 141-1113.

### **Опубликование результатов работы**

По теме диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых научных журналах (2,2 авторских листа), в том числе 1 статья единолично (0,35 авторских листа), 3 статьи в сборниках научных трудов, 5 статей в материалах конференций, 10 тезисов докладов, утверждена 1 инструкция по применению.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав собственных исследований, заключения, библиографического списка (11 русскоязычных и 222 иностранных), приложений. Работа изложена на 132 страницах машинописного текста, содержит 19 рисунков и 24 таблицы.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Материалы и методы исследования

Для выявления характерных изменений микроциркуляции, АОС при предиабете и СД 2 типа обследовано 196 пациентов и 41 практически здоровый человек в качестве группы контроля, соответствующих критериям: наличие предиабета, СД 2 типа в стадии клинико-метаболической субкомпенсации с длительностью заболевания до 5 лет, возраст до 60 лет, индекс массы тела (ИМТ) не более 35 кг/м<sup>2</sup>. Для исключения влияния других факторов на изучаемые параметры в исследование не включены пациенты с хронической сердечной недостаточностью, функциональный класс III–IV по NYHA, острым или в анамнезе инфарктом миокарда, острыми или хроническими нарушениями ритма сердца, острым или в анамнезе нарушением мозгового кровообращения, острым воспалительным заболеванием органов и систем, АГ выше 1 степени, хроническими заболеваниями в стадии декомпенсации, хроническими осложнениями СД: ретинопатия, пролиферативная стадия, нефропатия, стадия протеинурии (ХБП 4–5 ст.).

В соответствии с задачами сформированы группы исследования: 1 – 41 практически здоровый человек, группа контроля; 2а – 32 пациента с ИзбМТ, 2б – 24 пациента с ожирением I степени (группы сравнения без НУО); 3 – 59 пациентов с предиабетом; 4 – 41 пациент с СД 2 типа; 5 – 40 пациентов с диагнозом СД 2 типа в сочетании с ИБС. Все пациенты рандомизированы по сопоставимым методам лечения.

Выполнено одномоментное поперечное исследование случай-контроль, которое включало изучение состояния микроциркуляции, АОС при предиабете, ожирении, СД 2 типа; исследование генетических полиморфизмов G/C гена VEGF и 4G/5G гена PAI-1, ассоциированных с ИБС и изменением СКФ у лиц с предиабетом и СД 2 типа.

Клиническое обследование пациентов включало сбор анамнестических данных, показателей антропометрии (определение ИМТ, окружности талии, окружности бедер и их соотношение), обследование глазного дна с помощью фундус-линзы, расчет СКФ по формуле Кокрофта–Голта, анализ суточной мочи на микроальбуминурию.

Оценка АОС и микроциркуляции проводилась на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр «Кардиология» в лаборатории «Хроническая сердечная недостаточность». Для оценки АОС плазмы концентрацию ТБКРС (нмоль/мл) определяли по методу Коробейниковой Э.Н.; активность СОД (усл. ед./мл) определяли по восстановлению нитротетразолия супероксидными радикалами; определение активности КАТ проводилось по оценке неразрушенной части пероксида водорода; АОА (%) изучали по методу Промыслова М.Ш. и Демчука М.Л. Систему глутатиона в эритроцитах изучали



по методам Гавриловой А.Р. и Хмары Н.Ф. и С. Beutler для определения активности ГП (ммоль/мин) и ГР (ммоль/мин) и концентраций GSSG (ммоль/л) и GSH (ммоль/л).

Для определения вне-, внутри- и сосудистых изменений микроциркуляции (20 показателей) использован метод компьютеризированной конъюнктивальной биомикроскопии с расчетом парциальных индексов и общего конъюнктивального индекса (ОКИ), результаты выражены в баллах. Оценку проводили на основании критериев Малой Л.Т., 1977.

Генетическое исследование, проведенное на базе Института генетики и цитологии НАН Беларуси, включало качественную детекцию *in vitro* двух аллелей гена VEGF (G/C) и двух аллелей гена PAI-1 (4G/5G) методом полимеразной цепной реакции.

По результатам исследования разработана ПППР, позволяющая по набору диагностических параметров относить пациента к определенной группе. В основе работы ПППР использована модель искусственных нейросетей (ИНС). Сформирована новая конфигурация ИНС с параметрами: количество входов – 38 (равное количеству диагностических параметров, анализируя которые нейросеть принимает решение), количество выходных нейронов – 5 (равное количеству групп, по которым необходимо классифицировать пациентов), количество слоев – 2.

Статистический анализ проводился на основе биостатистических методов программы MS EXCEL XP, STATSOFT STATISTICA 10.0 для Windows, SPSS 17.0 для Windows) и AtteStat, версия 13.1. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез принят  $p < 0,05$ , различия между группами оценивались с использованием U-критерия Манна–Уитни с поправкой Холма–Бонферрони. Выявление чувствительности и специфичности используемых методов исследования микроциркуляции проводилось методом ROC-анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Состояние микроциркуляции конъюнктивы у пациентов с предиабетом и сахарным диабетом 2 типа

Наиболее выраженные изменения микроциркуляции представлены в таблице 1. У пациентов с предиабетом отмечено увеличение количества AVA ( $p_{1-3}=0,002$ ), уменьшение AVD ( $p_{1-3}=0,025$ ) и более часто визуализировалась меандрическая извитость венул ( $Mean_v$ ) ( $p_{1-3}=0,006$ ).

В группе пациентов с СД 2 типа сосудистые изменения характеризуются увеличением числа AVA ( $p_{1-4}=0,005$ ), уменьшением AVD ( $p_{1-4}=0,050$ ), выраженной  $Mean_v$  и  $Mean_c$  ( $p_{1-4}=0,005$  и  $p_{1-4}=0,001$  соответственно), внутрисосудистые изменения отражались в  $Mtr_v$  ( $p_{1-4}=0,001$ ) и  $Sl_c$  ( $p_{1-4}=0,007$ ,  $p_{2a-4}=0,009$ ).

Установлено, что для пациентов с сочетанием СД 2 типа и ИБС характерно наличие множественных AVA ( $p_{1-5}=0,001$ ,  $p_{2a-5}=0,001$ ,  $p_{2b-5}=0,006$ ,  $p_{3-5}=0,001$ ,  $p_{4-5}=0,001$ ). Как и у пациентов с предиабетом и СД 2 типа, зарегистрировано уменьшение AVD ( $p_{1-5}=0,050$ ). Менее выражена сетевидная структура (Net) по сравнению с пациентами с наличием только СД 2 типа ( $p_{3-4}=0,039$ ). Внесосудистые изменения в виде PVO выявлены у пациентов с СД 2 типа и с СД 2 типа с ИБС ( $p_{1-4}=0,001$  и  $p_{1-5}=0,001$  соответственно). Максимальная выраженность изменений внутрисосудистого компонента зарегистрирована у пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС, что отразилось в более частом наличии  $Mtr_v$  ( $p_{1-5}=0,032$ ),  $Sl_c$  ( $p_{1-5}=0,024$ ). Кроме того, выявлено, что  $Sl_a$  именно в данной группе пациентов был статистически значимо чаще по сравнению с другими группами исследования ( $p_{1-5}=0,022$ ,  $p_{2a-5}=0,002$ ,  $p_{3-5}=0,021$ ,  $p_{4-5}=0,021$ ).

