

**ГБУЗ МО МОСКОВСКИЙ ОБЛАСТНОЙ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ КЛИНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
ИМЕНИ М. Ф. ВЛАДИМИРСКОГО**

На правах рукописи

Фабричнова
Анастасия Анатольевна

**НАРУШЕНИЯ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ И КОЖНОЙ
МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 И 2 ТИПОВ**

3.1.19. Эндокринология

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель
Д.м.н. Мисникова И. В.

Москва 2024

Оглавление

Введение

Введение	4
Личный вклад автора в диссертационную работу	13
Глава 1. Обзор литературы	18
1.1 Эпидемиология сахарного диабета и его сосудистых осложнений.....	18
1.2. Этиология и патогенез сахарного диабета 1 и 2 типов.....	21
1.2.1 Этиология сахарного диабета 1 и 2 типов.	21
1.2.2. Патогенез сахарного диабета	26
1.3. Осложнения сахарного диабета	33
1.3.1. Микрососудистые осложнения сахарного диабета	39
1.3.2. Макрососудистые осложнения сахарного диабета.....	43
1.4 Реологические свойства крови.....	44
1.4.1 Изменения реологических свойств крови при сахарном диабете.....	50
1.5 Микроциркуляторное русло	57
1.5.1 Изменения микроциркуляторного русла при сахарном диабете.....	60
1.6 Заключение.....	62
Глава 2. Материалы и методы исследования	64
2.1 Этапы исследования	64
2.2 Дизайн исследования.....	65
2.3 Методы исследования	67
2.3.1 Клинико-инструментальные методы обследования больных	67
2.3.2 Лабораторные исследования	67
2.3.3 Диагностика микрососудистых осложнений	69
2.3.4 Методы исследования реологических свойств крови	71
2.3.5 Исследование кожной микроциркуляции	80
2.4 Статистическая обработка данных	83
Глава 3. Результаты исследования	85
3.1 Характеристика клинической части работы	85
3.1.2 Клиническая характеристика исследованных групп пациентов	86
3.1.2.1 Микрососудистые осложнения сахарного диабета	86
3.1.2.2 Макрососудистые осложнения сахарного диабета и сопутствующая патология (артериальная гипертензия, ожирение)	87
3.1.2.3 Диабетическая полинейропатия	88
3.1.2.4 Характеристика проводимой терапии в исследуемых группах.....	89

3.2	Корреляции в группах СД1 и СД2.....	90
3.3	Сравнение гемореологических свойств при СД1 и СД2	93
3.3.1	Сравнение гемореологических свойств при СД1 и СД2 и в норме при половозрастном уравнивании.....	95
3.3.2	Возрастные особенности гемореологических свойств при СД1 и СД2 и в норме	97
3.4	Гемореологические свойства при микрососудистых осложнениях СД.....	98
3.4.1	Гемореологические свойства и показатели микроциркуляции при СД1 и микрососудистых осложнениях	99
3.4.2	Гемореологические свойства и показатели микроциркуляции при АГ у больных СД1	105
3.4.3	Гемореологические свойства и показатели микроциркуляции при СД2 и микрососудистых осложнениях	107
3.4.4	Гемореологические свойства и показатели микроциркуляции при АГ у больных СД2	109
3.5	Результаты исследования сил взаимодействия эритроцитов на уровне отдельных клеток при СД	109
	Глава 4. Обсуждение полученных результатов	112
	Заключение.....	122
	Выводы.....	124
	Практические рекомендации.....	126
	Список сокращений	128
	Список литературы	129

Введение

Актуальность и степень разработанности проблемы

В настоящее время сахарный диабет рассматривается в парадигме сосудистой патологии [Малышева Ю.А. и др., 2018; Khan M.A.B. et al., 2020]. Сосудистое поражение при сахарном диабете имеет комплексный характер, поскольку, кроме макро- и микрососудистых изменений, имеют место также нарушения микрореологических свойств крови [van Sloten T.T. et al., 2020; Teck J., 2022]. В связи с сопоставимым диаметром сосудов микроциркуляторного русла и размеров форменных элементов крови, микрореологические свойства крови, такие, как способность эритроцитов к агрегации, деформации, вязкости крови, во многом определяют эффективность кровотока по микрососудам. Известно, что нарушение реологических свойств крови (повышение способности эритроцитов к образованию агрегатов, снижение их деформируемости, повышение вязкости крови) приводит к снижению капиллярного кровотока, к ишемии, гипоксии органов и тканей [Antonova N.M. et al., 2021; Chen J., Tan W., 2020].

Поиск маркеров прогрессии СД является важной задачей для улучшения контроля заболевания в перспективе. В исследованиях показана взаимосвязь реологических свойств крови и развития патологии. Так, повышение гемоглобина, гематокрита и эритроцитов, во многом определяющих реологические свойства крови, ассоциировано с повышением гликемии натощак, что отражает метаболические нарушения, характерные для гипергликемии и инсулинрезистентности и их влияние на эритроцит [Feng L. et al., 2020]. Lee и соавт. установили, что патологическая гиперагрегация и нарушение деформируемости

эритроцитов при СД2 является фактором риска развития ХБП 2 ст. [Lee S. et al., 2015]. В дисс. Георгиновой О. А. показано предикторное значение повышения эритроцитарной агрегации по отношению к прогрессии волчаночного нефрита [Георгинова О. А., 2015]. С учетом высокой распространенности СД и его сосудистых осложнений, оценка прогностической значимости гемореологических свойств представляется очень актуальной.

Поражения микрососудистого русла при СД развивается одновременно во многих органах и тканях [Melmed S. et al., 2011]. Раннее выявление микрососудистых нарушений при СД, а также оценка динамики их изменений в ходе терапии является важным для персонифицированной диагностики и лечения пациента. При этом кожа является наиболее доступным органом для оценки микроциркуляции. В настоящее время данные о наличии микроциркуляторных изменений при СД являются не полными. По данным Gurfinkel Y.I. et al. (2016), при сахарном диабете, как в фазе компенсации, так и в фазе декомпенсации, при капилляроскопии ногтевого ложа наблюдается снижение плотности микроциркуляторного русла и снижение скорости кровотока. По данным Котляр К.Е. и др. (2016), изменений кожной микроциркуляции при СД2, по сравнению с контролем, не выявлялось. В исследовании Троицкой Н.И. и др. (2020) показано, что при наличии синдрома диабетической стопы при СД2 микроциркуляторные изменения были выражены. В исследовании Трусова и др. (2004) показано, что при оценке конъюнктивального кровотока при СД1 выявляются микрососудистые нарушения, ассоциированные со стадией диабетической нефропатии [Трусов В.В. и др., 2004г]. Данный вопрос имеет важное практическое значение в связи с проблематикой необходимости терапии микроциркуляторных нарушений при сахарном диабете [Бреговский В.Б. и др., 2011; Antonova N. et al., 2022].

Классические гемореологические тестирования проводятся на большом ансамбле клеток и оценивают результирующую процесса агрегации-деагрегации. С появлением метода оптических пинцетов стало возможным оценивать микрогемореологические свойства на уровне отдельных клеток [Silva D.C. et al., 2012]. В 2018 году «за изобретение оптического пинцета и его применение в

биологических системах» создателю оптического пинцета Артуру Эшкину была присуждена нобелевская премия по физике. В одном из первых исследований с использованием метода оптического пинцета при СД2 было продемонстрировано снижение деформируемости эритроцитов больных СД2, по сравнению с нормой [Agrawal R. et al., 2016]. Также оценка сил агрегации-деагрегации эритроцитов при СД методом оптического пинцета проводилась Семеновым А.Н. и соавт. (2017). Показано, что сила агрегации эритроцитов у больных СД достоверно превышала таковую в группе контроля, при этом отличий сил деагрегации в исследуемых группах не выявлено. Таким образом, имеющиеся данные силах агрегации-деагрегации отдельных эритроцитов как в норме, так и при заболеваниях на настоящий момент ограничены. Исследование агрегации-деагрегации эритроцитов методом оптического пинцета позволит расширить фундаментальные знания о микрогемореологических свойствах эритроцитов.

Цель исследования

Изучить особенности нарушений реологических свойств и кожной микроциркуляции при сахарном диабете 1 и 2 типов, а также оценить связь нарушений реологических свойств и кожной микроциркуляции с развитием микрососудистых осложнений у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типов.

Задачи исследования

1. Оценить характер и выраженность нарушений реологических свойств крови и микроциркуляции в группах у больных СД1 и СД2.
2. Оценить взаимосвязь развития микрососудистых осложнений в группах больных СД1 и СД2 (диабетической нефропатии, диабетической ретинопатии) и АГ с нарушением реологических свойств крови.

3. Определить взаимосвязь между развитием микрососудистых осложнений в группах больных СД1 и СД2 и нарушением кожной микроциркуляции.
4. Разработать диагностическую модель оценки реологических свойств крови и микроциркуляции при СД1 и СД2.
5. Изучить механизмы нарушений агрегации-деагрегации эритроцитов при СД1 и СД2 на уровне отдельных пар эритроцитов.

Объект и предмет исследования

Объектом диссертационного исследования являлись больные СД1 и СД2 типов. Предметами исследования являлись микрососудистые осложнения и реологические свойства крови, а также микроциркуляция при сахарном диабете 1 и 2 типов.

Научная новизна

Установлено, что при сахарном диабете 2 типа гиперагрегация эритроцитов более выражена, чем при сахарном диабете 1 типа и сохраняется после половозрастного уравнивания.

Доказано, что в группах сахарного диабета 1 типа микрососудистые осложнения, а также артериальная гипертензия ассоциированы с нарушением реологических свойств крови (при диабетической нефропатии и артериальной гипертензии - с гиперагрегацией и нарушением способности эритроцитов к деформации, при диабетической ретинопатии – с гиперагрегацией эритроцитов).

Установлено, что в группах сахарного диабета 2 типа нарушения реологических свойств крови не связаны с развитием микрососудистых осложнений. При СД2 наблюдались нарушения кожной микроциркуляции, которые были ассоциированы с развитием препролиферативной и пролиферативной ретинопатии.

Показано, что при сравнении реологических свойств крови на уровне

отдельных эритроцитов в группах сахарного диабета 1 и 2 типа механизмы достижения гиперагрегации различны.

Предложена диагностическая модель оценки реологических свойств крови у больных сахарным диабетом 2 типа без микрососудистых осложнений и артериальной гипертензии, состоящая в тестировании времени и скорости 1 фазы агрегации эритроцитов, прочности наибольших эритроцитарных агрегатов, позволяющая персонифицированно диагностировать течение заболевания.

Теоретическая и практическая значимость

Разработана новая диагностическая модель оценки реологических свойств крови у пациентов с СД1 без микрососудистых осложнений и АГ, включающая оценку реологических свойств крови (показателей скорости и времени 1 фазы агрегации эритроцитов, прочности наиболее крупных эритроцитарных агрегатов, способности эритроцитов к деформации), которая может быть использована для персонификации подходов к диагностике и лечению заболевания.

Решена научная задача оценки связи реологических свойств крови и микрососудистых осложнений СД. Показано, что в группах больных СД1 снижение СКФ менее 90 мл/мин*м² при развитии диабетической нефропатии ассоциировано с повышением скорости 1 фазы агрегации эритроцитов, снижением времени 1 фазы агрегации эритроцитов, повышением прочности наибольших агрегатов в группах СД1 без микрососудистых осложнений и АГ, что может быть использовано как маркер раннего микрососудистого поражения и развития ХБП 2-3а ст. при СД1. При СД2 нарушения реологических свойств крови не связаны с развитием микрососудистых осложнений.

Решена научная задача исследования нарушений кожной микроциркуляции и их связи с развитием микрососудистых осложнений при СД. Показано, что нарушение кожной микроциркуляции на фоне пробы с тепловой вазодилатацией у

пациентов с СД2 ассоциировано с наличием диабетической ретинопатии препролиферативной и пролиферативной стадий, что может быть использовано в качестве показателя системного поражения микрососудистого русла в диагностике СД2. При СД1 нарушений кожной микроциркуляции не выявлялось.

Решена научная задача исследования различий нарушений реологических свойств крови при СД1 и СД2 на уровне отдельных клеток. Выявлено принципиальное отличие механизмов микрогемореологических нарушений при СД1 и СД2, которое заключается в различиях сил агрегации и дезагрегации на уровне отдельных эритроцитов, что дополняет имеющиеся данные о патофизиологии СД1 и СД2.

Методология и методы диссертационного исследования

Методологической базой диссертационного исследования явились как общенаучные методы: теоретические и экспериментальные, так и специальные методы. Среди теоретического метода использовались методы: восхождение от абстрактного к конкретному, формализации и идеализации. Среди экспериментальных методов исследований использовались методы наблюдения, моделирования, эксперимента, сравнения. Методология работы включала в себя использование эмпирическо-теоретических методов (анalogии, абстрагирования, дедукции, индукции) [Н. В. Бряник и др., 2014].

Также в работе использовались клинический, инструментальный, биохимический методы, системный подход, метод экспертных оценок, специальные оптические, статистический метод. Все вышеуказанные методы подробно описаны в главе 2 «материалы и методы исследования».

Теоретической базой исследования явилась база фундаментальных знаний о сахарном диабете и реологических свойствах крови и специальных методах исследования. Специальные методы, использовавшие в исследовании, представляют

собой оптические методы изучения реологических свойств крови. Использование оптических методов для оценки реологических свойств крови применялось как на уровне большого числа клеток, так и на клеточном уровне. Для оценки реологических свойств крови на ансамбле большого числа эритроцитов использовались метод диффузного рассеяния лазерного излучения суспензией эритроцитов (таким образом оценивалась способность эритроцитов к агрегации) и метод эктацитометрии (при помощи данного метода оценивалась способность эритроцитов к деформации) [Baskurt O.K., Uyuklu M., Ulker P., et al., 2009]. Такое исследование реологических свойств проводилось при помощи коакциально-цилиндрического агрегометра- деформометра «LADE» (РеоМедЛаб, Россия).

Исследование сил взаимодействия эритроцитов на уровне отдельных клеток проводилось при помощи метода двухканального оптического захвата (т.н. лазерные пинцеты (ЛП)) на экспериментальной установке в лаборатории Международного лазерного центра Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

В работе *in vivo* изучалось состояние микроциркуляторного русла на примере кожной микроциркуляции у больных СД, используя метод лазерной доплерометрии, с использованием анализатора Лакк-2 и модуля Лакк-тест. Принцип работы прибора заключается в неинвазивном зондировании ткани лазерным излучением и регистрации отраженного сигнала. Анализ доплеровского сдвига частоты излучения, рассеянного при взаимодействии с движущимися эритроцитами, позволяет оценить скорость и объем потока эритроцитов в исследуемой области [Куликов Д.А., Глазков А.А., Ковалева Ю.А. и др., 2017]. При этом исследуется перфузия микроциркуляторного русла. Наиболее простой является оценка базовой перфузии, наряду с которой применяются различные функциональные пробы, в нашем исследовании использовалась тепловая проба. Проба позволяет повысить информативность исследования за счет оценки перфузии при дополнительном вовлечении регуляторных механизмов. Исследование микроциркуляции, проведенное параллельно со гемореологическим исследованием, позволило оценить связь нарушения реологических свойств крови при СД и кожной

микроциркуляторной перфузии.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Установлено, что в группах больных СД1 и СД2 нарушения реологических свойств крови различны. В группах СД2 нарушения реологических свойств крови более выражены, по сравнению с СД1, что заключается в усилении гиперагрегации эритроцитов, более высокой вязкости крови.
2. Разработана новая диагностическая модель оценки реологических свойств крови при СД1 у больных без микрососудистых осложнений и АГ, состоящая в тестировании времени и скорости 1 фазы агрегации эритроцитов, прочности наибольших эритроцитарных агрегатов, способности эритроцитов к деформации, которая позволяет оценить вероятность наличия раннего системного микрососудистого поражения и может быть использована в персонифицированной диагностике и лечении СД1.
3. Установлено, что у пациентов с СД1 и СД2 имеются различия в механизмах развития гиперагрегации эритроцитов. Изучение эритроцитов на уровне отдельных клеток показало снижение сил дезагрегации при сохранении сил агрегации у пациентов с СД1 и увеличение сил как агрегации, так и дезагрегации у пациентов с СД2.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность и обоснованность результатов исследования обеспечиваются достаточной выборкой (107 пациентов с СД и 104 добровольцев контрольной группы), использовавшимися методами, адекватными объекту, предмету, целям и задачам диссертации, соответствием результатов теоретическим оценкам,

согласованностью результатов с данными, полученными в работах других авторов.

Проведение диссертационного исследования одобрено Этическим комитетом МОНИКИ имени М. Ф. Владимирского от 31 августа 2023 года (протокол №12).

Апробация работы состоялась на совместном заседании секции «Терапия» Учёного совета, отделения терапевтической эндокринологии и кафедры эндокринологии ФУВ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского от 18.04.2024 г.

Материалы диссертации докладывались на следующих конференциях:

1. 28 симпозиум по реологии, Вороново, Россия, 28 сентября - 2 октября 2016 г.
2. Пятнадцатое Всероссийское Совещание с международным участием и восьмая Школа по эволюционной физиологии, Россия, 17-22 октября 2016 г.
3. XI международная конференция «Микроциркуляция и гемореология» 3 – 5 июля 2017 года, Ярославль, Россия.
4. XXIII съезд Физиологического общества им. И. П. Павлова, Воронеж, Россия, 18-23 сентября 2017 г.
5. II Всероссийская конференция с международным участием Сахарный диабет: макро- и микрососудистые осложнения., ФГБУ "Эндокринологический научный центр" Минздрава России, Россия, 4-5 ноября 2017 г.
6. VII Всероссийская с международным участием школа-конференция по физиологии и патологии кровообращения, Москва, Россия, 3-6 февраля 2020 г.
7. The 29th International Conference on Advanced Laser Technologies, Москва, Россия, 11-16 сентября 2022 г.
8. XIV Международная конференция по микроциркуляции и гемореологии, Ярославль, Россия, 10-11 июля 2023 г.

Личный вклад автора в диссертационную работу

Личный вклад автора диссертационной работы заключается в:

- 1) Самостоятельном анализе автором российских и зарубежных источников литературы по теме диссертационной работы.
- 2) Формулировании идеи работы: исследовании реологических свойств крови у больных с СД1 и СД2, поиск факторов риска микрососудистых осложнений СД.
- 3) Разработке дизайна исследования, определения критериев включения и исключения.
- 4) Постановке цели исследования: выявлении различий реологических свойств крови у больных с СД1 и СД2, поиск факторов риска микрососудистых осложнений СД.
- 5) Формулировании задач исследования.
- 6) Выполнении протокола исследования: организации и проведении экспериментальной работы.
- 7) Систематизации, обработке и анализе полученных данных, обосновании выводов и практических рекомендаций.
- 8) Подготовке к публикации литературного обзора и полученных результатов исследования.
- 9) Представление полученных результатов на конференциях с международным участием.

Внедрение результатов работы в клиническую практику

Алгоритм обследования пациентов с сахарным диабетом 1 типа направлен на определение риска раннего снижения СКФ и развития ХБП 2-3а степени с целью персонализации терапии пациентов. Диагностический алгоритм включает в себя

исследование реологических свойств крови у больных с сахарным диабетом 1 типа, не имеющих микрососудистых осложнений и артериальной гипертензии. Исследуются такие реологические свойства крови, как скорость 1 фазы агрегации эритроцитов, время 1 фазы агрегации эритроцитов, прочность наиболее крупных эритроцитарных агрегатов. По полученным данным оценивается риск развития ХБП у пациентов с сахарным диабетом 1 типа, что позволяет принимать персонализированные решения о модификации терапии. Предложенный алгоритм диагностики использовался у 52 больных, проходивших обследование и лечение в отделении терапевтической эндокринологии. Применение разработанного алгоритма позволит профилактировать раннее снижение скорости клубочковой фильтрации у пациентов 1 с сахарным диабетом 1 типа, и, таким образом, снизить риск развития диабетической нефропатии и ее последствий.

Алгоритм обследования пациентов с сахарным диабетом 2 типа направлен на определение факторов риска развития и прогрессии диабетической ретинопатии с целью уточнения тяжести течения заболевания, и определения риска наступления и прогрессии ретинопатии, коррекции тактики лечения пациента. Диагностический алгоритм включает в себя исследование кожной микроциркуляции на коже предплечья пациента с проведением тепловой пробы. Исследование проводится методом лазерной доплеровской фотометрии с помощью комплекса ЛАКК-02 и модуля ЛАКК-ТЕСТ. Оцениваются такие параметры, как показатели микроциркуляции на фоне нагрева, площадь под кривой за две минуты активного нагрева, наклона линии линейной регрессии за первые две минуты фазы активного нагрева во время пробы с тепловой вазодилатацией. По полученным данным определяется наличие риска развития или прогрессирования диабетической ретинопатии, что позволяет принимать персонализированные решения о коррекции тактики терапии для данных пациентов.

Предложенный алгоритм использовался у 43 больных с сахарным диабетом 2 типа, госпитализированных в отделение терапевтической эндокринологии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Применение данного алгоритма в совокупности

с коррекцией тактики лечения позволяет профилактировать или отдалить наступление диабетической ретинопатии у больных с сахарным диабетом 2 типа.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертационного исследования опубликовано 6 печатных работ, из них 1 – глава в рецензируемой монографии, 4 – в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК, в том числе 3 статьи в научных изданиях, включенных в международную базу данных SCOPUS.

- 1. Фабричнова А.А. Нарушения реологических свойств крови при развитии диабетической нефропатии у больных сахарным диабетом 1 типа. / Фабричнова А.А., Мисникова И.В., Ковалева Ю.А., Глазков А.А., Кошелев В.Б. // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2024. – Т. 8. – №9. – С. 513-517 ИФ – 1,153 5/6**
2. Фабричнова А.А. The Use of Capillaroscopy and Aggregometry Methods to Diagnose the Alterations of Microcirculation and Microrheology in Diabetes. / Edited by Andrey Dunaev and Valery Tuchin Lugovtsov Andrei E., Gurfinkel Yury I., Ermolinskiy Petr B., Fabrichnova Anastasia A., Priezzhev Alexander V. // Biomedical Photonics for Diabetes Research, 1st Edition. – 2022. – P.57-81 (глава в монографии) 25/5
- 3. Фабричнова А.А. Исследование сил парного взаимодействия эритроцитов при их агрегации методом оптического захвата при сахарном диабете 1 и 2 типов. / Фабричнова А.А., Кошелев В.Б., Мисникова И.В., Ковалева Ю.А., Семенов А.Н., Луговцов А.Е., Каданова И.М., Незнанов А.И., Приезжев А.В. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20. – №1. – С. 77-83. ИФ – 0,911 7/9**
4. Фабричнова А.А. Изменения реологических свойств крови при сахарном диабете. / Фабричнова А.А., Куликов Д.А., Мисникова И.В., Ковалева Ю.А., Семенов А.Н., Приезжев А.В., Кошелев В.Б. // Эндокринология: новости, мнения, обучение. – 2018.

– №2. – С. 26-35. ИФ - 0,556 9/7

5. **Фабричнова А.А. Hemorheological properties in patients with type-1 and type-2 diabetes mellitus. / Sokolova I.A., Kachalova A.V., Fabrichnova A.A., Kovaleva Yu A., Shahnazarov A.A., Koshelev V.B. // Journal of Biomedical Photonics & Engineering. – 2018. – Т. 3. – №3. – С. 0304021-0304026. ИФ - 0,776 6/6**
6. **Фабричнова А.А. Использование методов диффузного рассеяния света и оптического захвата для исследования реологических свойств крови: агрегация эритроцитов при сахарном диабете. / Семенов А.Н., Луговцов А.Е., Ли К., Фабричнова А.А., Ковалева Ю.А., Приезжев А.В. // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика. – 2017. – Т. 17. – №2. – С. 85-97 ИФ - 0,394 13/6**

Структура и объем диссертации

Диссертация содержит 151 страницу машинописного текста, написана по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы (1-я глава), описания материалов и методов исследования (2-я глава), результатов собственных исследований и обсуждения (3-я глава), заключения и рекомендаций для дальнейшей разработки темы (4-я глава), а также выводов, практических рекомендаций, заключения. Работа содержит 36 таблиц, 14 рисунков и 9 графиков. Список литературы включает 232 источника, в том числе 42 отечественных и 190 зарубежных.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

В соответствии с формулой специальности 3.1.19 - "Эндокринология (медицинские науки)", п. 4 паспорта специальности «Эндокринология», в работе изучается патогенез сахарного диабета и его осложнений с использованием

лабораторных и инструментальных методов обследования. В диссертационном исследовании выявлены различия в выраженности и патогенезе гемореологических нарушений, как на уровне ансамбля клеток, так и на уровне одиночных пар эритроцитов; выявлены различия в наличии кожных микроциркуляторных нарушений при микрососудистых осложнениях СД1 и СД2. Также в соответствии с п. 5 паспорта специальности «Эндокринология», в работе проведена разработка методологического подхода в оценке тяжести течения сахарного диабета. Разработана новая диагностическая модель исследования реологических свойств крови при СД.

Таким образом, область диссертационного исследования включает разработку теоретических основ гемореологических процессов при СД1 и СД2, моделей описания выявленных патологических изменений и соответствует п. №4 "Этиология и патогенез эндокринных заболеваний, клинические проявления, методы диагностики заболеваний эндокринной системы с использованием клинических, лабораторных, инструментальных и других методов исследования, дифференциальная диагностика различных форм нарушения гормональной регуляции.", а также п. 5 «Разработка научных, методологических и клинических подходов в диагностике заболеваний эндокринной системы с использованием современных клинических, лабораторных, инструментальных, других методов исследования и современных технологий.» паспорта специальности 3.1.19 - "Эндокринология (медицинские науки)".

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Эпидемиология сахарного диабета и его сосудистых осложнений

Сахарный диабет (СД) входит в число наиболее распространенных в мире хронических заболеваний. СД – это гетерогенная группа заболеваний, объединенная общим патофизиологическим звеном - повышением уровня глюкозы крови вследствие развития абсолютной или относительной недостаточности инсулина. Гипергликемия и нарушение обмена веществ при сахарном диабете приводят к развитию осложнений сахарного диабета: поражению микро- и макрососудистого русел с развитием ретинопатии, нефропатии, ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда, атеросклеротического поражения артерий нижних конечностей, диабетической стопы. Таким образом, при СД повышается общий риск преждевременной смерти [Милютина-Якушева Д.А. и др., 2016; American Diabetes Association., 2021; Ceriello A., Prattichizzo F., 2021; Ojo O., 2021].

По оценкам ВОЗ, СД является одной из основных причин таких заболеваний, как слепота, почечная недостаточность, инфаркты, инсульты и ампутация нижних конечностей. Также, повышенный уровень глюкозы в крови является причиной около 20% смертей от сердечно-сосудистых заболеваний [Global Burden of Disease Collaborative Network., 2020]. Распространенность сахарного диабета во всем мире крайне высока: в 2019 году она составила 463 миллиона человек (9,3%), и вырастет до 578 миллионов (10,2%) к 2030 году и до 700 миллионов (10,9%) к 2045 году. [International Diabetes Federation Diabetes Atlas., 2019].

В Российской Федерации оценка распространенности СД и его осложнений осуществляется в системе Регистра Сахарного Диабета более 20-ти лет. По данным регистра, численность пациентов с СД в России в 2023 г. составила 4 962 762 человек, или 3,31% населения страны [Дедов И.И. и др., 2023]. Наибольшую

значимость в структуре заболеваемости имеет сахарный диабет 2 типа (СД2): он составляет 92,33% (4,58 млн чел.), среди всех случаев СД, сахарный диабет 1 типа (СД1) составляет 5,58% (277,1 тыс. чел.).

Как и во всем мире, в Российской Федерации численность больных с СД1 и СД2 ежегодно растет. Так, с 2000 по 2023 г. заболеваемость СД выросла более, чем в 2,5 раза (с 2,043 млн до 4,962 млн человек), преимущественно за счет СД2 [Дедов И.И. и др., 2023 г.].

Однако, имеющиеся данные все еще не полно отражают масштаб распространенности сахарного диабета. По данным национального эпидемиологического исследования NATION, проводившегося в 2013-2015 годах в 63 субъектах РФ, доля не выявленного СД2 в среднем составляет 54% [Дедов И.И. и др., 2016]. Таким образом, фактическая распространенность СД2 при активном скрининге почти в 2 раза выше регистрируемой и может достигать 8–9 млн человек, или 5,4-6,1% населения России [Шестакова М.В. и др., 2019].

По данным российского регистра сахарного диабета, среди пациентов с СД1 наибольшая доля людей имеют возраст 30-39 лет, среди пациентов СД2 – 65-69 лет. Среди заболевших СД1 доля мужчин составляет 54%, несколько меньше при СД2 - 30% [Дедов И.И. и др., 2023 г.].

Основной причиной смерти пациентов с СД являются болезни системы кровообращения [Cloete L., 2022]. Среди них ведущие позиции занимают последствия макрососудистых осложнений СД: хронической сердечно-сосудистой недостаточности (ХСН), ишемической болезни сердца (ИБС), инфаркта миокарда (ИМ), нарушения мозгового кровообращения и острых сердечно-сосудистых событий (нарушения ритма, тромбозы различных локализаций и др.), которые кумулятивно являются причиной смерти 38,6% пациентов с СД1 и 50,9% пациентов с СД2 [Дедов И.И. и др., 2023].

Однако, частота макрососудистых осложнений при СД, для которых характерно многофакторное развитие, несколько ниже, чем микрососудистых осложнений. Так, частота ИБС при СД1 составляет 2,5%, при СД2 10,1%, частота

ОИМ при СД1 — 1,0%, при СД2 - 3,5%. Однако, учитывая высокую общую численность пациентов с СД2 более 4,4 млн, количество пациентов с сердечной недостаточностью, атеросклеротическими сердечно-сосудистыми заболеваниями и ХБП превышает 1,7 млн. [Дедов И.И. и др., 2021 г.].

Микрососудистые осложнения СД, такие, как диабетическая ретинопатия, нефропатия, представляют собой угрозу в своих наиболее тяжелых проявлениях: развитии слепоты при ретинопатии, диализной стадии ХБП при нефропатии [Jin Q., Ma R.C.W., 2021]. Диабетическая ретинопатия – наиболее частое поражение глаз при СД, ведущее к значительному снижению остроты зрения вплоть до полной его потери. Согласно данным российского регистра сахарного диабета, в Российской Федерации частота диабетической ретинопатии на 2022 год составляла 28,9% при СД1, 12,3% при СД2 [Дедов И.И. и др., 2023].

Диабетическая нефропатия – другое микрососудистое осложнение СД, которое в терминальных стадиях требует проведения диализа, трансплантации почки, а также является самостоятельным фактором риска сердечно – сосудистых катастроф. Частота диабетической нефропатии по данным 2022 года при СД1 составляла 22,8 %, при СД2 19,1% [Дедов И.И. и др., 2023]. Одним из ведущих факторов развития хронической болезни почек (ХБП) при диабетической нефропатии остается длительность СД: при длительности СД1 <5 лет ХБП развивается у 5,1% пациентов, при СД1 >30 лет – у 48,0%, при СД2 – у 3,5 и 20,3%, соответственно [Шамхалова М.Ш. и др., 2018].

Синдром диабетической стопы также имеет высокую актуальность, поскольку его развитие повышает риск ампутаций нижних конечностей, что ведет к потере трудоспособности, инвалидизации, снижению продолжительности жизни, а также к значительному повышению расходов на лечение. Частота ампутаций нижних конечностей у пациентов с СД значительно выше, чем в общей популяции. При этом, прогноз выживания таких пациентов значительно хуже, чем у онкологических больных [Hoffmann M. et al., 2015]. Распространённость синдрома диабетической стопы в РФ при СД1 составляла 4,3%, при СД2 1,7% на 2017 год

[Галстян Г.Р. и др., 2018].

Необходимо отметить, что с 2007 года отмечается положительная динамика уменьшения частоты терминальных стадий диабетической ретинопатии (слепоты) и ХБП (диализа), также доли высоких ампутаций [Шестакова М.В. и др., 2019, Дедов И.И. и др., 2021 г.]. Наблюдается положительная динамика гликемического контроля у больных с сахарным диабетом: с 2016 по 2020 г. снижение доли декомпенсированных пациентов с уровнем $HbA1c \geq 9,0\%$ (при СД1 с 23,1% до 18,7%, при СД2 с 8,9% до 8,0%) при увеличении количества пациентов с целевым уровнем $HbA1c < 7\%$ (при СД1 с 32,3% до 36,9%, при СД2 с 51,9% до 52,1%) [Дедов И.И. и др., 2021 г.].

По-видимому, это связано с улучшением возможностей терапии (в том числе, с появлением и повышением доступности новых классов сахароснижающих препаратов, внедрению более эффективных инсулинов, появлением новых подходов к сахароснижающей терапии), а также с усилением диабетологической службы в РФ, которая включает в себя создание специализированных кабинетов диабетической ретинопатии и диабетической стопы, «Школ для пациентов с сахарным диабетом» и внедрению структурированных программ обучения, развитию системы подготовки медицинских специалистов [Шестакова М.В. и др., 2019].

1.2. Этиология и патогенез сахарного диабета 1 и 2 типов

СД – это гетерогенная группа заболеваний, включающая в себя различные по этиологии, патогенезу и клиническому течению нозологические формы. Выделяют СД 1 и 2 типов, гестационный СД, другие типы диабета (всего более 50 различных нозологических форм). [Клинические рекомендации., 2023; Foussard N., Mohammedi K., 2021]. В связи с высокой распространенностью наибольшую актуальность имеет СД 1 и 2 типов.

1.2.1 Этиология сахарного диабета 1 и 2 типов.

СД1 возникает на фоне практически полной деструкции β -клеток поджелудочной железы и развития абсолютной недостаточности инсулина. СД1 может развиваться в любом возрасте, но чаще всего возникает у детей и молодых лиц [Гарднер Д., Шобек Д., 2013]. Наследственность играет важную роль в развитии СД1. Развитие иммунологически опосредованного сахарного диабета 1 типа связано с нарушением иммунологической толерантности к компонентам собственных клеток поджелудочной железы. При гибели от 85% до 90% β -клеток поджелудочной железы появляются симптомы сахарного диабета. На завершающей стадии аутоиммунный процесс заканчивается с полной гибелью β -клеток.

