

## ЗВ'ЯЗОК ЧИННИКІВ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ З ТЯЖКІСТЮ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

*Зяблицев С.В., Панова Т.І., Черноривцев О.П.*

*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна  
zsv1965@gmail.com*

**Актуальність.** При цукровому діабеті (ЦД) цілий каскад патологічних реакцій розгортається в ендотелії судин, які потерпають від глюкозотоксичності, надмірної дії стимулюючих гіпертензивних та запальних факторів, активаторів тромбоутворення, інтенсифікації окисного стресу, що призводить до формування ендотеліальної дисфункції (ЕДФ). З іншого боку, сам пошкоджений ендотелій включається в патогенез ЦД і обумовлює розвиток подальших порушень.

**Мета:** дослідити зв'язок чинників ЕДФ: ендотеліну 1 (ЕТ1), ендотеліальної NO-синтази (eNOS), оксиду азоту (NO), фактору некрозу пухлин (TNF $\beta$ ) та дієнових кон'югатів (ДК) з тяжкістю ЦД 2 типу.

**Матеріали і методи.** Використано дані 152 стаціонарних хворих з ЦД 2 типу у віці від 34 до 80 років (53,9 $\pm$ 8,4 років). Жінок було 95 (62,5 %), чоловіків – 57 (37,5 %). Згідно до ступені тяжкості, хворих було розподілено на три групи: 1 (37,5 % хворих) – середня ступень в стадії компенсації (HbA1c 7-9 %), 2 (41,4 %) – середня ступень в стадії декомпенсації (HbA1c більше 9 %), 3 (21,1 %) – тяжка ступень у стадії декомпенсації. Контрольна група включала 95 практично здорових осіб. У плазмі крові імуноферментним методом визначали вміст чинників ЕДФ: ЕТ1 (Biomedica Immunoassays, Австрія), eNOS (BCM Diagnostics, США) і TNF $\beta$  (Bender Medsystems, Австрія). Рівень у крові NO та ДК визначали біохімічно (спектрофотометр Specord, Німеччина). Для статистичної обробки отриманих даних використовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

**Результати.** Рівні чинників ЕДФ залежали від тяжкості ЦД 2 типу. Так, рівень ЕТ1 у хворих перевищував контроль у 3,7-4,7 рази ( $p < 0,001$ ), з максимальними значеннями у 2-й і 3-й групах; також зростав рівень у крові NO (у 1,4-1,5 рази;  $p < 0,001$ ); найбільшого приросту сягали рівні TNF $\beta$  (у 4,2-6,5 рази;  $p < 0,001$ ) і ДК (у 2,3-2,7 рази;  $p < 0,001$ ). Вміст у крові eNOS у групах хворих був нижчим при порівнянні з контролем (у 1,3-1,9 рази;  $p < 0,001$ ). Однофакторний регресійний аналіз показав, що ЕТ1 обумовлював високу глікемію, альбумінурію, підвищував ступінь декомпенсації ЦД 2 типу і ступінь діабетичної нефропатії. Накопичення у крові NO впливало на зниження швидкості клубочкової фільтрації та погіршення функції нирок. TNF $\beta$  і ДК комплексно впливали на майже всі ключові показники ЦД 2 типу, що мало синергічну дію з іншими чинниками ЕДФ.

**Висновок.** Чинники ЕДФ тісно зв'язані з клініко-лабораторними показниками тяжкості ЦД 2 типу, що висвітлює їх у патогенезі захворювання.

**Ключові слова:** цукровий діабет 2 типу, тяжкість, ендотелін 1, оксид азоту, eNOS, TNF $\beta$ , дієнові кон'югати.

**Актуальність.** На даний час цукровий діабет (ЦД) і діабетичні судинні ускладнення мають найвагомий вплив на медико-демографічні показники, що пов'язано з ранньою інвалідизацією і передчасною смертністю населення в працездатному віці [8, 14, 16].

З'ясування ролі судинного ендотелію розвивалося протягом останніх двох десятиліть та дійшло до розуміння того, що він є динамічною регулюючою системою та відіграє ключову роль як у фізіологічних, так при патологічних процесах [9, 12]. Ендотеліальні клітини виконують бар'єрну роль та активно регулюють тонус судин, кровообіг і функцію тромбоцитів [1, 4, 9]. Ендотеліальна дисфункція (ЕДФ) формується при запаленні судин, атеросклерозі, гіпертонії, кардіоміопатії, ретинопатії, нейропатії [5, 13]. Гіперліпідемія, гіперглікемія та інші метаболічні чинники призводять до розвитку ЕДФ і судинних ускладнень [2, 10].