Таблица 1. – Сосудистые, внесосудистые, внутрисосудистые изменения микроциркуляции, парциальные индексы и ОКИ (баллы) (Me (LQ;UQ))

Параметры	Группа 1 (n=41)	Группа 2a (n=32)	Группа 2b (n=24)	Группа 3 (n=59)	Группа 4 (n=41)	Группа 5 (n=40)
AVA	2,0 (0,0;2,0)	2,0 (0,0;2,0)	2,0 (2,0; 4,0)	2,0 (2,0;2,0)	2,0 (2,0;2,0)	4,0 (4,0;4,0)
AVD	0,5 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)	0,5 (0,5;1,0)	1,0 (1,0;1,0)	1,0 (1,0;1,0)	1,0 (1,0;1,0)
Mean <sub>v</sub>	0,0 (0,0;1,0)	0,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)
Mean <sub>c</sub>	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;1,0)	0,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)	0,0 (0,0;1,0)
PVO	0,0 (0,0;0,5)	0,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,5;1,0)	0,5 (0,5;1,0)	0,5 (0,5;1,0)	1,0 (0,5;1,0)
Mtr <sub>v</sub>	0,0 (0,0;1,0)	0,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)	0,0 (0,0;0,0)	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)
Sl <sub>a</sub>	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;2,0)	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;0,0)	0,0 (0,0;2,0)
Sl <sub>v</sub>	1,0 (1,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (1,0;1,0)	0,0 (0,0;0,0)	1,0 (1,0;1,0)	1,0 (1,0;1,0)
Sl <sub>c</sub>	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (1,0;1,0)	1,0 (0,0;1,0)	1,0 (1,0;1,0)	1,0 (1,0;1,0)
Индекс сосудистых изменений	7,5 (4,5;9,0)	9,5 (0,0;10,0)	9,0 (8,8;10,8)	9,0 (8,0;11,0)	10,5 (9,0;11,0)	11,0 (9,0;12,0)
Индекс внутрисосу- дистых изменений	2,0 (1,0;2,0)	2,0 (0,0;2,0)	4,0 (2,0;4,0)	2,0 (1,0;2,0)	2,0 (2,0;4,0)	4,0 (2,0;4,0)
Индекс вне- сосудистых изменений	0,0 (0,0;0,5)	0,0 (0,0;1,0)	1,0 (0,5;1,0)	0,5 (0,5;1,0)	0,5 (0,5;1,0)	1,0 (0,5;1,0)
ОКИ	9,0 (6,5;11,0)	11,8 (0,0;13,3)	14,0 (13,0;14,8)	12,5 (10,0;13,5)	12,05 (12,5;14,0)	15,0 (13,0;16,3)

Расчет парциальных и ОКИ, представляющих собой суммы баллов сосудистых, внесосудистых и внутрисосудистых изменений соответственно позволил зарегистрировать максимальное количество баллов по ОКИ у пациентов с СД 2 типа, СД 2 типа в сочетании с ИБС и у пациентов с ожирением I ст. ( $p_{1-2b}=0,001$ ,  $p_{1-4}=0,001$ ,  $p_{1-5}=0,001$ ).

Наиболее высокие сосудистые индексы зарегистрированы в группе с СД 2 типа и СД 2 типа в сочетании с ИБС по сравнению с группой контроля

( $p_{1-4}=0,001$ ,  $p_{1-5}=0,001$ ). Во всех группах отмечено статистически значимое увеличение индекса сосудистых изменений по сравнению с группой контроля ( $p_{1-2b}=0,001$ ,  $p_{1-3}=0,001$ ,  $p_{1-4}=0,001$ ,  $p_{1-5}=0,001$ ), за исключением пациентов с ИзбМТ.

Проведение Roc-анализа выявило, что в группе пациентов с СД 2 типа наибольшей чувствительностью (70,7%) и специфичностью (92,9%) обладает показатель, характеризующий  $Mean_c$  ( $AUC=0,818\pm 0,049$ ) (рисунок 1).

Наиболее значимым показателем в группе пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС определено количество AVA, чувствительность – 81,25%, специфичность – 97,62% ( $AUC=0,926\pm 0,028$ ) (рисунок 2).

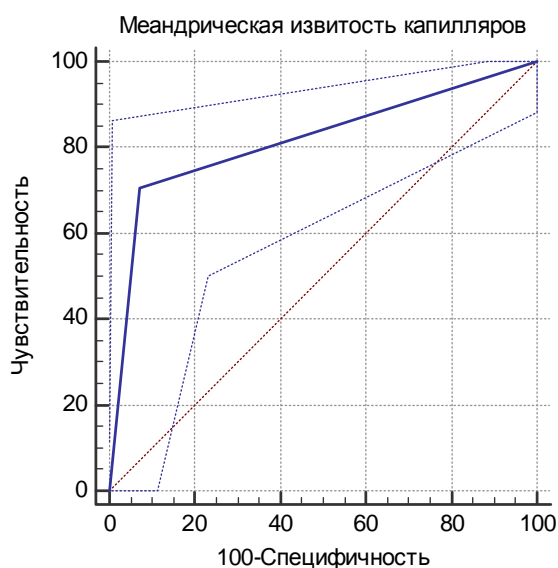


Рисунок 1. – Roc-кривая  $Mean_c$  в группе пациентов с СД 2 типа

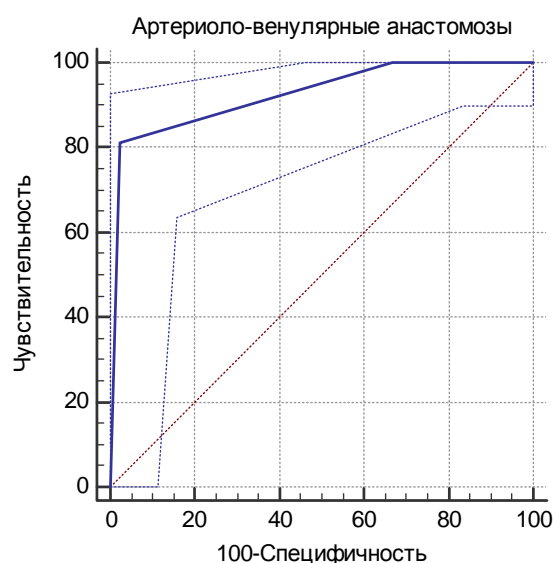


Рисунок 2. – Roc-кривая AVA в группе пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС

### Оценка состояния антиоксидантного статуса у пациентов с предиабетом и сахарным диабетом 2 типа

Наиболее высокая активность СОД зарегистрирована в группе практически здоровых лиц (86,43 (36,49;130,36) усл. ед./мл), а в группах исследования отмечено снижение данного показателя. Наименьшая активность фермента зарегистрирована в группе пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС: 62,03 (42,53;77,21) усл. ед./мл по сравнению с группой контроля ( $p_{1-5}=0,017$ ), а также у пациентов с СД 2 типа (65,24 (30,55;89,47) усл. ед./мл) ( $p_{1-4}=0,025$ ). Максимальная активность КАТ зарегистрирована в группе пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС (19,59 (11,06;29,17) мкат/л), что более чем в 2 раза выше, чем в группе контроля (8,12 (3,87;13,19) мкат/л) ( $p_{1-5}=0,002$ ), и свидетельствует об активации проявлений ОС. Более выраженное повышение активности ГП зарегистрировано у пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС (60,13 (50,25;70,12) ммоль/мин) по сравнению с группой контроля (44,38 (34,14;55,73) ммоль/мин) ( $p_{1-5}=0,005$ ).