В условиях деструкции β -клеток развивается абсолютная недостаточность инсулина. Вследствие отсутствия поступления глюкозы в клетку происходит усиление катаболических процессов и повышение уровня глюкагона. В отсутствии инсулина клетки – мишени гормона – печень, мышцы и жировая ткань перестают поглощать питательные вещества из крови, выделяя в кровь собственные запасы глюкозы, аминокислот и жирных кислот. Нарушение метаболизма жирных кислот приводит к образованию и накоплению кетоновых тел. В крови наблюдается выраженная гипергликемия [Гарднер Д., Шобек Д., 2013].

СД2 – преобладающая форма диабета во всем мире, которая характеризуется инсулинорезистентностью и, чаще, относительной недостаточностью инсулина. Как правило, СД2 развивается у генетически предрасположенных лиц при воздействии ряда факторов внешней среды.

Ожирение, малоподвижный образ жизни, стресс, отягощенная наследственность, возраст, пол и этническая принадлежность являются факторами риска развития СД2.

Генетика СД2 включает как полигенные, так и моногенные формы. Выявлено большое количество моногенных форм СД2, однако, наиболее распространенные формы СД2 имеют полигенную природу. Известно около 100 генетических полиморфизмов, ассоциированных с развитием СД2. В целом, такие генетические

полиморфизмы ответственны за 5-10 % риска развития СД2.

Во многих исследованиях подтверждена роль генов *caplan-10*, *PPAR-γ2*, *Kir6*, в развитии СД2. Установлено, что их присутствие увеличивает риск развития СД2 на 20%.

Однако, индивидуального вклада генетических изменений не достаточно для объяснения развития диабета [Кроненберг Г. и др., 2010].

Первичный дефект, или дефекты при сахарном диабете 2 типа остаются неизвестными. Тем не менее, для всех больных СД2 характерно развитие инсулинрезистентности - снижения биологического ответа на действие инсулина. Инсулинорезистентность (ИР) появляется за годы до манифестации диабета и играет наибольшую роль в развитии СД2. ИР манифестирует снижением инсулин – опосредованного транспорта глюкозы и метаболизма в адипоцитах и мышечной ткани. Происходит снижение уровня супрессированного инсулином липолиза в адипоцитах и выхода глюкозы из печени. Инсулинрезистентность сопровождается нарушением различных видов метаболизма, включая обмен глюкозы, липидов и аминокислот. В развитии ИР предполагают наличие генетического компонента. Также, имеется сильная зависимость влияния внешних факторов на реализацию генетической предрасположенности к развитию ИР, и, следовательно, СД2.

Хотя ИР связана с прогрессией СД2, у больных СД2, как правило, также наблюдается некоторая степень дисфункции β- клеток, которую рассматривают как генетический дефект.

Снижение реакции панкреатических β- клеток на глюкозу усугубляется с возрастом вследствие постепенного замещения β-клеток амилоидными отложениями. Хроническая гипергликемия, возникающая в таких условиях, усугубляет как инсулинорезистентность, так и дисфункцию β-клеток. [Гарднер Д., Шобек Д., 2013].

Имеется тесная связь между инсулинрезистентностью, ожирением и наличием СД2. Причем, висцеральное (интраабдоминальное) ожирение, а не общее, связано с ИР и другими метаболическими нарушениями, такими, как повышение концентрации глюкозы, инсулина, общего холестерина, триглицеридов в плазме и

снижением концентрации липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) в плазме. Причина такой зависимости между висцеральным ожирением и множественными нарушениями метаболизма точно не установлена. Среди гипотез, объясняющих данную взаимосвязь, называют большую липолитическую активность абдоминального жира из-за более высокой концентрации на нем адренергических рецепторов; устойчивость висцерального жира к антилиполитическому действию инсулина, включая снижение активности липопротеинлипазы, что приводит к увеличению активности липазы и большему выбросу жирных кислот в кровоток, при котором портальное кровообращение получает наибольшую нагрузку жирными кислотами; также, возможно, что высокие концентрации 11β -гидроксистероиддегидрогеназы в мезентериальной жировой клетчатке приводят к увеличению конверсии неактивной формы кортизола в активный, увеличивая, таким образом, местную продукцию кортизола. Это может вести к увеличению липолиза в адипоцитах и изменению продукции адипокинов, напрямую воздействуя на метаболизм глюкозы [Melmed S. et al., 2011].

Гиперинсулинемия как таковая вызывает нарушение чувствительности к инсулину. Повышение концентрации инсулина может вести к развитию ИР путем снижения чувствительности инсулиновых рецепторов и десенсибилизации пострецепторных путей [Melmed S. et al., 2011].

Инсулинорезистентность может возникать из первоначально нормальной реакции организма на повышенное потребление нутриентов и ожирение, при продолжительном существовании которых формируются патологические состояния, которые приводят к возникновению ИР, воспаления, и даже клеточной гибели. В настоящее время установлено, что в формировании подобных метаболических ответов участвуют генетические факторы [Melmed S. et al., 2011].

В норме в условиях избыточного потребления нутриентов белки, жиры и углеводы запасаются в виде триглицеридов в жировой ткани. При превышении запасающих способностей жирового депо липиды и другие нутриенты входят в другие клетки, не являющиеся запасающими, такие, как миоциты, гепатоциты, клетки сосудов, β -клетки поджелудочной железы, где запускают как адаптивный, так

и неадаптивный клеточный ответ, ведущий к возникновению ИР и клеточной дисфункции. Существуют данные, которые позволяют предположить, что именно неспособность запасать жировую ткань в ответ на переедание является наиболее важным фактором в развитии резистентности к инсулину [Vidal-Puig A., 2013].

Однако, адипоциты являются не только жировым депо. Адипоциты регулируют потребление и высвобождение жирных кислот; гидролизуют триглицериды с образованием глицерола и свободных жирных кислот, секретируют лептин, являющийся сигнальной молекулой энергетического статуса организма, и секретируют и запасают большое количество цитокинов, имеющих гормональные, паракринные и аутокринные воздействия [Melmed S. et al., 2011]. Адипоциты также могут повреждаться вследствие запасаения избытка нутриентов. Вследствие повышения площади поверхности адипоцита при ожирении, происходит повышение экспрессии лептина, интерлейкина (ИЛ) -6, ИЛ-8, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, моноцитарного хемоаттрактантного фактора -1. Эти, и, возможно, другие цитокины привлекают провоспалительные макрофаги, высвобождающие такие факторы, как фактор некроза опухоли- α , ведущие к локальным и системным воспалительным эффектам [Karastergiou K, Mohamed-Ali V., 2010].

Другим механизмом формирования ИР является реакция на неструктурированные белки (unfolded protein response, UPR), представляющий собой каскад процессов, происходящих в ответ на повышенное поступление нутриентов. Другими факторами, играющими роль в возникновении ИР, могут быть активация серин/трионинной киназы mTOR (target of rapamycin), образующей два протеинкиназных комплекса mTORC1 и mTORC2. Данные комплексы составляют ключевую метаболическую сигнальную сеть, которая координирует многие процессы обмена веществ, лучше всего изученные на растущих, пролиферирующих клетках и метаболических тканях. mTORC1 интегрирует сигналы от инсулина и других рецепторов факторов роста и регулируют многие клеточные процессы, включая рост, аутофагию, апоптоз, синтез и транскрипцию белка. В метаболических тканях, таких, как печень, mTORC1 обеспечивает хранение питательных веществ.

Избыточная активация части комплекса mTOR ведет к понижению регуляции инсулиновой сигнализации [Tzatsos A., Kandror K.V., 2006].

В эндоплазматической сети, контролирующей поступление нутриентов в клетку, увеличивается контроль и снижается синтез белков и повышается синтез шаперонов. При развитии стресса эндоплазматической сети, происходит апоптоз клетки, развивается воспалительная реакция. Последствия повышенного потребления нутриентов и ожирения и активации UPR можно наблюдать в печени, жировой ткани, β -клетках поджелудочной железы, мышечных тканях. Происходит повышение эндогенных медиаторов воспаления, снижение печеночного глюконеогенеза, развитие клеточной дисфункции, апоптоз клеток [Hotamisligil G.S., 2010].

Другими патологическими факторами в развитии сахарного диабета 2 типа называют инсулинорезистентность скелетных мышц вследствие первичного дефекта синтеза гликогена, ингибирование захвата глюкозы мышцами из-за повышенного содержания жирных кислот, внутримышечных триглицеридов, связанных с увеличением висцерального липолиза, снижением окислительной способности митохондрий, возможно, генетического происхождения, аномалиями сигнальной способности инсулина при инсулинорезистентности, и пр. [Daiber A. et al., 2020; Melmed S. et al., 2011].

1.2.2. Патогенез сахарного диабета

1.2.2.1 Молекулярные механизмы развития осложнений сахарного диабета

Наиболее важным следствием развития сахарного диабета является повышение уровня глюкозы в крови. Гипергликемия является следствием как постпрандиального повышения уровня глюкозы, так и нарушения продукции глюкозы печенью. Потспрандиальное увеличение гликемии зависит от способности инсулина повышать поглощение глюкозы на периферии и снижать эндогенную

продукцию глюкозы. В норме инсулин прямо снижает продукцию глюкозы печенью, а также косвенно – ингибируя секрецию глюкагона α -клетками поджелудочной железы, вызывающего распад гликогена до глюкозы и глюконеогенез в печени. Печеночная инсулинорезистентность, нарушение подавления продукции глюкозы печенью вносят, возможно, такой же вклад в гипергликемию при СД2, как и периферический дефект поступления глюкозы в ткани [DeFronzo R.A. et al., 1982; Hother-Nielsen O., Beck-Nielsen H., 1991].

Прямым следствием гипергликемии является запуск многочисленных патологических процессов, приводящих к развитию осложнений сахарного диабета. Существующие гипотезы называют четыре основных патологических механизма повреждения тканей, вызванного гипергликемией, - это активация полиолового пути метаболизма глюкозы (пути многоатомных спиртов), образование конечных продуктов гликирования, активация протеинкиназы C, активация гексозаминового пути.

1.2.2.1.1 Активизация полиолового пути метаболизма глюкозы

Гипергликемия и избыточное накопление глюкозы в клетках приводит к увеличению ферментативного превращения глюкозы в многоатомный спирт сорбитол при катализе реакции ферментом альдозоредуктазой. В полиоловом пути сорбитол окисляется до фруктозы с редукцией никотинамидадениндинуклеотида (НАД⁺) в НАДФ. Вклад данного пути в осложнения СД 2 может быть различным в зависимости от тканевой специфичности. По имеющимся данным, в эритроцитах человека приток через этот путь составляет 11% от утилизации глюкозы. Повреждающий механизм, обусловленный утилизацией глюкозы по полиолиловому пути глюкозы, до сих пор до конца не ясен. Так, согласно одной из теорий, предлагавшихся ранее, накопление сорбитола внутри клетки должно приводить к осмотическому повреждению капилляров. Однако, измерение концентрации сорбитола в сосудах и нервах больных СД2 показало, что они не достигают уровней,

необходимых для осмотического повреждения.

Ранее также предполагалось, что увеличенный ток по полиоливному пути опосредованно, через снижение синтеза фосфатидилинозитола, снижает ток по Na^+ , K^+ АТФазе. Однако, позднее было доказано, что связано с активацией протеинкиназы C (PKC). Индуцированная гипергликемией активация PKC увеличивает активность фосфолипазы A2 в цитозоле, что приводит к увеличению синтеза арахидоната и простагландина E2, ингибирующих Na^+ , K^+ АТФазу [Melmed S. et al., 2011].

Ингибирование фермента альдозоредуктазы, превращающей в условиях гипергликемии глюкозу в сорбитол в исследованиях показало противоречивые результаты. Последние исследования указывают на то, что в артериях диабетических мышей альдозоредуктаза оказывает влияние на провоспалительную и протромботическую сигнализацию [Vedantham S. et al., 2014].

Наибольшее влияние альдозоредуктаза оказывает на развитие ССЗ, так, трансгендерная сверхэкспрессия фермента в кардиомиоцитах способствует развитию сердечной недостаточности и нарушению восстановления после ишемии с возрастом [Son N.H. et al., 2012].

1.2.2.1.2 Гиперпродукция конечных продуктов гликозилирования

Конечные продукты гликозилирования (КПГ) при СД в больших количествах описаны в сосудах сетчатки и в почечных клубочках [Carmeliet P., 2003].

В настоящее время полагают, что внутриклеточная гипергликемия – основной фактор, приводящий к формированию как внутри, так и внеклеточных конечных продуктов гликозилирования (КПГ). Предшественники КПГ возникают из внутриклеточного аутоокисления глюкозы в глиоксаль, разложения промежуточного продукта Амадори в 3-деоксигликозон и фрагментации глицеральдегид-3 фосфата в метилглиоксаль. Для формирования КПГ эти три продукта реагируют с аминок группой внутри– и внеклеточных белков [Degenhardt

T.P. et al., 1998; Wells-Knecht K.J. et al., 1995; Thornalley P.J., 1990]. Метилглиоксаль в клетках эндотелия сосудов вносит основной вклад в состав активных предшественников КПП.

Внутриклеточная продукция КПП приводит к модификации КПП внутриклеточных белков, что нарушает их функции; модификация внеклеточного матрикса КПП также приводит к аномальному функционированию матрикса; модификация КПП плазменных белков способствует их связыванию с рецепторами КПП на клетках, таких, как макрофаги, индуцируя продукцию активных форм кислорода [Brownlee M., 1993].

При сахарном диабете накопление КПП в сосудах может вызвать их повреждение и развитие осложнений [Stitt A.W. et al., 1997; 1998; Horie K. et al., 1997; Nishino T. et al., 1995; Niwa T. et al., 1997]. Так, показано, что модификация внутриклеточных белков КПП может регулировать экспрессию генов, участвующих в патогенезе диабетической ретинопатии [Carmeliet P., 2003; Hanahan D., 1997; Jain R.K., 2003].

В крови больных СД концентрация активного предшественника КПП метилглиоксаля может быть увеличена в 3-5 раз, что может значительно увеличивать апоптоз, индуцированный окислительным стрессом и повреждением ДНК. Сформированные из метилглиоксаля и других предшественников КПП может нарушать функции различных матричных молекул, таких, как коллаген I, IV типов, ламинин, витронектин, что проявляется в нарушении эластичности сосудов, изменении структуры базальной мембраны и др. Формирование КПП на базальной мембране почечных клубочков *in vitro* увеличивает их проницаемость для альбумина подобно тому, как это происходит при диабетической нефропатии. Образование КПП в матриксе способно нарушать агонистиндуцированное увеличение Ca^{++} , что может изменять регуляторные функции эндотелия. [Melmed S. et al., 2011].

Внутриклеточно КПП, связываясь со своими рецепторами, могут вызывать длительные клеточные расстройства. В настоящее время идентифицировано влияние КПП на такие ключевые клетки, вовлеченные в поражение при СД, как клетки эндотелия, мезангиальные клетки почечных клубочков, макрофаги. При

связывании с рецепторами в макрофагах и мезангиальных клетках КПП способны вызывать экспрессию цитокинов, ростовых факторов, таких, как интерлейкин-1 (IL-1), инсулинподобный фактор роста-I (IGF-1), фактор некроза опухоли- α (ФНО – α), трансформирующий ростовой фактор- β (TGF- β), макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) и фактор роста тромбоцитов (PDGF), клетками эндотелия – экспрессию прокоагулянтных и провоспалительных факторов, таких, как тромбомодулин, тканевой тромбопластин, молекула клеточной адгезии VCAM-1. В клетках эндотелия связывание КПП с рецепторами также частично индуцирует гиперпроницаемость, возможно, через продукцию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF).

1.2.2.1.1.3 Активация протеинкиназы C

При гипергликемии происходит активация протеинкиназы C (PKC), вызванная увеличением синтеза активатора семейства PKCs диациглицерола из промежуточного продукта гликолиза глицеральдегид-3 фосфата.

Активация PKC в эксперименте ведет к угнетению продукции NO в почечных клубочках. Возможные последствия активации PKC связаны с угнетением продукции NO в почечных клубочках, увеличением эндотелин-1 стимулированной активности MAPK в почечном мезангии, что может приводить к нарушению почечного кровотока. Индуцируемая гипергликемией и активацией PKC экспрессия фактора роста эндотелия (VEGF) в гладкомышечных клетках сосудов связана с усилением ангиогенеза и увеличением сосудистой проницаемости.

Другим последствием активации PKC является гиперэкспрессия TGF- β , приводящая к избыточному накоплению коллагена и фибронектина в капиллярах, что может вести к окклюзии капилляров. Также с сосудистой окклюзией может быть связана избыточная экспрессия ингибитора активатора плазминогена PAI-1 показанная в культуре гладкомышечных и эндотелиальных клеток, что приводит к угнетению фибринолиза. Гипергликемия и активация PKC могут вести также к

усилению экспрессии провоспалительных генов через активацию NF- κ B, а также иметь другие множественные эффекты, путем усиления продукции связанных с мембраной НАДФН-зависимых оксидаз [Koya D. et al., 1997].

1.2.2.1.1.4 Активация гексозаминового пути

Еще один путь шунтирования утилизации глюкозы при гипергликемии происходит через гексозаминовый путь. Было показано, что гексозаминовый путь важен для развития индуцированной гипергликемией и отложением жира инсулинрезистентности. Вследствие активации гексозаминового пути происходят многочисленные изменения в экспрессии генов и нарушения функции белков, способствующие развитию осложнений сахарного диабета. В результате развития гексозаминового шунта гликозилирование белков происходит в форме динамической модификации ядерных и цитоплазматических белков с помощью β -связанного N-ацетилглюкозамина (O-GlcNAc). Выявлено, что у больных СД 2 типа, имеющих сердечно–сосудистые осложнения, хронически повышены уровни модификации белков O-GlcNAc. Неблагоприятные эффекты O-GlcNA ацетилирования на сердечно–сосудистую систему включают снижение сократительной функции, снижение митохондриальной функции и снижение аутофагической сигнализации [Marsh S.A. et al., 2014].

Одно из наиболее важных направлений новых исследований гексозаминового пути связано с снижением сократимости и изменения передачи Ca^{++} сигнализации. Снижение сократимости, по-видимому, является результатом вызванной гипергликемией ковалентной модификация кальций-кальмодулинзависимого белка киназы II (CaMKII) с помощью O-GlcNAc [Erickson J.R. et al., 2013].

В эндотелии коронарных артерий и в каротидных бляшках у больных СД2 индуцированный гипергликемией гексозаминовый путь активирует матриксные металлопротеиназы MMP-2 и MMP-9, повышается также O-GlcNAc-ацетилирование белков клеток эндотелия [Federici M. et al., 2002].

В настоящее время полагают, что каждый из четырех патогенетических механизмов, запускаемых гипергликемией: активация пути многоатомных спиртов, увеличение внутриклеточного и матриксного содержания КПГ, активация протеинкиназы С, а также активация гексоаминового пути, является следствием единого процесса, вызываемого гипергликемией – гиперпродукции перекиси митохондриальной цепи переноса электронов [Nishikawa T. et al., 2000; Brownlee M., 2001; Wallace D.C., 1992; Korshunov S.S. et al., 1997; Yu T. et al., 2006]. Так, предотвращение продукции митохондриального пероксида полностью предотвращает активацию полиолового пути, образования КПГ, РКС и гексоаминового пути [Nishikawa T. et al., 2000].

При сахарном диабете гипергликемия клеток- мишеней индуцирует продукцию активных форм кислорода (АФК). АФК, разрывая молекулярные цепочки ядерной ДНК, активируют ферменты, катализирующие посттрансляционную модификацию белков, PARP. Активированные PARP ингибируют ключевой гликолитический фермент глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу (GAPDH). Ингибирование GAPDH увеличивает содержание первого гликолитического метаболита глюкозы, активируя полиоловый путь утилизации глюкозы. В результате снижения активности GAPDH происходит увеличение содержания другого активирующего метаболита - глицеральдегид-3-фосфата, что в дальнейшем запускает образование КПГ и активацию протеинкиназы С. В дальнейшем увеличивается содержание еще одного метаболита гликолиза - фруктозо-6-фосфата, что усиливает ток по гексоаминовому пути [Melmed S. et al., 2011].

Повышению продукции АФК в митохондриях и с последующей активацией тех же путей повреждения (накопления КПГ, активации РКС, гексоаминового пути), способствует не только гипергликемия, но и увеличение окисления свободных жирных кислот в эндотелиальных клетках, высвобождающихся из адипоцитов в условиях инсулинорезистентности. Усиление патологических путей индуцирует выброс провоспалительных сигналов и антиатерогенных факторов [Du X. et al., 2006].

В настоящее время накоплено много данных, полученных на клинических и животных моделях, которые показывают, что гипергликемия является основным фактором, приводящим к развитию осложнений при сахарном диабете. Воздействия гипергликемии достаточно для развития осложнений диабета [Demir S. et al., 2021].

1.3. Осложнения сахарного диабета

При СД повреждение наблюдают в клетках, в которых развивается внутриклеточная гипергликемия. Такими клетками являются клетки эндотелия. Уже на ранних стадиях развития СД, при отсутствии явных структурных изменений, гипергликемия вызывает нарушение кровотока и сосудистой проницаемости в сетчатке, клубочках и vasa nervorum периферических нервов. Полагают, что гипергликемия вызывает увеличение продукции NO, и, возможно, повышает чувствительность к ангиотензину II в выносящей части капиллярного русла, что ведет к увеличению кровотока и повышению интракапиллярного давления. Развивается дисфункция эндотелия, происходит повышение проницаемости капиллярного русла, обратимые на ранних стадиях заболевания. Повышение капиллярного давления и увеличение сосудистой проницаемости приводит к развитию необратимой микрососудистой окклюзии при сахарном диабете. Капиллярная окклюзия связана, во – первых, с утечкой шифф-положительных белков плазмы (PAS), содержащих углеводы. Осаждаясь в стенке капилляров, белковые соединения стимулируют выработку периваскулярными клетками - перицитами и мезангиальными клетками, - ростовых факторов и внеклеточного матрикса. Во – вторых, экстравазация ростовых факторов, таких, как трансформирующий ростовой фактор- β_1 (TGF- β_1), непосредственно стимулирует выработку компонентов внеклеточного матрикса и способна индуцировать апоптоз в пораженных диабетом клетках [Корр J.B. et al., 1996]. В-третьих, стимуляция экспрессии патологических генов, таких, как переносчик глюкозы GLUT1, ростовых факторов, их рецепторов, компонентов внеклеточного матрикса и молекул адгезии,

могущими активировать лейкоциты, клетками эндотелия и поддерживающими клетками [Chien S. et al., 1998].

Окклюзия и сужение капиллярного русла при СД сопровождается также клеточным апоптозом. Так, в сетчатке происходит апоптоз мюллеровых и ганглионарных клеток, перицитов, клеток эндотелия [Mizutani M. et al., 1996; Paul S. et al., 2020]. В почечных клубочках происходит потеря подоцитов, а также гломерулярных клеток (однако механизмы, лежащие в основе потери гломерулярных клеток, до конца не ясны). В *vasa nervorum* наблюдается дегенерация клеток эндотелия и перицитов, что, по видимости, предшествует развитию диабетической полинейропатии [Giannini C., Dyck P.J., 1995].

Как в сетчатке, так и в клубочках перекрестные помехи между различными типами клеток играют основную роль в развитии повреждений. Ухудшение гематоретинального барьера и последующий отек желтого пятна характерен для диабетической ретинопатии. В сетчатке клетки Мюллера с высоким содержанием глюкозы индуцируют зависящее от времени увеличение стресса эндоплазматического ретикулума, активацию транскрипции экспрессии фактора 4 (ATF4) и синтез провоспалительных факторов [Zhong Y. et al., 2012].

Капиллярные перициты также играют основную роль в обеспечении жизнеспособности эндотелиальных клеток [Hammes H.P. et al., 2011].

Все больше свидетельств указывает на то, что потеря подоцитов и эпителиальная дисфункция играют важную роль в развитии диабетической нефропатии. Воспаление, гипертрофия клеток и их дифференцировка путем активации классических путей регенерации в дальнейшем содействуют прогрессированию заболевания [Reidy K. et al., 2014].

Новые доказательства указывает на то, что эндотелиально-подоцитные перекрестные нарушения клубочкового фильтрационного барьера могут оказать глубокое влияние на функции обоих типов клеток [Siddiqi F.S., Advani A., 2013].

Примером может служить потеря тромбомодулин-зависимого образования активированного белка С (APC) в эндотелии при гипергликемии, вызывающая перекрестные помехи между сосудистыми клетками и подоцитами, что вызывает

апоптоз клубочков и развитие диабетической нефропатии [Isermann B. et al., 2007; Brownlee M., 2007].

В периферических нервах гипергликемия вызывает повреждения в нейронах, в Шванновских клетках, в клетках vasa nervorum [Vincent A.M. et al., 2011].

Другой феномен, имеющий место при сахарном диабете – феномен гипергликемической памяти. Он заключается индуцированных гипергликемией развитии стойких или прогрессирующих микрососудистых поражений, происходящих не смотря на последующую нормализацию гомеостаза глюкозы.

Гипергликемическая память демонстрируется на животных. Так, у собак, имевших повышенный уровень глюкозы в крови в течение 2,5 лет, при последующем поддержании нормального уровня глюкозы в течение 2,5 лет, тем не менее, наблюдается развитие тяжелой ретинопатии [Engerman R.L., Kern T.S., 1987].

Наличие феномена гипергликемической памяти предположено у больных с сахарным диабетом на основании данных, полученных по результатам исследования Diabetes Control and Complication Trial (DCCT) [Diabetes Control., 1993].

Механизмы формирования гликемической памяти до конца не ясны. Однако, частично феномен может объясняться индуцированным гипергликемией повышением транскрипции отдельных матричных генов [Roy S. et al., 1990].

Также возникновение осложнений во время постгипергликемической нормогликемии может объясняться продолжением избыточного митохондриального производства супероксида или изменениями в содержании антиоксидантов. С другой стороны, кумулятивный ущерб, вызванный гиперпродукцией АФК, или изменения экспрессии ферментов, вовлеченных в репарацию, могут также объяснять феномен гипергликемической памяти.

Так, нормализация гликированного гемоглобина HbA1c в течение 6 месяцев после периода с плохим гликемическим контролем в течение 6 месяцев не оказывало влияния на повышенный уровень окислительного стресса в сетчатке диабетических крыс и оказывала лишь небольшое влияние на повышенный уровень антиоксиданта 3-нитротирозина [Kowluru R.A., 2003].

Хотя молекулярные механизмы, лежащие в основе таких очень длительных

изменений в экспрессии генов еще не идентифицированы, индукция стабильных эпигенетических изменений, таких как метилирование ДНК и метилирование и ацетилирование гистонов являются кандидатами на эту роль. Такие изменения могут нарушить уровни экспрессии гена на много лет. Так, временная гипергликемия, на уровне, достаточном для увеличения продукции АФК митохондрий, вызывает длительные активирующие эпигенетические изменения в проксимальный промоторе субъединицы NFκB p65 в эндотелии аорты человека и в аорте *in vivo* у недиабетических мышей. Эти эпигенетические изменения вызывают устойчивое увеличение экспрессии гена p65 и p65-зависимых провоспалительных генов и предотвращается путем нормализации митохондриального производства супероксида или вызванное супероксидом повышение уровня метилглиоксаля [El-Osta A. et al., 2008].

Такие результаты подчеркивают те критические и долгосрочные эффекты, которые кратковременная гипергликемия может вызывать в клетках сосудов и позволяет предположить, что транзиторный подъем гликемии может быть HbA1c-независимым фактором риска развития диабетических осложнений.

Известно также, что формирование микрососудистых осложнений диабета связано с генетической предрасположенностью к их развитию. Обнаружены многочисленные взаимосвязи между риском развития осложнений СД и генетическими полиморфизмами. Установленные гены идентифицированы как факторы, влияющие на восприимчивость к диабетическим осложнениям, то есть, как генетические модификаторы клинического течения заболевания [Melmed S. et al., 2011].

Относительно недавно открытая роль некодирующих регуляторных РНК в клетке также расширяет наше понимание патогенеза осложнений сахарного диабета. Для СД более изученной является роль микроРНК. Нарушение экспрессии микроРНК, регулирующих несколько ключевых биологических путей и клеточных функций, связано с большим количеством патологических изменений при СД. Среди них регуляция выброса АФК, являющихся основным звеном между гипергликемией и развитием клеточных повреждений при СД. В целом, обнаружено

большое количество нарушений в экспрессии микро РНК при диабетической ретинопатии, нефропатии, атеросклерозе [Kato M. et al., 2013; Putta S. et al., 2012; Wang B. et al., 2011; Long J. et al., 2011; Jansen F. et al., 2013; Distel E. et al., 2014; Kuwabara Y. et al., 2015].

Другим фактором, играющим важную роль в патогенезе микрососудистых осложнений СД, является участие стволовых клеток. Так, хорошо известно участие клеток костного мозга в провоспалительных процессах при атеросклерозе. Недавно полученные данные свидетельствуют о том, что данные клетки также могут играть критическую роль в развитии диабетических поражений сетчатки, почки и нервов [Kojima H. et al., 2014]. Так, диабетическая ретинопатия и ее патогномоничная индуцированная гипергликемией потеря эндотелиальных клеток капилляров и перицитов связана с лейкостазом [Hammes H.P. et al., 2011].

У больных СД с развившейся нефропатией интенсивность накопления интерстициальных макрофагов пропорциональна скорости снижения почечной функции [Nguyen D. et al., 2006].

Подавление пополнения макрофагов в почках на животных моделях предотвращает развитие экспериментальной диабетической нефропатии [Nguyen D. et al., 2006].

При сахарном диабете снижена способность стволовых клеток сердца восстановить поврежденный миокард.

Нарушается формирование новых коллатеральных кровеносных сосудов из клеток-предшественников костного мозга. В норме в ответ на ишемию в поражённых тканях циркулирующие клетки – предшественники эндотелиальных клеток костного мозга стимулируют сосудистую регенерацию, совместно с локальными клетками и внеклеточным матриксом. При сахарном диабете клетки – предшественники эндотелия истощены и дисфункциональны [Terper O.M. et al., 2002]. В тканях происходит снижение сосудистой плотности.

Модификация белков связанная с патологически увеличенным продуктом гликолиза метилглиоксальем, по-видимому, играет центральную роль в этом процессе. Высокое содержание глюкозы вызывает снижение активации фактора,

индуцируемого гипоксией-1 α (HIF-1 α), который опосредует выработку стимулируемого гипоксией хемокина, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и хемокина подсемейства CXC (SDF-1) гипоксической тканью, а также экспрессию рецептора SDF-1 и eNOS в эндотелиальных клетках-предшественниках в костном мозге. Уменьшение супероксида на животных моделях приводит к восстановлению постишемической неоваскуляризации, синтеза хемокинов и нормализует выживаемость ткани [Melmed S. et al., 2011].

Мезенхимальные стволовые клетки костного мозга (BM-MPCs) также играют важную роль в неоангиогенезе. Их количество значительно снижено при сахарном диабете. Так, показано, что экспрессия двух транскрипционно различных субпопуляций BM-MPC выборочно истощена как при СД1, так и при СД2 [Januszyk M. et al., 2014].

Однако, в сетчатке при СД активны процессы неоваскуляризации, патогенез данного процесса не до конца ясен. Вероятно, это связано с тем, что сетчатка иначе реагирует на ишемию. В сетчатке при СД обнаруживают повышение сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), являющегося мощным активатором неоангиогенеза [Iwaguro H. et al., 2002].

Таким образом, наиболее яркие последствия хронической гипергликемии можно наблюдать в сосудистой системе. Сосудистый компонент вносит существенный вклад в самостоятельное поражение нервной системы, органа зрения, сердца, кожи, костей, суставов при СД. Также при СД наблюдаются нарушения иммунной системы, системы свертывания крови, реологических свойств крови [Корниенко Е.А. и др., 2018; Gutiérrez E., 2020].

Наиболее распространенные хронические осложнения сахарного диабета – это группа специфических микрососудистых осложнений и макрососудистых осложнений (последнее представляет собой атеросклеротическое поражение). Среди микрососудистых осложнений сахарного диабета выделяют диабетическую ретинопатию, нефропатию. Основными формами протекания диабетических макроангиопатий являются ишемическая болезнь сердца, цереброваскулярные заболевания, заболевания артерий нижних конечностей. Также хроническим

осложнением СД является диабетическая полинейропатия. [Клинические рекомендации., 2023].

1.3.1. Микрососудистые осложнения сахарного диабета

1.3.1.1. Диабетическая ретинопатия

Микрососудистые осложнения сахарного диабета - это специфические поражения микрососудистого русла, в основном - капилляров и прекапиллярных артерий.

Диабетическая ретинопатия (ДР) – распространенное микроваскулярное осложнение хронического течения. ДР характеризуется поражением капиллярного русла сетчатки, образованием неперфузируемых областей, увеличению проницаемости сосудов и появлением патологической неоваскуляризации сетчатки.

ДР - наиболее частая причина наступления слепоты среди трудоспособного населения [Смирнова О.М., 2010].

При развитии ретинопатии в сетчатке происходит, во-первых, потеря перицитов, поддерживающих клеток эндотелия, и утолщение базальной мембраны сосудистого эндотелия. Потеря перицитов влечет за собой образование микроаневризм сосудов, вследствие чего сосудистая стенка становится хрупкой. В местах микроаневризм могут образовываться кровоизлияния в сетчатку. Присутствующие при диабете увеличение агрегации тромбоцитов, улучшение интегрин – опосредованной адгезии лейкоцитов и повреждения эндотелия сопутствуют данным изменениям. Нарушение проницаемости гематоретинального барьера, увеличение проницаемости сосудов ведет к отеку сетчатки, образованию в ней кровоизлияний и плотных экссудатов. При просачивании транссудата в область ямки происходит умеренная потеря зрения.

Постепенно прогрессирование склероза и потеря эндотелия приводит к сужению сосудов, уменьшению перфузии, в дальнейшем происходит облитерация

капилляров и мелких сосудов с развитием ишемии сетчатки.