При ЦД цілий каскад патологічних реакцій розгортається в ендотелії судин, які потерпають від глюкозотоксичності, надмірної дії стимулюючих гіпертензивних та запальних факторів, активаторів тромбоутворення, інтенсифікації окисного стресу

[1, 8, 11]. Вважається, що до розвитку ЕДФ призводять такі чинники: 1) підвищений окислювальний стрес і системне запалення; 2) деградація і проліферація глікокаліксу; 3) порушення міжклітинних контактів ендотеліоцитів та гемато-тканинного бар'єру; 4) посилення адгезії лейкоцитів і екстравазація; 5) індукція прокоагулянтів і антифібринолітичних систем [3]. З іншого боку, сам пошкоджений ендотелій включається в патогенез ЦД і обумовлює розвиток подальших порушень [9]. Основними чинниками ЕДФ є гормон ендотелію – ендотелін (ЕТ1), окис азоту (NO), ендотеліальна NO-синтаза (eNOS), а також фактор некрозу пухлин (TNF $\beta$ ) і маркер окисного стресу – дієнові кон'югати (ДК), які накопичуються у крові та викликають ЕДФ [6, 12, 15].

**Мета:** дослідити зв'язок чинників ЕДФ (ЕТ1, eNOS, NO, TNF $\beta$ , ДК) з тяжкістю ЦД 2 типу.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

До дослідження залучено дані 152 хворих з ЦД 2 типу, що перебували на стаціонарному лікуванні у відділенні ендокринології Донецького обласного

клінічного територіального медичного об'єднання у 2013-2014 р.р. та на базі Українського науково-дослідного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України у 2015-2016 р.р. Вік пацієнтів склав від 34 до 80 років, у середньому  $53,9 \pm 8,4$  років. Жінок було 95 (62,5 %), чоловіків – 57 (37,5 %). За тривалістю захворювання пацієнти розподілилися 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 %) і більше 15 років – 15 (9,9 %) хворих. У близьких родичів ЦД 2 типу було виявлено у 35 (23,0 %) хворих. Згідно до клінічних рекомендацій [8, 14], за результатами клініко-лабораторних обстежень визначали наявність ретинопатії, нефропатії за рівнями альбумінурії та швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ), сенсорної полінейропатії, ангіопатії нижніх кінцівок, та артеріальної гіпертензії.

Згідно до клінічної класифікації [8, 14], 1 ступінь тяжкості не була виявлена у жодного пацієнта, 2 ступінь – у 120 (78,9 %) та 3 ступінь – у 32 (21,1 %) хворих. Хворих із 2 ступенем тяжкості було розподілено на 2 групи: 1 – 57 (37,5 %) хворих та 2 – 63 (41,4 %) хворих. Критерієм для їх розподілу було обрано ступінь компенсації ЦД 2 типу за рівнем глікованого гемоглобіну (HbA1c): в 1 групу були залучені хворі в стані компенсації або задовільної компенсації рівня гіперглікемії (HbA1c на рівні 7-9%); до 2 – з низькою якістю глікемічного контролю у стані декомпенсації (HbA1c більше 9 %). Хворі з 3 ступенем тяжкості склали 3 групу. До контрольної групи було залучено 95 практично здорових чоловіків і жінок відповідного вікового та гендерного розподілу, які не мали порушень вуглеводного обміну і клінічної маніфестації відповідних симптомів, схожих з мікро- і макросудинними ускладненнями ЦД.

У плазмі крові імуноферментним методом визначали вміст чинників ЕДФ: ET1 (Biomedica

Immunoassays, Австрія), eNOS (BCM Diagnostics, США) і TNF $\alpha$  (Bender Medsystems, Австрія). Інтенсивність забарвлення продукту ферментативної реакції кількісно вимірювали на фотометрі PR2100 SANOFI DIAGNOSTIC PASTEUR (Франція). Рівень у крові NO визначали по його кінцевому метаболіту нітриту у реакції Грися спектрофотометрично (спектрофотометр Specord, Німеччина) при довжині хвилі 546 нм. Рівень ДК ненасичених жирних кислот визначали методом Z. Placer у модифікації В.Б. Гаврилова (1983).