Уровень ТБКРС наиболее высок у пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС (0,046 (0,023;0,103) нмоль/мл), что достоверно выше по сравнению с практически здоровыми лицами (0,021 (0,006;0,048) нмоль/мл) ( $p_{1-5}=0,015$ ). Концентрация GSH достоверно ниже при СД 2 типа в сочетании с ИБС (1,34 (0,61;1,41) ммоль/л) и при СД 2 типа (2,08 (2,08;2,92) ммоль/л) по сравнению с группой контроля (2,53 (2,29;3,15) ммоль/л) ( $p_{1-5}=0,001$  и  $p_{1-4}=0,024$  соответственно).

Увеличение массы тела ассоциировано с повышением концентрации GSSG: у пациентов с ИзбМТ 0,36 (0,31;0,40) ммоль/л и 0,35 (0,31;0,39) ммоль/л у пациентов с ожирением I ст. по сравнению с 0,33 (0,30;0,38) ммоль/л у пациентов с нормальной массой тела ( $p=0,026$  и  $p=0,042$  соответственно). Выявлено достоверное повышение АОА при предиабете (69,48 (59,09;85,93)%) по сравнению с наличием СД 2 типа в сочетании с ИБС (62,24 (47,60;71,39)%) ( $p_{3-5}=0,032$ ). У пациентов с сочетанием СД 2 типа и ИБС определено наличие отрицательной связи между увеличением массы и повышением АОА ( $R=-0,5$ ,  $p<0,05$ ) (рисунок 3).

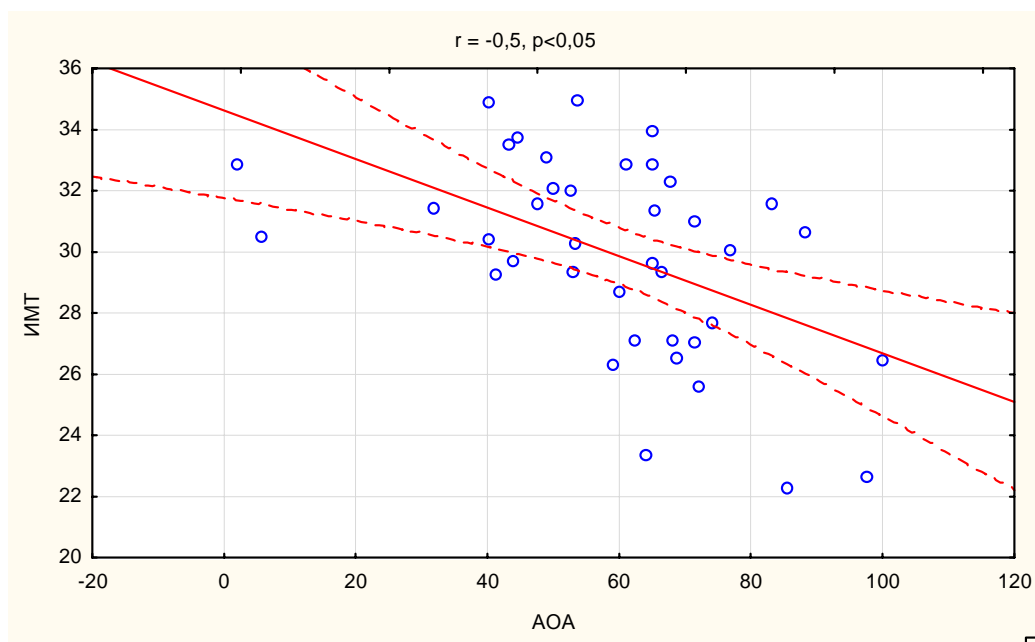


Рисунок 3. – Связь между ИМТ и АОА у пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС

Для изучаемых показателей АОС на данный момент не определены нормальные значения. Поэтому представлял интерес анализ изменений маркеров антиоксидантной активности в сравнении с группой практически здоровых лиц. Пределы нормальных значений каждого показателя определяли как  $M \pm 1,96\sigma$ , что было условно принято за норму.

Более частая встречаемость показателей, отличных от нормальных, была определена для пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС, что выразилось в повышении концентрации ГП и КАТ выше пороговых значений и достоверно более редкой встречаемостью повышенной активности СОД. Условно

нормальные значения активности СОД составили 73,17–109,63 усл. ед./мл. Активность СОД более 109,63 усл. ед./мл у пациентов с СД 2 типа и СД 2 типа в сочетании с ИБС регистрировалась достоверно реже по сравнению с группой контроля, что составило 5,0% (2) и 10,0% (4) против 42,1% (16) в группе контроля ( $F_{1-4}=0,2$ ,  $p_{1-4}=0,001$  и  $F_{1-5}=0,1$ ,  $p_{1-5}=0,006$ ). Условно нормальные значения активности КАТ составили 7,17–14,93 мкат/л, для ГП – 40,11–48,49 ммоль/мин. У пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС активность ферментов достоверно чаще встречалась при значениях более 14,93 мкат/л (57,1% (16)) для КАТ и более 48,49 ммоль/мин для ГП (77,8% (28)) по сравнению с группой контроля (22,5% (9) и 42,5% (17) соответственно) ( $\chi^2_{1-5}=8,5$ ,  $p_{1-5}=0,018$  и  $\chi^2_{1-5}=6,6$ ,  $p_{1-5}=0,010$  соответственно).

Снижение концентрации GSH и соответствующее повышение концентрации GSSG выявлено при сочетании СД 2 типа и ИБС, а также при ожирении. Условно нормальные значения для GSH составили 2,40–3,30 ммоль/л, а для GSSG – 0,31–0,35 ммоль/л. Концентрации GSH ниже, чем в группе контроля, значимо чаще регистрировались у пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС: у 87,5% (35) по сравнению с 26,8% (11) из группы контроля ( $\chi^2_{1-5}=30,4$ ,  $p_{1-5}=0,001$ ), в данной же группе отмечено повышение концентрации GSSG > 0,35 ммоль/л у 77,5% (31) пациентов, в то время как в группе контроля частота встречаемости составила 53,7% (22) ( $\chi^2_{1-5}=5,1$ ,  $p_{1-5}=0,048$ ). Такие же изменения отмечены и у лиц с ожирением, где концентрация GSSG выше пороговых значений, а GSH – ниже пороговых значений зарегистрирована у 83,3% (20) обследованных ( $\chi^2_{1-2b}=5,8$ ,  $p_{1-2b}=0,043$  и  $\chi^2_{1-2b}=19,4$ ,  $p_{1-2b}=0,001$  соответственно).