Ишемия сетчатки является индуктором образования сосудистых ростовых факторов, стимулирующих неоангиогенез и увеличение проницаемости сосудов сетчатки.

Образованные новые сосуды при диабете также хрупки, и могут кровоизъязвляться в сетчатку, что приводит к преретинальным и сосудистым кровоизлияниям.

Таким образом, при диабетической ретинопатии потеря зрения связана с ишемией сетчатки, распространением ее на ямку, отеком макулы и областей возле ямки, преретинальными и ретинальными кровоизлияниями и образованием неоваскулярной глаукомы [Barouch F.C. et al., 2000; Miyamoto K. et al., 1999; 2000].

Наиболее распространенная клиническая классификаций диабетической ретинопатии, используемой в нашей стране, включает три стадии:

Непролиферативная ретинопатия характеризуется наличием микроаневризм, мелких интравитреальных кровоизлияний, отека сетчатки, наличием твердых и мягких экссудативных очагов;

Препролиферативная ретинопатия, - характеризуется присоединением венозных аномалий (четкообразность, извитость, «петли»), наличием множества мягких и твердых экссудатов, интравитреальных микрососудистых аномалий, крупных ретинальных геморрагий.

Проллиферативная ретинопатия, - характеризуется неоваскуляризацией диска зрительного нерва и/или других отделов сетчатки, наличием ретинальных, преретинальных или интравитреальных кровоизлияний (гемофтальма), образованием фиброзной ткани в области кровоизлияний и по ходу неоваскуляризации [Дедов И.И. и др., 2019].

Другим распространенным осложнением сахарного диабета является диабетический отек макулы, встречающийся на любой стадии ретинопатии. Отек макулы представляет собой утолщение сетчатки вследствие накопления жидкости в межклеточном пространстве из-за нарушения гематоретинального барьера и несоответствием между выходом жидкой части и способности к ее реабсорбции

клетками пигментного эпителия. Дегенерация и отек макулы являются наиболее частыми причинами потери зрения при СД. Потеря зрения наступает вследствие отека макулы с вовлечением ямки или вследствие отсутствия перфузии капилляров центральной макулы.

1.3.1.2. Диабетическая нефропатия

Диабетическая нефропатия (ДН)- основная причина заболеваемости и смертности у лиц с СД 1 и 2 типов, в связи с тем, что ДН связана с многократным повышением риска смерти от сердечно – сосудистых событий. Кроме того, в развитых странах СД – это ведущая причина развития терминальной почечной недостаточности.

Вероятно, многие механизмы, включенные в развитие диабетических капиллярных осложнений, играют центральную роль в развитии диабетической нефропатии.

Гипергликемия, вызывающая вышеописанные каскады патологических реакций, такие как гликирование и оксидативный стресс и пр., наряду с гемодинамическими факторами, реализуемыми через ренин –ангиотензин – альдостероновую систему, вызывают развитие диабетической нефропатии [Darenskaya M.A. et al., 2021]. Диабетические изменения в почке представлены множественными механизмами, вызывающими гломерулопатию и, согласно современным исследованиям, поражения и других почечных структур: канальцев, интерстициальной ткани, мозгового вещества, сосочков. Среди таких механизмов, ведущих к гломерулопатии, можно отметить расширение мезангия, клубочковую гипертензию, диффузное утолщение базальной мембраны клубочков, потерю подоцитов, сужение щелевой диафрагмы подоцитов, гломеруломегалию, узловой и диффузный гломерулосклероз и прочее. Для диабетической тубулопатии характерно также множество структурных и функциональных изменений, включающих гипертрофию тубулоэпителиальных клеток, утолщение базальной мембраны

канальцев и пр.

Для развития диабетической нефропатии клинически характерна триада: гипертензии, протеинурии, и снижения скорости клубочковой фильтрации (СКФ).

В настоящее время для клинического определения степени развития диабетической нефропатии используют понятие хроническая болезнь почек (ХБП). ХБП - наднозологическое понятие, обобщающее повреждения почек или снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) менее 60 мл/мин/1,73 м², персистирующее в течение 3 мес, независимо от первичного диагноза [Дедов И.И. и др., 2019].

Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) – основной показатель фильтрационной способности почек, используемый для оценки почечной функции. В клинической практике СКФ наиболее часто определяется по скорости клиренса креатинина. В настоящее время одним из распространенной рекомендованной формулой для расчета СКФ при ДН является уравнение СКD-EPI. Реже используется формула Кокрофта-Голта, MDRD (у больных с низкой функцией почек).

СКФ рассчитывается по формулам на основе концентрации креатинина в крови и анатомо-физиологических показателей (рост, вес, возраст). Облегчает расчет использование специальных калькуляторов. Основные применяемые методики - это формула Кокрофта-Голта, MDRD и уравнение СКD-EPI.

$$\text{СКФ} = a \times (\text{креатинин крови (мг/дл)} / b) c \times (0.993)^{\text{возраст}}$$

•Переменная а имеет следующие значения в зависимости от расы и пола: чернокожие: женщины = 166; мужчины = 164; белые/представители других рас: женщины = 144; мужчины = 141 •Переменная b имеет следующие значения в зависимости от расы и пола: женщины = 0.7; мужчины = 0.9 •Переменная c имеет следующие значения в зависимости от расы и измерения креатинина: женщины : креатинин в крови ≤ 0.7 мг/дл = -0.329; креатинин в крови > 0.7 мг/дл = -1.209 мужчины: креатинин в крови ≤ 0.7 мг/дл = -0.411; креатинин в крови > 0.7 мг/дл = -1.209

Другим важным показателем почечной функции является уровень экскреции альбумина с мочой, отражающий системную эндотелиальную дисфункцию, состояние проницаемости гломерулярного барьера и реабсорбционную ёмкость проксимальных канальцев. Уровень альбуминурии также учитывается в клинической оценке функции почек.

Классификация ХБП в зависимости от степени снижения СКФ, а также классификация альбуминурии описаны в главе клиническая характеристика исследуемых групп.

1.3.2. Макрососудистые осложнения сахарного диабета

В отличие от микрососудистых поражений, строго специфичных для сахарного диабета, макрососудистые поражения не отличается от атеросклеротического поражения сосудов у лиц без диабета. Однако, при СД сердечно – сосудистая патология более обширна и быстрее прогрессирует. Так, при сахарном диабете риск развития ишемической болезни сердца выше на 75-90% [Rosengren A. et al., 1989].

Гипергликемия и инсулинорезистентность являются факторами риска развития макрососудистой патологии. Согласно данным корреляционных исследований, гипергликемия является постоянным фактором риска развития макрососудистых осложнений. Однако, гипергликемия не является столь определяющим фактором развития осложнений, как при развитии микрососудистых поражений. Существующие экспериментальные данные демонстрируют проатерогенную активность инсулинорезистентности. Так, у лиц без СД, инсулинорезистентность является предиктором сердечно-сосудистой патологии вне зависимости от других факторов риска [Yip J. et al., 1998].

Инсулинорезистентность обычно связана с развитием проатерогенной дислипидемии, с характерным липидным профилем, включающим высокий уровень липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), низкий уровень липопротеинов

высокой плотности (ЛПВП) и маленьких плотных ЛПНП, которые являются независимыми факторами риска макрососудистого поражения.

Такая дислипидемия возникает как прямой результат увеличения высвобождения свободных жирных кислот из инсулинорезистентных адипоцитов [Ginsberg H.N., 2000], в дальнейшем запускается патологический каскад нарушения обмена жирных кислот.

Среди макрососудистых осложнений сахарного диабета выделяют ишемическую болезнь сердца, цереброваскулярные заболевания (острые и хронические нарушения мозгового кровообращения), заболевания артерий нижних конечностей.

1.4 Реологические свойства крови

Как уже было отмечено, состояние сосудистой системы играет критическую роль в развитии осложнений сахарного диабета. Реологические свойства крови (от греч. «rhe'os» – течение, поток) - это свойства крови, связанные с ее текучестью.

На движение тока крови в крупных сосудах наибольшим образом влияют инерционные силы, связанные с массой. В микрососудистом русле, в связи с существованием большего сопротивления кровотоку, движение тока крови в наибольшей степени зависит от микрореологических свойств крови.

Реологические свойства крови физически описываются параметром вязкости. Вязкость определяется как внутреннее трение между слоями жидкости.

Кровь – это составная жидкость, представляющая собой макромолекулярный раствор полиэлектролитов сложного солевого состава, содержащий концентрированную взвесь форменных элементов. Поскольку суммарный объем эритроцитов составляет 93-98% от общего числа форменных элементов, реологические свойства крови микрососудистого русла зависят преимущественно от объемных свойств эритроцитов и поверхностного межклеточного взаимодействия эритроцитов [Фирсов Н.Н., Джанашия П.Х., 2008].

Аналогичным образом, реологическое поведение крови в крупных сосудах определяют концентрация и механические свойства только эритроцитов [Левтов В.А. и др., 1982].

1.4.1.1 Вязкость крови

Вязкость жидкости, не содержащей большого числа включений (ньютоновской жидкости) — величина постоянная, зависящая только от температуры. Законам ньютоновской жидкости подчиняется плазма крови, вязкость которой в норме составляет 1.1–1.3 мПа•с (при 37 °С) и определяется наличием в ней крупных молекул (в основном, фибриногена) [Kesmarky G. et al., 2008].

С физической точки зрения, кровь занимает промежуточное положение между эмульсией и суспензией (жидкость со взвешенными в ней не твердыми частицами), поэтому ведет себя как неньютоновская (псевдопластическая тиксотропная) жидкость. Это означает, что вязкость крови изменяется при изменении скорости потока. Так, вязкость крови снижается при увеличении скорости сдвига, повышается при снижении скорости сдвига, а также снижается с течением времени при постоянной скорости потока [Кручинина М.В. и др., 2017; Муравьев А.В. и др., 2010].

Скорость сдвига представляет собой градиент, который имеет максимальные значения у стенки сосуда, и минимальные, приближающиеся к нулевому уровню, в центре сосуда.

Как уже было отмечено, одним из наиболее важных параметров, определяющих вязкость крови, является объемная концентрация эритроцитов. Однако, при различных скоростях сдвига вязкость крови также зависит от способности эритроцитов к изменению формы — деформации, а также способности эритроцитов образовывать внутрисосудистые агрегаты.

Так, при высоких скоростях сдвига вязкость крови строго зависит от способности эритроцитов к деформации. При низких скоростях сдвига вязкость

крови зависит от агрегационных свойств эритроцитов: в крупных сосудах в центре потока скорость сдвига низка, эритроцитарная агрегация в таких условиях снижает сопротивление кровотоку.

В микрососудистом русле агрегация и деформация также имеют существенное значение, в зависимости от качества которых происходит снабжение тканей кислородом.

Вязкость при низких скоростях сдвига коррелирует с плазменной концентрацией фибриногена, глобулинов, альбумина [Муравьев А.В. и др., 2010].

Таким образом, основными факторами, влияющими на вязкость цельной крови, являются объемная концентрация форменных элементов в плазме (гематокрит), свойства плазмы, а также способность к агрегации и деформируемости эритроцитов, что наиболее важно в микрососудистом русле.

1.4.1.2 Агрегация эритроцитов

В цельной крови эритроциты находятся в динамическом равновесии, спонтанно агрегируя и дезагрегируя под действием сдвиговых напряжений. В норме агрегируя, эритроциты образуют линейные цепочки в виде монетных столбиков [Фирсов Н.Н., Джанашия П.Х., 2008]. (рис. 1).

Как уже было отмечено, от способности эритроцитов к агрегации зависит движение крови при низких скоростях течения.

Для объяснения механизма агрегации в настоящее время существует несколько теорий. Согласно одной из них, эритроциты агрегируют благодаря образованию между ними «мостиков» из молекул фибриногена [Bronkhorst P.J. et al., 1997; Lee K. et al., 2017].

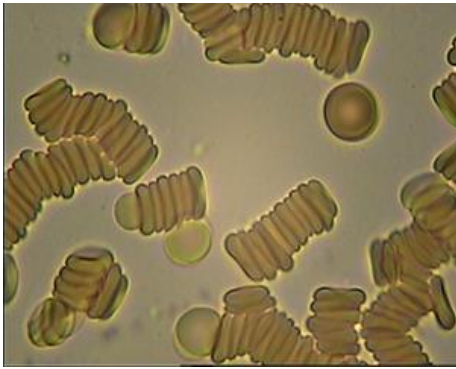


Рисунок 1. Линейные агрегаты эритроцитов в норме.

Теория мостиков основывается на данных оптического исследования, согласно которому, в процессе агрегации эритроцитов с помощью пептида полилизина электрон-плотные молекулы последнего располагаются между соседними клетками подобно «мостикам» [Katchalsky A. et al., 1959].

Другая теория объясняет агрегацию воздействием осмотического (*in vivo* — онкотического) градиента между агрегирующими эритроцитами [Chien S., Sung L.A., 1987].

Согласно т.н. теории истощенного слоя вблизи поверхности твёрдой частицы, помещенной в раствор полимеров, благодаря конформационным особенностям молекул полимера концентрация полимерных молекул ниже, чем в основной массе раствора [Asakura S., Oosawa F., 1954].

Наличие такого истощенного полимерами слоя между сближенными эритроцитами может приводить к возникновению осмотического градиента, оттоку воды из межэритроцитарного зазора и агрегации клеток [Neu B., Meiselman H., 2002].

Однако, понимание механизмов агрегации эритроцитов далеко не полно. Об этом говорят и противоречия между существующими теориями, и отдельные данные, говорящие о возможности влияния на агрегацию эритроцитов внутриклеточных процессов [Муравьев А.В., Муравьев А.А., 2005].

В отдельных работах обнаружена возможность рецепторного взаимодействия молекул фибриногена с клетками в процессах агрегации эритроцитов [Lominadze D., Dean W., 2002; Carvalho F.A. et al., 2010; Sokolova I.A. et

al., 2013].

Многие патологические состояния, которым свойственны микроциркуляторные нарушения, сопровождаются гиперагрегацией эритроцитов [Bronkhorst P.J. et al., 1997].

При этом, образуются агрегаты большого размера, которые имеют сетчатую и глыбчатую

структуру, и обладают повышенной прочностью сцепления между клетками (Рис. 2).



Рисунок 2. Агрегация эритроцитов объемная, в виде сети.

Глыбчатые агрегаты сохраняют свою структуру даже при очень высоких скоростях сдвига. В тяжелых случаях патологической гиперагрегации возможно снижение скорости кровотока, и агрегаты эритроцитов можно обнаружить даже на уровне артериол. Последнее препятствует вхождению клеток в узкие капилляры и способствует их шунтированию по более широким сосудам, в обход капиллярных сетей, увеличивая вероятность развития зон локальной гипоксии [Bronkhorst P.J. et al., 1997].

Таким образом, патологическая агрегация эритроцитов влечет за собой развитие микроциркуляторной патологии.

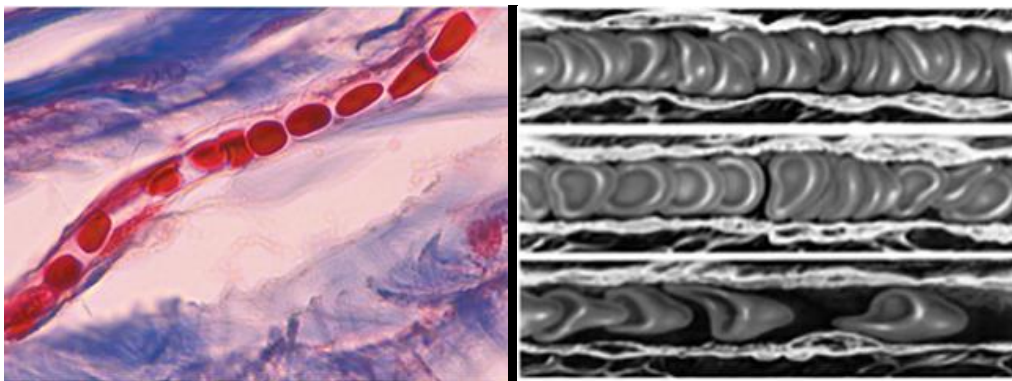
1.4.1.3 Деформация эритроцитов

Способность эритроцитов к деформации играет крайне важную роль в микрососудистой перфузии [Муравьев А.В. и др., 2010].

Как известно, эритроцит представляет собой безъядерную клетку, имеющую форму двояковогнутого диска. Диаметр нормального эритроцита человека составляет в среднем около 8 мкм, толщина – около 2 мкм [Tomaiuolo G., 2014].

Средний размер эритроцита почти вдвое больше размера наименьших капилляров (3-5 мкм), поэтому для прохождения через капилляр эритроциту необходимо деформироваться. Таким образом, способность эритроцита к деформации является условием доставки кислорода в ткани.

Способность эритроцитов к деформации, зависит от таких факторов, как форма (отношение поверхности к объему) и размер клеток, вязко-эластические свойства мембраны, вязкость внутреннего содержимого клетки (которая в том числе зависит от содержания гемоглобина) [Chien S., 1981; Firsov N.N. et al., 2006].



а

в

Рис. 3. Деформация эритроцитов при прохождении через капилляры наименьшего диаметра (а- фото, в- схема- рисунок).

Метаболические изменения, происходящие при СД, влияют на свойства эритроцитов воздействуя на данные детерминанты [Shin S. et al., 2007]. Благодаря своей вогнутой форме эритроцит обладает «избытком» площади поверхности, по сравнению со сферой того же объема. Вогнутая форма клетки обеспечивает как хорошую деформируемость клеток, так и большую диффузионную способность

эритроцита [Reverberi R. et al., 2007]. Деформация до некоторого предела может происходить без существенного натяжения мембраны клетки, что возможно из-за «избытка» площади поверхности по сравнению со сферой того же объема [Левтов В.А. и др., 1982]. В пределах ограничений, накладываемых этим геометрическим фактором, деформируемость эритроцитов зависит от свойств их мембраны и внутреннего содержимого.

Мембрана красного кровяного тельца состоит из липидного бислоя, и в реологическом отношении представляет собой двухмерную жидкость. Молекулы в составе мембраны легко перемещаются в пределах своего слоя, при этом, обмен между слоями затруднен [Evans E.A., 1974]. Механические свойства мембраны эритроцита во многом определяются свойствами «скелетной» сети, находящейся на внутренней части мембраны. Данная сеть состоит из длинных и жестких белков спектрина и актина. Спектриновая сеть эритроцита может быть моделирована в виде решетки с треугольными ячейками. Мембранные структуры эритроцита устроены так, что они слабо сопротивляются деформациям, протекающим без изменения площади поверхности.

Проблема вклада в способность эритроцитов к деформации «внутренней вязкости» до сих пор остается не решенной. До конца не ясно, какой вклад в деформируемость вносит изменение мембраны, а какой – изменение внутреннего содержимого эритроцита, вокруг которого в сдвиговом потоке вращается мембрана эритроцита [Фирсов Н.Н., Джанашия П.Х., 2008].

Нормально деформирующиеся эритроциты легко проходят капилляры наименьшего размера, а также преодолевают участки с неравномерным сосудистым диаметром [Hsu R., Secomb T.W., 1989; Jeong J.H. et al., 2006].

Наличие гемоглобина и хорошая деформируемость клеток позволяют эритроцитам осуществлять эффективный обмен кислорода.

1.4.1 Изменения реологических свойств крови при сахарном диабете

Согласно большому количеству накопленных данных, при сахарном диабете имеются такие нарушения реологических свойств крови, как увеличение вязкости цельной крови и плазмы, увеличение агрегации эритроцитов, снижение способности эритроцитов к деформации [Киричук В.Ф. и др., 2004; Skovborg F. et al., 1966; Cho Y.I. et al., 2006; Loyola-Leyva A. et al., 2018].

Гипергликемия ведет к повышению осмолярности крови, что, наряду с гипоксией, способствует увеличению гематокрита и, соответственно, увеличению вязкости цельной крови. Вязкость плазмы также повышена при СД [Skovborg F. et al., 1966]. Повышение вязкости цельной крови и плазмы у больных с сахарным диабетом наблюдается уже при небольшой продолжительности заболевания [Киричук В.Ф. и др., 2004; Skovborg F. et al., 1966]. Повышение вязкости крови может рассматриваться как один из механизмов патофизиологических нарушений, участвующих в развитии осложнений СД. Повышение вязкости способствует снижению тканевого кровотока, ограничению транспорта кислорода, глюкозы, инсулина [Ойноткинова О.Ш., Корниенко Е.А., 2021]. Данные изменения усиливают инсулинорезистентность, усугубляя течение заболевания. Ухудшение гемореологических свойств в микрососудистом русле также ведет к повышению периферического сопротивления, что провоцирует развитие артериальной гипертензии и усугубляет развитие осложнений СД [Муравьев А.В. и др., 2018; Шилов А.М., Мельник М.В., 2005]. Кроме того, гемореологические нарушения могут вести к тканевому ацидозу и увеличению агрегации тромбоцитов, способствующей развитию эндотелиальной дисфункции [Torregiani F. et al., 1995]. Показано, что при СД 2 происходит активация тромбоцитарно-коагуляционного гемостаза, что (наряду с дислипидемией) связано с прогрессированием микро- и макроангиопатий. При СД1 и СД другого генеза (на фоне акромегалии, тиреотоксикоза, гиперкортицизма) также наблюдается усиление прокоагуляционного потенциала [Петрик Г.Г., 2019].

Существует большое количество экспериментальных данных, указывающих на то, что повышение вязкости крови является патогенетическим звеном в развитии микроангиопатии, полинейропатии, нарушения микроциркуляции, понижении

тканевой перфузии при СД [Deng Y. et al., 2022; Grigoleit H.G. et al., 1973; Hilz M.J. et al., 2000; Kannenkeril D. et al., 2021].

Повышение вязкости также коррелирует с наличием и тяжестью микро- и макро- сосудистых осложнений при СД [Cho Y.I. et al., 2006; Lee S. et al., 2015; Mantskava M. et al., 2006].

Увеличение вязкости крови особенно важную роль играет в развитии диабетической ретинопатии и коррелирует с тяжестью ретинопатии при СД [Peduzzi M. et al., 1984].

Патологические изменения сосудистого русла при СД связаны также с нарушением агрегации эритроцитов, снижением способности эритроцитов к деформации [Фирсов Н.Н. и др., 2006; Antonova N. et al., 2022; Maruyama T. et al., 2022].

1.4.2.1 Изменения эритроцита при сахарном диабете

Хроническая гипергликемия запускает ряд патологических процессов, которые нарушают структуру и функции эритроцита, приводя к дестабилизации липидного бислоя, нарушения белок -липидных взаимодействий, модификации цитоскелета эритроцита, изменению йонотранспортных мембранных систем, изменению мембранно— рецепторных комплексов, нарушению процессов энергообеспечения клетки и интенсификация перекисного окисления липидов. Около 30% содержимого эритроцита составляет белок гемоглобин, состоящий из полипептидных цепей глобина и пигментов гема, содержащих атом железа (Fe^{2+}), благодаря чему гемоглобин способен осуществлять перенос кислорода. Показано, что повышение гликемии натощак связано с повышением уровня гемоглобина, гематокрита и эритроцитов, что отражает компенсаторные реакции организма в ответ на снижение эффективности газообмена эритроцита вследствие его структурных изменений [Feng L. et al., 2020].

Гликирование белка гемоглобина эритроцитов было первым, открытым в

1960-х годах *in vivo* процессом неферментативного гликозилирования белка. По имеющимся данным, повышение уровня гликозилированного гемоглобина приводит к снижению деформационных свойств эритроцита [Symeonidis A. et al., 2001]. По мнению некоторых авторов, снижение деформируемости мембраны связано с увеличением связывания гликозилированного гемоглобина с ее внутренней поверхностью [Watala C. et al., 1985].

Установлено, что при СД имеется нарушение структуры и функции изоформ основных белков цитоскелета эритроцитов, таких, как спектрин, анкирин, белок полосы 4,2 [Zhang Q. et al., 2008]. При исследовании белков цитоплазмы красных кровяных клеток также было выявлено гликозилирование и нарушение функций глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы (GAPDH), карбоангидразы (1 и 2) и альфа, бета и дельта субъединиц гемоглобина [Zhang Q. et al., 2011].

Накопление конечных продуктов гликирования (КПГ) было выявлено в мембранном белке цитоскелета эритроцита – спектрине, при СД. Было предположено, что накопление КПГ, связанное со спектрином, может быть связано со снижением текучести и деформируемости мембраны [Kuwajima S., 1993].

При диабете также происходит патологическое гликозилирование большого числа циркулирующих в крови белков плазмы крови: альбумина, трансферрина, альфа-2-макроглобулина, аполипопротеина А-I и А-II, фибриногена, белков комплемента С3 и С4А, аполипопротеина В-100 и прочие.

Отмечено также, что при СД наблюдаются высокие уровни конечных продуктов гликирования (КПГ) на поверхности эритроцитов. КПГ способны взаимодействовать с иммуноглобулином, экспрессируемым на эндотелиальных клетках, называемых рецептором для КПГ, вызывая сосудистую дисфункцию, связанную с развитием микрососудистых осложнений при СД [Wautier J.L. et al., 1994].

В целом, обнаружено, что гликозилирование мембранных и внутриклеточных белков, связанное с гипергликемией, значительно снижает деформационные свойства мембран и вязко – эластические свойства целой клетки при СД [Watala C. et al., 1985].

Хроническая гипергликемия при СД нарушает асимметрию мембранных компонентов эритроцита, вследствие чего клетка становится узнаваемой и уязвимой для поглощения макрофагов. Один из возможных механизмов данного процесса – накопление метаболита глюкозы метилглиоксаля [Nicolay J.P. et al., 2006].

Повышение соотношения холестерина/фосфолипиды эритроцитарных мембран у больных СД также ведет к снижению их деформируемости [Babu N., Singh M., 2004].

Также при СД в мембране эритроцитов, наравне с плазмой крови, изменяются концентрации жирных кислот. Так, обнаружено повышение концентрации насыщенных длинноцепочечных жирных кислот: пальмитиновой и стеариновой кислот, значительное повышение уровня ненасыщенной арахидоновой кислоты [Sertoglu E. et al., 2014].

Хроническая гипергликемия вызывает гликирование различных компонентов мембраны эритроцитов, дальнейшее окисление КППГ приводит к образованию свободных радикалов, которые могут быть ответственны за разрушительный окислительный стресс, связанный с осложнениями СД. Оксидативный стресс приводит к повреждению мембранных белков эритроцитов, даже при относительно коротком времени воздействия [Maruyama T. et al., 2022].

Было выявлено усиление перекисного окисления липидов, а также более низкие уровни антиоксиданта глутатиона у больных диабетом, имеющих осложнения [Calderón-Salinas J.V. et al., 2011].

Увеличение уровня внутриклеточного Ca^{2+} в клетке ведет к гибели эритроцита, называемой эриптозом [Lang K.S. et al., 2003].

Выявлено значительное снижение активности ферментов $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{-ATФазы}$ эритроцитарной мембраны при инсулинозависимом и инсулиннезависимом диабете.

Среди факторов, являющихся причиной данных нарушений, называют усиление перекисного окисления липидов, накопление КППГ, а также нарушение вязкости и текучести мембраны эритроцита. Нарушение проницаемости мембраны может вести к изменению уровней электролитов и дальнейшим нарушениям в клетке.

Гиперагрегация эритроцитов при СД связана с патологическими изменениями, являющимися следствием гипергликемии. Нарушения структуры мембраны эритроцита ведет к снижению концентрации сиаловых кислот, несущих отрицательный заряд на мембране клетки, что приводит к уменьшению сил электростатического отталкивания эритроцитов, и повышению их способности к агрегации [Budak Y. et al., 2004].

Кроме того, при нарушении асимметрии липидного бислоя мембраны эритроцита, увеличивается способность эритроцитов к эндотелиальной адгезии [Wautier J-L., 2001; Wei Y. et al., 2021].

В свою очередь, гемореологические нарушения могут в дальнейшем вести к тканевому ацидозу и увеличению агрегации тромбоцитов, способствующей развитию эндотелиальной дисфункции [Tentolouris A. et al., 2020; Torregiani F. et al., 1995].

Показано, что при сахарном диабете агрегация эритроцитов повышается [Le Dévéhat C. et al., 2004; Cho Y.I. et al., 2006].

Существует точка зрения, что именно гиперагрегация эритроцитов является наиболее важной из гемореологических нарушений при СД с плохим гликемическим контролем [Cho Y.I. et al., 2006].

Гиперагрегация может быть причиной гемореологических сосудистых нарушений у больных СД, не имеющих сосудистых осложнений [Le Devehat C. et al., 2001].

Способность эритроцитов к агрегации прямо зависит от уровня глюкозы в плазме крови при СД, увеличиваясь при повышении ее концентрации [Babu N., Singh M., 2004].

Тем не менее, зависимость способности эритроцитов к агрегации от уровня гликированного гемоглобина выявляется не во всех исследованиях [Elishkevitz K. et al., 2002].

Выявлено, что гиперагрегация эритроцитов также связана с повышением уровней фибриногена, общего холестерина, триглицеридов, алипопротеида В, С-реактивного белка в плазме крови при СД [Elishkevitz K. et al., 2002; Ziegler O. et al.,

1994].

В большинстве исследований показано, что повышение агрегации эритроцитов выявляется у больных диабетом как без, так и в присутствии макро- и микрососудистых осложнений [Семенов А.Н. и др., 2017; Кравец Е.Б. и др., 2005; Singh M, Shin S., 2009; Attali J.R., Valensi P., 1990].

Согласно другим данным, при сахарном диабете без микрососудистых осложнений, а также при наличии микрососудистых осложнений в фазе субкомпенсации заболевания [HbA1c менее 7.5%], гиперагрегации не наблюдалось [Федюшина О.Г., 2005].

Гемореологические свойства при сахарном диабете 1 типа и 2 типа могут несколько различаться, однако, результаты исследований противоречивы. Согласно одним данным, гиперагрегация эритроцитов наблюдается при диабетах обоих типов, однако при СД2 она выше. Так, в исследованиях гиперагрегация при СД 2 была значительно выше, чем при СД 1 [Le Dévéhat C. et al., 2004; Mantskava M. et al., 2006].

Согласно другим данным, при СД 1 и СД 2 агрегация эритроцитов повышена, но значимо не отличается [Sokolova I.A. et al., 2016].

Повышенная агрегация эритроцитов при СД 1 и 2 типов снижается при инкубации крови *in vivo* и *in vitro* с инсулином, вне зависимости от других факторов [Cinara L. et al., 2006; Coppola L. et al., 1997].

1.4.2.2 Деформация эритроцитов

При сахарном диабете происходит снижение способности эритроцитов к деформации [Pinho D. et al., 2020; Yang J. et al., 2018]. При снижении деформации эритроцитов ухудшится контакт между мембраной клетки и стенкой капилляра, в результате чего диффузия кислорода (в легких, так и в других тканях) снижается.

На способность эритроцита к деформации, кроме вязко – эластических свойств мембраны и внутренней вязкости клетки, влияет также форма эритроцита. Эритроциты с аномальной формой характеризуются снижением деформируемости

[Морозова В.Т. и др., 2007].

При сахарном диабете форма эритроцита изменена. Наблюдается уплощение эритроцита, увеличение периметра клетки, нарастание переходных, предгемолитических и дегенеративных форм. Выраженность нарушения формы эритроцитов зависит от наличия сосудистых осложнений СД [Loyola-Leyva A. et al., 2018].

Выявлено, что способность эритроцитов к деформации снижается по мере увеличения длительности СД. При длительности течения сахарного диабета 2 типа более 10 лет, деформируемость эритроцитов достоверно снижается [Федюшина О.Г., 2005]. Сниженная способность эритроцитов к деформации выявляется у большинства пациентов с микроангиопатией при СД. Наблюдается корреляция между тяжестью осложнений и степенью нарушения деформируемости клеток [Le Devehat C. et al., 1994; Maslianitsyna A. et al., 2021].

Существует точка зрения, что нарушение перфузии тканей при диабете преимущественно обусловлено снижением деформируемости эритроцитов [Zimny S. et al., 2001]. Также, степень нарушения способности эритроцитов к деформации, также, как и отношение концентрации фибриногена и параметров деформируемости, возможно использовать как ранний маркер нарушения функции почек при СД [Lee S. et al., 2015]. Деформируемость эритроцитов зависит от уровня глюкозы крови; при повышении уровня глюкозы, деформируемость ухудшается [Babu N., Singh M., 2004]. Инфузия инсулина при СД, также, как и непосредственная инкубация эритроцитов с инсулином, улучшают способность клеток к деформации [Cinara L. et al., 2006; Coppola L. et al., 1997].

1.5 Микроциркуляторное русло

Микроциркуляторное русло сосудистой системы осуществляет транспорт

крови и лимфы по микрососудам, перенос газов, воды, микро- и макромолекул через стенки капилляров и движение веществ в пространстве, окружающем сосуды, обеспечивая постоянство внутренней среды организма.

Согласно современным представлениям, в среднем организм взрослого человека содержит 10^{11} кровеносных сосудов, 99 % которых относятся к системе микроциркуляции [Schmid-Schonbber G.W., D'Ambrosio G.O., 2000].

Микроциркуляторное русло подразделяется на артериолы, венулы, капилляры. Каждый из этих трех отделов обладает уникальным строением и функциями.

Первыми сосудами, принадлежащими к микроциркуляторному руслу, при движении от крупных артерий к венам, являются артериолы. Основной функцией артериол является изменение сосудистого просвета. Стенка крупной артериолы состоит из слоя эндотелия, окруженного внутренней эластической пластинкой, поверх которой находится несколько слоев гладкомышечных клеток [Goligorsky M.S., 2017; Rhodin J. A., 1967].

Гладкомышечные и эндотелиальные клетки через межклеточные соединения взаимодействуют, реагируя на те или иные стимулы [Segal S.S., 2000; Emerson G.G., Segal S.S., 2001].

По мере приближения к капилляру диаметр артериол истончается, гладкомышечный слой может стать прерывистым. На входе в капилляр каждая артериола имеет прекапиллярный сфинктер, образованный гладкомышечными клетками, который регулирует ток крови, поступающей в капилляр благодаря высокой чувствительности к изменениям уровней различных биологических веществ.