Для статистичної обробки отриманих даних використовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA). Після проведення тестів Колмогорова-Смірнова, Андерсона-Дарлінга і  $\chi$ -квадрат був встановлений відмінний від нормального характер розподілу варіаційних рядів ( $p < 0,05$ ). У зв'язку з цим для описової статистики кількісних даних використовували медіану (Me) та перший і третій квартилі (Q1; Q3) варіаційних рядів. Парні незалежні вибірки порівнювали із застосуванням критерію Манна-Уїтні (U) і Краскела-Уолліса (H). Для порівняння категоріальних змінних використовували таблиці сполучення і непараметричні критерії  $\chi^2$  Pearson у модифікації Yates. У всіх випадках статистичного оцінювання значущість відмінностей враховували при значенні  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Узагальнені дані показників ЕДФ в залежності від тяжкості захворювання наведено у таблиці 1.

За рівнем у крові ET1 спостерігалася чітка тенденція до його збільшення по групам: з 0,55 фмоль/мл у контролі до 2,61 фмоль/мл у 3-й групі (рис. 1).

Статистичний аналіз за критерієм U (Mann-Whitney U Test) показав, що всі відмінності були статистично значущими ( $p < 0,001$ ), крім різниці рівнів ET1 у 2-й та 3-й групах ( $p = 0,206$ ). Отже, було встановлено, що рівень ET1 у групах хворих на ЦД

Таблиця 1

Відмінності між показниками ЕДФ (Me; Q1; Q3) у групах пацієнтів

Показники	Групи порівнянь				P (H)
	Контроль (n=95)	1 (n=57)	2 (n=63)	3 (n=32)	
ET1, фмоль/мл	0,55 (0,40; 0,75)	2,01 (1,87; 2,29)	2,44 (2,10; 2,80)	2,61 (2,09; 3,05)	<0,001
NO, мкмоль/л	4,35 (4,08; 4,61)	6,00 (5,69; 6,34)	6,69 (6,29; 7,10)	6,06 (5,99; 6,71)	<0,001
eNOS, пг/мл	364 (333; 390)	288 (232; 358)	231 (185; 254)	193 (166; 239)	<0,001
TNF $\alpha$ , пг/мл	22,3 (16,2; 29,0)	93,3 (70,1; 104,7)	113,0 (90,5; 124,0)	145,0 (102; 230)	<0,001
ДК, Е/мл	2,06 (1,67; 2,24)	4,70 (4,39; 5,17)	5,62 (5,48; 5,87)	4,77 (4,05; 5,24)	<0,001

Примітки:  $p_{(H)}$  – статистична значущість розбіжностей між групами за критерієм H (Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks test)

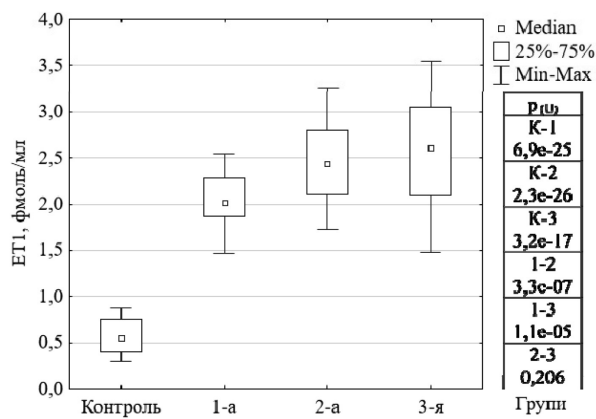


Рис. 1. Рівень у крові ET1 (фмоль/мл) по групам;  $p_{(U)}$  – статистична значущість розбіжностей між групами за критерієм U (Mann-Whitney U Test)

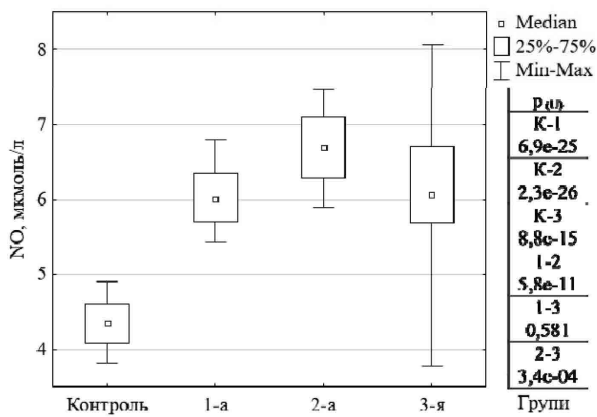


Рис. 2. Рівень у крові NO (мкмоль/л) по групам;  $p_{(U)}$  – статистична значущість розбіжностей між групами за критерієм U (Mann-Whitney U Test)