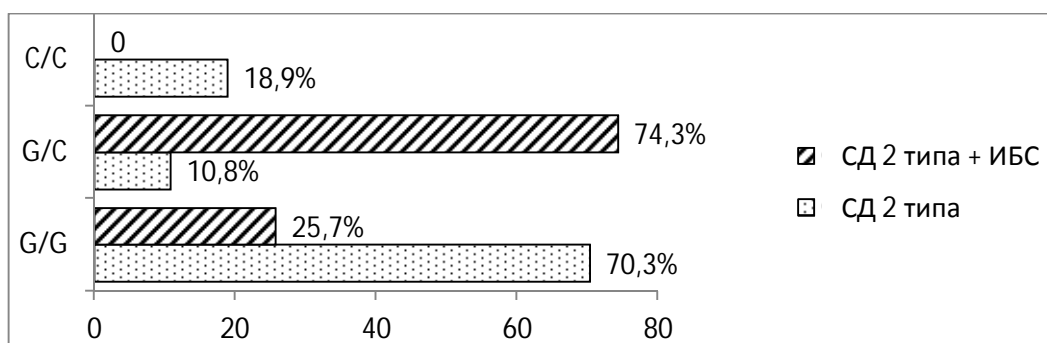
Для пациентов с СД 2 типа было отмечено снижение концентрации как GSSG (< 0,31 ммоль/л) у 68,3% (28) пациентов, так и GSH (< 2,40 ммоль/л) – у 73,2% (30) пациентов, а в группе практически здоровых лиц – у 34,2% (14) и 26,8% (11) соответственно ( $\chi^2_{1-4}=10,3$ ,  $p_{1-4}=0,010$  и  $\chi^2_{1-4}=17,6$ ,  $p_{1-4}=0,001$  соответственно).

### **Исследование влияния полиморфизмов генов PAI-1 и VEGF на развитие ишемической болезни сердца и изменение скорости клубочковой фильтрации у пациентов с сахарным диабетом 2 типа**

Генотип G/C гена VEGF ассоциирован с ИБС у пациентов с СД 2 типа, выявлен у 26 из 35 пациентов в группе 4, что составило 74,3% по сравнению с группой пациентов с СД 2 типа без сопутствующей ИБС, где гетерозиготный вариант зарегистрирован у 4 из 37 пациентов (10,8%) ( $F=0,1$ ,  $p=0,001$ ) (рисунок 4). Генотип C/C не зарегистрирован у пациентов с ИБС (0%) и выявлен у 15 пациентов без ИБС (16,9%).

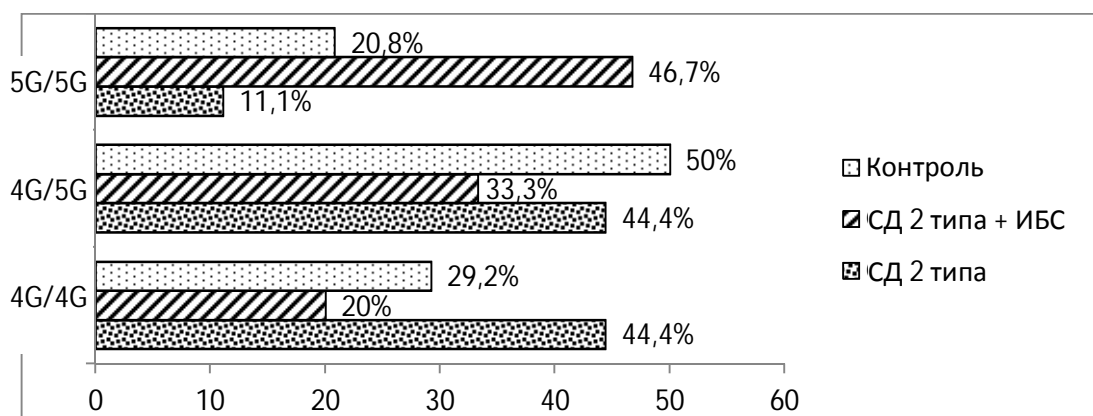
Генотип G/G обнаружен у 34 пациентов с нормальной СКФ (89,5%) из 38 и только у 4 из 14 с ХБП С2 (10,5%) ( $\chi^2=16,3$ ,  $p=0,002$ ). Предположительно

полиморфизм G/G гена VEGF обеспечивает защиту в отношении развития и прогрессирования снижения СКФ.



**Рисунок 4. – Распределение генотипов гена VEGF у пациентов с СД 2 типа с учетом наличия и отсутствия ИБС**

При изучении распределения генотипов гена PAI-1 с учетом наличия или отсутствия ИБС (рисунок 5) установлено, что для пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС наиболее характерно наличие генотипа 5G/5G гена PAI-1. Данный генотип зарегистрирован у 16 из 35 пациентов с ИБС, что составило 46,7% и у 5 из 37 среди пациентов с СД 2 типа без ИБС (11,1%) ( $\chi^2=9,1$ ,  $p=0,003$ ). По результатам генотипирования определено, что аллель 4G ассоциирована с отсутствием ИБС ( $\chi^2=11,0$ ,  $p=0,001$ ). Данная аллель зарегистрирована в 48 случаях при отсутствии ИБС и в 26 – при наличии ИБС, аллель 5 зарегистрирована в 26 случаях при отсутствии ИБС и в 4G/4G – при наличии заболевания.



**Рисунок 5. – Распределение генотипов гена PAI-1 с учетом наличия и отсутствия ИБС**

### **Связь между полиморфизмами генов VEGF и PAI-1, изменениями антиоксидантного статуса и микроциркуляцией**

У лиц с СД 2 типа выявлена отрицательная корреляция между концентрацией GSH и величиной внутрисосудистого индекса ( $r=-0,4$ ,  $p<0,05$ ). При наличии предиабета с возрастанием значений сосудистого индекса отмечено снижение концентрации GSH ( $r=-0,3$ ,  $p<0,05$ ) и повышение активности КАТ ( $r=0,3$ ,  $p<0,05$ ).

Выявлено, что у носителей генотипа 4G/4G гена PAI-1 уровень GSH был практически в два раза ниже (0,78 (0,47;1,26) ммоль/л) по сравнению с носителями генотипа 5G/5G гена PAI-1 (1,34 (0,88;1,98) ммоль/л) ( $p=0,035$ ) и 4G/5G гена PAI-1 (1,46 (0,83;2,14) ( $p=0,037$ )). У лиц носителей генотипа 4G/5G гена PAI-1 было зарегистрировано снижение уровня GSSG (0,33 (0,31;0,37) ммоль/л) по сравнению с носителями генотипа 5G/5G (0,37 (0,32;0,40) ( $p=0,040$ )). У пациентов с генотипом 4G/5G гена PAI-1 концентрация GSH была практически в два раза выше (1,46 (0,83;2,14) ммоль/л) в сравнении с пациентами с генотипом 4G/4G гена PAI-1 (0,77 (0,47;1,26) ммоль/л) ( $p=0,023$ ). Активность ГП также была выше при наличии генотипа 4G/5G гена PAI-1 (61,34 (49,06;75,93) ммоль/мин) в сравнении с генотипом 4G/4G гена PAI-1 (55,81 (38,76;63,89) ммоль/мин ( $p=0,006$ )). Mean<sub>c</sub> более выражена у носителей генотипа 4G/4G гена PAI-1 (1,00 (0,00;1,00) баллов) в сравнении с носителями генотипа 4G/5G (0,0 (0,0;0,0) баллов) ( $p=0,017$ ).

### **Влияние различных факторов метаболического синдрома на изменение антиоксидантного статуса и микроциркуляции у пациентов с предиабетом и сахарным диабетом 2 типа**

Проведено сравнение изучаемых показателей у пациентов с наличием метаболического синдрома (МС) (85 пациентов), только ожирения (25 пациентов) и практически здоровыми лицами (41 человек). Наличие у пациентов только ожирения сопровождалось увеличением числа AVA и более выраженной Mean<sub>v</sub> (2,0 (2,0;2,0) и 1,0 (0,0;1,0) баллов соответственно) по сравнению с практически здоровыми лицами (2,0 (0,0;2,0) и 0,0 (0,0;0,0) баллов соответственно) ( $p=0,012$  и  $p=0,007$  соответственно).