Сосудами наименьшего диаметра являются капилляры. Через проницаемые стенки капилляров происходит обмен веществ между тканевой жидкостью и циркулирующей кровью. Скорость кровотока в капиллярном русле значительно ниже, чем в других отделах, что обеспечивает наиболее эффективный обмен. Объем фильтрации через общую обменную поверхность капилляров организма составляет около 60 л/мин или примерно 85000 л/сут [Каро К. и др., 1981].

Рядом с кровеносными микрососудами располагаются начальные отделы лимфатических капилляров, имеющие фенестры, (от лат. «окна»), через которые в

лимфатическую систему перемещается тканевая жидкость.

Стенки капилляров состоят из эндотелиальных клеток, окруженных базальной мембраной. Эндотелий выполняет барьерную и транспортную функцию, кроме того, он продуцирует различные вазоактивные вещества и, по сути, является паракринным органом. Так, эндотелиальные клетки выделяют оксид азота, который оказывает релаксирующее действие на гладкомышечные клетки сосудов [Triggle C.R. et al., 2020].

Внутри капилляров над слоем эндотелиоцитов располагается гликокаликс, который представляет собой тонкие нити, состоящие из олигосахаридов, связанные кальциевыми мостиками. Механические свойства гликокаликса ограничивают доступ компонентов плазмы к мембранам эндотелиальных клеток [Curry F.E., Adamson R.H., 2012].

В капиллярах периферических органов и тканей транспорт веществ осуществляется в основном через фенестры сосудистой стенки и межклеточные промежутки. Наиболее простой формой транспорта через стенку капилляра является пассивная диффузия. Она осуществляется как через клеточные мембраны эндотелия, так и через плотные межклеточные контакты. При этом, движущей силой диффузии является разница концентраций, которая не требует затрат энергии [Eggleton R.D., Davis T.P., 2005].

Гидростатическое давление в капиллярах несколько превосходит коллоидно-осмотическое давление белков плазмы, благодаря чему градиент давления направлен в сторону ткани и фильтрация жидкости доминирует над ее реабсорбцией в плазму.

По всей наружной поверхности капилляров и мелких венул расположены перициты, - клетки, которые синтезируют целый ряд вазоактивных веществ и играют важную роль в ангиогенезе. В их цитоплазме содержатся тропомиозин, изомиозин и протеинкиназа, которые участвуют в регуляции просвета капилляра. Кроме того, перициты содержат большое количество белка актина, способного к сокращению. Благодаря этой своей структурной особенности они в состоянии изменять просвет капилляров и таким образом регулировать гидростатическое давление [Hirschi K.K.,

D'Amore P.A., 1996].

При необходимости перициты могут дифференцироваться и превращаться в гладкомышечные или эндотелиальные клетки [Афанасьев Ю.И. и др., 2002].

В капиллярах нет гладкомышечных клеток. Однако ряд авторов приходят к мнению, что эндотелиальные клетки способны к сокращению, в связи с наличием микрофибрилл цитоплазмы. Сокращение осуществляется по Ca^{+2} -зависимому пути, что приводит к открытию межклеточных пространств и порообразованию, таким образом, изменяя транскапиллярный обмен [Dull R.O., Garcia J.G.N., 2002].

Следующий отдел микроциркуляторного русла представлен венулами. Основная функция венул заключается в стабилизации капиллярного гидростатического давления для создания условий эффективного обмена. Поскольку капиллярное давление намного ближе к венозному давлению по сравнению с артериальным, изменения венозного сопротивления более значимы для давления в капиллярах по сравнению с изменениями сопротивления в артериальной части системы микроциркуляции [Cabel M. et al., 1997].

Капиллярные петли большинства участков кожного покрова ориентированы под углом 90 градусов к поверхности кожи. Капилляры кожи являются продолжением неанастомозирующих между собой артериол, отходящих от сосудов субкапиллярного артериального сплетения. Поднимаясь к сосочку кожи, капилляр образует изгиб, который является переходом между артериальным и венозным его отделом. Венозный отдел капилляра затем впадает в посткапиллярную венулу, которая собирает кровь от одного или нескольких капилляров и впадает в субкапиллярное сплетение анастомозирующих между собой венул.

1.5.1 Изменения микроциркуляторного русла при сахарном диабете

Изменения сосудистой стенки в системе микроциркуляторного русла и патологические изменения гемодинамики могут значительно ухудшать транскапиллярный обмен. Данные функциональные изменения проявляются даже

при небольших нарушениях гликемического контроля при сахарном диабете [Tooke J.E., 1989; Barrett-Connor E. et al., 2004; Laakso M., 1999].

Так, при исследовании микроциркуляторного русла больных с СД при помощи капилляроскопии ногтевого ложа показано, что при заболевании, вне зависимости от фазы компенсации, происходит снижение плотности микроциркуляторного русла и снижается скорость капиллярного кровотока [Gurfinkel Y.I. et al., 2016].

Снижение средней скорости капиллярного кровотока может быть связано с нарушением реологических свойств крови и гемостаза на фоне длительной гипергликемии. Так, одним из механизмов снижения скорости капиллярного кровотока является снижение способности эритроцитов к деформации. Показано, что эритроциты больных сахарным диабетом медленнее восстанавливают свою форму, по сравнению с нормой [Zimny S. et al., 2001].

Снижение скорости капиллярного кровотока также связано с повышенным уровнем фибриногена, фактора VII, ингибированием активатора плазминогена, что приводит к активации системы коагуляции и повышению риска тромбообразования [Laakso M., 1999; Barchetta V. et al., 2011].

Кроме того, снижение средней скорости капиллярного кровотока может быть связано с утолщением стенки артерий и метартериол при заболевании вследствие накопления продуктов гликирования и повышением сосудистого сопротивления [Tooke J.E., 1989].

Увеличение концентрации фактора активации тромбоцитов стимулирует агрегацию тромбоцитов, что приводит к тромбообразованию и повышает уровень оксидативного стресса [Braquet P., Hosford D., 1991]. Другой механизм нарушения капиллярного кровотока и реологических свойств крови – нарушение обмена амилина, обнаруживаемое уже в предиабете. Это ведет к отложению амилина в эритроцитах и микроциркуляторном русле, что изменяет взаимодействие эритроцитов и капилляров, ведет к активации патологического эритропоэза и тканевой реакции на гипоксию [Verma N. et al., 2020].

При сахарном диабете агрегация эритроцитов повышена, что может вести к

формированию феномена «сладжа», эритроцитарных агрегатов, и даже стаза. Также у больных сахарным диабетом выявлено повышение извитости капилляров. Данные изменения могут быть связаны с компенсаторными механизмами, вызванными снижением диффузионной способности капилляров. Хроническая гипергликемия, отложение продуктов гликирования в стенке капилляра приводят к структурным изменениям капилляра, ухудшая транскапиллярный обмен [Barchetta V. et al., 2011].

Имеются данные о сужении артериального отдела капилляра. Кроме того, у больных сахарным диабетом в фазе декомпенсации наблюдается увеличение периваскулярной зоны, что может быть связано изменением осмотического давления из-за колебания уровня гликемии и активацией свободнорадикальных процессов.

Увеличение периваскулярной зоны при исследовании конъюнктивального микроциркуляторного русла показано в исследовании Трусова В. В. И соавт. (2004) у больных СД1. У больных СД1 с диабетической нефропатией на стадии микроальбуминурии микроциркуляторные нарушения становились еще более выраженными, наблюдались нарушения тонуса микрососудов, их патологическая извитость, неравномерность калибра венул и артериол, наличие изолированных аневризм и участков запустения. Наблюдалось замедление скорости капиллярного кровотока. У больных ДН на стадии протеинурии происходило усугубление данных изменений с появлением более распространенных отеков, кровоизлияний, артериовенулярных анастомозов в микроциркуляторном русле, усиливался феномен «сладжа» эритроцитов [Трусов В. В., 2004].

Таким образом, при сахарном диабете, в особенности при декомпенсации заболевания, выявляются существенные изменения в системе микроциркуляции.

1.6 Заключение

Не смотря на достигнутые успехи в изучении сахарного диабета, в том числе, изучение реологических свойств крови при СД, многие аспекты нарушения микрореологических свойств крови и микроциркуляции при заболевании, также, как и их значение в клинической практике, требуют дальнейшего изучения. Нарушения микрореологических свойств крови могут играть критическую роль в нарушении тканевой перфузии при сахарном диабете, что, с одной стороны, уточняет патогенез и характер осложнений при диабете, с другой стороны, может раскрыть характер осложнений при СД, а также клинические подходы к их диагностике и коррекции, с совершенно новой стороны. Имеющиеся традиционные клинико-лабораторные подходы к диагностике и определению осложнений СД не всегда могут адекватно оценить степень развития осложнений заболевания. Современные методы изучения микрогемореологических свойств крови позволили во многом описать патогенез и характер гемореологических нарушений при сахарном диабете.

Глава 2. Материалы и методы исследования

Клиническая часть работы, часть экспериментальных исследований (исследования кожной микроциркуляции), лабораторные исследования больных, выполнены на базе Московского областного научно-исследовательского клинического института имени М.Ф. Владимирского.

Экспериментальная часть работы (исследования гемореологических свойств) выполнена в лаборатории биомеханики Института механики МГУ им. М.В. Ломоносова, на кафедре физиологии и общей патологии факультета фундаментальной медицины МГУ имени М. В. Ломоносова, а также и на базе Международного учебно-научного лазерного центра МГУ им. М.В. Ломоносова.

Отдельные лабораторные исследования (фибриноген, фракции белков, часть анализов липидного профиля) проводились в лаборатории «Инвитро».

Исследование проведено в соответствии с правилами «ICH Harmonised Tripartite Guideline. Guideline for Good Clinical Practice» Е6 и требованиями Хельсинской Декларации, а также в соответствии с ГОСТ Р 52379-2005.

Протокол экспериментальной и клинической частей работы был одобрен Локальным Этическим Комитетом МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (протокол №12 от 31.08.23 г.).

2.1 Этапы исследования

Работа над диссертационным исследованием включала в себя следующие этапы:

- 1) Подготовительный этап: постановка проблемы, выбор темы, обоснование

- ее актуальности, определение объекта и предмета исследования, постановка целей и задач, выбор методологии для проведения исследования, разработка плана, сбор научной литературы по выбранной теме.
- 2) Прохождение комиссии по биомедицинской этике ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.
 - 3) Прохождение терапевтической комиссии с предоставлением доклада по диссертационной работе в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.
 - 4) Утверждение темы диссертации на Ученом совете ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.
 - 5) Основной этап: организация экспериментальной работы, проведение экспериментов, получение и обработка результатов.
 - 6) Оформление результатов исследования.

2.2 Дизайн исследования

В исследование включались пациенты, находящиеся на госпитализации в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского»

Группа контроля формировалась из практически здоровых добровольцев, давших согласие на участие в исследовании.

Основными критериями включения пациентов в исследование являлись наличие установленного в соответствии с рекомендациями Российского общества эндокринологов диагноза сахарного диабета 1 или 2 типа, в возрасте 18-90 лет, также наличие информированного согласия пациента на проведение исследования [Клинические рекомендации..., 2023].

Основными критериями исключения явились диабетический кетоацидоз, лактатацидотическое состояние, гипогликемическая кома, другие острые состояния

(острый период инфаркта миокарда, нестабильная стенокардия, острое нарушение мозгового кровообращения/транзиторная ишемическая атака, острая почечная недостаточность, и др), беременность и лактация, психические заболевания, употребление алкоголя и наркотиков, состояния, которые, по мнению врача-исследователя, могут повлиять на исход лечения (активный неопластический процесс, иммунодефицитное состояние, и прочее).

Всего в исследование было включено 211 человек, из них 107 больных с сахарным диабетом, 104 практически здоровых добровольцев.

СД1 имели 52 человека (30 женщин и 22 мужчины, в возрасте от 19 до 58 лет, средний возраст 33 ± 11 лет).

СД2 имели 55 больных, (37 женщин и 18 мужчин, в возрасте от 43 до 81 года, средний возраст 61 ± 10 лет).

В качестве контроля в исследование всего было включено 104 практически здоровых добровольца в возрасте 18-78 лет (средний возраст $37,4 \pm 13,4$), сопоставимых по полу (67 мужчин (64%) и 37 женщин (36%)).

Исследование состояло из трех основных этапов. На первом этапе проводился набор пациентов в исследование, общеклиническое исследование по единому протоколу (сбор жалоб, анамнеза, лабораторно-инструментальное обследование). 52 больным СД1 и 43 больным СД2, а также здоровым добровольцам из группы контроля проводилось исследование гемореологических параметров (способности эритроцитов к агрегации, деформации, измерение вязкости крови).

На втором этапе из этих же групп больных 44 пациентам СД1 и 26 пациентам СД2 проводилась оценка кожной микроциркуляции (с проведением пробы тепловой вазодилатации).

На третьем этапе методом оптического пинцета 10 пациентам СД1 и 26 пациентам СД2 проводилась оценка сил агрегации и дезагрегации на уровне отдельных эритроцитов.

Дизайн исследования представлен на Рисунке 4.

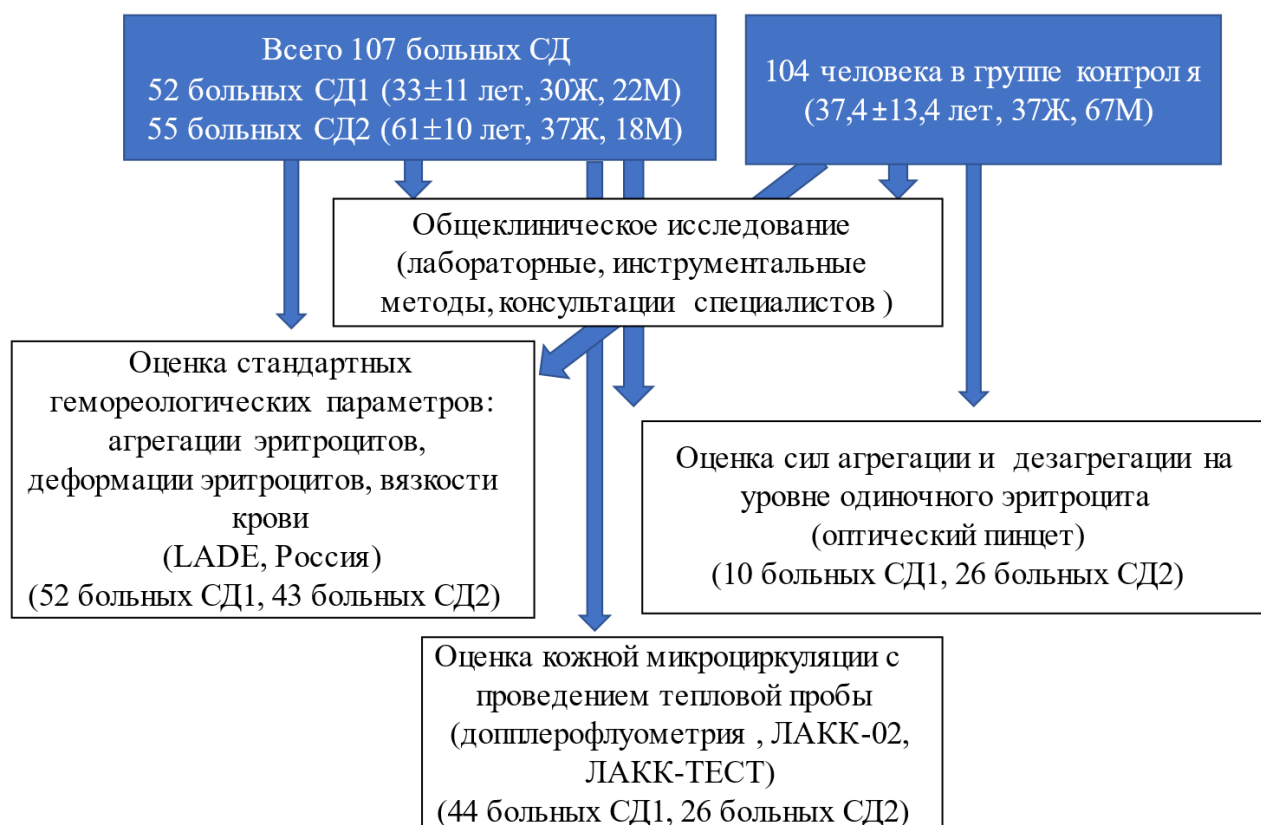


Рисунок 4. Дизайн исследования.

2.3 Методы исследования

2.3.1 Клинико-инструментальные методы обследования больных

Всем госпитализированным больным проводилось полное клинико-инструментальное исследование по единому протоколу. Протокол включал в себя подробный сбор жалоб и анамнеза, физикальное обследование, антропометрию (измерение роста и веса пациента, расчёт ИМТ), измерение АД. Также проводился осмотр глазного дна в условиях мидриаза окулистом, на основании чего устанавливалась наличие и стадия ретинопатии.

2.3.2 Лабораторные исследования

Всем больным, а также добровольцам из группы контроля проводились следующие лабораторные исследования:

Общий клинический анализ крови. Включал определение концентрации гемоглобина, числа эритроцитов, гематокрита, вычисление цветового показателя, подсчёт числа лейкоцитов, тромбоцитов, определение лейкоцитарной формулы, скорости оседания эритроцитов (СОЭ).

Выполнен на автоматическом гематологическом анализаторе «МЕК-6400 J/K» фирмы «Nihon Kohden corporation» (Япония).

Общий клинический анализ мочи. Включал определение цвета, прозрачности, удельного веса, pH, содержание белка, глюкозы, кетонов, уробилиногена, билирубина, гемоглобина, нитритов, а также оценку состава элементов мочевого осадка (эпителий, лейкоциты, эритроциты, бактерии, соли, слизь).

Выполнен при помощи автоматического анализатора iChem Velocity (Beckman Coulter, США)

Биохимический анализ крови. Включал показатели общего белка, альбумина, глюкозы, креатинина, мочевины, трансаминаз (АЛТ, АСТ), ЛДГ, общего белка, билирубина и его фракций, мочевой кислоты, сывороточных белков, холестерина, липопротеинов низкой плотности, липопротеинов высокой плотности, триглицеридов, электролитов (K^+ , Na^+ , Cl^- , Ca^{++}).

Выполнен на автоматическом биохимическом анализаторе ORGENTEC Diagnostika GmbH (Германия).

Анализ крови на уровень гликированного гемоглобина в крови. Произведено при помощи автоматического анализатора DCA Vantage (Siemens AG, Германия)

Определение уровня суточной протеинурии (грамм/сутки).

Анализ мочи по Нечипоренко. Включал определение количества лейкоцитов и эритроцитов в моче.

Анализ крови для определения уровня С-реактивного белка. Проводился с использованием высокочувствительного иммунонефелометрического метода с латексным усилением с помощью автоматического анализатора специфических

белков ARRAY 360 (США).

Анализ крови для определения уровня фибриногена. Определение проводилось по скорости образования сгустка при добавлении избытка тромбина к разведённой плазме (по Клаусу). Выполнялось с помощью автоматического коагулометра ACL 9000 (Instrumentation Laboratory, США, реагенты той же фирмы).

Анализ для определения уровня иммуноглобулинов (Ig) A, M, G в сыворотке крови. Определяли методом иммуноэлектрофореза.

2.3.3 Диагностика микрососудистых осложнений

2.3.3.1 Диагностика нефропатии

Диагностика ХБП и установление степени альбуминурии проводилась согласно общепринятой классификации, по признакам, подробно описанным в таблице 1 [Клинические рекомендации..., 2021]. Расчёт уровня СКФ проводился при помощи значения уровня креатинина, определенного при лабораторной диагностике, по формуле EPI (Рисунок 5).

$$pСКФ_{CKD-EPI} = 141 \times \min \left(\frac{Kp_{сыворотки}}{k}, 1 \right)^{\alpha} \times \\ \times \max \left(\frac{Kp_{сыворотки}}{k}, 1 \right)^{-1,209} \times 0,993^{\text{возраст}} \times \\ \times k_1 \times k_2 \text{ (мл/мин/1,73 м}^2\text{)},$$

Рисунок 5. Формула EPI для расчёта уровня СКФ (мл/мин/1,73м²)
186 – коэффициент, учитывающий среднюю площадь поверхности тела; k₁ – поправка на пол пациента: 0,742, если женщина; 1, если мужчина; k₂ – поправка на расу пациента: 1,210, если афроамериканцы; 1, если не афроамериканцы; Kp_{сыворотки} – концентрация креатинина в сыворотке (мг/дл)

Таблица 1. Классификация степеней ХБП по уровню СКФ и категории альбуминурии.

Стадии ХБП				Альбуминурия*		
				A1	A2	A3
				Оптимальная или незначительно повышенная	Высокая	Очень высокая
				<30 мг/г	30–300 мг/г	>300 мг/г
				<3 мг/ммоль	3–30 мг/ммоль	>30 мг/ммоль
СКФ, мл/мин/1,73м ²	C1	Высокая или оптимальная	90	Низкий**	Умеренный	Высокий
	C2	Незначительно снижена	60–89	Низкий**	Умеренный	Высокий
	C3a	Умеренно снижена	45–59	Умеренный	Высокий	Очень высокий
	C3b	Существенно снижена	30–44	Высокий	Очень высокий	Очень высокий
	C4	Резко снижена	15–29	Очень высокий	Очень высокий	Очень высокий
	C5	ТПН	<15	Очень высокий	Очень высокий	Очень высокий

*Альбуминурия определяется как отношение альбумин/креатинин в разовой (предпочтительно утренней) порции мочи; альбуминурия выше 300 мг/г соответствует уровню протеинурии выше 0,5 г/л. СКФ рассчитывается по формуле СКД-EPI;
 **низкий риск – т.е. как в общей популяции. При отсутствии признаков повреждения почек категории СКФ C1 или C2 не удовлетворяют критериям ХБП.

2.3.3.2 Диагностика ретинопатии

Осмотр сетчатки осуществлялся окулистом, и проводился в условиях мидриаза. Диагностика стадии ретинопатии осуществлялась в соответствии с признаками изменения сетчатки, подробно описанными в таблице 2.

Таблица 2. Изменения на глазном дне при диабетической ретинопатии, по стадиям.

Стадия	Характеристика
Непролиферативная ретинопатия	Жалоб нет. Наличие на глазном дне микроаневризм, мелких интравитреальных кровоизлияний, отека сетчатки, наличием твердых и мягких экссудативных очагов;
Препролиферативная ретинопатия	Жалобы на снижение остроты зрения. Наличие венозных аномалий (четкообразность, извитость, «петли»), наличием множества мягких и твердых экссудатов, интравитреальных микрососудистых аномалий, крупных ретинальных геморрагий.
Пролиферативная ретинопатия	Резкое снижение остроты зрения, вплоть до слепоты. Неоваскуляризация диска зрительного нерва и/или других отделов сетчатки, наличием ретинальных, преретинальных или интравитреальных кровоизлияний (гемофтальма), образованием фиброзной ткани в области кровоизлияний и по ходу неоваскуляризации. Возможны осложнения: фракционное отслоение сетчатки, рубец радужки, вторичная глаукома.

2.3.4 Методы исследования реологических свойств крови

Исследование реологических свойств крови проводилось при помощи трех различных оптических методов. Способность эритроцитов к агрегации и деформации тестировалась на уровне ансамбля клеток при помощи коакциально-цилиндрического агрегометра-деформометра «LADE» (РеоМедЛаб, Россия), в котором используется метод диффузного светорассеяния. Исследование сил взаимодействия эритроцитов и деформационных свойств эритроцитов на уровне отдельных клеток проводилось при помощи метода двухканального оптического захвата на экспериментальной установке в лаборатории Международного лазерного центра Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Также, *in vivo* изучалось состояние микроциркуляторного русла на примере кожной микроциркуляции у больных сахарным диабетом, используя метод лазерной доплерометрии, при помощи прибора Лакк-2 и модуля Лакк-тест.

Преимущества такого подхода заключаются в возможности проведения более целостной оценки реологических свойств крови, возможности установления взаимосвязей между ними и функциональным состоянием кровотока.

2.3.4.1 Исследование реологических параметров крови (способность эритроцитов к агрегации и деформации) при помощи коакциально-цилиндрического агрегометра- деформометра LADE

Изучение агрегации эритроцитов производили методом регистрации обратного светорассеяния при помощи коакциально - цилиндрического агрегометра – деформометра LADE (ReoMedLab, Россия) [Donner M. et al., 1988].

Способность эритроцитов к деформации исследовали на том же приборе,

методом эктацитометрии [Bessis M., Mohandas N., 1975].

Исследование проводили на образцах венозной крови, взятой натощак. Кровь стабилизировали в пробирке с EDTA (0,002 г/мл), сохраняя при температуре 23 °С. Измерение проводилось в течение 1.5–4 часов после взятия пробы, при температуре 25 °С.

Вязкость плазмы крови оценивалась при помощи капиллярного вискозиметра (диаметр капилляра 0.8 мм, длина 118 мм). При этом вязкость определялась как отношение, равное $t_{\text{плазмы}}/t_{\text{воды}} \times \eta_{\text{воды}}$. Показатель t — это время истечения тестируемой жидкости, $\eta_{\text{воды}}=0.9$ мПа•с (при 25 °С).

Перед гемореологическим тестированием образца крови гематокрит образца приводился к стандартному (40%). С этой целью методом центрифугирования определялся гематокрит во взятых пробах, затем для приведения к стандартному гематокриту из них отбирали необходимый объем эритроцитарной массы, либо плазмы. Также в ходе эксперимента оценивалась морфология эритроцитов, при помощи оптического микроскопа, используя 40-кратное увеличение.

Реологические свойства крови и показатели динамической агрегации-деагрегации тестировались при помощи коаксиально-цилиндрического лазерного агрегометра-деформометра "LADE". Данный прибор использует метод регистрации интенсивности обратного светорассеяния лазерного луча от образца крови, помещенного между двумя соосными стеклянными цилиндрами системы Куэтта. Для этого образец крови помещается в кювету прибора (внешний цилиндр), в который опускается соосный стеклянный цилиндр (реологический зазор в системе 0,9 мм). Благодаря вращению внешнего цилиндра в образце образуется поток, что вызывает деагрегацию эритроцитов, спонтанно агрегирующих в пробе. Прибор LADE использует следующий диапазон скоростей сдвига: - от 0 до ~ 3500 сек⁻¹. Через образец крови в стеклянном цилиндре перпендикулярно к направлению течения проходит лазерный луч (длина волны 650 нм, мощность 1 мВт,). регистрируется Световоспринимающий элемент регистрирует интенсивность светорассеяния луча от пробы крови. При максимальной разобоченности (деагрегации) клеток в пробе

количество центров светорассеяния максимально и регистрируется наибольшая интенсивность светорассеяния. По мере агрегации эритроцитов в пробе крови количество центров светорассеяния снижается, интенсивность светорассеяния падает [Dobbe J.G.G., 2003].

Исследованные реологические параметры крови:

Характеризующие агрегацию эритроцитов:

- Время первой фазы агрегации эритроцитов **T1, (с)**
- Скорость протекания самых начальных моментов процесса агрегации **κTb, (с⁻¹)**

Характеризующие прочность агрегатов эритроцитов:

- Прочность наиболее крупных эритроцитарных агрегатов (**I2,5, %**)
- Прочность основной массы эритроцитарных агрегатов (**β, с⁻¹**)

Характеризующие деформационные свойства эритроцитов:

- Время начала деформации эритроцитов (**begun(.), с⁻¹**)
- Интенсивность деформации эритроцитов при ускорении потока (**tgα**)
- Максимальная растяжимость эритроцитов (**IDmax**)

Эксперимент начинался с периода высокоскоростного течения образца крови, в течение которого распадались (деагрегировали) спонтанно образовавшиеся эритроцитарные агрегаты. Затем поток останавливали, после чего в течение 2 мин., регистрировали снижение интенсивности обратного светорассеяния (**I**) со временем (**T**), в процессе спонтанной агрегации эритроцитов (График 1).

Характерное время спонтанной агрегации эритроцитов оценивалось параметром $T = \frac{l}{\ln(I_a)}$, где **I** – интенсивность обратного светорассеяния от образца.

После остановки мотора спонтанная агрегация эритроцитов могла протекать в две фазы. Во время первой фазы происходило формирование двумерных агрегатов, «монетных столбиков», протекающее относительно быстро. Во вторую фазу формировались крупные трехмерные агрегаты. Даная фаза протекала более замедленно. Полученная кривая интенсивности обратного светорассеяния,

отражающая двухфазное формирование эритроцитарных агрегатов, позволяет рассчитать время первой фазы агрегации - T_1 , и время второй фазы агрегации – T_2 . Данные показатели (T_1 , T_2) рассчитывали по формуле $T_{1,2} = T / \ln I$.

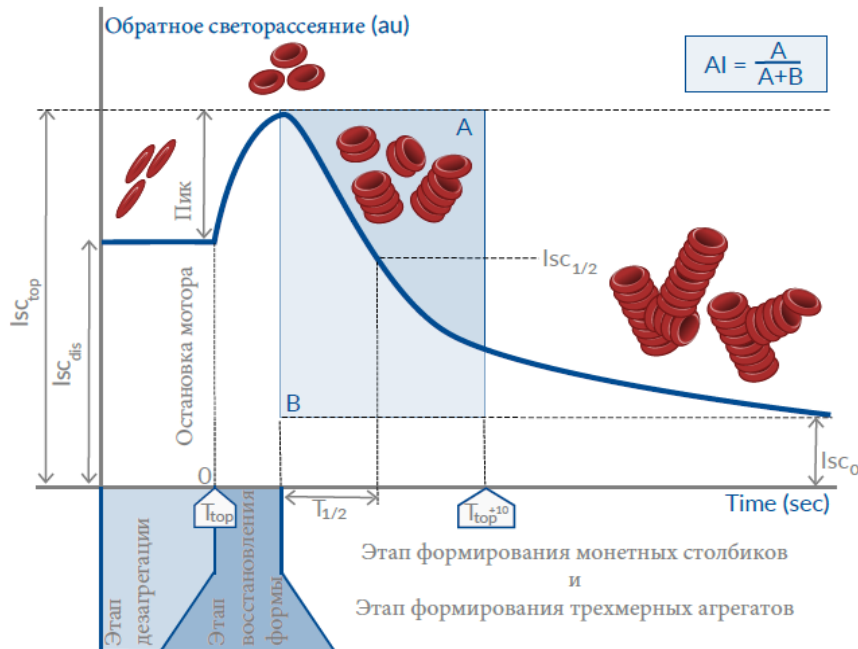


График 1. Интенсивность обратного светорассеяния в ходе спонтанной агрегации эритроцитов в образце крови.

Также оценивали параметр скорости протекания начальных моментов процесса агрегации (κT_b). Данный параметр предоставляет дополнительную информацию о скорости первого взаимодействия эритроцитов; он вычислялся после перевода кривой $I_a(t)$ в полуобратные координаты (в связи с тем, что эта часть кривой лучше описывается гиперболой).

На следующем этапе исследования ступенчато увеличивали скорость сдвига от $\sim 2.5 \text{ c}^{-1}$ до $\sim 130 \text{ c}^{-1}$, в результате чего происходила постепенная дезагрегация эритроцитарных агрегатов в исследуемом образце; таким образом оценивалась стабильность эритроцитарных агрегатов. Экспоненциальные кривые зависимости интенсивности светорассеяния от времени $I(T)$ и от скорости сдвига $I(\dot{\gamma})$ спрямляли, переводя в полулогарифмические координаты. Определяли показатель прочности

основной массы эритроцитарных агрегатов в сдвиговом потоке ($\beta = \frac{\dot{\gamma}}{\ln(I_d)}$).

Кроме того, оценивали параметр прочности наиболее крупных агрегатов ($I_{2.5}$). Данный параметр отражает процент агрегатов, разъединяющихся при минимальной скорости сдвига ($\sim 2,5 \text{ сек}^{-1}$). Для превращения $I_{2.5}$ из показателя легкости распада агрегатов эритроцитов в показатель силы их взаимодействия ему придавался отрицательный знак [Korotaeva T.V. et al., 2007].

Деформируемость эритроцитов оценивали методом эктацитометрии при ступенчатом увеличении скорости сдвига от 0 до 2700 с^{-1} . Данный метод основан на диффракции лазерного луча от суспензии эритроцитов и построении соответствующей диффракционной картины, усреднено соответствующей контурам отдельных эритроцитов. Исследуемую пробу крови после забора помещали в вакуумную пробирку с КЗ-этилендиаминтетрауксусной кислотой. Затем образец цельной крови помещали в 1,5% раствор высокомолекулярного полиэтиленоксида Polyox WSR-301 (Union Carbide (США), молекулярная масса $4 \times 10^6 \text{ Да}$), разбавляя образец в пятьсот раз для получения диффракционной картины от отдельных эритроцитов. В растворе, по мере увеличения скорости сдвига, эритроцит вытягивается, ориентируясь по направлению потока, что обуславливает изменение диффракционной картины в виде увеличения элонгации овала. Диффракционная картина позволяет рассчитать деформируемость эритроцитов как индекс деформируемости ID (или индекс элонгации (IE)). Данный индекс определяется как отношение $A-B/A+B$, где A – длина, B – ширина эллипса эритроцита. Зависимость индекса деформируемости от скорости сдвига представлена на графике 2.

Одним из параметров, характеризовавших способность эритроцитов к деформации являлась пороговая скорость сдвига ((.)begin), при которой начинался процесс деформации клеток в сдвиговом потоке.