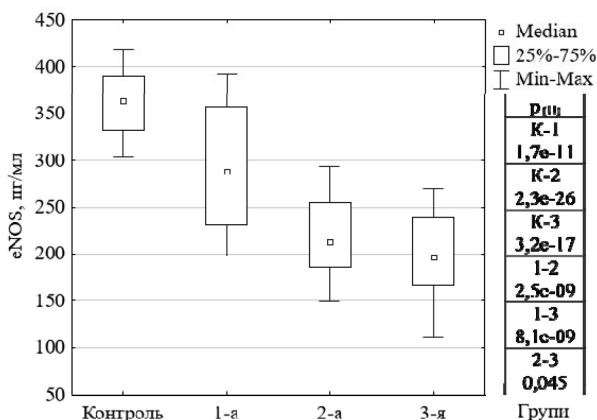


Рис. 3. Рівень у крові eNOS (пг/мл) по групам.  $p_{(U)}$  – статистична значущість розбіжностей між групами за критерієм U (Mann-Whitney U Test)

2 типу статистично значуще перевищував контроль (у 3,7-4,7 рази). З розвитком захворювання, в цілому, відмічена тенденція до більш високих значень ET1, але для ЦД 2 типу середнього та важкого ступенів достеменною різниці встановити не вдалося.

Рівень у крові NO (табл. 1 та рис. 2) зростав у групах хворих у порівнянні з контролем (у 1,4-1,5 рази), що, в цілому, мало високу статистичну значущість ( $p < 0,001$ ).

Найбільшого рівня він сягав у 2-й групі – у 1,5 рази ( $p = 2,3e-26$ ). Разом із тим, між 1-ю та 3-ю групами достеменною різниці не виявлено ( $p = 0,581$ ). Отже можна було вважати, що рівень NO за наявності ЦД 2 типу збільшується, що може не залежати від тяжкості захворювання.

Як свідчили дані таблиці 1, рівень у крові eNOS був нижчим по групах хворих у порівнянні з контролем (у 1,3-1,9 рази;  $p < 0,001$ ), причому найнижчим він був у третій групі (рис. 3).

Наявність статистично значущої різниці між всіма групами підтвердило зв'язок між розвитком ЦД 2 типу і рівнем у крові eNOS. Вочевидь, що із збільшенням тяжкості діабету відбувалося наростаюче гальмування експресії eNOS та прогресивне зниження її рівня у крові, що співпадало з даними [7].

Рівень у крові одного з основних прозапальних інтерлейкінів – TNFα багаторазово підвищувався, особливу у 3-й групі (у 6,5 рази), також була наявною і досить висока статистична значущість розбіжностей між групами (рис. 4).

Рівень TNFβ перевищував контроль у 1-й і 2-й групах, відповідно, у 4,2 і 5,1 рази. Переважно високі значення TNFβ згрупувалися у 3-й групі, що показувало залежність активації цитокінового каскаду від тяжкості ЦД 2 типу, та узгоджувалося з літературними даними [4, 6, 12].

Останнім показником, обраним для характеристики ЕДФ, був загальний рівень у крові ДК. Роль цього показника, як ключового параметру інтенсифікації ПОЛ при ЦД 2 типу, була показана і в наших попередніх публікаціях [15]. Причому, ДК, як і малоновий діальдегід, прогресивно накопичувався у крові протягом перших п'яти років, після чого лишався на стабільно високому рівні. Аналогічну тенденцію ми бачимо і у даному дослідженні (табл. 1 та рис. 5): у всіх групах рівень ДК був суттєво збільшеним (у 2,3-2,7 рази;  $p < 0,001$ ).

При порівнянні між групами, було встановлено відсутність статистично значущої різниці між 1-ю і 3-ю групами ( $p = 0,385$ ), тоді як рівень ДК був значуще більшим у 2-й групі ( $p < 0,001$ ).

Таким чином, були встановлені певні закономірності розвитку ЕДФ при збільшенні тяжкості ЦД 2 типу. Рівні у крові ET1, TNFβ, NO та ДК багаторазово достеменно збільшувалися, що, в цілому, відповідало ступеню тяжкості патологічного проце-

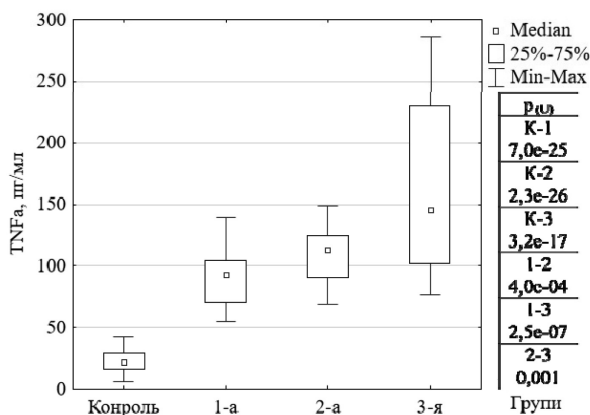


Рис. 4. Рівень у крові TNF $\alpha$  (пг/мл) по групах;  $p_{(0)}$  – статистична значущість розбіжностей між групами за критерієм U (Mann-Whitney U Test)