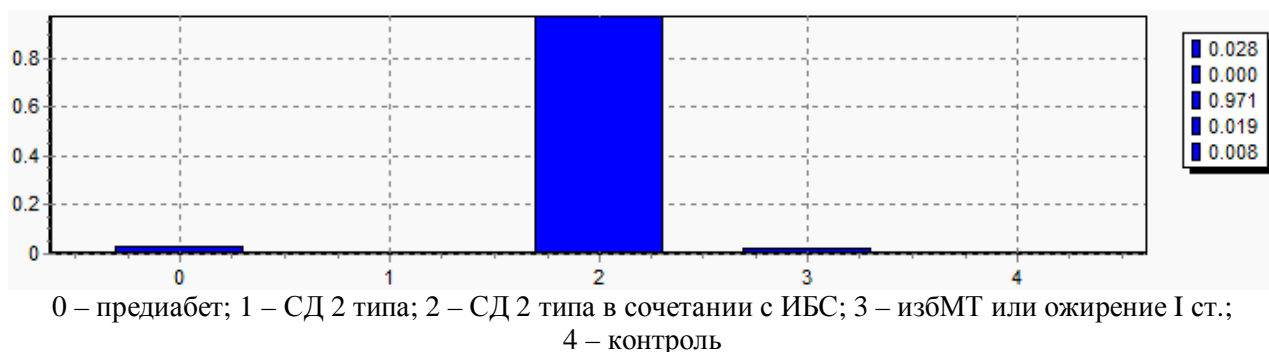
Наличие МС было ассоциировано с выраженным PVO (0,5 (0,0;1,0) баллов), неравномерностью калибра сосудов (Cal) (1,0 (1,0;1,0) баллов), Mean<sub>c</sub> (1,0 (0,0;1,0) баллов), Mean<sub>v</sub> (1,0 (0,0;1,0) баллов), а также с увеличением AVD (1,0 (1,0;1,0) баллов) и количества AVA (2,0 (2,0;4,0) баллов), у практически здоровых лиц данные показатели были статистически значимо ниже и составили 0,5 (0,0;0,5) баллов для показателя PVO, 1,0 (0,0;1,0) баллов для Cal, 0,0 (0,0;0,0) баллов для Mean<sub>c</sub> и Mean<sub>v</sub>, 0,5 (0,0;1,0) баллов для AVD и 2,0 (0,0;2,0) баллов для AVA ( $p=0,019$ ;  $p=0,007$ ;  $p=0,001$ ;  $p=0,001$ ;  $p=0,003$  и  $p=0,001$  соответственно). МС был ассоциирован со снижением концентрации GSH (2,12 (1,34;2,86) ммоль/л) по сравнению с отсутствием МС (2,53 (2,29;3,16) ммоль/л) ( $p=0,009$ ).

### **Применение полученных результатов для создания искусственной нейронной сети**

В процессе обучения ИНС способна выявлять сложные зависимости между входными данными и выходными, а также выполнять обобщение. Это значит, что в случае успешного обучения сеть сможет вернуть верный

результат на основании данных, которые отсутствовали в обучающей выборке, а также неполных и/или «зашумленных», частично искаженных данных. На вход программе подавалась таблица с ранее классифицированной обучающей выборкой, содержащая пять групп пациентов с диагностическими параметрами, включающими показатели микроциркуляции (FC, PVO, AVD, AVA, Net, Cal, Mean<sub>v</sub>, Mean<sub>c</sub>, Sl<sub>v</sub>, Sl<sub>c</sub>, Sl<sub>a</sub>), АОС (активность СОД, КАТ, ГП, ГР, концентрации GSSG, GSH и ТБКРС), стандартные факторы риска развития СД 2 типа, ИБС (возраст, пол, наследственность по анамнестическим данным по СД, ИБС, АГ, курение, наличие АГ или постоянный прием гипотензивных препаратов, ИМТ, показатели липидограммы), уровень HbA1c, результаты осмотра с фундус-линзой на предмет наличия признаков ретинопатии, СКФ.

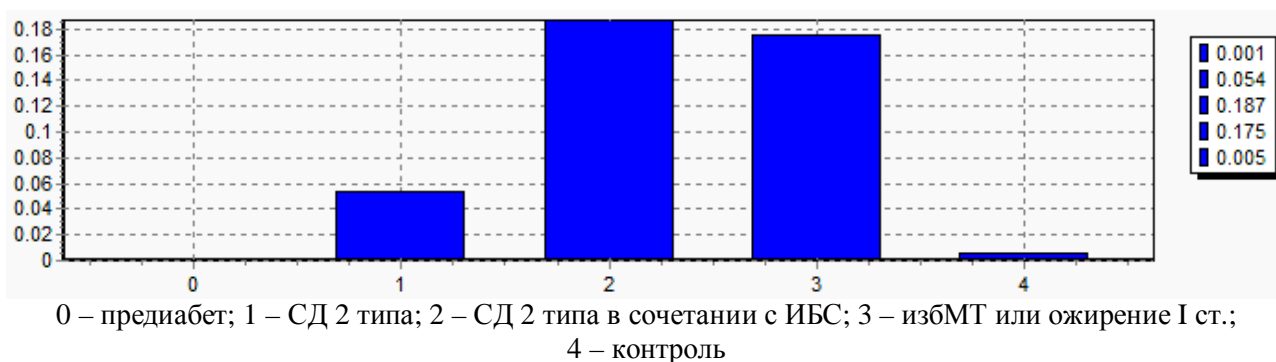
При обучении ИНС при предъявлении на вход векторов различных классов (группы (классы) пациентов – 0, 1, 2, 3, 4) на выходе получена диаграмма вероятностей принадлежности данного вектора к определенному классу (рисунок 6). Вектором является определенный пациент из классифицированной обучающей выборки со значениями координат в пространстве, равными значению всех снятых с него диагностических параметров. При обучении ИНС можно проводить контроль правильности принадлежности входного образца определенному классу, а также отклонений. Под отклонением понимают результат, когда программа выдает результат принадлежности образца классу или нескольким классам, к которым исследователь при создании обучающей выборки его не относил.



**Рисунок 6. – Результаты обучения ИНС у пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС**

Пример отклонения представлен на рисунке 7. Первоначально пациент отнесен к группе с предиабетом, а ПППР определила его с одинаковой вероятностью к группе СД 2 типа в сочетании с ИБС либо к группе с ИзбМТ или ожирением I ст. Анализ данных показал, что уменьшение числа FC (3 балла), увеличение AVA (4 балла), Sl<sub>v</sub> и Sl<sub>c</sub> (по 1 баллу), а также наличие признаков непролиферативной диабетической ретинопатии позволяет ПППР отнести пациента к другим группам. В клинической практике, вероятно, этот пациент подлежит тщательному мониторингованию и, при необходимости, своевременному лечению формирующихся осложнений НУО и АГ.