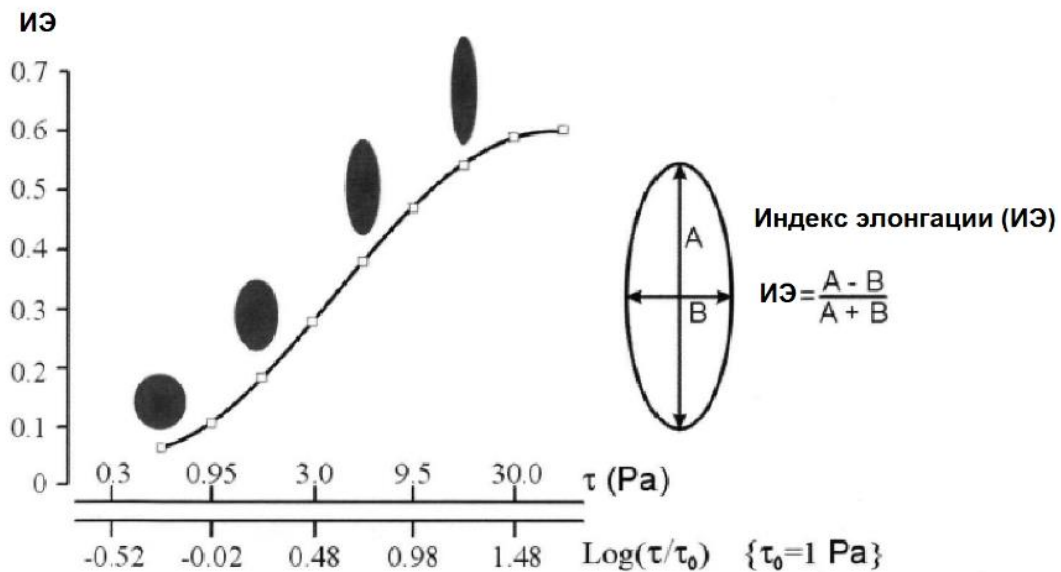


График 2. Кривая зависимости индекса деформируемости (элонгации) от скорости сдвига.

Полученная кривая зависимости индекса деформации (ID) от скорости сдвига ($\dot{\gamma}$) переводилась в полулогарифмические координаты. Другим показателем способности эритроцитов к деформации являлась интенсивность деформации эритроцитов в ускоряющемся потоке ($\dot{\gamma}$ от 0 до $\sim 2700 \text{ c}^{-1}$); для ее определения использовался параметр тангенса наклона прямой ID ($\ln(\dot{\gamma})$) $\text{tg}\alpha$.

Одним из параметров, характеризовавших способность эритроцитов к деформации являлась пороговая скорость сдвига ((.)begin), при которой начинался процесс деформации клеток в сдвиговом потоке.

Полученная кривая зависимости индекса деформации (ID) от скорости сдвига ($\dot{\gamma}$) переводилась в полулогарифмические координаты. Другим показателем способности эритроцитов к деформации являлась интенсивность деформации эритроцитов в ускоряющемся потоке ($\dot{\gamma}$ от 0 до $\sim 2700 \text{ c}^{-1}$); для ее определения использовался параметр тангенса наклона прямой ID ($\ln(\dot{\gamma})$) $\text{tg}\alpha$.

Максимальное удлинение эритроцитов ($\text{ID}_{\max}$) в сдвиговом потоке тестировали при наибольшей скорости сдвига $\dot{\gamma} = \sim 2100 \text{ c}^{-1}$ [Фирсов Н.Н. и др., 2006].

2.3.4.2 Измерение сил взаимодействия эритроцитов при помощи системы оптического захвата

Измерения сил взаимодействия эритроцитов на клеточном уровне проводились при помощи двухканальной системы оптического захвата (т.н. «лазерного пинцета»). Схема экспериментальной установки приведена на рисунке 7. Данный метод позволяет проводить исследование клеточных взаимодействий без механического контакта со стороны измерительной техники [Lee K. et al., 2016].

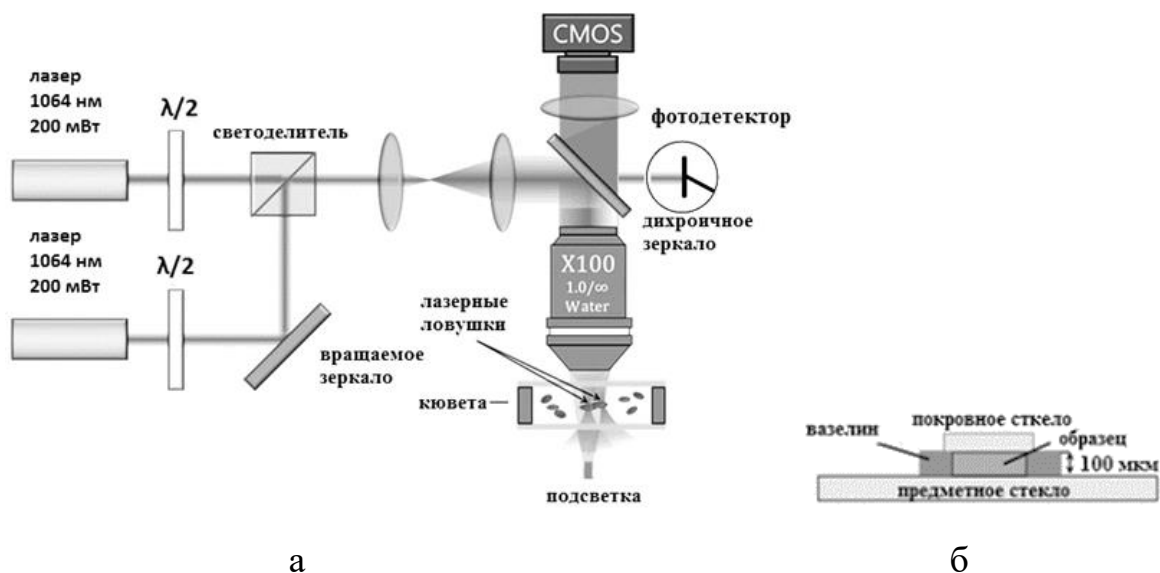


Рисунок 7. Схема экспериментальной установки, а - двухканальная система оптического захвата, б - кювета с образцом.

В качестве источников излучения в установке используются два Nd:YAG лазера (длина волны 1064 нм, мощность 200 мВт). Метод лазерного пинцета, использующийся в установке, основан на способности захвата клетки лазерным пучком при соприкосновении клетки и пучка. Испускаемый источником лазерного излучения световой пучок, выходя из системы линз, при помощи дихроичного зеркала попадает на апертуру объектива, а также подается на фотодетектор для

измерения мощности. Мощность пучков регулируется полуволновыми пластинами, установленными непосредственно после лазеров. В двухканальной системе один из пучков, захватывающих клетку, всегда неподвижен, область фокусировки второго пучка изменяется при помощи зеркала, что позволяет менять положение клетки (точки захвата) на плоскости. Таким образом, одна клетка фиксируется пучком, а другая перемещается в кювете относительно первой с известной силой. (Расположение лазерных ловушек в установке указано стрелками на рисунке 7(а)) (Рисунок 7(б)) – кювета, размещенная на моторизированной платформе. За объективом и кюветой с образцом установлены линза и камера.

Для проведения измерений использовалась сильно разбавленная суспензия эритроцитов. Для этого получали плазму путем центрифугирования по схеме: 1 – центрифугирование в течение 5 минут при 600 g; 2 – центрифугирование по 5 минут при 11 000 g (повторялось дважды). После центрифугирования плазму разбавляли, получаемая концентрация эритроцитов в пробе составляла около 0,05%. В измерительный объем кюветы добавлялось 70 мкл исследуемого образца. Перед проведением измерений выполнялась калибровка экспериментальной установки, при которой уточнялись соотношение значений силы оптического захвата $F_{\text{опт}}$ с мощностью лазерного пучка. Измерения проводились при комнатной температуре, поскольку было показано, что свойства агрегации эритроцитов не изменяются при температурах 20 и 37°C [Lee K. et al., 2016].

Мощность лазерного пучка в области фокусировки составляла 25 мВт, максимальная сила захвата клетки 12 пН. Диапазон сил взаимодействия эритроцитов составляет 1 – 10 пН, что позволяет измерять их методом оптического захвата. Нагреванием клетки от лазерного захватывающего пучка в условиях эксперимента возможно пренебречь вследствие незначительного поглощения эритроцита на длине волны лазера, а также наличия большого объема плазмы вокруг клетки, отводящей тепло.

В экспериментальных условиях проводилось измерение силы агрегации (F_A), характеризующей взаимные силы «притяжения» клеток, и силы дезагрегации (F_D), возникающие при активном разделении клеточного агрегата. Процедура измерения

силы агрегации (F_A) состоит из 3-ех последовательных операций (Рис. 8).

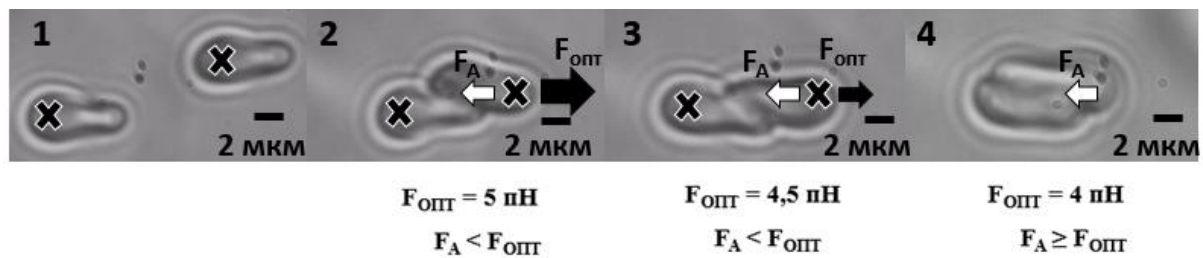


Рисунок 8. Методика измерения силы агрегации эритроцитов (пошагово, микрофотографии). Крестовые метки соответствуют точкам положения оптических ловушек, стрелки указывают направления приложенных сил (F_A – белая стрелка, $F_{\text{опт}}$ – черная стрелка).

Два эритроцита захватывались лазерными пучками, один из которых – неподвижным, второй – подвижным. Затем с помощью подвижной ловушки клетки приводятся в контакт: образуется дуплет клеток, площадь соприкосновения клеток при этом равна около 40% поверхности клетки. После взаимодействия эритроцитов сила оптического захвата $F_{\text{опт}}$ (черная стрелка на рис. 8) уменьшается до тех пор, пока ее становится недостаточно для препятствия спонтанной агрегации (сила F_A обозначена белой стрелкой на рис. 8). При превышении сил агрегации силы оптического захвата ($F_A > F_{\text{опт}}$) клетка вырывается из ловушки, начинается процесс спонтанной агрегации. В процессе спонтанной агрегации мембраны клеток практически полностью перекрываются. В этот момент фиксируется значение мощности пучка, вычисляется значение силы оптического захвата, которое приравнивается к силе агрегации F_A .

Процедура измерения силы дезагрегации F_D также состояла из трех последовательных операций, 1 и 2 шага были идентичны процессу измерения F_A . На третьем шаге положение подвижного лазерного пучка изменялось. Образовавшийся на предыдущем шаге агрегат разделяли, с применением снижающейся силы оптического захвата для нахождения минимальной силы, необходимой для разделения агрегата. Эта значение оптической силы фиксировалось и считалось

равным силе дезагрегации F_D .

Для каждого образца измерения сил F_A и F_D проводились на не менее, чем 15 парах различных эритроцитов. Итоговые результаты были получены после усреднения измеренных значений.

Поскольку в физиологических условиях процесс агрегации и дезагрегации – динамический, спонтанно протекающий процесс, то очевидно, что результат такого взаимодействия будет зависеть не только от сил агрегационного взаимодействия эритроцитов, но и от сил, вызывающих дезагрегацию. С целью получения более приближенной к физиологическим условиям картины результирующего взаимодействия эритроцитов, был введен параметр взаимодействия двух эритроцитов, задаваемый отношением средних величин сил при их дезагрегации и агрегации:

$$R = \frac{\langle F_D \rangle}{\langle F_A \rangle}.$$

Данный параметр рассчитывается для каждого образца крови и далее усредняется по всей группе. Полученные средние значения R сравнивались между контрольной группой и группами СД1 и СД2. Введенный параметр R оказался более чувствителен для демонстрации результирующих сил взаимодействия эритроцитов [Семенов А.Н. и др., 2017].

2.3.5 Исследование кожной микроциркуляции

Исследование микроциркуляторного русла проводили, используя метод кожной капилляроскопии. Исследование кожной микроциркуляции крови производился методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью комплекса ЛАКК-02 и модуля ЛАКК-ТЕСТ.

Метод лазерной доплеровской флоуметрии основан на отражении лазерного луча, испускаемого световодным зондом анализатора, от движущихся эритроцитов.

Получаемые сигналы от исследуемой микроциркуляторной области пропорциональны скорости движения эритроцитов и отражают объем потока эритроцитов в кровеносном сосуде и качество микроциркуляции. Схема зондирования ткани анализатором ЛАКК-2, приведена на рисунке 9.

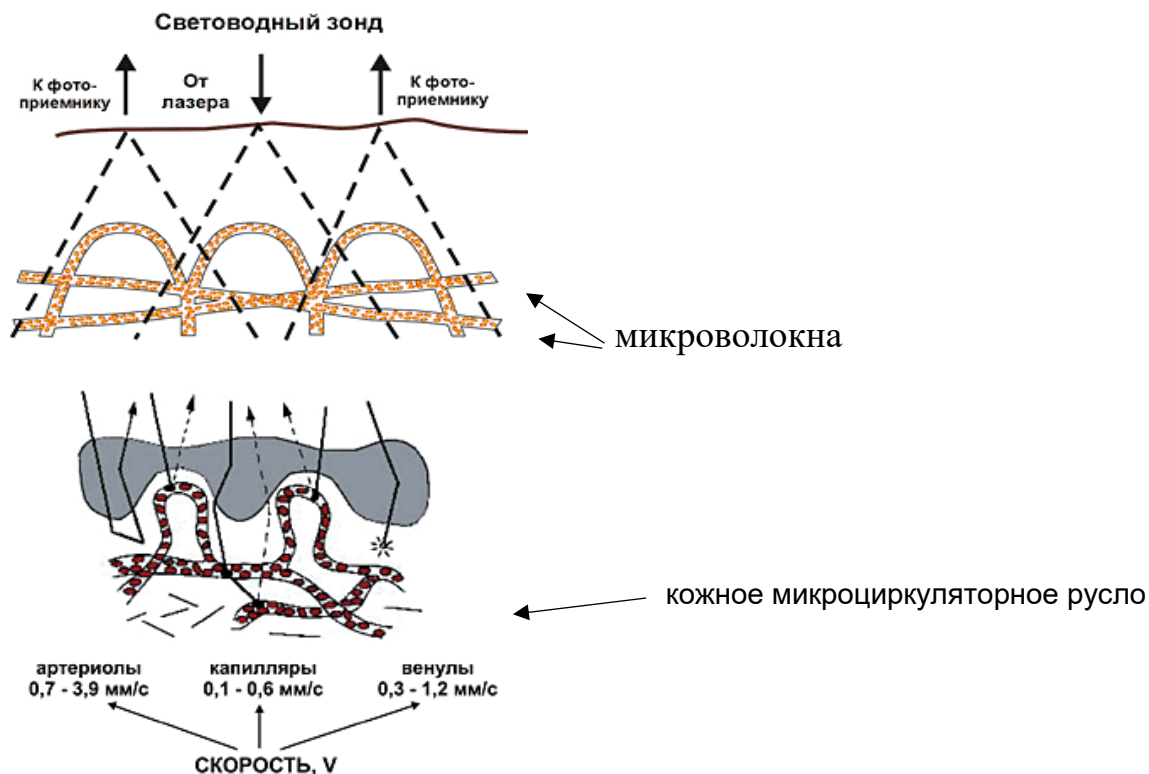


Рисунок 9. Схема зондирования ткани анализатором ЛАКК-02 при помощи метода лазерной доплеровской флуометрии.

Анализатор ЛАКК-02 доставляет зондирующее излучение от лазера к области исследований и имеет три моноволоконна, ориентированных перпендикулярно исследуемой поверхности, содержащих фотоприемник, воспринимающий отраженное от ткани излучение. Воспринимаемые фотоприемником сигналы формируются от всех эритроцитов, находящихся в кровеносных сосудах (артериолах, капиллярах, венулах и артериовенулярных анастомозах) исследуемой области.

Для оценки микроциркуляции в исследовании зонд и температурный элемент модуля ЛАКК-ТЕСТ фиксировали к коже на тыльной поверхности правого предплечья на 4-5 см проксимальное срединной линии лучезапястного сустава. Проводилась оценка артериального давления при помощи манжеты тонометра, наложенной на правое плечо. Начальная температура нагревательного элемента

устанавливалась модулем ЛАКК-ТЕСТ на уровне 32,1-32,3 °С. Исследование кожной микроциркуляции крови проводили по следующему алгоритму. В течение 2 минут регистрировали базовую перфузию, после чего включали нагрев на максимальной скорости (~ 1-2 °С / сек.) до 42°С в течение 5 минут.

После проведения пробы получали показания ЛДФ в перфузионных единицах (ПЕ) с частотой 20 Гц. График получаемой ЛДФ-граммы смотри на графике 4. Для «горизонтальных» участков ЛДФ-граммы: периода регистрации базовой перфузии (БП) (период 1 на рис. 10), периода тепловой гиперемии (ЛТГ) (период 3 на графике 4), – выбирали репрезентативные участки ЛДФ-граммы длительностью не менее 30 секунд и рассчитывали средние арифметические значения (М1) у каждого пациента. На периоде активного роста тепловой гиперемии (период 2 на графике 4) дополнительно были рассчитаны такие показатели, как уровень перфузии через 2 минуты нагрева (ПЕ), скорость прироста гиперемии за 2 минуты нагрева (ПЕ/с), площадь под микроциркуляторной кривой за 2 минуты нагрева (ПЕ*с), увеличение микроциркуляции на фоне нагрева в абсолютных значениях (ПЕ).

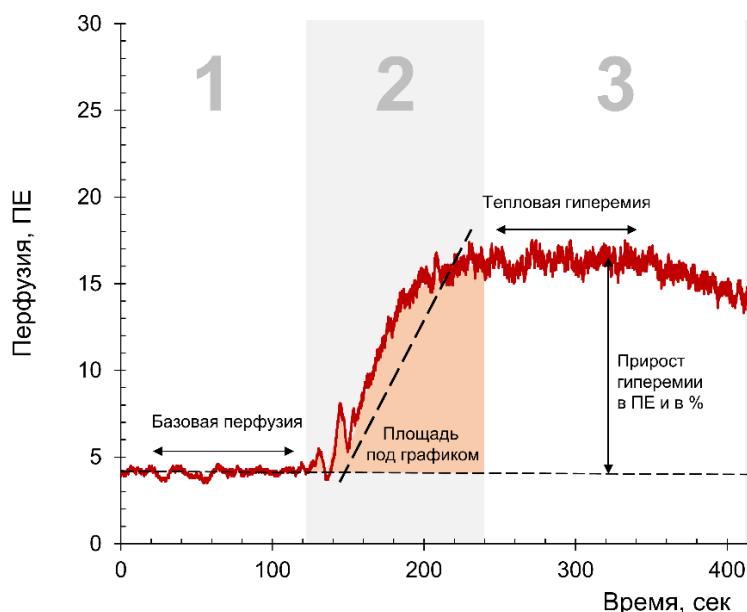


График 4. ЛДФ-грамма с обозначением периодов пробы и анализируемых параметров. 1 – период регистрации базовой перфузии (БП), 2 – период активного роста локальной тепловой гиперемии, 3 – период тепловой гиперемии (ЛТГ).

Анализирувавшиеся при помощи лазерной доплеровской флоуметрии параметры:

M_1, (ПЕ) – среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции в покое

Sl_2_120, (ПЕ/с)– наклон линии линейной регрессии за первые две минуты фазы активного нагрева

AUC_2_120, (ПЕ*с) – площадь под кривой за две минуты активного нагрева

M_3, (ПЕ) – среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции при тепловой вазодилатации

Delta_M_3-1, (ПЕ) – увеличение микроциркуляции на фоне нагрева в абсолютных значениях.

2.4 Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных производилась при помощи статистического пакета IBM SPSS Statistics 26.

В исследуемых группах оценивался характер распределения (нормальное/не нормальное). В группах $n < 50$ распределение оценивалось при помощи теста Шапиро-Уилка, в группах с $n > 50$ использовался тест Колмогорова-Смирнова, распределение считалось нормальным при $p > 0,05$. В соответствии с характером распределения применялись параметрические или непараметрические критерии.

В случае нормального распределения выборки производилось усреднение полученных данных групп, представленное в виде среднего значения $\pm$ стандартного отклонения ($\pm s.d.$). Для статистического парного сравнения групп с нормальным распределением использовался t-критерий Стьюдента.

Группы с ненормальным распределением сравнивались при помощи критерия Манна-Уитни для 2-х независимых выборок, и критерия Краскена-Уоллеса при более чем 2-х независимых выборках. Для оценки данных использовались медиана, 25% и 75%-й квартили (Me [25%, 75%]).

Анализ корреляций проводился в случае выборки с нормальным распределением проводился при помощи применялся метода Пирсона, если

распределение не было нормальным, - метода Спирмена, с определением коэффициента корреляции. Полученные результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Для характеристики связи использовался коэффициент ρ , принимавшего значения от 0 до 1, уровень значимости переменных принимался за значимый при $p < 0,05$.

Поиск математических прогностических признаков происходил с использованием регрессионного анализа. Выбрана линейная регрессия для числовых рядов данных.

Вероятность наступления события при категориальных зависимых переменных рассчитывали при помощи бинарной логистической регрессии рассчитывается по формуле:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}},$$

где $z = b_1 \times X_1 + b_2 \times X_2 + \dots + b_n \times X_n + a$,

где X_i — значения независимых показателей, b_i — коэффициенты, a — константа. Расчёт b_i и a производится при помощи бинарной логистической регрессии. Вероятность наступления события оценивалась от 0 до 1. При $p = 1$ предполагается, что событие наступит с вероятностью 100%. Значимым p является его значение более 0,6.

Глава 3. Результаты исследования

3.1 Характеристика клинической части работы

Всего в исследование было включено 211 человек, из них 107 больных с сахарным диабетом, 104 практически здоровых добровольца (Таблица 3).

Таблица 3. Распределение больных СД1 и СД2, группы контроля по полу, возрасту.

Группа	СД1	СД2	Контроль
Всего больных	52	43	104
Женщины	29 (55%)	33 (76%)	67 (64%)
Мужчины	23 (44%)	10 (24%)	37 (36%)
Средний возраст, годы	33±11 (19-58)	61±10 (43-80)	37,4±13,4 (18-78)
Продолжительность заболевания, лет	12,6±8,8	13,3±8,9	-

СД1 имели 52 человека (30 женщин и 22 мужчины, в возрасте от 19 до 58 лет, средний возраст 33±11 лет).

СД2 имели 55 больных, (37 женщин и 18 мужчин, в возрасте от 43 до 81 года, средний возраст 61±10 лет).

В качестве контроля в исследование всего было включено 104 практически здоровых добровольца в возрасте 18-78 лет (средний возраст 37,4±13,4), сопоставимых по полу (67 мужчин (64%) и 37 женщин (36%)).

Исследование гемореологических свойств крови проводилось 95 больным с СД (52 человека имели СД1, 43 человека СД2) и в группе контроля.

Исследование кожной микроциркуляции проводилось 69 больным с СД (41 больному с СД1 и 28 больным с СД2).

Исследование агрегации-деагрегации на уровне отдельных эритроцитов

проводилось 36 больным с СД (10 больным с СД1 и 26 больным с СД2).

3.1.2 Клиническая характеристика исследованных групп пациентов

По результатам физикального, лабораторного, и инструментального обследований диагностировалось наличие осложнений сахарного диабета. В дальнейшем приведена клиническая характеристика групп пациентов СД1 и СД2, которым проводилось исследование реологических свойств крови, а также (большей части пациентов) - оценка кожной микроциркуляции.

3.1.2.1 Микрососудистые осложнения сахарного диабета

3.1.2.2 Диабетические поражения глаз

Среди больных с СД1 22 человека (42,3%) имели диабетическое поражение глаз: диабетическую ретинопатию (19), диабетическую катаракту (3). 9 человек имели другие поражения глаз, среди которых неполная осложненная катаракта (4), хориоретинальная дистрофия (3), макулярная дегенерация (1), формирующийся клапанный разрыв сетчатки (1), авитрия (1). Подробная клиническая характеристика исследуемых групп дана в таблице 4.

Таблица 4. Распределение пациентов СД1 и СД2 в зависимости от наличия поражения глаз.

Группа	СД1	СД2
Диабетическая ретинопатия (всего)	19 (36,5%)	16 (37,2%)
Непролиферативная	3 (5,7%)	4 (9,3%)
Препролиферативная	15 (28,8%)	10 (23,2%)
Пропролиферативная	1 (1,9%)	2 (4,6%)
Диабетический макулярный отек	-	1 (2,3%)
Диабетическая катаракта	3 (5,7%)	3 (7%)
Другие поражения глаз	9 (17,3%)	7 (16,3%)
Без поражений глаз	2 (3,8%)	0
Итого	52 (100%)	43 (100%)

Среди больных СД2 20 человек (46,5%) имели диабетические поражения глаз. Из них 16 человек имели ДР, в 1 случае препролиферативная ДР была осложнена макулярным отеком. 3 человека имели диабетическую катаракту. Другие поражения глаз имели 7 человек, среди которых 5 имели неполную осложненную катаракту, 1 - хориоретинальную дистрофию, 1 - артификацию обоих глаз.

3.1.3.3 Диабетическая нефропатия

Среди больных СД1 34 человека (65%) имели диабетическую нефропатию, среди больных СД2 34 человек (80%). Более детальная информация о наличии нефропатии в исследуемых группах. Более детальная характеристика альбуминурии представлена в таблице 5.

Таблица 5. Распределение ХБП у пациентов с СД1 и СД2.

ХБП, стадия, альбуминурия	СД1	СД2
С1, А2-3	22 (42,3%)	7 (16,2%)
С2, А1-3	10 (19,2%)	14 (32,6%)
С3а, А1-3	2 (3,8%)	11 (25,5%)
С3б, А1-3	0	1 (2,3%)
С4, А1-3	0	1 (2,3%)
С5	0	0
Всего пациентов с ХБП	34 (65,4%)	34 (79%)
Без ХБП	18 (34,6%)	8 (18,6%)
Итого	52 (100%)	43 (100%)

3.1.2.2 Макрососудистые осложнения сахарного диабета и сопутствующая патология (артериальная гипертензия, ожирение)

Среди пациентов с сахарным диабетом 1 типа ИБС имели 2 человека 3,8 (%), ХИГМ 1 человек (1,9%). ЗАНК, ОНМК не зафиксировано.

Среди пациентов с сахарным диабетом 2 типа ИБС имели 11 человек (25,5%),

ЗАНК – 6 человек (13,9%), в том числе 1 человек имел синдром диабетической стопы с ампутацией пальца (2,3%). ХИГМ имели 2 человека, ОНМК в анамнезе не зафиксировано.

Наиболее частая сопутствующая патология представлена артериальной гипертензией и ожирением. На момент исследования все пациенты, имевшие АГ, находились в фазе компенсации. Более детальная характеристика структуры сопутствующей терапии и макрососудистых осложнений представлена в таблице 6.

Таблица 6. Характеристика макрососудистых осложнений и сопутствующей терапии (АГ, ожирения) в исследуемых группах.

Макрососудистые осложнения, сопутствующая патология	СД 1 типа, чел, %	СД 2 типа, чел, %
ИБС	2 (3,8 %)	11 (25%)
ХИГМ	1 (1,9%)	2 (4,6%)
ЗАНК	0	6 (13,9%)
АГ	10 (19,2%)	36 (85,7%)
Ожирение	4 (7,7%)	22 (51,1%)

3.1.2.3 Диабетическая полинейропатия

В группе исследованных больных из возможных диабетических полинейропатий были выявлены дистальные симметричные полинейропатии: сенсорная, и сенсо-моторная формы.

Таблица 7. Структура полинейропатии в исследуемых группах.

Диабетическая дистальная полинейропатия	СД 1 типа	СД 2 типа
Сенсорная	34 (68%)	27 (62,7%)
Сенсо-моторная	16 (32%)	11 (25,5%)
Итого	50 (96,1%)	38 (88,3%)
Всего больных СД	52 (100%)	43 (100%)

Среди пациентов с СД1 50 человек (96,1%) имели диабетическую дистальную полинейропатию. Среди пациентов с СД2 38 человек (88,3%) имели установленную диабетическую дистальную полинейропатию (табл.7). Другие формы нейропатий

зарегистрированы не были.

3.1.2.4 Характеристика проводимой терапии в исследуемых группах

Все больные с сахарным диабетом получали сахароснижающую терапию (см. таблицу 8).

Больные с сахарным диабетом 1 типа получали инсулины на базис-болюсной схеме при помощи подкожных инъекций (34 человека (65%)), либо при помощи помповой терапии (18 человек (34%)).

В терапии пациентов использовались инсулины длительного действия (гларгин, детемир), средней продолжительности действия (лизпро, изофан), короткого действия (актрапид, глизулин), а также ультракороткого действия (аспарт).

Среди пациентов с диагнозом СД2 типа 27 человек получали инсулинотерапию, из них 7 человек не получали других сахароснижающих препаратов.

Больные с сахарным диабетом 2 типа получали также пероральные сахароснижающие препараты: метформин, препараты сульфонилмочевины, агонисты глюкагоноподобного пептида-1, антагонисты дипептидилпептидазы-4, ингибиторы транспортера глюкозы SGLT-2. (Характеристику получаемой терапии см. в табл. 8).

Таблица 8. Сахароснижающая терапия в группах СД 1 и СД1.

Терапия	СД1 (кол-во пац., %)	СД2 (кол-во пац., %)
Инсулины (гларгин, детемир, хумалог, актрапид, изофан, глизулин, аспарт)	52 (100%)	27 (62,7%)
Бигуаниды (метформин)	-	28 (65,1%)
Препараты сульфонилмочевины	-	6 (13,9%)
Агонисты глюкагоноподобного пептида-1	-	3 (8,9%)
Антагонисты дипептидилпептидазы-4	-	8 (18,6%)
Ингибиторы транспортера глюкозы SGLT-2	-	8 (18,6%)
Итого	52 (100%)	43 (100%)

Сопутствующая терапия. Характеристика сопутствующей терапии дана в табл. 9. Большинство больных с СД1 не получало никаких других препаратов, кроме инсулинов. 10 человек с СД 1 получали ингибиторы АПФ, 9 получали статины, 4 человека – β -блокаторы. Препараты других групп принимали 3 человека, из них 2- антидепрессанты, 1-блокатор протонной помпы.

Среди пациентов с СД2 16 человек принимали антиагреганты (ацетилсалициловую кислоту), из них 2 человека в дополнение к АСК принимали клопидогрел, 4 человека получали антикоагулянты. Большинство пациентов с СД 2 получало иАПФ (25 человек), 23 человека принимали статины, 21 - β -блокаторы, 12 человек получало блокаторы Ca^{++} каналов, 10 человек – тиазидные диуретики. Препараты других групп получали 9 человек, из них 4- ингибиторы протонной помпы, 3 принимали антибактериальные препараты, 1 человек получал антидепрессант, 1 – препарат железа.

Таблица 9. Сопутствующая терапия в группах СД1 и СД2.

Терапия в исследуемой группе	СД1	СД2
Антиагреганты (Ацетилсалициловая кислота)	1 (1,9%)	16 (37,2%)
Антикоагулянты	-	4 (9,3%)
Статины	9 (17,3%)	23 (53,4%)
Тиазидоподобные диуретики	1 (1,9%)	3 (7%)
Тиазидные диуретики	-	10 (23%)
Ингибиторы АПФ	10 (19,2%)	25 (58,1%)
В-блокаторы	4 (7,65)	21 (48,4%)
Блокаторы Ca^{++} каналов	-	12 (27,9%)
К-сберегающие диуретики	-	2 (4,65%)
Левотироксин натрия	3 (5,8%)	4 (9,3%)
Другие препараты	3 (5,8%)	9 (20,9%)
Всего	52 (100%)	43 (100%)

3.2 Корреляции в группах СД1 и СД2

Среди пациентов группы СД1 исследованы корреляционные связи между такими показателями, как возраст, продолжительность заболевания, уровень гематокрита, уровень гликированного гемоглобина, глюкозы, фибриногена,

альбумина, холестерина крови, и показателями реологического тестирования крови (вязкость крови, гематокрит, kT, T1, T2, $\beta 1$, $\beta 2$, IDmax, AMP, I2,5, (.).begin, tg1) и кожной микроциркуляции (M1, CV1, SL2_120, AUC2_120, M3, CV3).

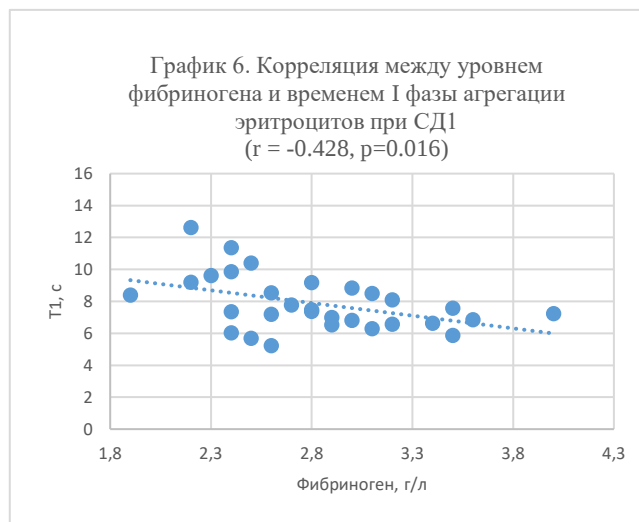
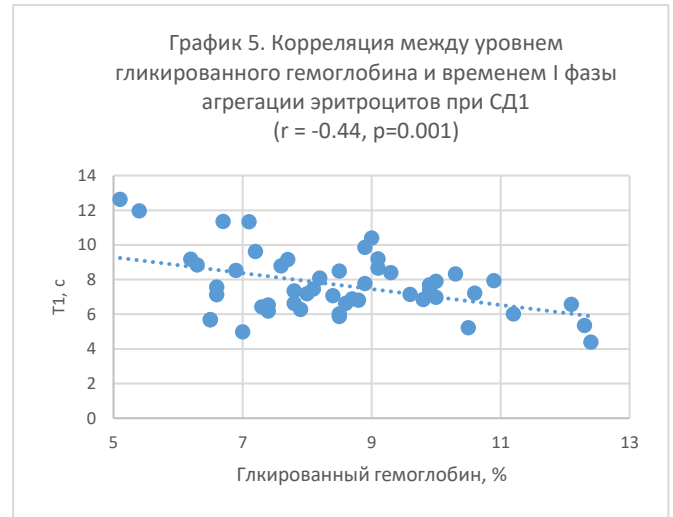
Выявлено наличие корреляций умеренной силы между возрастом и временем агрегации T1 ($\rho = -0.311$, ($p=0.002$)), возрастом и скоростью агрегации kT ($\rho = 0.347$, ($p=0.01$)), продолжительностью заболевания и временем агрегации T1 ($\rho = -0.423$, ($p=0.002$)), продолжительностью заболевания и скоростью агрегации kT ($\rho = 0.448$, ($p=0.001$)). Суммарная характеристика выявленных корреляций дана в таблице 10.