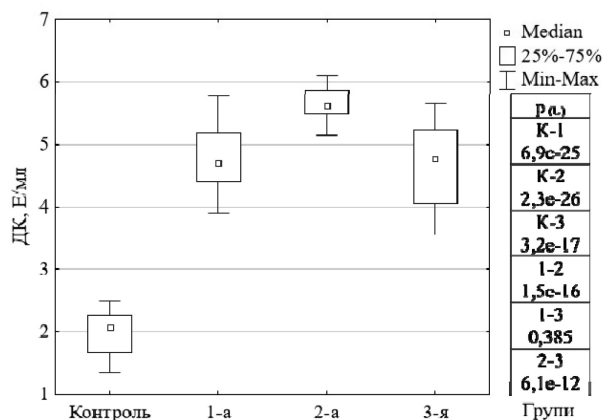


Рис. 5. Рівень ДК у крові (Е/мл) по групах;  $p_{(0)}$  – статистична значущість розбіжностей між групами за критерієм U (Mann-Whitney U Test)

су, особливо для TNF $\alpha$ . Вміст у крові eNOS – знижувалися згідно до тяжкості патологічного процесу.

Для з'ясування впливу чинників ЕДФ на клініко-лабораторні показники ЦД 2 типу виконано серію однофакторних регресійних аналізів із застосуванням пакета GRM (програма Statistica 10; StatSoft, Inc., USA). У якості предикторів були обрані показники ЕДФ (перелік дивись у таблиці 1), у якості залежних змінних – якісні та кількісні клініко-лабораторні показники хворих (вік, стать, ступінь компенсації, тяжкість, наявність, вид та ступінь ускладнень, вид терапії, результати біохімічних досліджень; загалом 51 показник).

Для ET1 найбільший вплив виявлено у відношенні глікемії ( $F=8,43$ ;  $p=0,008$ ) і ступеню компенсації ЦД по HbA1c ( $F=8,32$ ;  $p=0,008$ ). Також виявлений досить сильний вплив на ступінь компенсації ЦД по глікемії ( $F=4,83$ ;  $p=0,037$ ). Відмічений вплив

ET1 на ступінь нефропатії, за альбумінурією ( $F=7,01$ ;  $p=0,014$ ), та рівень самої мікроальбумінурії ( $F=5,52$ ;  $p=0,027$ ). З інших показників ЕДФ, ET1 мав зворотній зв'язок з eNOS ( $F=17,33$ ;  $p=0,001$ ) та прямий – з ДК ( $F=11,93$ ;  $p=7,2E-04$ ). Отже приріст рівню у крові ET1 обумовлював високу глікемію, альбумінурію та підвищував ступінь декомпенсації ЦД і ступінь діабетичної нефропатії.

Для NO прослідковано зв'язки з віком хворих ( $F=7,01$ ;  $p=0,014$ ) та ступенем нефропатії за ШКФ ( $F=5,67$ ;  $p=0,025$ ), а також – з низкою біохімічних показників: рівнями у крові тригліцеридів ( $F=10,44$ ;  $p=0,003$ ), сечовини ( $F=5,81$ ;  $p=0,024$ ) та креатиніну ( $F=4,36$ ;  $p=0,047$ ). Те, що NO зворотно був пов'язаний з ШКФ ( $F=4,54$ ;  $p=0,043$ ), пояснює такі зв'язки. З показників ЕДФ, NO був сильно пов'язаний з TNF $\alpha$  ( $F=30,15$ ;  $p=1,67E-07$ ) і ДК ( $F=34,08$ ;  $p=3,16E-08$ ). Отже, можна вважати, що накопичення у крові NO, в першу чергу, пов'язане із зниженням ШКФ та погіршенням функції нирок.

Для eNOS вагомий вплив виявлено у відношенні рівню HbA1c ( $F=8,95$ ;  $p=0,006$ ), ступеню компенсації ЦД по HbA1c ( $F=17,57$ ;  $p<0,001$ ), ступеню нефропатії за рівнем альбумінурії ( $F=5,75$ ;  $p<0,024$ ) і ступенем діабетичної полінейропатії ( $F=5,50$ ;  $p<0,027$ ). З інших показників ЕДФ, від'ємний зв'язок відмічено для ET1 ( $F=17,33$ ;  $p=5,3E-05$ ). Отже, вплив зниження рівню eNOS відображався у зниженні компенсації ЦД за HbA1c, прогресуванні нефро- і полінейропатії.