**Рисунок 7. – Пример отклонения при обучении ИНС пациента с предиабетом**

Таким образом, применение ПППР позволяет классифицировать пациентов по диагностическим параметрам, характерным для определенного заболевания, что, в свою очередь, дает возможность выявления групп повышенного риска прогрессирования сердечно-сосудистой патологии и НУО.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

1. Изменения АОС при СД 2 типа и предиабете характеризуются дифференцированными нарушениями в зависимости от массы тела и наличия ИБС. Увеличение массы тела ассоциировано с повышением концентрации GSSG: у пациентов с ИзбМТ 0,33 (0,30;0,38) ммоль/л и 0,36 (0,31;0,39) ммоль/л у пациентов с ожирением I ст. по сравнению с 0,33 (0,31;0,37) ммоль/л у пациентов с нормальной массой тела ( $p=0,026$  и  $p=0,042$  соответственно). При СД 2 типа в сочетании с ИБС выявляется выраженное снижение активности СОД (65,03 (42,53;77,21) усл. ед./мл,  $p=0,025$ ), что является дополнительным критерием риска развития ИБС у пациентов с наличием компонентов МС [1, 2, 4, 8, 10, 12, 13,14, 15, 16, 17, 18, 19, 22, 24, 26].

2. Наличие манифестного СД 2 типа и предиабета характеризуется прогрессирующими нарушениями микроциркуляции (увеличение AVA, выраженный PVO, Mean<sub>c</sub>, Mtr<sub>v</sub>, Sl<sub>a</sub>, Sl<sub>c</sub>) в зависимости от наличия сопутствующей ИБС и максимально выраженными у пациентов с СД 2 типа с ИБС. Косвенными маркерами развития ИБС при СД 2 типа являются: увеличение количества AVA, формирование PVO и Sl<sub>a</sub>. Расчет парциальных и общего конъюнктивального индексов оптимизирует оценку изменений микроциркуляции бульбарной конъюнктивы. НУО и лишняя масса тела характеризуются увеличением значений индексов, наиболее выраженные изменения касаются внутри- и внесосудистых изменений у пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС и у пациентов с ожирением I ст. [2, 5, 8, 9, 10, 23, 20, 26].

3. Наибольшей специфичностью и чувствительностью из показателей микроциркуляции для пациентов с СД 2 типа обладает определение Mean<sub>c</sub> (чувствительность – 70,73%, специфичность – 92,86% (AUC=0,818±0,0493)), а для пациентов с СД 2 типа в сочетании с ИБС – определение числа AVA

(чувствительность – 81,25%, специфичность – 97,62% (AUC=0,926±0,0280)). При СД 2 типа в сочетании с ИБС выявляется выраженное снижение активности СОД (65,03 (42,53;77,21) усл. ед./мл,  $p=0,025$ ), что является дополнительным критерием риска развития ИБС у пациентов с наличием компонентов МС [2, 5, 9, 20].

4. Генотип G/G гена VEGF ассоциирован со сниженным риском развития ИБС ( $p=0,024$ ) и отсутствием прогрессирования снижения скорости клубочковой фильтрации при СД 2 типа ( $p=0,002$ ). Аллель G гена VEGF ассоциирована с защитными функциями в отношении развития ХБП ( $p=0,002$ ), что определяет ее протективные характеристики. Генотип 5G/5G гена PAI-1 ассоциирован с развитием ИБС у пациентов с СД 2 типа ( $p=0,003$ ). Аллель 4G ассоциирована с отсутствием ИБС ( $p=0,001$ ) [3, 6, 10, 11, 21, 25].

5. Доказательство различий в таких показателях микроциркуляции, как FC, PVO, AVD, AVA, Net, Cal, Mean<sub>v</sub>, Mean<sub>c</sub>, Sl<sub>v</sub>, Sl<sub>c</sub>, Sl<sub>a</sub> и АОС, как СОД, КАТ, ГП, ГР, концентрации GSSG, GSH и ТБКРС у пациентов с различными нарушениями углеводного обмена и ИзбМТ или ожирением I ст. позволило сконструировать компьютерную ПППР, что впервые выполнено на исследуемой группе пациентов. Использование данной программы призвано способствовать точному анализу большого количества данных для выявления предрасположенности пациента с определенными изменениями к развитию заболевания [7].

#### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

1. Определение активности фермента СОД как значимого маркера АОС может быть использовано в качестве дополнительного критерия оценки развития атеросклероза у пациентов с СД 2 типа.

2. Оценка изменений микроциркуляции бульбарной конъюнктивы может быть рекомендована для оценки и прогнозирования ранних изменений микроциркуляции у пациентов с ИБС при СД 2 типа.

3. Выявление пациентов с СД 2 типа с генотипом 5G/5G гена PAI-1 позволяет формировать группу риска в отношении развития ИБС, что позволит проводить раннюю профилактику и более тщательное динамическое наблюдение.

4. При обследовании пациентов с предиабетом, СД 2 типа в сочетании с ИБС целесообразно руководствоваться разработанной инструкцией по применению «Диагностический алгоритм определения степени риска прогрессирования атеротромбоза у пациентов со стабильной стенокардией и нарушениями углеводного обмена».

5. Использование алгоритма ИНС с автоматическим анализом показателей прооксидантно-антиоксидантного статуса и микроциркуляции позволяет в клинической практике определить вероятность развития у пациентов нарушений углеводного обмена, а также ИБС при СД 2 типа.

**СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ****Статьи в рецензируемых журналах**

1. Биохимические особенности развития диабетической ретинопатии / О. Н. Шишко, Т. В. Мохорт, И. В. Буко, Е. Э. Константинова, Н. Л. Цапаева // Мед. панорама. – 2013. – № 2. – С. 76–79.
2. Изменения системы глутатиона и микроциркуляторного русла у пациентов с нарушениями углеводного обмена / О. Н. Шишко, Т. В. Мохорт, И. В. Буко, Е. Э. Константинова, Н. Л. Цапаева // Мед.-биол. пробл. жизнедеятельности. – 2013. – № 1. – С. 122–129.
3. Роль эндотелиального фактора роста сосудов в патогенезе диабетической нефропатии / О. Н. Шишко, Т. В. Мохорт, Е. Э. Константинова, Н. Л. Цапаева, К. А. Моссе // Мед. журн. – 2013. – № 1. – С. 132–135.
4. Изменение активности антиоксидантных ферментов у пациентов с компенсированными нарушениями гликемии / О. Н. Шишко, Т. В. Мохорт, И. В. Буко, Е. Э. Константинова, Н. Л. Цапаева // Лечеб. дело. – 2014. – № 1. – С. 30–35.
5. Изменения микроциркуляции бульбарной конъюнктивы у пациентов с нарушениями углеводного обмена и ожирением / О. Н. Шишко, Т. В. Мохорт, Е. Э. Константинова, Н. Л. Цапаева // Здоровоохранение. – 2015. – № 2. – С. 4–9.
6. Шишко, О. Н. Влияние генотипов генов VEGF и PAI-1 на развитие ангиопатий у пациентов с различными компонентами метаболического синдрома / О. Н. Шишко // Мед. журнал. – 2016. – № 2. – С. 121–125.
7. Шишко, О. Н. Применение искусственной нейросети в диагностике сахарного диабета, его осложнений и предиабета / О. Н. Шишко, О. С. Спиридонова // Здоровоохранение. – 2016. – № 7. – С. 19–25.

**Статьи в сборниках научных трудов**

8. Шишко, О. Н. Антиоксидантные ферменты, цитокины и микроциркуляторное русло при предиабете / О. Н. Шишко // Научно-практические аспекты кардиологии и внутренних болезней : сб. науч. трудов, посвящ. 5-летию 3-й каф. внутр. болезней учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» / Белорус. гос. мед. ун-т, Респ. науч.-практ. центр «Кардиология» ; под общ. ред. Н. П. Митьковской, Н. Л. Цапаевой. – Минск, 2013. – С. 371–378.
9. Шишко, О. Н. Особенности сосудистого компонента микроциркуляции конъюнктивы у пациентов с нарушениями углеводного обмена, избыточной массой тела, ожирением / О. Н. Шишко // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. и 23-й итог. науч. сессии Гомел. гос. мед.