Таблица 10. Корреляции в группе СД1.

Параметры корреляции СД1		Индекс корреляции, ρ	Значимость, p
возраст	время 1 фазы агрегации (T1)	-0.31	0.002
	скорость 1 фазы агрегации (kTb)	0.35	0.01
Продолжит. заболевания	время 1 фазы агрегации (T1)	-0.42	0.002
	скорость 1 фазы агрегации (kTb)	0.448	0.001
НbA1c	время 1 фазы агрегации (T1)	-0.44	0.001
	скорость 1 фазы агрегации (kTb)	0.375	0.007
	прочность наиболее крупных агрегатов (I2,5)	0.375	0.006
фибриноген	время 1 фазы агрегации (T1)	-0.43	0.016
	скорость 1 фазы агрегации (kTb)	-0.37	0.04
ОХС	время 1 фазы агрегации (T1)	-0.43	0.002
	скорость 1 фазы агрегации (kTb)	0.507	0.000
Глюкоза	время 1 фазы агрегации (T1)	0.293	0.037

Выявлены корреляции умеренной и средней силы уровня гликированного гемоглобина, фибриногена, холестерина с показателями времени агрегации

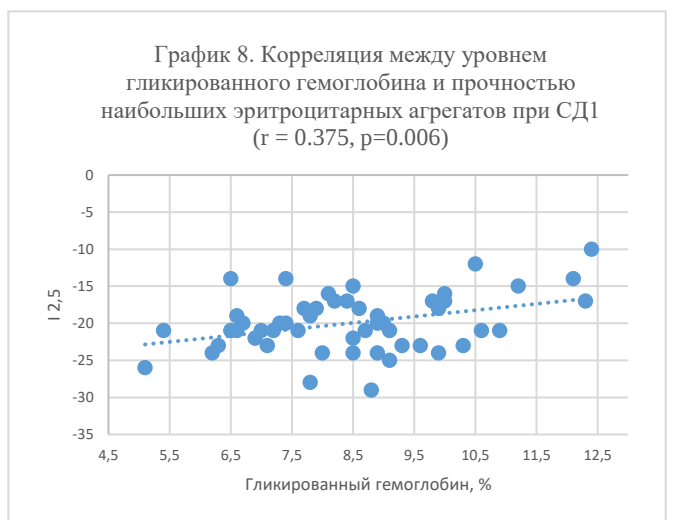
эритроцитов T1, ($\rho = -0.44$, ($p=0.001$)), ($\rho = -0.428$, ($p=0.016$)), ($\rho = -0.429$, ($p=0.002$)), соответственно, и скоростью агрегации эритроцитов kT ($\rho = 0.375$, $p=0.007$), ($\rho = -0.37$, ($p=0.04$)), ($\rho = 0.507$, ($p=0.000$)), соответственно (графики 5, 6, 7).



Также выявлена обратная слабая корреляция между уровнем глюкозы на момент исследования и временем первой фазы агрегации эритроцитов, T1 ($\rho = -0.293$, ($p=0.037$)).

Уровень гликированного гемоглобина умеренно коррелировал с показателем прочности наиболее крупных агрегатов I2,5 ($\rho = 0.375$, ($p=0.006$)) (график 8).

Таким образом, с возрастом, увеличением продолжительности заболевания, повышением уровня



фибриногена, гликированного гемоглобина, глюкозы и холестерина крови увеличивается скорость агрегации эритроцитов, при увеличении уровня гликированного гемоглобина увеличивается прочность наиболее крупных эритроцитарных агрегатов.

В группе СД2 также была исследована корреляция между вышеуказанными параметрами. Выявлена обратная корреляция средней силы между показателем уровня фибриногена и временем первой фазы агрегации эритроцитов T1, ($\rho = -0.469$, ($p=0.028$)) (график 9, таблица 11).



Таблица 11. Корреляции в группе СД2.

Параметры корреляции СД2		Индекс корреляции, ρ	Значимость, p
фибриноген	время 1 фазы агрегации (T1)	-0.469	0.028

3.3 Сравнение гемореологических свойств при СД1 и СД2

Измерения проводились на образцах крови 52 больных СД1 и 43 больных СД2. В качестве контроля для группы СД1 тестировались образцы крови 104 здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту. Детальная характеристика исследованных групп приведена в таблице 12.

Таблица 12. Распределение больных СД1 и СД2, группы контроля по числу исследованных лиц, полу, возрасту, продолжительности заболевания.

Группа	СД1	СД2	Контроль
Всего больных	52	43	104
Женщины	29 (55%)	33 (76%)	67 (64%)
Мужчины	23 (44%)	10 (24%)	37 (36%)
Средний возраст, годы	33±11 (19-58)	61±10 (43-80)	37,4±13,4 (18-78)
Продолжительность заболевания, лет	12,6±8,8	13,3±8,9	-

Результаты гематологического анализа исследуемых групп представлены в таблице 13. При обоих типах СД по сравнению с контролем в общем анализе крови было выявлено значимое повышение гематокрита, при СД1 также был выше уровень гемоглобина, при СД2 - ниже среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, выше концентрация лейкоцитов. При СД2, по сравнению с СД1, была выше вязкость плазмы крови, ниже уровень гемоглобина, в тенденции был более выражен анизоцитоз эритроцитов.

Таблица 13. Гематологическая характеристика групп СД1, СД2, контроля.

Группа	Htc	Вязкость плазмы	HGB (g/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	RDW (%)	WBC 10*9/l
Контроль (n=104)	0,39±0,04	1,59±0,26	131,31±15,6	87,8±8,4	30,49±2,8		5,8±1,4
СД1 (n=52)	0,43±0,05	1,5±0,6	137,6±15,9	87,8±4,8	31±8,1	12,15±0,9	6,36,1±1,9
P (контроль-СД1)	0,03	-	0,02	-	-	-	
СД2 (n=43)	0,42±0,05	1,63±0,27	134,2±14,9	87,1±5,1	29,4±1,9	12,43±2,3	6,76±1,4
P (контроль-СД2)	0,01	-	-	-	0,03	-	0,047
P (СД1-СД2)	-	0,04	0,05	-	-	0,077	-

HGB -гемоглобин, MCV- средний объем эритроцита, MCH- среднее содержание гемоглобина в эритроците, WBC-лейкоциты

Лабораторная характеристика биохимических показателей крови исследуемых групп представлена в таблице 14. При СД1 и СД2 отмечалось повышение уровней глюкозы, триглицеридов, СРБ, снижение уровня альбумина по сравнению с контролем.

При СД2, в отличие от СД1, был значимо повышен уровень фибриногена по сравнению с контролем. Также, уровень СРБ был значимо выше при СД2, по

сравнению с СД1.

Таблица 14. Биохимические показатели в группах СД 1, СД2 и контроля.

Группа	НbA1с (%)	Глюкоза (ммоль/л)	ОХС (ммоль/л)	ТГ (ммоль/л)	Альбумин (г/дл)	Фибриноген (г/л)	СРБ (мг/л)
Контроль (n=104)		4,3±0,4	4,2±0,7	0,8±0,2	59,4±6,1	2,85±0,7	0,65±0,05
СД1 (n=52)	8,5±1,7	8,2±3,7	5,01±1,3	1,02±0,6	41±2,03	2,82±0,5	0,9±0,1
Р (контроль-СД1)		0,000	0,009	0,01	0,000	-	0,047
СД2 (n=43)	8,8±2,0	8,9±3	4,9±1,25	2,4±1,37	39,6±3,36	3,6±0,58	3,4±0,6
Р (контроль-СД2)		0,001	-	0,03	0,000	0,05	0,000
Р (СД1-СД2)		-	-	-	-	0,000	0,000

НbA1с - гликированный гемоглобин, ОХС – общий холестерин, ТГ – триглицериды, СРБ- С реактивный белок.

При сравнении гемореологических свойств СД1 и СД2 наблюдалась большая гиперагрегация эритроцитов при СД2, по сравнению с СД1. Так, скорость начальных этапов агрегации была выше на 34% ($p<0,001$), время 1 фазы агрегации эритроцитов (Т1) ниже на 25% ($p<0,001$), прочность наиболее крупных агрегатов ($I_{2.5}$) выше на 14% ($p=0,014$) при СД2. Вязкость плазмы при СД2 была также выше на 8% ($p=0,04$) (таблица 15).

Таблица 15. Результаты исследования гемореологических показателей крови больных СД1 и СД2.

Группа	Вязкость плазмы, (мПа·с)	Т1 (с)	кТб (c^{-1})	$I_{2.5}$, %	β (c^{-1})
СД1 (n=52)	1,50±0,2	7,57±2,03	0,217±0,07	-19,9±3,9	29,5±8,2
СД2 (n=43)	1,63±0,27	6,1±1,32	0,29±0,05	-17,5±8,3	31,8±8,4
р	0,04	<0,000	<0,000	0,004	0,078
Разница показателей (%)	8%	25%	34%	14%	-

кТб- скорость начальных фаз агрегации эритроцитов, Т1-время первой фазы агрегации эритроцитов, $I_{2.5}$ - прочность наиболее крупных агрегатов, β – прочность основной массы агрегатов. Сравнение групп СД с контролем: * $p<0,05$, @ $p<0,01$

3.3.1 Сравнение гемореологических свойств при СД1 и СД2 и в норме при половозрастном уравнивании

С целью исключения влияния возрастного фактора на реологические свойства крови при СД1 и СД2 в контроле, проведено половозрастное уравнивание в

исследуемых группах: отобраны пациенты с СД1, СД2, и в контроле в возрасте 31-58 лет, с подобным распределением по полу. Детальная характеристика групп приведена в таблице 16.

Таблица 16. Возрастное распределение в группах нормы, СД1, СД2.

Группа	мужчины	женщины	Возраст, годы
Контроль (n=32)	47% (n=15)	53% (n=17)	44,8±13,9 (31-58)
СД1 (n=18)	44% (n=8)	56% (n=10)	46,2±7,2 (39-53)
СД2 (n=19)	26% (n=5)	74% (n=14)	50,5±7 (43,5-57,5)

Характеристика лабораторных показателей биохимического анализа крови в исследуемых группах дана в табл. 17. По сравнению с нормой у больных СД1, СД2 в крови был выше уровень глюкозы, СРБ. При СД1 наблюдалось снижение уровня альбумина. При СД2 был значимо повышен уровень ОХС, ТГ, фибриногена, при этом уровень ТГ, фибриногена, СРБ был выше, по сравнению с СД1.

Таблица 17. Биохимические показатели в исследуемых группах.

Группа	НbA1c (%)	Глюкоза (ммоль/л)	ОХС (ммоль/л)	ТГ (ммоль/л)	Альбумин (г/л)	СРБ (мг/л)	Фибриноген (г/л)
Контроль (n=32)	-	4,6 [4,2; 5,4]	4,6 [4,4; 4,8]	0,9 [0,8; 1,01]	44,3 [41; 45,8]	0,48 [0,1; 0,52]	3,44 [3,2; 3,5]
СД1 (n=18)	8,5 [7,3; 9,8]	7,3 [6,3; 8,95]	4,8 [4,16; 5,9]	0,845 [0,645; 1,2]	41,5 [39; 42,75]	0,6 [0,3; 1,6]	2,8 [2,4; 3,1]
Р (контроль-СД1)	-	0,002	-	-	0,001	0,007	-
СД2 (n=19)	8,65 [7,27; 10,53]	8,15 [6,708; 10,825]	4,765 [4,125; 5,46]	1,72 [1,2; 2,8]	40 [38,5; 41,5]	1,75 [1,575; 2,625]	3,6 [3,2; 3,8]
Р (контроль-СД2)	-	0,001	0,003	0,002	-	0,005	0,049
Р (СД1-СД2)	-	-	-	<0,001	0,065	0,006 ^c	<0,001

Гемореологическое исследование усредненных по возрасту групп показало наиболее выраженное усиление агрегации эритроцитов при СД2: ускорение 1 фазы агрегации (kTb) при СД2 по сравнению с нормой и СД1 (p=0,008, p=0,002, соответственно), снижение времени 1 фазы агрегации эритроцитов (T1) по

сравнению с нормой и СД1 ($p=0,012$, $p=0,01$, соответственно). Также при СД2 наблюдалось снижение деформируемости эритроцитов в виде повышения пороговых значений скоростей сдвига, после которых начинается деформация ((.)begun), по сравнению с нормой ($p=0,02$). При СД2 показатели скорости 1 фазы агрегации эритроцитов были выше, по сравнению с СД1 на 28%, времени 1 фазы агрегации эритроцитов на 19%. Результаты гемореологического исследования даны в табл. 18.

Таблица 18. Гемореологические параметры в норме и при СД1, СД2, в группах, усредненных по возрасту.

Группы	kTb (c^{-1})	$T1$ (с)	(.) begun (c^{-1})
Контроль (n=31)	0,23 [0,19; 0,24]	9,09 [8,01; 9,22]	16,64 [15,1; 24,3]
СД1 (n=17)	0,25 [0,19; 0,26]	7,14 [6,58; 8,54]	48,4 [38,24; 58]
p (контроль-СД1)	-	0,034	0,024
СД2 (n=19)	0,32 [0,29; 0,33]	5,99 [5,245; 6,812]	51,8 [43,8; 62,3]
p (контроль-СД2)	0,002	0,012	0,022
p (СД1-СД2)	0,008	0,01	-
Разница показателей (СД1-СД2, %)	28%	19%	-

kTb - скорость начальных фаз агрегации эритроцитов, $T1$ -время первой фазы агрегации эритроцитов, (.)begun -время начала деформации эритроцитов.

3.3.2 Возрастные особенности гемореологических свойств при СД1 и СД2 и в норме

Для оценки гемореологических свойств в зависимости от возраста больные из групп нормы, СД1 и СД2 были разделены на 3 подгруппы: младше 25 лет; 25-50 лет; старше 50 лет.

При СД2 сформированы только подгруппы старше 25 лет, поскольку в выборке СД2 больных младше 25 лет не было. Подробное возрастное распределение в группах дано в таблице 19.

Таблица 19. Возрастное распределение в группах нормы, СД1, СД2.

Группа	<25 лет	25-50 лет	>50 лет
Контроль (n=76)	37% (n=28)	47 % (n=36)	16% (n=12)
СД1 (n=48)	19% (n=9)	62% (n=30)	19% (n=9)
СД2 (n=40)	0	15% (n=6)	85% (n=34)

При оценке гемореологических параметров наблюдалась явная тенденция к гиперагрегации (ускорению агрегации и увеличению прочности агрегатов) с возрастом, получившая статистическую значимость в группах нормы и СД1 (Таблица 20).

Таблица 20. Гемореологические параметры в норме и при СД1, СД2 в группах младше 25 лет, 25-50 лет, старше 50 лет.

Группа	кТб (с ⁻¹)	T1 (с)
Контроль (<25 лет) (n=55)	0,186 [0,182; 0,189]	9,72 [9,68; 9,77]
Контроль (25-50 лет) (n=61)	0,188 [0,184; 0,19]	9,6 [9,5; 9,72]
Контроль (>50 лет) (n=12)	0,299 [0,29; 0,32]	7,94 [7,89; 8,02]
p (<25 лет vs >50 лет)	0,03	0,015
p (25-50 лет vs >50 лет)	0,028	0,029
СД1 (<25 лет) (n=12)	0,2 [0,19; 2,1]	8,65 [8,57; 8,72]
СД1 (25-50 лет) (n=32)	0,22 [0,19; 0,25]	7,6 [7,54; 7,69]
СД1 (>50 лет) (n=8)	0,31 [0,28; 0,33]	6,35 [6,3; 6,42]
p (<25 лет vs >50 лет)	0,01	0,05
p (25-50 лет vs >50 лет)	0,01	0,046
СД2 (25-50 лет) (n=8)	0,29 [0,27; 0,31]	6,22 [6,19; 6,24]
СД2 (>50 лет) (n=35)	0,34 [0,32; 0,35]	6,06 [6,01; 6,09]

кТб- скорость начальных фаз агрегации эритроцитов, T1-время первой фазы агрегации эритроцитов.

3.4 Гемореологические свойства при микрососудистых осложнениях СД

Были исследованы реологические показатели и параметры микроциркуляции у больных, имеющих микрососудистые осложнения сахарного диабета: диабетическую нефропатию, диабетическую ретинопатию и артериальную гипертензию.

3.4.1 Гемореологические свойства и показатели микроциркуляции при СД1 и микрососудистых осложнениях

3.4.1.1 Реологические свойства крови и показатели микроциркуляции при ХБП у больных СД1

У больных СД1 с наличием диабетической нефропатии оценивались изменения реологических параметров крови, а также микроциркуляции, лабораторных показателей крови (гликированного гемоглобина, ОХС, альбумина, фибриногена) в зависимости от СКФ: при снижении СКФ ниже 90 мл/мин/1,73м² (норма/ХБП 2-3а стадии). Полученные данные биохимических показателей в исследуемых группах приведены в таблице 21. При снижении уровня СКФ наблюдалось значимое повышение ОХС.

Таблица 21. Показатели HbA1c, ХС, альбумина, фибриногена в группах контроля и СД1 при СКФ выше и ниже 90 мл/мин/1,73м² и выше и ниже 60 мл/мин/1,73м².

Группа	HbA1c (%)	Глюкоза (ммоль/л)	ОХС (ммоль/л)	Альбумин (г/л)	Фибриноген (г/л)
СД1 СКФ>90 мл/мин/1,73м² (n=34)	8,5 [7,1; 9,8]	7,3 [6,2; 8,8]	4,5 [3,9; 5,3]	42 [39; 43] @	2,8 [2,4; 3,2] *
СД1 СКФ<90 мл/мин/1,73м² (n=18)	7,9 [7,3; 9,5]	7,5 [6,1; 9,7]	5,9 [7,7; 6,0]	40,4 [38,7; 42,5] @	2,8 [2,5; 3,0] *
Р	-	-	0,007	-	-

HbA1c – гликированный гемоглобин, ОХС- общий холестерин. Сравнение групп СД1 с контролем: * p<0,01, @ p<0,001

При оценке гемореологических параметров выявлено, что по мере снижения СКФ при СД1 усиливалась гиперагрегация эритроцитов. При снижении СКФ ниже 90 мл/мин/1,73м² наблюдалось сокращение времени 1 фазы агрегации эритроцитов Т1 (p=0,029) и повышение скорости агрегации КТb (p=0,039) (Таблица 22). При многофакторном анализе гиперагрегация в группе сниженного уровня СКФ зависела от повышения ОХС в группе.

Таблица 22. Показатели гематокрита, вязкости крови и агрегации эритроцитов в группах контроля и СД1 при СКФ выше и ниже 90 мл/мин/1,73м², выше и ниже 60 мл/мин/1,73м².

Группа	Htc	Вязкость плазмы (мПа·с)	кТб (с ⁻¹)	T1 (с)	I _{2,5} (%)
СД1 СКФ>90 мл/мин/1,73м² (n=34)	0,43 [0,41; 0,48] @	1,43 [1,34; 1,59] **	0,22 [0,18; 0,25] @	@ 7,6 [6,8; 9,1]	-21 [-23; - 17]
СД1 СКФ<90 мл/мин/1,73м² (n=18)	0,4 [0,38; 0,44] **	1,5 [1,37; 1,66]	0,25 [0,19; 0,27]	6,9 [6; 8,4] **	-20 [-22; - 16]
Р	-	-	0,039	0,029	-

Htc- гематокрит, кТб – скорость 1 фазы агрегации эритроцитов, T1-время первой фазы агрегации эритроцитов, I_{2,5} -прочность наиболее крупных агрегатов. Сравнение групп СД1 с контролем: ** p<0,05, * p<0,01, @ p<0,001

При исследовании кожной микроциркуляции при СД1 в группах с различным СКФ достоверных отличий не выявлено.

3.4.1.2 Гемореологические свойства и показатели микроциркуляции при протеинурии различной степени выраженности у больных СД1

Исследовались реологические показатели, кожная микроциркуляция и лабораторные показатели (гематокрит, гликированный гемоглобин, ОХС, альбумин, фибриноген) при СД1 при различных степенях протеинурии (ПУ): ПУ менее и более 50 мг/сут, 100 мг/сут, 150 мг/сут, 300 мг/сут, 1000 мг/сут.

Уровень гликированного гемоглобина, холестерина, фибриногена значимо не различался в группах с различной выраженностью ПУ. В группе с ПУ более 1000 мг/сут уровень гематокрита был значительно снижен (0,43 [0,4; 0,49] vs 0,33 [0,31; 0,333], p=0,006), уровень альбумина крови также был ниже (41,2 [39; 42,4] vs 38,5 [37; 39,8] (p=0,037)).

При увеличении ПУ свыше 100, затем 150 мг/сут увеличивалась прочность наиболее крупных агрегатов (I_{2,5}) (p=0,02, p=0,02, соответственно), которая продолжала увеличиваться в тенденции при ПУ более 300 мг/сут (p=0,067). Скорость агрегации эритроцитов (КТб) также указывала на усиление агрегации эритроцитов по мере нарастания ПУ свыше 150 мг/сутки в тенденции (p=0,09) (таблица 23).

Таблица 23. Уровень гематокрита, вязкости крови и показатели агрегации в группе контроля и при СД1, при различных степенях протеинурии.

Группа	Htc	Вязкость плазмы (мПа·с)	кТб (с ⁻¹)	I _{2,5} (%)
ПУ менее 50 мг/сут (n=4)	0,33 [0,31; 0,34]	1,79 [1,48; 1,8]	0,2 [1,83, 0,21]	-17 [-24; -17]
ПУ более 50 мг/сут (n=43)	0,43 [0,4; 0,49] *	1,43 [1,35; 1,59] *	0,22 [0,18; 0,26] *	-21 [-23; -17] *
Р	-	-	-	-
ПУ менее 100 мг/сут (n=12)	0,42 [0,4; 0,45] *	1,55 [1,44 1,7]	0,21 [0,18; 0,25] **	-22,4 [-24,7; - 20,25] *
ПУ более 100 мг/сут (n=35)	0,43 [0,4 0,49] *	1,54 [1,33; 1,56] *	0,24 [0,18; 0,28] *	-20 [-21; -17] *
Р	-	-	-	0,02
ПУ менее 150 мг/сут (n=18)	0,43 [0,4; 0,45] *	1,52 [1,3; 1,7]	0,21 [0,17; 0,23] *	-21,8 [-24; - 18,7] *
ПУ более 150 мг/сут (n=29)	0,44 [0,4; 0,49] *	1,5 [1,33; 1,57] *	0,24 [0,19; 0,28] *	-20 [-21; -17] *
Р	-	-	0,09	0,02
ПУ менее 300 мг/сут (n=32)	0,42 [0,4; 0,48] *	1,5 [1,38; 1,61] *	0,22 [0,17; 0,26] *	-21 [-23; -18] *
ПУ более 300 мг/сут (n=15)	0,43 [0,39; 0,49]	1,55 [1,33; 1,55]	0,24 [0,2; 0,26]	-18 [-21; -16]
Р	-	-	-	0,067
ПУ менее 1000 мг/сут (n=43)	0,43 [0,4; 0,49] *	1,43 [1,33; 1,59] *	0,22 [0,18; 0,26] *	-21 [-23; -18] *
ПУ более 1000 мг/сут (n=3)	0,33 [0,31; 0,333]	1,79 [1,48; 1,795]	0,2 [0,18; 0,21]	-17 [-24; -16] *
Р	0,006	-	-	-

Htc- гематокрит, кТб – скорость 1 фазы агрегации эритроцитов, I_{2,5} -прочность наиболее крупных агрегатов. Сравнение групп СД1 с контролем: & p<0,1, ** p<0,05, * p<0,01, @ p<0,001, # p<0,000

Деформируемость эритроцитов ухудшалась при нарастании ПУ свыше 150 мг/сут и свыше 300 мг/сут: в группах повышалось время начала деформации эритроцитов в сдвиговом потоке ((.) begun) (p=0,01, p=0,04, соответственно) (Таблица 24).

Таблица 24. Показатели деформации эритроцитов в группах контроля и СД1 при различных степенях протеинурии.

Группа	(.)begin (c^{-1})
ПУ менее 50 мг/сут (n=4)	20,3 [14,1; 20,34] &
ПУ более 50 мг/сут (n=43)	25,4 [14,1; 59,8] **
P	-
ПУ менее 100 мг/сут (n=12)	20,5 [14,1; 30,6]
ПУ более 100 мг/сут (n=35)	30,65 [14,1; 97,2] *
P	-
ПУ менее 150 мг/сут (n=18)	20,34 [14; 30]
ПУ более 150 мг/сут (n=29)	37,7 [15,9; 97,2] *
P	0,01
ПУ менее 300 мг/сут (n=32)	20,34 [14,1; 36,4]
ПУ более 300 мг/сут (n=15)	44,8 [20,3; 141,5] *
P	0,04
ПУ менее 1000 мг/сут (n=45)	20,34 [14,1; 44,8]**
ПУ более 1000 мг/сут (n=3)	30,6 [30; 30,6] *
P	-

(.)begin- пороговая скорость сдвига, при которой начинается процесс деформации клеток в сдвиговом потоке. Сравнение групп СД1 с контролем: & $p < 0,1$, ** $p < 0,05$, * $p < 0,01$

При исследовании кожной микроциркуляции значимых отклонений показателей микроциркуляции при СД1 в зависимости от уровня протеинурии не получено.

При вторичном анализе данных, проведенном с целью выявления реологических показателей - предикторов развития ХБП, выявлено математическая предикция средней силы показателей агрегации эритроцитов на снижение СКФ. Индекс корреляции R между временем агрегации эритроцитов (T1) и СКФ составил 0,38, скоростью агрегации эритроцитов (kTb) и СКФ - 0,38, прочностью наиболее крупных агрегатов (I_{2,5}) и СКФ 0,42. (Таблица 25, рисунки 10, 11, 12).

Таблица 25. Коэффициенты корреляции между СКФ и показателями агрегации эритроцитов при СД1.

Параметры	T1 (с)	kTb (c^{-1})	I _{2,5} (%)
Индекс корреляции R	0,38	-0,38	-0,42
Уровень значимости, p	0,005	0,006	0,002

kTb – скорость 1 фазы агрегации эритроцитов, T1-время первой фазы агрегации эритроцитов, I_{2,5} -прочность наиболее крупных агрегатов

Рисунок 10. Диаграмма рассеяния и графика уравнения регрессии между СКФ и временем агрегации эритроцитов T1 при СД1.

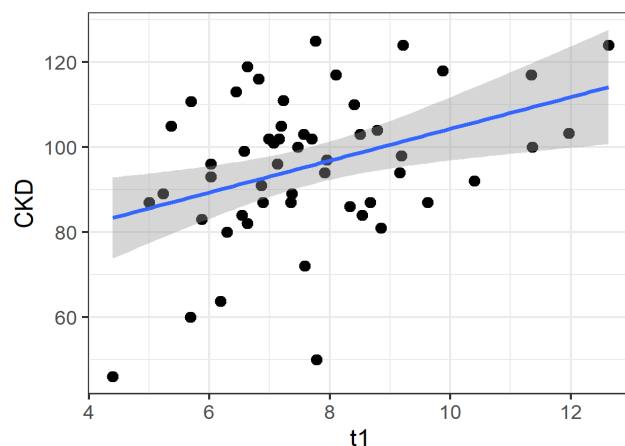


Рисунок 11. Диаграмма рассеяния и графика уравнения регрессии между СКФ и скоростью начальных этапов агрегации эритроцитов kTb при СД1.

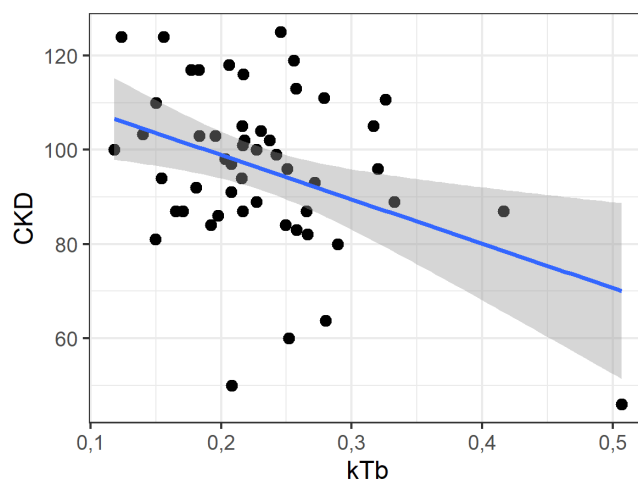
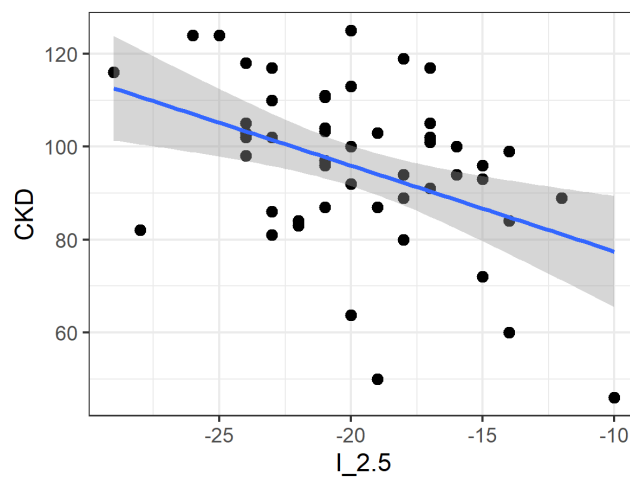


Рисунок 12. Диаграмма рассеяния и графика уравнения регрессии между СКФ и прочностью наиболее крупных агрегатов (I2,5) при СД1.



Также по результатам регрессивного анализа показано следующее:

- Снижение времени первой фазы агрегации эритроцитов (T1) на 1 с^{-1} в среднем ассоциировано с снижением СКФ на $3,7 \text{ мл/мин} \cdot 1,73 \text{ м}^2$ (Таблица 26).
- Возрастание скорости 1 фазы агрегации (kTb) на $0,1 \text{ с}^{-1}$ также приводит к снижению СКФ на $9,4 \text{ мл/мин} \cdot 1,73 \text{ м}^2$ (Таблица 27).

- Возрастание прочности наибольших агрегатов (I2,5) на 1 с^{-1} также приводит к снижению СКФ на $1,85 \text{ мл/мин} \cdot 1,73 \text{ м}^2$ (Таблица 28).

Таблица 26. Показатели линейной регрессии для скорости 1 фазы агрегации эритроцитов (T1).

Показатель, коррелирующий с СКФ	Коэфф. линейной регрессии	Ст. ошибка	Уровень значимости p	ДИ (нижний)	ДИ (верхний)
Свободная переменная	66.89	10.07	0.00000002	46.67	87.1
T1	3.74	1.28	0.005	1.18	6.31

Таблица 27. Показатели линейной регрессии для скорости 1 фазы агрегации эритроцитов (kTb)

Показатель, коррелирующий с СКФ	Коэфф. линейной регрессии	Ст. ошибка	Уровень значимости p	ДИ (нижний)	ДИ (верхний)
Свободная переменная	117.7	7.86	$p < 0.000$	101.91	133.52
kTb	-94,1	32.63	0.0058	-159.68	-28.53

Таблица 28. Показатели линейной регрессии для прочности наибольших эритроцитов (I2,5).

Показатель, коррелирующий с СКФ	Коэфф. линейной регрессии	Ст. ошибка	Уровень значимости p	ДИ (нижний)	ДИ (верхний)
Свободная переменная	58.95	11.39	0.0000039	36.08	81.82
I_2.5	-1.85	0.56	0.0019	-2.98	-0.72

3.4.1.3 Гемореологические свойства и показатели микроциркуляции при диабетической ретинопатии у больных СД1

Исследованы показатели реологических свойств, а также биохимические параметры крови в группах испытуемых с СД1: без ретинопатии/с ретинопатией.

В группе с СД1 и ретинопатией уровень гликированного гемоглобина был значимо выше, чем в группе СД1 без ретинопатии ($9,0 [7,6; 10,6]$ vs $8,2 [7,9; 9,0]$, $p < 0,02$). Уровни холестерина, альбумина и фибриногена не отличались.

В группе с ретинопатией выявлялась ускорение 1 фазы агрегации эритроцитов (кТб, $p=0,028$). Прочность агрегатов значимо не отличалась (Таблица 29). При многофакторном анализе повышение скорости агрегации эритроцитов зависело от повышенного уровня гликированного гемоглобина в группах с ДР.

Таблица 29. Показатели гематокрита и скорости 1 фазы агрегации эритроцитов в группах СД1 с диабетической ретинопатией и без ретинопатии.

Группа	Htc	кТб
СД1 нет ДР (n=33)	0,46 [4,07; 5,9] @	0,21 [0,17; 0,25]*
СД1 с ДР (n=19)	0,43 [0,4; 0,49] @	0,23 [0,23; 0,32] @
p	-	0,028

Htc- гематокрит, кТб – скорость 1 фазы агрегации эритроцитов. Сравнение групп СД1 с контролем: & $p<0,1$, ** $p<0,05$, * $p<0,01$, @ $p<0,001$.

При оценке кожной микроциркуляции различий среди групп СД1 с ретинопатией и без ретинопатии не выявлено.

3.4.2 Гемореологические свойства и показатели микроциркуляции при АГ у больных СД1

Исследованы показатели реологических свойств крови, а также биохимические параметры в группах испытуемых с СД1: без артериальной гипертензии/с артериальной гипертензией. (Все больные с артериальной гипертензией на момент исследования получали антигипертензивную терапию и имели целевые уровни АД).