Для TNF $\alpha$  виявлено вплив на давність захворювання, ступінь тяжкості ЦД 2 типу ( $F=14,03$ ;  $p=0,001$ ), ступені нефропатії ( $F=11,30$ ;  $p=0,002$ ), ангіопатії нижніх кінцівок ( $F=14,03$ ;  $p=0,001$ ), ретинопатії ( $F=7,55$ ;  $p=0,011$ ), ШКФ ( $F=9,61$ ;  $p=0,005$ ), низку метаболічних показників (HbA1c, тригліцериди, сечовина, креатинін; для всіх  $p<0,001$ ) та рівень мікроальбумінурії ( $F=4,61$ ;  $p=0,042$ ). З інших показників ЕДФ, TNF $\alpha$  мав зв'язок з NO ( $F=30,15$ ;  $p=1,67E-07$ ) та ДК ( $F=19,33$ ;  $p=2,08E-05$ ) і, зворотній, – з eNOS ( $F=4,00$ ;  $p=0,047$ ). Отже, TNF $\alpha$  комплексно впливав на майже всі ключові показники ЦД 2 типу, що проявлялось синергічно з іншими показниками ЕДФ.

Для ДК були виявлені зв'язки із ступенем тяжкості ЦД 2 типу ( $F=9,89$ ;  $p=0,004$ ), тривалістю хвороби ( $F=9,16$ ;  $p=0,006$ ), швидкістю її прогресування ( $F=6,37$ ;  $p=0,017$ ) та розвитку ускладнень ( $F=8,81$ ;  $p=0,007$ ), наявністю ангіопатії нижніх кінцівок ( $F=9,89$ ;  $p=0,004$ ). Цікавим було виявлення впливу на рівень у крові інсуліну ( $F=9,36$ ;  $p=0,005$ ) та рівень інсулінорезистентності (індекс НОМА-ІР;  $F=9,37$ ;  $p=0,005$ ). Синергізм патологічного впливу з іншими показниками ЕДФ підтвердило наявність позитивного зв'язку з ET1 ( $F=11,94$ ;  $p=7,16E-04$ ), NO ( $F=34,08$ ;  $p=3,16E-08$ ) та TNF $\alpha$  ( $F=19,33$ ;  $p=2,08E-05$ ). Отже, як і TNF $\alpha$ , ДК визначав тяжкість

та ускладнення ЦД 2 типу та мав синергічну дію з іншими чинниками ЕДФ.

## ВИСНОВКИ

1. Рівні чинників ЕДФ залежали від тяжкості ЦД 2 типу. Так, рівень ET1 у хворих перевищував контроль у 3,7-4,7 рази ( $p < 0,001$ ) з максимальними значеннями у 2-й і 3-й групах; також зростав рівень у крові NO (у 1,4-1,5 рази;  $p < 0,001$ ). Найбільшого приросту сягали рівні TNF $\alpha$  (у 4,2-6,5 рази;  $p < 0,001$ ) і ДК (у 2,3-2,7 рази;  $p < 0,001$ ). Вміст у крові eNOS у групах хворих був нижчим при порівнянні з контролем (у 1,3-1,9 рази;  $p < 0,001$ ).

2. Однофакторний регресійний аналіз показав, що ET1 обумовлював високу глікемію, альбумінурію, підвищував ступінь декомпенсації ЦД 2 типу і ступінь діабетичної нефропатії. Накопичення у крові NO впливало на зниження ШКФ та погіршення функції нирок. TNF $\alpha$  і ДК комплексно впливали на майже всі ключові показники ЦД 2 типу, що мало синергічну дію з іншими чинниками ЕДФ.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості 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 р.р.