ун-та, Гомель, 13–14 нояб. 2014 г. / Гомел. гос. мед. ун-т ; ред. колл.: А. Н. Лызигов [и др.]. – Гомель, 2014. – Т. 4. – С. 162–165.

10. Шишко, О. Н. Генетические, ферментативные и морфологические особенности, характеризующие развитие ишемической болезни сердца у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / О. Н. Шишко // Метаболический синдром: эксперимент, клиника, терапия : сб. науч. тр. / Ин-т биохимии активных соединений Нац. акад. наук Беларуси ; редкол.: Л. И. Надольник [и др.]. – Гродно, 2015. – С. 286–292.

### **Материалы конференций**

11. Оценка полиморфизма гена VEGF при развитии диабетической нефропатии и ишемической болезни сердца / О. Н. Шишко, Т. В. Мохорт, А. Л. Гончар, Н. Л. Цапаева, Е. Э. Константинова // Фундаментальная наука в современной медицине – 2014 : материалы сателлитн. дистанц. науч.-практ. конф. молодых учёных, проведённой в рамках науч. сессии БГМУ, Минск, 4 апр. 2014 г. / под ред. А. В. Сикорского [и др.]. – Минск, 2014. – С. 175–180.

12. Шишко, О. Н. Состояние антиоксидантной активности плазмы у пациентов с сахарным диабетом 2 типа в сочетании с ишемической болезнью сердца / О. Н. Шишко // Инновации в медицине и фармации – 2014 : материалы дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых / Белорус. гос. мед. ун-т, Совет молодых ученых, Студенческое научное общество ; ред. А. В. Сикорский [и др.]. – Минск, 2014. – С. 286–289.

13. Исследование показателей, ассоциированных с оксидативным стрессом у пациентов с нарушениями углеводного обмена, ожирением / О. Н. Шишко, Т. В. Мохорт, Н. Л. Цапаева, Е. Э. Константинова, И. В. Буко // Фундаментальная наука в современной медицине: материалы сателлитной дистанционной науч.-практ. конф. молодых ученых, проведенной в рамках научной сессии БГМУ, Минск, 25 февр. 2015 г. / под ред. А. В. Сикорского, О. К. Кулаги, Т. В. Тереховой. – Минск, 2015 – С. 167–172.

14. Частота встречаемости показателей антиоксидантного стресса у пациентов с различными компонентами метаболического синдрома / О. Н. Шишко, Т. В. Мохорт, И. В. Буко, Н. Л. Цапаева, Е. Э. Константинова // Инновации в медицине и фармации – 2015: материалы дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых / под ред. А. В. Сикорского [и др.]. – Минск, 2015. – С. 458–462.

15. Влияние различных факторов метаболического синдрома на изменение показателей прооксидантно-антиоксидантного статуса и микроциркуляции бульбарной конъюнктивы у пациентов с предиабетом и сахарным диабетом 2 типа / О. Н. Шишко, Т. В. Мохорт, Е. Э. Константинова, И. В. Буко, Н. Л. Цапаева // Метаболічний синдром у загальноклінічній

практиці науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю : матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнарод. участю, Черновці, 8–10 юня 2016 г. / Буковин. гос. мед. ун-т. – Черновці, 2016. – С. 47–51.

### **Тезиси докладов**

16. Indices of antioxidant system in patients with prediabetes and type 2 diabetes and concomitant diabetic retinopathy / V. Shyshko, T. Mokhort, I. Buko, N. Tsapaeva, E. Konstantinova // International Diabetes Federation (IDF 2013) : World Diabetic Congr., Melbourne, 2–6 Dec. 2013 : programme book. – Melbourne, 2013. – Abstr. P-1215.

17. The state of antioxidant system in patients with prediabetes and type 2 diabetes and concomitant coronary heart disease / V. Shyshko, T. Mokhort, I. Buko, N. Tsapaeva, E. Konstantinova // International Diabetes Federation (IDF 2013): World Diabetic Congr., Melbourne, 2–6 Dec. 2013: programme book. – Melbourne, 2013. – Abstr. AbT-2005.

18. The state of reduced glutathione in patients with impaired glycemic states and coronary heart disease / V. Shyshko, T. Mokhort, I. Buko, N. Tsapaeva, E. Konstantinova // ESC Congress, Amsterdam, 31 Aug. – 4 Sept., 2013. [Publ. in] J. of Diabetes. – 2013. – Vol. 5. – P. 49.

19. Activity of antioxidant enzymes in prediabetes and type 2 diabetes / V. Shyshko, T. Mokhort, I. Buko, N. Tsapaeva, E. Konstantinova // 7th International Conference on Advanced Technologies & Treatments for Diabetes (ATTD 2014), Vienna, 5–8 Feb. 2014. – Vienna, 2014. – E-poster 280.

20. Atherosclerosis in patients with prediabetes and type 2 diabetes is associated with more significant microcirculation abnormalities / V. Shyshko, T. Mokhort, E. Konstantinova, N. Tsapaeva // 16<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology, Wroclaw, 3–7 May 2014. [Publ. in] Endocrine Abstracts. – 2014. – Vol. 35. – Abstr. P360.

21. Vascular endothelial growth factor polymorphism +405 G/C is associated with early stage of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes / V. Shyshko, T. Mokhort, A. Gonchar, E. Konstantinova, N. Tsapaeva // 16<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology, Wroclaw, 3–7 May 2014. [Publ. in] Endocrine Abstracts. – 2014. – Vol. 35. – Abstr. P438.

22. Distribution of degree of glutathione system enzymes activity in patients with prediabetes and type 2 diabetes / V. Shyshko, T. Mokhort, I. Buko, N. Tsapaeva, E. Konstantinova // 7<sup>th</sup> International Conference on Advanced Technologies & Treatments for Diabetes (ATTD 2014), Vienna, 5–8 Feb. 2014. – Vienna, 2014. – E-poster 281.

23. Prediabetes is associated with early changes in microcirculation / V. Shyshko, T. Mokhort, E. Konstantinova, N. Tsapaeva // European Association for

Study of Diabetes (EASD 2014) : 50th Annual Meeteng, Vienna, 15–19 Sep. 2014 : abstr. book. – Vienna, 2014. – Abstr. 311.

24. The state of superoxidedismutase activity as marker of oxidative stress in patients with impaired glycaemic states / V. Shyshko, T. Mokhort, I. Buko, N. Tsapaeva, E. Konstantinova // 17th European Congress of Endocrinology, Dublin, 16–20 May 2015 / Eur. Soc. of Endocrinology. [Publ. in] Endocrine Abstracts. – 2015. – Vol. 37. – Abstr. EP369.

25. PAI-1 polymorphism in patients with diabetes / V. Shyshko, T. Mokhort, A. Gonchar, E. Konstantinova, N. Tsapaeva // 18th European Congress of Endocrinology, Munich., 28–31 May 2016 / Eur. Soc. of Endocrinology. [Publ. in] Endocrine Abstracts. – 2016. – Vol. 41. – Abstr. EP454.