В группе с АГ был значимо выше уровень холестерина (6,1 [5,1; 7,9] vs 4,7 [4,0; 5,7] $p<0,05$), не было отличий по уровню гликированного гемоглобина, альбумина и фибриногена.

Уровни гематокрита, вязкости крови в группах СД1 с АГ и без АГ значимо не отличались. Однако, способность эритроцитов к агрегации была выше в группе в группе с АГ. Так, скорость 1 фазы агрегации эритроцитов (кТб) была выше при СД1 и АГ, по сравнению с СД1 без АГ ($p=0,001$). Также, время 1 фазы агрегации

эритроцитов (T1) в группе с АГ было меньше ($p=0,009$), прочность наибольших эритроцитарных агрегатов выше ($I_{2,5}$) по сравнению с группой СД1 без АГ ($p=0,05$). (Таблица 30).

Таблица 30. Показатели гематокрита, вязкости крови и агрегации эритроцитов в группах контроля и СД1 без АГ и СД1 с АГ.

Группа	Htc	Вязкость плазмы (мПа·с)	kTb (с ⁻¹)	T1 (с)	I _{2,5} (%)
СД1 без АГ (n=44)	0,42 [0,4; 0,47] @	1,48 [1,35; 1,63]	0,21 [0,18; 0,25] @	7,47 [6,6; 8,7] *	-20,5 [-23; - 17]
СД1 с АГ (n=8)	0,49 [0,41; 0,5] **	1,43 [1,32; 1,56]	0,28 [0,24; 0,33]	6,19 [5,4; 7,05] @	-20 [-24; -14]
p	-	-	0,001	0,009	0,05

Htc- гематокрит, kTb – скорость 1 фазы агрегации эритроцитов, T1-время первой фазы агрегации эритроцитов, I_{2,5} -прочность наиболее крупных агрегатов.

Сравнение групп СД1 с контролем: & $p<0,1$, ** $p<0,05$, * $p<0,01$, @ $p<0,001$

По данным оценки деформационных свойств эритроцитов при СД1 выявлено существенное снижение способности эритроцитов к деформации при АГ. Так, интенсивность деформации эритроцитов в ускоряющемся потоке (tga) снижалась почти вдвое, по сравнению с группой без АГ ($p=0,016$), снижался индекс деформируемости эритроцитов (IDmax, $p=0,049$) (Таблица 31).

Таблица 31. Показатели деформации эритроцитов в группах контроля и СД1 без АГ и СД1 с АГ.

Группа	(.) begun (с ⁻¹)	IDmax	Tga
СД1 без АГ (n=44)	20,34 [14,15; 44,8] **	0,48 [0,43; 0,5] @	0,076 [0,07; 0,083] @
СД1 с АГ (n=8)	14,1 [14; 37,1]	0,39 [0,34; 0,46] **	0,037 [0,007; 0,041]
p	-	0,049	0,016

(.)begun - пороговая скорость сдвига, при которой начинается процесс деформации клеток в сдвиговом потоке, ID_{max} максимальная деформация эритроцитов, tga - интенсивность деформации эритроцитов в ускоряющемся потоке. Сравнение групп СД1 с контролем: & $p<0,1$, ** $p<0,05$, * $p<0,01$, @ $p<0,001$

Нарушения кожной микроциркуляции в группах СД1 с АГ и без АГ выявлено не было.

3.4.3 Гемореологические свойства и показатели микроциркуляции при СД2 и микрососудистых осложнениях

При анализе реологических свойств крови и микроциркуляции при СД2 в зависимости от СКФ значимой разницы выявлено не было (исследованы группы СД2 с ХБП 1 ст. (n=11) vs ХБП 2-3а ст. (n=32), а также ХБП 1-2 ст. (n=24) vs ХБП 3а ст. (n=12)). Также, не выявлена разница в реологических свойствах крови и микроциркуляции при различных степенях протеинурии (исследованы группы: протеинурия более и менее 100 мг/сут, более и менее 150 мг/сут, более и менее 300 мг/сут, более и менее 1000 мг/сут).

Не выявлена различие реологических свойств крови при СД2 в зависимости от наличия и степени ДР.

Оценка капиллярной микроциркуляции при СД2 в зависимости от наличия и степени ХБП, ПУ, ДР, АГ, выявила значимое снижение параметров кровотока на фоне реактивной тепловой гиперемии в группах с ДР препролиферативной и пролиферативной стадий, по сравнению с отсутствием ДР и непролиферативной стадией ДР. Так, почти вдвое снижались абсолютное значение микроциркуляции на фоне нагрева (Delta31, $p=0,016$), значимо снижались и другие параметры: наклон линии линейной регрессии за первые две минуты фазы активного нагрева (Sl_2_120, $p=0,026$), площадь под кривой за две минуты активного нагрева (AUC_2_120, $p=0,016$), среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции при тепловой вазодилатации (M_3, $p=0,016$), (Таблица 32).

Таблица 32. Параметры кожной микроциркуляции в покое (M_1) и при пробе с тепловой гиперемией (Sl_2_120, AUC_2_120, M_3, Delta31).

Группа	M_1	Sl_2_120	AUC_2_120	M_3	Delta31
СД2 ДР (нет ДР+ непролиф. стадия) (n=15)	4,47 [3,02; 5,53]	0,92 [0,78; 1,44]	902 [758; 1323]	16,1 [14; 21]	11,1 [9,4; 17,5]
СД2 ДР (препролиф.+ пролиф. стадия) (n=10)	4,1 [1,6; 5,28]	0,63 [0,35; 0,97]	511 [349; 932]	12,07 [6,9; 16,24]	6,36 [4,97; 11,6]
p	-	0,026	0,016	0,016	0,016

M_1 – среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции в покое, Sl_2_120 – наклон линии линейной регрессии за первые две минуты фазы активного нагрева, AUC_2_120 – площадь под кривой за две минуты активного нагрева, M_3 – среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции при тепловой вазодилатации, Delta31 – увеличение микроциркуляции на фоне нагрева в абсолютных значениях

При биохимическом анализе в группе с ДР препролиферативной и пролиферативной стадий наблюдался более низкий уровень альбумина 40,0 [39; 42] vs 39 [37; 40] ($p=0,05$).

Для выявления возможного предикторного значения показателей микроциркуляции на прогрессирование ДР проведен вторичный анализ данных при помощи бинарной логистической регрессии. При этом выявлено предикторное значение показателей снижения микроциркуляции на фоне нагрева (DELTA31), площади под кривой за две минуты активного нагрева (AUC_2_120), наклона линии линейной регрессии за первые две минуты фазы активного нагрева (Sl_2_120) во время пробы с тепловой вазодилатацией. Наибольшей значимостью обладал показатель абсолютного значения увеличения микроциркуляции на фоне нагрева (DELTA31) (R^2 Нейджелекерка равнялся соответственно 0,473, 0,395 и 0,302). Таблица предсказанных моделью случаев дана ниже (Таблица 33).

Таблица 33. Предсказанные случаи наступления ДР препролиферативной и пролиферативной стадий в зависимости от абсолютного значения увеличения микроциркуляции на фоне нагрева (Delta31).

Группа		Предсказанные		Процент правильных
		СД2 (нет ДР+ непролиф. ДР) (n=15)	СД2 (препролиф.+ пролиф. ДР) (n=10)	
Наблюденные	СД2 (нет ДР+ непролиф. ДР) (n=15)	13	2	86,7
	СД2 (препролиф. + пролиф. ДР) (n=10)	4	6	60,0
Общая процентная доля		76,0		

Данные о переменных в уравнении регрессии приведены в таблице 34.

Таблица 34. Переменные в уравнении регрессии прогрессирования ДР свыше 1 ст. в зависимости от абсолютного значения увеличения микроциркуляции на фоне нагрева Delta31

Показатели	B	Среднеквадр. ошибка	Значимость (p)	Exp (B)
Delta31	-0,431	0,194	0,026	0,650
Константа	3,932	1,946	0,043	50,989

Таким образом, с учетом полученных коэффициентов уравнения регрессии, для расчёта математической вероятности прогрессирования ДР до препролиферативной и пролиферативной стадий может быть использована следующая формула:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

Где p – вероятность прогрессии ДР до препролиферативной и пролиферативной стадий (принимает значение от 0 до 1),

при $Z = 3,932 - 0,431 * DELTA31$

$DELTA31$ – измеренное значение изменения микроциркуляции на фоне нагрева.

3.4.4 Гемореологические свойства и показатели микроциркуляции при АГ у больных СД2

При исследовании реологических параметров крови и параметров микроциркуляции у больных СД2 с артериальной гипертензией и СД2 без артериальной гипертензии, значимых отличий выявлено не было.

3.5 Результаты исследования сил взаимодействия эритроцитов на уровне отдельных клеток при СД

Агрегационно-деагрегационные свойства эритроцитов на уровне межклеточного взаимодействия было исследовано на 36 пробах крови больных сахарным диабетом. Из них 10 человек составляли больные СД 1 типа, 26 человек СД 2 типа. В качестве контроля использовали пробы крови 14 практически здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту. Половозрастная характеристика групп больных сахарным диабетом приведена в таблице 35.

Таблица 35. Распределение больных СД1 и СД2, группы контроля по числу исследованных лиц, полу, возрасту

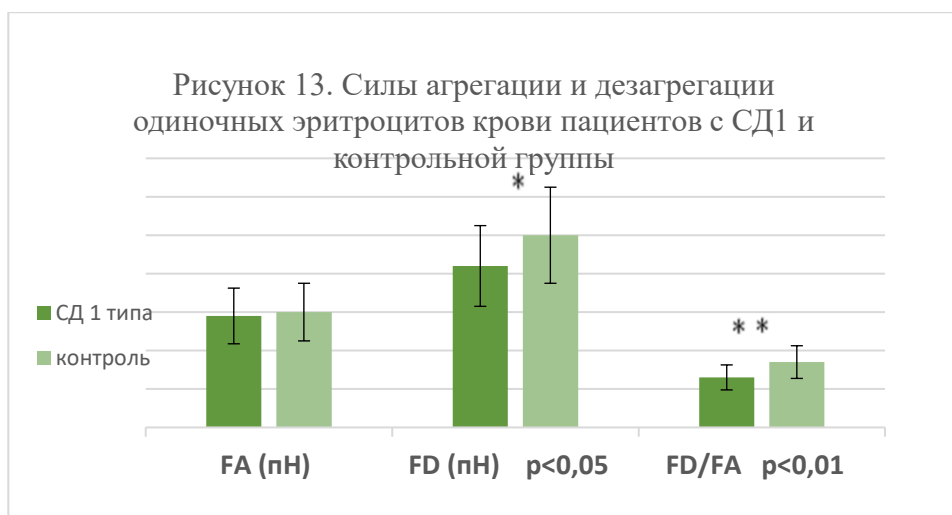
Группа	СД1	СД2	Контроль
Всего больных	10	26	14
Женщины	6 (60%)	16 (62%)	3 (21%)
Мужчины	4 (40%)	10 (38%)	11 (79%)
Возраст, годы (средний возраст, годы)	21-44 (28±15,8)	49-81 (66±13)	25-67 (46±21)

На каждой пробе проводилось 15 измерений на 15 разных парах эритроцитах, полученные результаты усреднялись. Результаты измерения сил взаимодействия эритроцитов приведены в таблице 36.

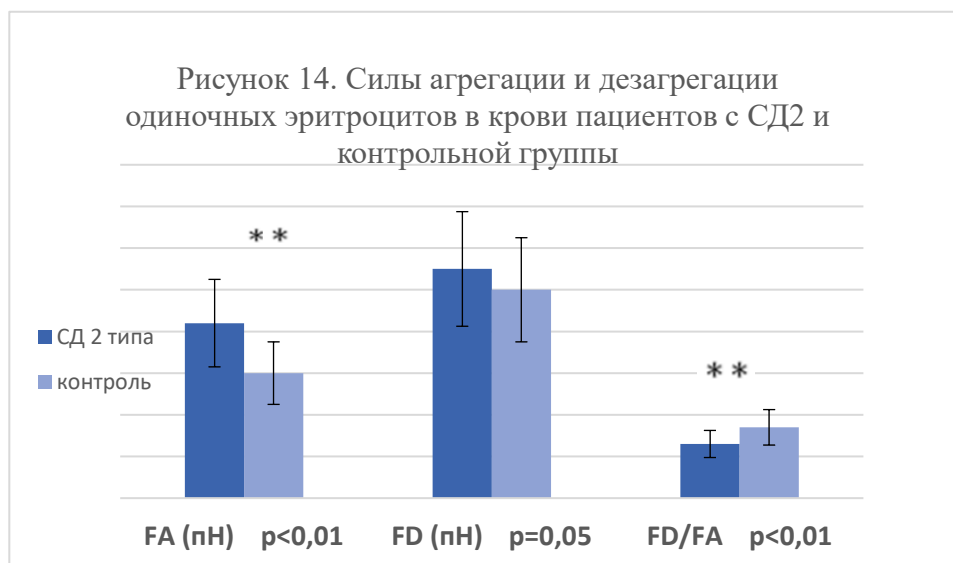
Таблица 36. Результаты измерений сил взаимодействия пар эритроцитов при их агрегации и дезагрегации в группе контроля, при СД1, СД2.

Группа	контроль	СД1	р	СД2	р
Сила агрегации эритроцитов F_A (пН)	3,0 [1,4; 3,9]	2,9 [2,5; 4,0]	0,9	4,3 [3,5; 5,2]	0,002
Сила дезагрегации эритроцитов F_D (пН)	5,0 [4,1; 6,2]	4,2 [3,3; 4,8]	0,04	5,5 [4,7; 7,0]	0,05
Отношение средних величин $R = \frac{\langle F_D \rangle}{\langle F_A \rangle}$	1,7 [1,4; 2,2]	1,3 [1,2; 1,4]	0,007	1,3 [1,2; 1,4]	0,001

После статистической обработки данных получены следующие результаты: при СД1 значение сил агрегации эритроцитов (F_A , пН) значимо не отличалось от группы контроля: F_A при СД1 2,9[2,5; 4,0] пН, F_A в группе контроля 3,0[1,4; 3,9] пН, ($p = 0,9$). Однако, силы дезагрегации в группе СД1 оказались достоверно ниже: F_D при СД1 4,2[3,3; 4,8] пН, F_D в группе контроля 5,0[4,1; 6,2] пН, ($p=0,04$). Отношение величин сил дезагрегации к силам агрегации $R = \frac{\langle F_D \rangle}{\langle F_A \rangle}$ с высокой статистической значимостью отличалось между СД1 и группой контроля: СД1 $R = 1,3[1,2; 1,4]$, в группе контроля $R=1,7[1,4; 2,2]$, $p = 0,002$. (Результаты представлены на рисунке 13).



При сравнении данных, полученных при исследовании образцов СД2 и группы контроля, силы агрегации эритроцитов при СД2 были выше и с высокой статистической значимостью отличались от группы контроля (F_A (СД2) 4,3[3,5; 5,2] пН, F_A (контроль) 3,0[1,4; 3,9] пН, $p = 0,002$). Силы дезагрегации эритроцитов были в тенденции выше в группе СД2, по сравнению с группой контроля: F_D (СД2) 5,5[4,7; 7,0] пН, F_D (контроль) 5,0[4,1; 6,2] пН, $p = 0,05$. Сравнение отношения сил дезагрегации к силам агрегации $R = \frac{\langle F_D \rangle}{\langle F_A \rangle}$ эритроцитов обеих групп при СД2 и в группе контроля показало, что так же, как и в случае СД1, отношение R с высокой статистической значимостью ниже у больных СД2, по сравнению с группой контроля. R (СД2) = 1,3[1,2; 1,4] пН, R (контроль) = 1,7[1,4; 2,2] пН, $p = 0,001$. (Результаты представлены на рисунке 14).



Глава 4. Обсуждение полученных результатов

Как показали наши данные, нарушение гемореологических свойств и микроциркуляции при сахарном диабете зависит от типа диабета, продолжительности заболевания, возраста, и имеет широкий спектр выраженности, от сохранения нормальных паттернов агрегации-деагрегации до нарушения кожной микроциркуляции при СД.

В нашем исследовании реологические свойства крови слабо коррелировали с уровнем гликированного гемоглобина, что также было показано в некоторых работах [Elishkevitz K. et al., 2002]. Вероятно, это связано с тем, что средняя продолжительность заболевания в исследовании при СД1 составляла 12,6 лет, в то время как по имеющимся данным, уровень гликированного гемоглобина влияет на реологические свойства крови при длительности заболевания менее 5 лет. При СД2 реологические свойства крови более зависят от других метаболических параметров, связанных с инсулинорезистентностью [Le Dévéhat C. et al., 2004].

При СД1 выявлены умеренные корреляции между продолжительностью заболевания и скоростью агрегации эритроцитов, прочностью эритроцитарных агрегатов, а также между продолжительностью заболевания и нарушением кожной микроциркуляции при пробе с тепловой вазодилатацией. Аналогичные корреляции с длительностью заболевания при СД2 отсутствовали. Однако, выявлена умеренная обратная корреляция между уровнем фибриногена и временем агрегации эритроцитов при СД2. Имеющиеся в литературе данные подтверждают полученные данные [Le Dévéhat C. et al., 2004].

Как при СД1, так и при СД2 по сравнению с контролем выявлена гиперагрегация эритроцитов. Это можно объяснить выявленными значимым изменением проагрегантных плазменных факторов: повышением уровней глюкозы, фибриногена, триглицеридов, снижением уровня альбумина, а также более высоким

уровнем гематокрита [Elishkevitz K. et al., 2002; Ziegler O. et al., 1994].

Гипергликемия, гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия приводят к нарушению структуры мембраны эритроцита и снижению концентрации сиаловых кислот, несущих отрицательный заряд на мембране клетки, что приводит к уменьшению сил электростатического отталкивания эритроцитов, и повышению их способности к агрегации [Budak Y. et al., 2004].

Гиперфибриногенемия является одним из основных факторов гиперагрегации эритроцитов, что обусловлено образованием фибриногеновых «мостиков» между эритроцитами [Bronkhorst P.J. et al., 1996; Elishkevitz K. et al., 2002; Toker S. et al., 2005]. Также, было обнаружено рецепторное взаимодействие фибриногена с эритроцитами в процессе их агрегации [Соколова И.А. и др., 2011].

Согласно теории истощенного слоя, гиперагрегация возникает в отсутствии высокомолекулярных белков вблизи эритроцитов, в результате чего появляется «давление взаимодействия», сходное по природе с осмотическим давлением макромолекулярного раствора, что приводит к сближению суспендированных частиц [Chien S., Sung L.A., 1987].

4.1 Сравнение гемореологических свойств при СД1 и СД2

По сравнению с СД1, при СД2 отмечались наиболее выраженные гемореологические нарушения. Так, вязкость крови была выше при СД2 на 8%, наблюдалась усиленная агрегация эритроцитов (скорость 1 фазы агрегации эритроцитов выше на 34%, время 1 фазы агрегации эритроцитов ниже на 25%, прочность наиболее крупных агрегатов выше на 14%), по сравнению с СД1. Способность эритроцитов к деформации при СД1 и СД2 не отличалась.

Имеющиеся данные о различиях реологических свойств крови при СД1 и СД2 не являются однозначными [Sokolova I.A. et al., 2016]. Однако, полученные нами результаты подтверждаются имеющимися в литературе данными [Le Dévéhat C. et al., 2004; Mantskava M. et al., 2006].

Более высокая вязкость крови при СД2, по сравнению с СД1, по-видимому, связана с сочетанием более высокого уровня гематокрита, более высоких показателей способности эритроцитов к агрегации и повышенным уровнем фибриногена, по сравнению с СД1 [Sun J. et al., 2022].

Усиленную гиперагрегацию и повышение вязкости крови в первую очередь, можно объяснить выявленным при СД2 наиболее высоким уровнем фибриногена, по сравнению с другими исследованными группами [Соколова И.А. и др., 2011; Bronkhorst P.J. et al., 1997; Priezzhev A.V. et al., 2017; Elishkevitz K. et al., 2002].

При СД2 уровень фибриногена значимо превышал значения при СД1, так и в контроле для данной группы. Выявлена обратная корреляция средней силы между временем агрегации эритроцитов и ростом уровня фибриногена. Концентрация фибриногена увеличивалась с возрастом при обоих типах диабета. При СД1 уровень фибриногена не отличался от нормы.

Как уже было отмечено, фибриноген является основным стимулятором агрегации эритроцитов, которая, в итоге, также приводит и к повышению вязкости крови [Sun J. et al., 2022; Tomaiuolo G. et al., 2016].

Другим фактором, значимо повышенным при СД2, был СРБ, что говорит о более выраженном провоспалительном статусе у пациентов с СД2, что также приводит к повышению проагрегантных свойств крови при СД [Toker S. et al., 2005; Gyawali P. et al., 2014]. Повышение провоспалительного статуса организма связано с наличием метаболического синдрома, на фоне которого развивается СД2 [Ahmed M. et al., 2022]. Кроме того, для СД2 характерна инсулинорезистентность, предшествующая развитию метаболического синдрома. Показано, что инсулинорезистентность и метаболический синдром самостоятельно связаны с повышением способности эритроцитов к агрегации в связи с наличием комплекса характерных метаболических нарушений [Brun J.F. et al., 2012; Toker S. et al., 2005; Gyawali P. et al., 2014].

При СД2 было выявлено повышение содержания лейкоцитов. Вследствие лейкоцитоза происходит избыточное образование лейкоцитарно-эритроцитарных агрегатов (ЛЭА) – лейкоцитов, присоединяющих к себе 4-6 и более эритроцитов

[Кузник Б.И. и др., 2012].

Появление ЛЭА приводит к нарушению гемореологических свойств, кроме того, при образовании таких агрегатов возможен лизис эритроцитов, ведущий к отрыву клеточных мембран с образованием микровезикул, несущих отрицательно заряженные фосфолипиды, на которых запускаются процессы образования фибриновых сгустков [Кузник Б.И., 2010; Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.М., 2011].

Отсутствие разницы деформируемости эритроцитов при СД1 и СД2 можно объяснить тем, что основные метаболические факторы, влияющие на деформируемость эритроцитов: уровень глюкозы, гликированного гемоглобина, холестерина, значимо не отличались в группах СД1 и СД2 [Babu N., Singh M., 2004; Symeonidis A. et al., 2001].

Для исключения возрастного и полового факторов, могущих влиять на гемореологические параметры, проведено половозрастное уравнивание в группах нормы, СД1, СД2 (использовались образцы крови пациентов в возрасте 31-58 лет). При этом при СД2 отмечалась более ускоренная агрегация эритроцитов как по сравнению с нормой, так и по сравнению с СД1 (скорость 1 фазы агрегации эритроцитов выше на 28%, время 1 фазы агрегации эритроцитов ниже на 19% по сравнению с СД1). Данные изменения происходят на фоне сходных по выраженности метаболических нарушений при СД1 и СД2 – повышения уровня глюкозы, снижения уровня альбумина крови. При этом, при СД2 наблюдается значимо большее повышение уровня фибриногена, триглицеридов, СРБ, по сравнению с СД1.

4.2 Гемореологические свойства и кожная микроциркуляция при микрососудистых осложнениях и АГ при СД1 и СД2

Зависимость параметров гемореологических свойств и кожной

микроциркуляции при СД1 и СД2 от наличия осложнений была различной.

4.2.1 Гемореологические параметры и показатели микроциркуляции при ХБП при СД1

При СД1 нарушение гиперагрегация эритроцитов наблюдалось во всех группах относительно контроля. Однако такие нарушения усугублялись по мере снижения СКФ. Ускоренное образование агрегатов наблюдалось уже при СКФ ниже 90 мл/мин (ХБП 2 ст.). Таким образом, нарушения гемореологических свойств имеют место на самых ранних стадиях ХБП при СД1. Сходные данные были получены в ходе исследования Lee и соавт., 2015 г., выполненного на 105 пациентах СД2 типа, о нарушении процессов агрегации и деформируемости эритроцитов при снижении СКФ ниже 90 мл/мин [Lee S. et al., 2015]. В группах СД1 по мере снижения СКФ наблюдалось значимое повышение ОХС. Уровень фибриногена, глюкозы, гликированного гемоглобина и альбумина крови не различался.

При нарастании ПУ наблюдалось увеличение прочности наиболее крупных агрегатов в группах ПУ свыше 100, затем 150 мг/сут, затем в тенденции – при ПУ более 300 мг/сут. При ПУ свыше 150 мг/сут к нарушениям присоединялось снижение деформируемости эритроцитов в виде повышения пороговой скорости начала деформации эритроцитов, усугублявшиеся при ПУ свыше 300 мг/сут. По мере повышения ПУ наблюдалось постепенное снижение уровня альбумина крови, получившее статистическую значимость при ПУ более 1000 мг/сут.

При исследовании кожной микроциркуляции при СД1 ее зависимости от уровня СКФ и протеинурии не получено.

При вторичном анализе данных выявлена взаимосвязь показателей агрегации эритроцитов и снижения СКФ. Коэффициент корреляции СКФ и прочности наиболее крупных эритроцитарных агрегатов (I2,5) $\rho = -0,42$, ($p = 0,002$), скорости 1

фазы агрегации эритроцитов (T1) $\rho=0,38$, ($p=0,005$), времени 1 фазы агрегации эритроцитов (kTb) $\rho=-0,38$, ($p=0,006$)). Повышение времени 1 фазы агрегации на 1 с^{-1} эритроцитов ассоциировано со снижением СКФ на $3,74 \text{ мл/мин} \cdot 1,73 \text{ м}^2$. Повышение прочности наибольших эритроцитарных агрегатов на 1 с^{-1} ассоциировано со снижением СКФ на $1,85 \text{ мл/мин} \cdot 1,73 \text{ м}^2$.

Такие влияния гиперагрегации эритроцитов на функцию почек можно объяснить тем, что, по данным литературы, усиление агрегации эритроцитов и повышение жесткости их мембран способны приводить к закупорке отдельных капилляров, затруднять кровоток в микрососудах, увеличивать неравномерность кровоснабжения отдельных участков тканей и органов, и в целом, снижать их снабжение кислородом [Bagchi P, et al. 2005, Baskurt, O.K., Meiselman, H.J., 2003; Cabrales, P.2007; Baskurt, O.K., et al. 2006]. Нарушение кровоснабжения почки способствует уменьшению скорости клубочковой фильтрации. Нарушение кровоснабжения почечных канальцев усугубляет процесс развития тубулопатии и прогрессирование почечной недостаточности [Гайтон, А.К., Холл Д.Э., 2008]. Так, в дисс. Георгиновой О. А. показано опережающее значение в изменении гемореологических параметров —прочности крупных эритроцитарных агрегатов ($I_{2.5}$) и размера эритроцитарных агрегатов по отношению к прогрессии волчаночного нефрита [Георгинова О. А., 2015]. Таким образом, гемореологические нарушения у больных СД могут способствовать развитию патологических процессов в почках и снижению СКФ, что объясняет выявленную взаимосвязь снижения СКФ и повышения прочности крупных эритроцитарных агрегатов ($I_{2.5}$), скорости агрегации эритроцитов (kTb) и снижения времени 1-х фаз агрегации (T1).

В настоящее время, согласно национальным алгоритмам по лечению СД в РФ рекомендуется начинать терапию при ХБП 1-3 стадии при А2, то есть любой СКФ выше 45 при наличии микроальбуминурии [Дедов И.И. и др., 2021 г.]. Исследование реологических свойств крови, а именно, показателей агрегации эритроцитов (прочности наиболее крупных агрегатов, скорости агрегации) связанные, как показало наше исследование, со снижением СКФ на ранних стадиях ХБП (1-2 ст.),

может служить дополнительным фактором для принятия решения о назначения нефропротективной терапии (или коррекции получаемой терапии) при высоких и нормальных СКФ. Также, согласно алгоритмам, исследование альбуминурии при СД1 проводится не ранее чем через 5 лет после дебюта СД1. Наличие дополнительных данных о агрегации эритроцитов у больных СД1 до указанного периода могли бы служить выявлению ранних рисков снижения СКФ и модификации факторов риска, коррекции терапии.

4.2.2 Гемореологические параметры и показатели микроциркуляции при ретинопатии, АГ при СД1

При сравнении групп СД1 без ретинопатии и с ретинопатией 1-3 степени в группе с ретинопатией выявлено значимое повышение скорости образования эритроцитарных агрегатов. При этом в группе с наличием ретинопатии при СД1 был значимо выше уровень гликированного гемоглобина; уровни общего холестерина, альбумина и фибриногена не отличались.

При СД1 с АГ выявлено ускорение агрегации и повышение прочности наиболее крупных агрегатов, существенное снижение деформируемости эритроцитов. Так, интенсивность деформации эритроцитов в ускоряющемся потоке (tga) снижалась почти вдвое. Группы СД1 без АГ и с АГ отличались по уровню холестерина ($4,8 \pm 1,0$ vs $6,23 \pm 1,9$, $p < 0,05$) и не отличались по уровню гликированного гемоглобина, альбумина и фибриногена.

При исследовании кожной микроциркуляции при СД1 ее зависимости от наличия ретинопатии, АГ не получено.

Таким образом, при СД1 наблюдается связь между степенью развития осложнений и нарушением реологических свойств крови. Гемореологические нарушения проявляются уже при ранних отклонениях от нормы. Так, при ХБП - при

снижении СКФ менее 90, или наличии протеинурии выше 100 мг/сутки. Гиперагрегация эритроцитов (прочность наибольших эритроцитарных агрегатов, скорость и время 1-й фазы агрегации эритроцитов) являлась фактором риска прогрессии ХБП. Наличие ретинопатии и АГ также было связано с ухудшением гемореологических свойств. Однако, в группе СД1 не выявлено нарушения капиллярной микроциркуляции, вне зависимости от наличия и степени осложнений и АГ.

4.2.3 Гемореологические параметры и показатели микроциркуляции при микрососудистых осложнениях при СД2

При оценке зависимости гемореологических параметров при СД2 от осложнений диабета и АГ получено, что при СД2 наблюдающиеся, более выраженные, гемореологические нарушения не зависят от наличия микрососудистых осложнений и АГ. Однако, при СД2 и ретинопатии 2-3 степени были выявлены нарушения кожной микроциркуляции на фоне пробы с реактивной кожной гиперемией.

Поражение микроциркуляторного русла кожи и наличие ретинопатии продвинутых стадий (2-3 ст.) могут быть следствиями общего системного процесса поражения микроциркуляторного русла при СД2, и могут рассматриваться как проявления более тяжелого течения диабета.

В ходе регрессионного анализа выявлено, что снижение показателей микроциркуляции на пробе с тепловой вазодилатацией связано с прогрессированием ДР с 0-1 до 2-3 ст. При использовании показателя абсолютного значения снижения микроциркуляции на фоне нагрева (DELTA31) общий процент предсказанных случаев прогрессирования ДР равнялся 76. Для расчёта вероятности прогрессирования ДР от 0-1 к 2-3ст может быть использована приведенная формула:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

при $Z = 3,932 - 0,431 * DELTA31$

Где p – вероятность прогрессии ДР с 0-1 до 2-3 ст. (принимает значение от 0 до 1, при $p > 0,05$ наступление события считается вероятным).

DELTA31 – значение увеличения микроциркуляции на фоне нагрева.

4.3 Исследование сил взаимодействия эритроцитов на уровне отдельных клеток

Исследования на ансамбле клеток у больных СД, как было уже сказано, как правило, указывают на повышение способности эритроцитов к агрегации [Babu N., Singh M., 2004; Le Dévéhat C. et al., 2004; Chou Y.I. et al., 2006; Torregiani F. et al., 1995; Singh M., Shin S., 2009]. Однако при общепринятых оптических методах исследования оцениваемые параметры являются результирующей отношения сил дезагрегации-агрегации в ансамбле клеток, в то время как метод оптического пинцета позволяет измерить данные силы, во-первых, на уровне отдельного эритроцита, а во-вторых, отдельно для обоих процессов агрегации и дезагрегации.

При тестировании сил взаимодействия эритроцитов на уровне отдельных клеток при СД1 и при СД2 отношение величин сил дезагрегации к силам агрегации было ниже по сравнению с контролем. Однако, при СД1 это достигалось за счет снижения сил дезагрегации при неизменной силе агрегации. При СД2 силы агрегации были выше нормы, силы дезагрегации превышали норму в тенденции ($p=0,05$). Отношения сил дезагрегации и агрегации при СД1 и СД2 не отличались между собой.

Полученные данные могут говорить о существовании различных механизмов нарушения процессов агрегации-деагрегации эритроцитов при СД1 и СД2. Такое различие возможно объяснить существенным отличием в патогенезе и применяемой терапии при СД1 и СД2. При СД1 наблюдается абсолютная недостаточность

инсулина и основные патофизиологические последствия СД1 связаны с глюкозотоксичностью, кроме того, больные СД1 постоянно получают инсулинотерапию. Возможным механизмом снижения сил дезагрегации при СД1, во-первых, может быть наблюдаемое при гипергликемии снижение отрицательного заряда мембран эритроцитов, и соответственно, снижение сил электростатического отталкивания клеток [Budak Y. et al., 2004]. Во-вторых показано, что введение инсулина приводит к снижению агрегации *in vivo* в норме [Mantskava M. et al., 2004] и при СД2 [Corròla L. et al., 1997].

Возможно, что наблюдаемые снижение сил дезагрегации и нормальная агрегации эритроцитов у больных СД1 могут быть связаны с введением инсулина. При СД2 патогенез заболевания иной: основным начальным фактором развития патологических нарушений является инсулинорезистентность. Показано, что инсулинорезистентность самостоятельно связана с гиперагрегацией эритроцитов [Brun J.F. et al., 2012]. Также, для больных с СД2 характерно наличие метаболического синдрома с нарушениями липидного, пуринового, углеводного обменов, повышению провоспалительного статуса организма, уровня фибриногена, макроглобулинов. Все эти факторы самостоятельно приводят к гиперагрегации эритроцитов [Toker S. et al., 2005; Gyawali P. et al., 2014]. Таким образом, больные СД2 имеют более широкий спектр причин для нарушения гемореологических свойств крови.