## REFERENCES

- Cutionco M.F.A., Chua B.M.X., Neo D.J.H., Rizwan M., Yim E.K.F. Functional differences between healthy and diabetic endothelial cells on topographical cues // *Biomaterials*. 2018. 153. 70-84. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.037.
- Babik B., Petó F., Agycs S., Blaskovics I., Alócs E., Body K., Sedy R. [Diabetes mellitus: endothelial dysfunction and changes in hemostasis] // *Orv Hetil*. 2018. 159 (33). 1335-1345. doi: 10.1556/650.2018.31130. [In Hungarian].
- Bermejo-Martin J.F., Martín-Fernandez M., Lypez-Mestanza C., Duque P., Almansa R. Shared Features of Endothelial Dysfunction between Sepsis and Its Preceding Risk Factors (Aging and Chronic Disease) // *J Clin Med*. 2018. 30. 7 (11). pii: E400. doi: 10.3390/jcm7110400.
- 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.
- Carrizzo A., Izzo C., Olivetti M., Alfano A., Virtuoso N., Capunzo M., Di Pietro P., Calabrese M., De Simone E., Sciarretta S., Frati G., Migliarino S., Damato A., Ambrosio M., De Caro F., Vecchione C. The Main Determinants of Diabetes Mellitus Vascular Complications: Endothelial Dysfunction and Platelet Hyperaggregation // *Int J Mol Sci*. 2018. 28. 19 (10). pii: E2968. doi: 10.3390/ijms19102968.
- Knapp M, Tu X, Wu R. Vascular endothelial dysfunction, a major mediator in diabetic cardiomyopathy // *Acta Pharmacol Sin*. 2018. 4. doi: 10.1038/s41401-018-0042-6.
- Lian K., Guo X., Huang Q., Tan Z., Xia C., Wang R., Yi F., Li W., Liu J., Li Y., Guo S., Wang H., Ji Q., Tao L. 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.
- Pankiv V.I. [Diabetes mellitus: diagnostic criteria, etiology and pathogenesis] // *International Endocrinology Journal*. 2013. 8 (56). 53-64. [In Ukrainian].
- 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.
- Polovina M.M., Potpara T.S. Endothelial dysfunction in metabolic and vascular disorders // *Postgrad Med*. 2014. 126 (2). 38-53. doi: 10.3810/pgm.2014.03.2739.
- Raminderjit Kaur, Manpreet Kaur, and Jatinder Singhcorresponding. 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]
- Sinyachenko OV, Ziablitsev SV, Chernobryvtsev PA. [Endothelial dysfunction in glomerulonephritis] // *Donetsk: New World*. 2006. 152. [In Russian].
- Sinyachenko O.V., Ziablitsev S.V., Chernobryvtsev P.A. [The state of the endothelium and the morphological changes in the structures of the kidney during experimental glomerulonephritis] // *Pathology*. 2007. 4 (1). 23-26. [In Russian]
- Type 2 Diabetes Complications. Web-resource: [www.endocrineweb.com/conditions/type-2-diabetes](http://www.endocrineweb.com/conditions/type-2-diabetes).
- Ziablitsev S.V., Mokrii V.Y., Cristal M.V. 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 formely of Health Sciences*. 2016. 6 (9). 626-636.
- Yan Z.P., Ma J.X. Risk factors for diabetic retinopathy in northern Chinese patients with type 2 diabetes mellitus // *Int J Ophthalmol*. 2016. 9 (8). 1194-1199. doi: 10.18240/ijo.2016.08.17.

Отримано: 03.11.2017

## СВЯЗЬ ФАКТОРОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ С ТЯЖЕСТЬЮ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

*Зяблицев С.В., Панова Т.И., Чернобрытцев А.П.*

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

**Актуальность.** При сахарном диабете (СД) в эндотелии сосудов развивается целый каскад патологических реакций, которые запускают глюкозотоксичность, чрезмерное воздействие стимулирующих гипертензивных и воспалительных факторов, активаторов тромбообразования, интенсификации окислительного стресса, что приводит к формированию эндотелиальной дисфункции (ЭДФ). С другой стороны, сам повреждённый эндотелий включается в патогенез СД и обуславливает развитие дальнейших нарушений.

**Цель:** исследовать связь факторов ЭДФ: эндотелина 1 (ЭТ1), эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), оксида азота (NO), фактора некроза опухолей (TNF $\beta$ ) и диеновых конъюгатов (ДК) с тяжестью СД 2 типа.

**Материалы и методы.** Использованы данные 152 стационарных больных с СД 2 типа в возрасте от 34 до 80 лет (53,9 $\pm$ 8,4 лет). Женщин было 95 (62,5 %), мужчин – 57 (37,5 %). Согласно степени тяжести, больные были разделены на три группы: 1-я (37,5% больных) – средняя степень в стадии компенсации (HbA1c 7-9 %), 2-я (41,4 %) – средняя степень в стадии декомпенсации (HbA1c более 9 %), 3-я (21,1 %) – тяжелая степень в стадии декомпенсации. Контрольная группа включала 95 практически здоровых лиц. В плазме крови иммуноферментным методом определяли содержание факторов ЭДФ: ЭТ1 (Biomedica Immunoassays, Австрия), eNOS (BCM Diagnostics, США) и TNF $\beta$  (Bender Medsystems, Австрия). Уровень в крови NO и ДК определяли биохимически (спектрофотометр Specord, Германия). Для статистической обработки полученных данных использовали программу Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