### **Инструкция по применению**

26. Диагностический алгоритм определения степени риска прогрессирования атеротромбоза у пациентов со стабильной стенокардией и нарушениями углеводного обмена [Электронный ресурс] : инструкция по применению 141-1113 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 06.06.2014 / Респ. науч.-практ. центр «Кардиология» ; Н. Л. Цапаева, Т. В. Мохорт, Е. Э. Константинова, И. В. Буко, О. Н. Шишко, Е. В. Миронова, Т. Н. Толстая, О. С. Спиридонова, А. Л. Гончар. – Минск, 2014. – Режим доступа: <http://med.by/methods/pdf/141-1113.pdf>. – Дата доступа: 17.01.2017.

**Шышко Вольга Мікалаеўна****Антыаксідантны статус, мікрацыркуляцыя і генетычныя палімарфізмы ў пацыентаў з прэдыябетам і цукровым дыябетам 2 тыпу**

**Ключавыя словы:** прэдыябет, цукровы дыябет 2 тыпу (ЦД 2 тыпу), антыаксідантны статус, мікрацыркуляцыя, генетычны палімарфізм, інгібітар актыватара плазмінагену, эндатэліяльны фактар росту сасудаў, штучная нейрасець.

**Мэта даследавання:** выявіць асаблівасці змяненняў, якія характарызуюць мікрацыркуляцыю бульбарнай кан'юнктывы, антыаксідантны статус, устанавіць палімарфізмы генаў, якія схіляюць да развіцця ішэмічнай хваробы сэрца (ІХС) і зніжэння хуткасці клубочкавай фільтрацыі (ХКФ) у пацыентаў з прэдыябетам і ЦД 2 тыпу.

**Метады даследавання:** клінічны, інструментальны, лабараторны, малекулярна-генетычны, статыстычныя метады даследавання.

**Вынікі даследавання і іх навізна.** Выяўлена, што пры ЦД 2 тыпу змяненні мікрацыркуляцыі бульбарнай кан'юнктывы характарызуюцца большай колькасцю артэрыёла-венулярных анастамозаў, зніжэннем суадносін дыяметра артэрыёл і венул, перываскулярным ацёкам, меандрычнай скручанасцю капіляраў, мікратрамбозам у венулах, сладжам у артэрыёлах і капілярах. Змяненні антыаксідантнага статусу (ААС) пры ЦД 2 тыпу ў спалучэнні з ІХС характарызуюцца зніжэннем актыўнасці супераксіддысмутазы і канцэнтрацыі адноўленага глутатыёна, павышэннем актыўнасці каталазы, глутатыёнпераксідазы і канцэнтрацыі акісленага глутатыёна і прадуктаў, якія рэагуюць з тыябарбітуравай кіслатой. Даказана, што генатып G/C гена VEGF і генатып 5G/5G гена PAI-1 асацыяваны з ІХС у пацыентаў з ЦД 2 тыпу, а генатып G/G гена VEGF больш часта сустракаецца ў пацыентаў з нармальнай ХКФ. Упершыню створана праграма падтрымкі прыняцця рашэння на аснове базы даных, якая ўключае паказчыкі мікрацыркуляцыі, ААС і стандартныя фактары рызыкі развіцця ІХС і ЦД 2 тыпу.

**Рэкамендацыі па выкарыстанні:** атрыманыя вынікі рэкамендуецца выкарыстоўваць на ўзроўні абласных і рэспубліканскага спецыялізаваных цэнтраў.

**Галіна прымянення:** эндакрыналогія.

**РЕЗЮМЕ****Шишко Ольга Николаевна****Антиоксидантный статус, микроциркуляция и генетические полиморфизмы у пациентов с предиабетом и сахарным диабетом 2 типа**

**Ключевые слова:** предиабет, сахарный диабет 2 типа (СД 2 типа), антиоксидантный статус, микроциркуляция, генетический полиморфизм, ингибитор активатора плазминогена, эндотелиальный фактор роста сосудов, искусственная нейросеть.

**Цель исследования:** выявить особенности изменений, характеризующих микроциркуляцию бульбарной конъюнктивы, антиоксидантный статус, а также определить полиморфизмы генов, предрасполагающих к развитию ишемической болезни сердца (ИБС) и снижению скорости клубочковой фильтрации (СКФ) у пациентов с предиабетом и СД 2 типа.

**Методы исследования:** клинический, инструментальный, лабораторный, молекулярно-генетический, статистический.

**Полученные результаты и их новизна.** Определено, что при СД 2 типа изменения микроциркуляции бульбарной конъюнктивы характеризуются большим количеством артериоло-венулярных анастомозов, снижением соотношения диаметра артериол и венул, периваскулярным отеком, меандрической извитостью капилляров, микротромбозом в венулах, сладжем в артериолах и капиллярах. Изменения антиоксидантного статуса (АОС) при СД 2 типа в сочетании с ИБС характеризуются снижением активности супероксиддисмутазы и концентрации восстановленного глутатиона, повышением активности каталазы, глутатионпероксидазы и концентраций окисленного глутатиона и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Доказано, что генотип G/C гена VEGF и генотип 5G/5G гена PAI-1 ассоциированы с ИБС у пациентов с СД 2 типа, а генотип G/G гена VEGF чаще встречается у пациентов с нормальной СКФ. Впервые создана программа поддержки принятия решения на основании базы данных, включающей показатели микроциркуляции, АОС и стандартные факторы риска развития ИБС и СД 2 типа.

**Рекомендации по использованию:** полученные результаты рекомендуется использовать на уровне областных и республиканского специализированных центров.

**Область применения:** эндокринология.



**RESUME****Shyshko Olga Nikolaevna****Antioxidant status, microcirculation and genetic polymorphism  
in patients with prediabetes and type 2 diabetes**

**Key words:** prediabetes, type 2 diabetes (T2D), antioxidant status, microcirculation, genetic polymorphism, plasminogen activator inhibitor, vascular endothelial growth factor, artificial neuronal network.

**Aim of research:** to reveal peculiarities of changes that characterize bulbar conjunctiva microcirculation, antioxidant status and to estimate genetic polymorphism that predispose to ischemic heart disease (ICD) and glomerular filtrating rate (GFR) decrease in patients with prediabetes and T2D.

**Methods of research:** clinical, instrumental, laboratory, molecular-genetic, statistic.

**Results of research and their novelty.** It was estimated that microcirculation changes are characterized by arteriolo-venular anastomosis increase, decrease of arteriolar venular ratio, perivascular edema, meandric tortuosity of capillaries, micro thrombosis in venules, and sludge in arterioles and capillaries in patients with T2D. Antioxidant status changes are characterized by decreased activity of superoxide dismutase and decreased concentration of reduced glutathione, increased activity of catalase, glutathione peroxidase and concentrations of oxidized glutathione and thiobarbituric acid reactive substances in patients with T2D and ICD. It was proved that VEGF G/C genotype and PAI-1 5G/5G genotype are associated with ICD in patients with T2D. MYIIA G/C genotype is more frequent in patients with normal GFR. Decision making support program based on database that includes parameters of microcirculation, antioxidant status as well as standard risk factors of ICD and T2D was created for the first time.

**Recommendations for usage:** accomplished results are recommended to be used in regional and republican specialized centers.

**Area of application:** endocrinology.

Подписано в печать 12.04.17. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Снегурочка».  
Ризография. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 1,39. Уч.-изд. л. 1,44. Тираж 60 экз. Заказ 238.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования  
«Белорусский государственный медицинский университет».  
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,  
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.  
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.