**Результаты.** Уровни факторов ЭДФ зависели от тяжести СД 2 типа. Так, уровень ЭТ1 у больных превышал контроль в 3,7-4,7 раза ( $p < 0,001$ ) с максимальными значениями во 2-й и 3-й группах; также рос уровень в крови NO (в 1,4-1,5 раза;  $p < 0,001$ ); наибольшего прироста достигали уровни TNF $\beta$  (в 4,2-6,5 раза;  $p < 0,001$ ) и ДК (в 2,3-2,7 раза;  $p < 0,001$ ). Содержание в крови eNOS в группах больных было ниже при сравнении с контролем (в 1,3-1,9 раза;  $p < 0,001$ ). Однофакторный регрессионный анализ показал, что ЭТ1 обуславливал гипергликемию, альбинурию, повышал степень декомпенсации СД 2 типа и степень диабетической нефропатии. Накопление в крови NO влияло на снижение скорости клубочковой фильтрации и ухудшение функции почек. TNF $\beta$  и ДК комплексно влияли на многие ключевые показатели СД 2 типа, и имели синергическое действие с другими факторами ЭДФ.

**Вывод.** Факторы ЭДФ тесно связаны с клинико-лабораторными показателями тяжести СД 2 типа, что указывает на их значимую роль в патогенезе заболевания.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, тяжесть, эндотелин 1, оксид азота, eNOS, TNF $\beta$ , диеновые конъюгаты.

## CONNECTION OF THE ENDOTHELIAL DYSFUNCTION FACTORS AND DIABETES MELLITUS 2 TYPE SEVERITIES

*Ziablytsev S.V., Panova T.I., Chernobrytsev O.P.*

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

**Relevance.** In the case of diabetes mellitus (DM), a whole cascade of pathological reactions unfolds in the endothelium of the vessels that afflict glucose toxicity, excessive action of stimulating hypertension and inflammatory factors, thrombotic activators, and the intensification of oxidative stress, which leads to the formation of endothelial dysfunction (EDF). On the other hand, the damaged endothelium itself is included in the pathogenesis of diabetes and causes the development of further violations.

**Objective:** to investigate the association of EDF factors: endothelin 1 (ET1), endothelial NO-synthase (eNOS), nitric oxide (NO), tumor necrosis factor (TNF $\beta$ ), and diene conjugates (DC) with severity of type 2 diabetes.

**Materials and methods.** Data were used for 152 hospital patients with type 2 diabetes at the age from 34 to 80 years (53.9 $\pm$ 8.4 years). Women were 95 (62.5%), men – 57 (37.5%). According to the degree of severity of patients was divided into three groups: 1st (37.5% of patients) – the average stage in the compensation stage (HbA1s 7-9%), 2nd (41.4%) – the average stage in the stage of decompensation (HbA1s more than 9%), 3rd (21,1%) – a severe degree in the stage of decompensation. The control group included 95 practically healthy individuals. The plasma levels of the blood were determined by the enzyme-linked method: ET1 (Biomedica Immunoassays, Austria), eNOS (BCM Diagnostics, USA) i TNF $\beta$  (Bender Medsystems, Austria). The level of blood NO and DC were determined biochemically (spectrophotometer Specord, Germany). Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA) was used to statistically process the data obtained.

**Results.** Levels of EDF factors depended on the severity of DM 2 type. Thus, the level of ET1 in patients exceeded control in 3.7-4.7 times ( $p < 0.001$ ) with the maximum values in the 2nd and 3rd groups; also increased blood levels of NO (1.4-1.5 times;  $p < 0.001$ ). The highest increase was observed in TNF $\beta$  levels (4.2-6.5 times;  $p < 0.001$ ) and DC (2.3-2.7 times;  $p < 0.001$ ). The blood content of eNOS in the patients' groups was lower when compared with control (1.3-1.9 times;  $p < 0.001$ ). Single-factor regression analysis showed that ET1 caused high glycemia, albuminuria, increased the degree of decompensation of DM 2 type and the degree of diabetic nephropathy. NO accumulation in the blood affects the decrease in glomerular filtration rate and the deterioration of renal function. TNF $\beta$  and DC contributed to almost all key indicators of DM 2 type, which had a synergistic effect with other EDF factors.

**Conclusion.** Factors of EDF are closely linked with clinical and laboratory indicators of severity of DM 2 type, which highlights them in the pathogenesis of the disease.

**Key words:** diabetes mellitus 2 type, severity, endothelin 1, nitric oxide, eNOS, TNF $\beta$ , diene conjugates.