Заключение

Целью данного исследования являлась сравнительная оценка реологических свойств крови при сахарном диабете 1 и 2 типов и поиск маркеров их микрососудистых осложнений.

В ходе проведенного исследования было выявлено, что нарушение реологических свойств крови (а именно, гиперагрегация эритроцитов) значительно более выражены при сахарном диабете 2 типа, даже после уравнивания исследуемых групп по возрасту. Нами выявлено, что гиперагрегация эритроцитов при СД1 коррелировала с возрастом, продолжительностью заболевания, уровнем фибриногена, холестерина, гликированного гемоглобина и глюкозы, при СД2 коррелировала с уровнем фибриногена.

Выявлено, что гиперагрегация эритроцитов связана с наличием микрососудистых осложнений сахарного диабета: диабетической ретинопатии, диабетической нефропатии. Так, повышение скорости 1 фазы агрегации эритроцитов, прочности наиболее крупных эритроцитов и снижение времени 1 фазы агрегации эритроцитов ассоциировано с снижением СКФ ниже $90 \text{ мл/мин} \cdot 1,73 \text{ м}^2$ при развитии диабетической нефропатии. Таким образом, оценка агрегации эритроцитов у больных с СД1 имеет важное клиническое значение в персонализированной диагностике как маркер наиболее раннего развития диабетической нефропатии.

В работе также установлено, что нарушение кожной микроциркуляции на пробе с тепловой вазодилатацией при СД2 является маркером прогрессирования диабетической ретинопатии до препролиферативной и пролиферативной стадий. Таким образом, исследование реологических свойств крови и микроциркуляции у пациентов с СД1 и СД2 способно дополнить диагностические методы при

персонализированной диагностике осложнений СД.

При исследовании механизмов нарушений реологических свойств крови при СД1 и СД2 на уровне отдельных эритроцитов выявлено, что при СД1 и СД2 механизмы гиперагрегации отдельных эритроцитов различны.

Перспективы дальнейшей разработки темы связаны с проведением продольного исследования для изучения прогностического потенциала реологических свойств крови и кожной микроциркуляции.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Большой практический интерес связан с проведением проспективного исследования для оценки предикторной способности нарушений реологических свойств крови на развитие наиболее ранних стадий микрососудистых осложнений при СД1, а также, вероятно, у больных СД2 с хорошим метаболическим контролем и небольшим стажем заболевания.

Возможную новую практическую значимость гемореологических исследований представляет собой изучение гемореологических свойств у лиц с различным биологическим возрастом, связь гемореологических параметров с возрастными изменениями, которая была отмечена и в данном исследовании. Гемореологические параметры потенциально могли бы использоваться для расчёта индексов старения.

Выводы

1. При СД1 и СД2 нарушения реологических свойств крови различны. В группе СД2 наблюдались более выраженные реологические нарушения крови по сравнению с группой СД1: скорость 1 фазы агрегации эритроцитов (кТб) выше на 34%, время 1 фазы агрегации эритроцитов (Т1) выше на 25%, прочность наиболее крупных агрегатов (I2,5) выше на 14%, вязкость крови выше на 8%. Данные изменения зависели от уровня фибриногена и СРБ в группе СД2.
2. После половозрастного уравнивания в группе СД2 сохранялась более выраженная гиперагрегация по сравнению с группой СД1: повышение скорости агрегации (кТб) на 28%, снижение времени 1 фазы агрегации (Т1) на 19%.
3. Микрососудистые осложнения в группе СД1 были связаны с нарушением реологических свойств крови. Снижение СКФ менее 90 мл/мин*м² коррелировало с развитием гиперагрегации эритроцитов: коэффициент корреляции СКФ и прочности наиболее крупных эритроцитарных агрегатов (I2,5) $\rho=0,46$, ($p<0,05$), скорости 1 фазы агрегации эритроцитов (Т1) $\rho=0,408$, ($p<0,05$), времени 1 фазы агрегации эритроцитов (кТб) $\rho=0,41$, ($p<0,05$). Гиперагрегация при ДН зависела от уровня холестерина. Наличие ДР было связано с повышением скорости 1 фазы агрегации эритроцитов, что зависело от уровня гликированного гемоглобина.
4. При СД2 нарушение кожной микроциркуляции на пробе с тепловой вазодилатацией является предиктором развития препролиферативной и пролиферативной диабетической ретинопатии.
5. При исследовании сил агрегации и дезагрегации эритроцитов на уровне отдельных клеток выявлено, что при СД1 и СД2 механизмы гиперагрегации отдельных эритроцитов различны. При СД1 происходит снижение сил

дезагрегации при сохранении сил агрегации. При СД2 происходит увеличение сил как агрегации, так и дезагрегации.

Практические рекомендации

Больным СД1 рекомендуется использовать диагностическую модель оценки реологических свойств крови (способности эритроцитов к агрегации и деформации) в динамике с целью уточнения характера течения заболевания и как дополнительный фактор принятия решения о коррекции терапии.

Больным СД1 без микрососудистых осложнений и АГ рекомендуется определение показателей агрегации эритроцитов (прочности наибольших эритроцитарных агрегатов (I2,5), скорости 1 фазы агрегации эритроцитов (kTb), времени 1-й фазы агрегации эритроцитов (T1)) как маркеров микрососудистого поражения и раннего снижения СКФ (ниже 90 мл/мин*1,73 м²) в целях персонифицированной диагностики и коррекции тактики лечения.

У больных СД2 рекомендуется оценка кожной микроциркуляции с проведением пробы тепловой вазодилатации как маркеров пролиферативной и препролиферативной ДР с целью определения выраженности системного микрососудистого поражения.

Для расчёта риска микрососудистых нарушений может быть использована формула:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

Где p – вероятность наличия микрососудистых нарушений (принимает значение от 0 до 1. При значении выше 0,6 вероятность присутствует), $Z = 3,932 - 0,431$;

* DELTA31, DELTA31 – значение увеличения микроциркуляции на фоне нагрева.

Список сокращений

АГ — артериальная гипертензия	F_A — сила агрегации эритроцитов
ДН — диабетическая нефропатия	F_D — сила дезагрегации эритроцитов
ДР — диабетическая ретинопатия	I — интенсивность обратного светорассеяния
ЗАНК — заболевание артерий нижних конечностей	M₁ — среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции в покое
ИБС — ишемическая болезнь сердца	M₃ — среднее арифметическое значение показателя микроциркуляции при тепловой вазодилатации
ПУ — протеинурия	SI_{2_120} — наклон линии линейной регрессии за первые две минуты фазы активного нагрева
СД — сахарный диабет	T₁ — время 1 фазы агрегации эритроцитов
СД1 — сахарный диабет 1 типа	I_{2.5} — прочность самых крупных эритроцитарных агрегатов
СД2 — сахарный диабет 2 типа	b — прочность основной массы эритроцитарных агрегатов
СКФ — скорость клубочковой фильтрации	Tga — интенсивность деформации эритроцитов
СРБ — С-реактивный белок	ID_{max} — максимальная растяжимость эритроцитов
ТГ — триглицериды	kTb — скорость начальных моментов агрегации эритроцитов
ХБП — хроническая болезнь почек	n — число пациентов/образцов крови в данной группе
ХИГМ — хроническая ишемия головного мозга	
(.)begun — скорость, при которой начинается деформация эритроцитов	
AUC_{2_120} — площадь под кривой за две минуты активного нагрева	
Delta31 — увеличение микроциркуляции на фоне нагрева в абсолютных значениях	
HbA1c — гликированный гемоглобин	
γ — скорость сдвига	

Список литературы

1. Афанасьев Ю.И., Юрина Н.А., Котовский Е.Ф. Гистология. 5-е издание, переработанное и дополненное. — М: Медицина, 2002. — 744 с.
2. Бреговский В.Б., Карпова И.А., Алексеева Е.С. Нарушения кожной микроциркуляции в нижних конечностях при сахарном диабете: патофизиологический феномен или объект для лечения? // Сахарный диабет. — 2011. — 14 (3). — С. 49-53.
3. Бряник Н . В., Томюк О. Н., Стародубцева Е. П. и др. История и философия науки. Екатеринбург: Изд-во У рал. ун-та, 2014. — 288 с.
4. Гайтон, А.К., Холл Д.Э., Медицинская физиология. Москва: Логосфера, 2008. — 1296 с.
5. Галстян Г.Р., Викулова О.К., Исаков М.А. и др. Эпидемиология синдрома диабетической стопы и ампутаций нижних конечностей в Российской Федерации по данным Федерального регистра больных сахарным диабетом (2013–2016 гг.) // Сахарный диабет. — 2018. — Т. 21 (3). — С. 170-177.
6. Гарднер Д., Шобек Д. Базисная и клиническая эндокринология. — М.: Бином, 2013. — С. 269.
7. Георгинова О. А. Гемореологические нарушения у больных волчаночным нефритом: дис. ... канд. мед. наук. — Москва, 2015. — 78 с.
8. Глобальный доклад по диабету. — Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2018. — URL: <http://apps.who.int/iris/>
9. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. и др. Сахарный диабет в Российской Федерации: распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным Федерального регистра сахарного диабета, статус 2017 г. // Сахарный диабет. — 2018. — Т. 21 (3). — С. 144-159.
10. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков

М.А. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным регистра сахарного диабета на 01.01.2021. *Сахарный диабет*. 2021;24(3):204-221.
<https://doi.org/10.14341/DM12759>

11. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А., Сазонова Д.В., Мокрышева Н.Г. Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным Федерального регистра сахарного диабета за период 2010 – 2022 гг. // Сахарный диабет. — 2023. — Т. 26, №2. — С. 104-123. <https://doi.org/10.14341/DM13035>

12. Дедов И.И., Шестакова М.В., Галстян Г.Р. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION) // Сахарный диабет. — 2016. — Т. 19 (2). — С. 104-112

13. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю. Клинические рекомендации «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» 11-й выпуск. — М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2023. — С. 43-55.

14. Дедов И.И., Эндокринология: национальное руководство. 2-е издание, переработанное и дополненное. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. — 1112 с.

15. Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.М. Эндотелиальные микровезикулы — посредники межклеточных взаимодействий в сосудистом секторе // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2011. — № 2. — С. 5–13.

16. Каро К., Педли Т., Шротер Р., Сид У. Механика кровообращения. — М.: Мир, 1981. — 258 с.

17. Киричук В.Ф., Болотова, Н.В. Николаева Н.В. Изменения микроциркуляторного гемостаза и реологии при сахарном диабете // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2004. — № 4. — С. 12-19.

18. Корниенко Е.А., Ойноткинова О.Ш., Иванов Д.В. Влияние чрескожного коронарного вмешательства на динамику интенсивности окислительного стресса и реологические свойства крови при лечении острого инфаркта миокарда у пациентов с СД 2 ТИПА // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. -

2018. - № 6. - С. 19-28.

19. Котляр К.Е., Глазков А.А., Ковалева Ю.А. и др. Оценка состояния микроциркуляторного русла кожи и сетчатки глаза с помощью оптических методов диагностики у больных сахарным диабетом // Альманах клинической медицины. — 2016. — Т. 44 (2). — С. 186–192

20. Кравец Е.Б., Яковлева Н.М., Рязанцева Н.В. Особенности микрореологических свойств эритроцитов при сосудистых осложнениях сахарного диабета 1 типа // Сахарный диабет. — 2005. — №1. — С.14-17.

21. Кроненберг Г.М., Полонски К.С., Ларсен П.Р. Эндокринология по Вильямсу — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 79 с.

22. Кручинина М.В., Громов А.А., Паруликова М.В. и др. Возможности диагностики реологических нарушений у больных сахарным диабетом 2 типа // Сахарный диабет: макро- и микрососудистые осложнения. Сборник тезисов II Всероссийской конференции с международным участием. - М., 2017. - С. 44.

23. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. — Чита: Экспресс-издательство, 2010. — 832 с.

24. Кузник Б.И., Витковский Ю.А., Захарова М.Ю. и др. Агрегационная активность форменных элементов крови у больных сахарным диабетом 1 и 2 типа // Сахарный диабет. — 2012. — № 2. — С. 49–53.

25. Куликов Д.А., Глазков А.А., Ковалева Ю.А. и др., Перспективы использования лазерной доплеровской флоуметрии в оценке кожной микроциркуляции крови при сахарном диабете. // Сахарный диабет. — 2017. — 20(4). — С. 279-285.

26. Левтов В.А. Регирер С.А. Шадрина Н.Х. Реология крови. — М.: Медицина, 1982. — 396 с.

27. Малышева Ю.А., Тихомирова И.А., Петроченко Е.П., Муравьев А.В. Гемореологический профиль и состояние тромбоцитарного звена гемокоагуляции у больных диабетом второго типа // Смоленский медицинский альманах. - 2018. - № 4. - С.213-215.

28. Милютина-Якушева Д.А., Халепо О.В., Молотков О.В. Особенности

реологических свойств крови у пациентов с сахарным диабетом 2 типа // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2016. - № 3 (67). - С. 291-293.

29. Морозова В.Т., Луговская С.А., Почтарь М.Е. Эритроциты: структура, функции, клинко-диагностическое значения // Клин. лаб. д-ка. — 2007. — № 10. — С. 21–35.

30. Муравьев А.В., Тихомиров И.А., Михайлов П.В., Муравьева А.А. Гемореология и микроциркуляция. Учебное пособие. — Ярославль: ЯГПУ, 2010. — 105 с.

31. Муравьев А.В., Муравьева А.А. Вне- и внутриклеточные механизмы изменения агрегации эритроцитов // Физиология человека. — 2005. — Т. 31 (4). — С. 108-112.

32. Муравьев А.В., Тихомирова И.А., Булаева С.В. и др. Взаимосвязь параметров гемореологического профиля с уровнем глюкозы и гликированного гемоглобина у больных сахарным диабетом 2 типа // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2018. - № 2 (74). - С. 46-53.

33. Петрик Г.Г. Предиабет и сахарный диабет: метаболические аспекты гемостаз: дис. ... док. мед. наук. — Москва, 2019. — 326 с.

34. Семенов А.Н., Луговцов А.Е., Ли К. и др. Использование методов диффузного рассеяния света и оптического захвата для исследования реологических свойств крови: агрегация эритроцитов при сахарном диабете // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Физика. — 2017. — Т. 17 (2). — С. 85-97.

35. Смирнова О.М. Диабетическая ретинопатия. Результаты международных многоцентровых исследований // Сахарный диабет. — 2010 — №1. — С. 1-5.

36. Соколова И.А., Рыкова С.Ю., Шахназаров А.А. и др. Агрегация эритроцитов: некоторые вопросы и гипотезы // Российский журнал биомеханики. — 2011. — Т. 15, № 1(51). — С. 7–22.

37. Троицкая Н.И., Шаповалов К.Г., Голятин Ю.А., Дамдинов Р.И. Системные изменения микроциркуляции при синдроме диабетической стопы // Сибирское медицинское обозрение. — 2020. — Т. (3). — С. 92-96.

38. Трусов В.В., Аксенов К.В., Черемискина И.Б. Нарушения микроциркуляции у больных сахарным диабетом типа 1 с нефропатией и пути коррекции // Проблемы Эндокринологии. — 2004. Т.50(5). — С. 24-27. <https://doi.org/10.14341/probl11517>
39. Федюшина О.Г. Особенности гемостаза и реологии крови человека при сахарном диабете в сочетании с артериальной гипертензией: дис. ... канд. биол. наук. — Н. Новгород, 2005. — 184 с.
40. Фирсов Н.Н., Приезжев А.В., Климова Н.В., Тюрина А.Ю. Основные закономерности деформационного поведения эритроцитов в сдвиговом потоке // Инженерно-Физический Журнал. — 2006. — Т.79, № 1. — С. 114-120.
41. Фирсов Н.Н., Джанашия П.Х. Введение в экспериментальную и клиническую реологию // М.: РГМУ, 2008. — С. 20.
42. Шамхалова М.Ш., Викулова О.К., Железнякова А.В. и др. Эпидемиология хронической болезни почек в Российской Федерации по данным Федерального регистра взрослых пациентов с сахарным диабетом (2013–2016 гг.) // Сахарный диабет. — 2018. — Т. 21 (3). — С. 160-169.
43. Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В. и др. Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: что изменилось за последнее десятилетие? // Терапевтический архив. — 2019. — Т. 10. — С. 4-13.
44. Шилов А.М., Мельник М.В. Артериальная гипертензия и реологические свойства крови. — М.: БАРС, 2005. — 206 с.
45. Agrawal R., Smart T., Nobre-Cardoso J. et al. Assessment of red blood cell deformability in type 2 diabetes mellitus and diabetic retinopathy by dual optical tweezers stretching technique // Sci. ReP. — 2016. — Vol. 6. — 15873.
46. Ahmed M., Kumari N., Mirgani Z. et al. Metabolic syndrome: definition, pathogenesis, elements, and the effects of medicinal plants on its elements // J. Diabetes Metab. Disord. — 2022. — Vol. 21. — P. 1011–1022.
47. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2021 // Diabetes Care. - 2021. - Vol.44(Suppl 1). - P.15-33.

48. Antonova N.M., Paskova V.K., Velcheva I.V. Blood rheological and electrical properties and relationships with the microvascular tone regulation in patients with diabetes mellitus type 2 // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2021. - Т. 20, № 1 (77). - С. 25-33.
49. Antonova N., Velcheva I., Paskova V. Hemorheological and microvascular disturbances in patients with type 2 diabetes mellitus // Clin Hemorheol Microcirc. - 2022. - Vol.81(4). - P.325-341.
50. Asakura S., Oosawa F. On Interaction between Two Bodies Immersed in a Solution of Macromolecules // The Journal of Chemical Physics. — 1954. — Vol. 22 (7). — P. 1255.
51. Attali J.R., Valensi P. Diabetes and hemorheology // Diabete Metab. — 1990. — Vol. 16 (1). — P. 1-6.
52. Babu N., Singh M. Influence of hyperglycemia on aggregation, deformability and shape parameters of erythrocytes // Clin. Hemorheol. Microcir. — 2004. — Vol. 3 (4). — P. 273-280.
53. Bagchi, P., P.C. Johnson, and A.S. Popel, Computational fluid dynamic simulation of aggregation of deformable cells in a shear flow // J Biomech Eng. — 2005. — Vol. 127 (7). — P. 1070-80.
54. Barchetta I., Riccieri V., Vasile M. et al. High prevalence of capillary abnormalities in patients with diabetes and association with retinopathy // Diabetic Medicine. — 2011. — Vol. 28 (9). — P. 1039–1044.
55. Barouch F.C., Miyamoto K., Allport J.R. et al. Integrin-mediated neutrophil adhesion and retinal leukostasis in diabetes // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2000. — Vol. 41. — P. 1153-1158.
56. Barrett-Connor E., Giardina E.G.V., Gitt A.K., et al. Women and heart disease: the role of diabetes and hyperglycemia // Arch. Intern. Med. — 2004. — Vol. 164 – P. 934–942.
57. Baskurt O. K., Meiselman H.J. Erythrocyte aggregation: basic aspects and clinical importance // Clin. Hemorheol. Microcirc., — 2013, — 53(1-2), — С. 23-37.
58. Baskurt O.K., Uyuklu M., Ulker P., et all. Comparison of three instruments for

measuring red blood cell aggregation // Clin. Hemorheol. Microcirc. — 2009. — 43(4). — C. 283-298.

59. Bessis M., Mohandas N. A diffractometric method for the measurement of cellular deformability // Blood Cells. — 1975. — Vol. 8 (3). — P. 307-313.

60. Braquet P., Hosford D. Ethnopharmacology and the development of natural PAF antagonists as therapeutic agents // J. Ethnopharmacol. — 1991. — Vol. 32. — P.135–139.

61. Bronkhorst P. J., Grimbergen J., Brakenhoff G.J. et al. The mechanism of red cell (dis)aggregation investigated by means of direct cell manipulation using multiple optical trapping // Br. J. Haematol. — 1997. — Vol. 96. — P. 256–258.

62. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications // Nature. — 2001. — Vol. 414. — P. 813-820.

63. Brownlee M. Lilly Lecture 1993: glycation and diabetic complications // Diabetes. - 1994. — Vol. 43. — P. 836-841.

64. Brownlee M. Preventing kidney cell suicide // Nat. Med. — 2007. — Vol. 13 (11). — P. 1284-1285.

65. Brun J.F., Varlet-Marie E., Raynaud de Mauverger E. Relationships between insulin sensitivity measured with the oral minimal model and blood rheology // Clin. Hemorheol. Microcirc. — 2012. — Vol. 51 (1). — P. 29-34.

66. Budak Y, Demirci H, Akdogan M & Yavuz D, Erythrocyte membrane anionic charge in type 2 diabetic patients with retinopathy // BMC Ophthalmology. — 2004. — Vol. 4. — P. 14.

67. Cabel M., Meiselman H.J., Popel A.S., Johnson P.C. Contribution of red blood cell aggregation to venous vascular resistance in skeletal muscle // Am. J. Physiol. — 1997. — Vol. 272. — P. 1020–1032

68. Cabrales, P., Effects of erythrocyte flexibility on microvascular perfusion and oxygenation during acute anemia // Am J Physiol Heart Circ Physiol, — 2007. — Vol. 293 (2). — P. 1206-15.

69. Calderón-Salinas J.V., Muñoz-Reyes E.G., Guerrero-Romero J.F. et al.

Eryptosis and oxidative damage in type 2 diabetic mellitus patients with chronic kidney disease // *Mol. Cell Biochem.* — 2011. — Vol. 357 (1-2). — P. 171-179.

70. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease // *Nat. Med.* — 2003. — Vol. 9 (6). — P. 653-660.

71. Carvalho F.A., Connell S., Miltenberger-Miltenyi G. et al., Atomic force microscopy-based molecular recognition of a fibrinogen receptor on human erythrocytes // *ACS Nano.* — 2010. — Vol. 4 (8). — P. 4609-4620.

72. Ceriello A., Prattichizzo F. Variability of risk factors and diabetes complications // *Cardiovasc Diabetol.* - 2021. - Vol.20(1). - P.101.

73. Chen J., Tan W. Platelet activation and immune response in diabetic microangiopathy // *Clin Chim Acta.* - 2020. - Vol.507. - P.242-247.

74. Chien S. Determinants of blood viscosity and red cell deformability // *Scand. J. Clin. and Lab. Invest.* — 1981. — Vol. 41 (156). — P. 7–12.

75. Chien S., Li S., Shyy Y.J. Effects of mechanical forces on signal transduction and gene expression in endothelial cells // *Hypertension.* — 1998. — Vol. 31 (1 Pt. 2). — P. 162-169.

76. Chien S., Sung L.A. Physiochemical basis and clinical implications of red cell aggregation // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 1987. — Vol. 7. — P. 71–91.

77. Cho Y.I., Mooney M.P., Cho D.J. Hemorheological disorders in Diabetes Mellitus // *Journal of Diabetes Science and Technology.* — 2006. — Vol. 2 (6). — P. 24-28

78. Cinara L., Bollini A., Gayol Mdel C., Hernández G.N. In vitro effect of insulin on rats erythrocytes rheological behavior // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2006. — Vol. 35 (3). — P. 367-373.

79. Cloete L. Diabetes mellitus: an overview of the types, symptoms, complications and management // *Nurs Stand.* - 2022. -Vol.37(1). - P.61-66.

80. Coppola L., Verrazzo G., La Marca C. et al. Effect of insulin on blood rheology in non-diabetic subjects and in patients with Type 2 diabetes mellitus // *Diabet. Med.* — 1997. — Vol. 14 (11). — P. 959-963.

81. Curry F.E., Adamson R.H. Endothelial Glycocalyx: Permeability Barrier and

Mechanosensor // *Annals of Biomedical Engineering*. — 2012. — Vol. 40 (4). — P. 828-839.

82. Daiber A., Steven S., Vujacic-Mirski K. et al. Regulation of vascular function and inflammation via cross talk of reactive oxygen and nitrogen species from mitochondria or NADPH oxidase-implications for diabetes progression // *Int. J. Mol. Sci.* — 2020. — Vol. 21 (10). — P. 3405.

83. Darenskaya M.A., Kolesnikova L.I., Kolesnikov S.I. Oxidative Stress: Pathogenetic Role in Diabetes Mellitus and Its Complications and Therapeutic Approaches to Correction // *Bull Exp Biol Med.* - 2021. - Vol.171(2). - P.179-189.

84. De Fronzo R.A., Simonson D., Ferrannini E. Hepatic and peripheral insulin resistance: a common feature of type 2 (non-insulindependent) and type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus // *Diabetologia*. — 1982. — Vol. 23. — P. 313-319.

85. Degenhardt T.P., Thorpe S.R., Baynes J.W. Chemical modification of proteins by methylglyoxal // *Cell Mol. Biol.* — 1998. — Vol. 44 (7). — P. 1139-1145.

86. Demir S., Nawroth P.P., Herzig S., Ekim Üstünel B. Emerging Targets in Type 2 Diabetes and Diabetic Complications // *Adv Sci (Weinh)*. - 2021. - Vol.8(18):e2100275.

87. Deng Y., Papageorgiou D.P., Li X. et al. Quantifying Fibrinogen-Dependent Aggregation of Red Blood Cells in Type 2 Diabetes Mellitus // *Biophys J.* - 2020. - Vol.119(5). - P.900-912.

88. Deng Y., Chang H.Y., Li H. Recent Advances in Computational Modeling of Biomechanics and Biorheology of Red Blood Cells in Diabetes // *Biomimetics (Basel)*. - 2022. - Vol.7(1):15.

89. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus // *N. Engl. J. Med.* — 1993. — Vol. 329. — P. 977-986.

90. Distel E., Barrett T.J., Chung K. et al. miR33 inhibition overcomes deleterious effects of diabetes mellitus on atherosclerosis plaque regression in mice // *Circ. Res.* — 2014. — Vol. 115 (9). — P. 759-769.

91. Donner M., Siadat M., Stoltz J.F. Erythrocyte aggregation: approach by light

scattering determination // *Biorheology*. — 1988. — Vol. 25 (1-2). — P. 367-375.

92. Du X., Edelstein D., Obici S. et al. Insulin resistance reduces arterial prostacyclin synthase and eNOS activities by increasing endothelial fatty acid oxidation // *J. Clin. Invest.* — 2006. — Vol. 116. — P. 1071-1080.

93. Dull R.O., Garcia J.G.N. Leukocyte-Induced Microvascular Permeability How Contractile Tweaks Lead to Leaks // *Circulation research*. — 2002. — Vol. 90 (11). — P. 1143-1144.

94. Eggleton R.D., DaVis. T.P. Development of neuropeptide drugs that cross the blood-brain barrier // *NeuroRx*. — 2005. — Vol. 2. — P. 44-53.

95. Elishkevitz K., Fusman R., Koffler M. et al. Rheological determinants of red blood cell aggregation in diabetic patients in relation to their metabolic control // *Diabet. Med.* — 2002. — Vol. 19 (2). — P. 152-156.

96. El-Osta A., Brasacchio D., Yao D. et al. Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia // *J. Exp. Med.* — 2008. — Vol. 205 (10). — P. 2409-2417.

97. Emerson G.G., Segal S.S. Electrical activation of endothelium evokes vasodilation and hyperpolarization along hamster feed arteries // *Am. J. Physiol.* — 2001. — Vol. 280. — P. 160-167.

98. Engerman R.L., Kern T.S. Progression of incipient diabetic retinopathy during good glycemic control // *Diabetes*. — 1987. — Vol. 36 (7). — P. 808-812.

99. Erickson J.R., Pereira L., Wang L. et al. Diabetic hyperglycaemia activates CaMKII and arrhythmias by O-linked glycosylation // *Nature*. — 2013. — Vol. 502 (7471). — P. 372-376.

100. Evans, E.A., Bending resistance and chemically induced moments in membrane bilayers // *Biophys. J.* — 1974. — Vol. 14 (12). — P. 923-931.

101. Federici M., Menghini R., Mauriello A. et al. Insulin-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase is impaired by O-linked glycosylation modification of signaling proteins in human coronary endothelial cells // *Circulation*. — 2002. — Vol. 106 (4). — P. 466-472.

102. Feng L, Chen H, Chen J, Xiong C, Shao X, Wang X, Ning J, Xiang Z, Wang

X, Chen T, Xiao H, Tang H, Li X, Hong G, Zou H. The Product of Red Blood Cells and Hematocrit Can Be Used as a Novel Indicator of Impaired Fasting Blood Glucose Status. // Diabetes Metab Syndr Obes. 2020;13:4007-4015
<https://doi.org/10.2147/DMSO.S270276>

103. Ferreira J.P., Sharma A., Mehta C. et al. Multi-proteomic approach to predict specific cardiovascular events in patients with diabetes and myocardial infarction: findings from the EXAMINE trial // Clin. Res. Cardiol. — 2021. — Vol. 110. — P. 1006–1019.

104. Firsov N.N., Priezzhev A.V., Klimova N.V., Tyrina A.U. Fundamental laws of the deformational behavior of erythrocytes in shear flow // Journal of Engineering Physics and Thermophysics. — 2006. — Vol. 79 (1). — P. 118-124.

105. Foussard N., Mohammedi K. Diabetes mellitus in adults and complications // Rev Prat. - 2021. - Vol.71(10). - P.1123-1133.

106. Giannini C., Dyck P.J. Basement membrane reduplication and pericyte degeneration precede development of diabetic polyneuropathy and are associated with its severity // Ann. Neurol. — 1995. — Vol. 37 (4). — P. 498-504.

107. Ginsberg H.N. Insulin resistance and cardiovascular disease // J. Clin. Invest. — 2000. — Vol. 106. — P. 453-454.

108. Global Burden of Disease Collaborative Network // Global Burden of Disease Study — 2020, [электронный ресурс], режим доступа: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-results/>

109. Goligorsky M.S. Vascular endothelium in diabetes // Am. J. Physiol. Renal Physiol. — 2017. — Vol. 312. — P. 266–275.

110. Grigoleit H.G., Lehrach F., Muller R. Diabetic angiopathy and blood viscosity // Acta. Diabet. Lat. 1973. — Vol. 10. — P. 1311–1324.

111. Gurfinkel Y.I., Suchkova O.V., Sasonko M.L., Priezzhev A.V. Implementation of digital optical capillaroscopy for quantifying and estimating the microvascular abnormalities in type 2 diabetes mellitus // Saratov Fall Meeting 2015: Third International Symposium on Optics and Biophotonics and Seventh Finnish-Russian Photonics and Laser Symposium (PALS) Proc. SPIE. — Bellingham, Washington, 2016. — e991703.

112. Gutiérrez E. Microvascular function, diabetes and coronary risk // *Int J Cardiol.* - 2020. - Vol.307. - P.176-177.
113. Gyawali P., Richards R.S., Hughes D.L., Tinley P. Erythrocyte aggregation and metabolic syndrome // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2014. — Vol. 57 (1). — P. 73-83.
114. Hammes H.P., Feng Y., Pfister F. Brownlee M. Diabetic retinopathy: targeting vasoregression // *Diabetes.* — 2011. — Vol. 60 (1). — P. 9-16.
115. Hanahan D. Signaling vascular morphogenesis and maintenance // *Science (New York).* — 1997. — Vol. 277 (5322). — P. 48-50.
116. Hilz M.J., Marthol H., Neundorfer B., Diabetic somatic polyneuropathy. Pathogenesis, clinical manifestations and therapeutic concepts // *Fortschr. Neurol. Psychiatr.* — 2000. — Vol. 68 (6). — P. 278–288
117. Hirschi K.K., D'Amore P.A. Pericytes in the microvasculature // *Cardiovasc. Res.* — 1996. — Vol. 32. — P. 687-698.
118. Hoffmann M., Kujath P., Flemming A. et al. Survival of diabetes patients with major amputation is comparable to malignant disease // *Diabetes Vasc. Dis. Res.* — 2015. — Vol. 12 (4). — P. 265-271.
119. Horie K., Miyata T., Maeda K. et al. Immunohistochemical colocalization of glycoxidation products and lipid peroxidation products in diabetic renal glomerular lesions. Implication for glycoxidative stress in the pathogenesis of diabetic nephropathy // *J. Clin. Invest.* 1997. — Vol. 100 (12). — P. 2995-3004.
120. Hotamisligil G.S. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease // *Cell.* — 2010. — Vol. 140. — P. 900-917.
121. Hother-Nielsen O, Beck-Nielsen H. Insulin resistance, but normal basal rates of glucose production in patients with newly diagnosed mild diabetes mellitus // *Acta. Endocrinol. (Copenh).* — 1991. — Vol. 124. — P. 637-645.
122. Hsu R., Secomb T.W. Motion of nonaxisymmetric red blood cells in cylindrical capillaries // *J. Biomech. Eng.* — 1989. — Vol. 111 (2). — P. 147-151.
123. International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. // *Diabetes Res Clin Pract.* — 2019 — Nov. 157. — P.107843

124. Isermann B., Vinnikov I.A., Madhusudhan T. et al. Activated protein C protects against diabetic nephropathy by inhibiting endothelial and podocyte apoptosis // *Nat. Med.* — 2007. — Vol. 13 (11). — P. 1349-1358.
125. Iwaguro H., Yamaguchi J., Kalka C. et al. Endothelial progenitor cell vascular endothelial growth factor gene transfer for vascular regeneration // *Circulation.* — 2002. — Vol. 105 (6). — P. 732-738.
126. Jain R.K., Sugii Y., Minamiyama M., Okamoto K. Molecular regulation of vessel maturation // *Nat. Med.* — 2003. — Vol. 9 (6). — P. 685-693.
127. Jansen F., Yang X., Hoelscher M. et al. Endothelial microparticle-mediated transfer of microRNA-126 promotes vascular endothelial cell repair via SPRED1 and is abrogated in glucose-damaged endothelial microparticles // *Circulation.* — 2013. — Vol. 128 (18). — P. 2026-2038.
128. Januszyk M., Sorkin M., Glotzbach J.P. et al. Diabetes irreversibly depletes bone marrow-derived mesenchymal progenitor cell subpopulations // *Diabetes.* — 2014. — Vol. 63 (9). — P. 3047-3056.
129. Jeong J.H., Sugii Y., Minamiyama M., Okamoto K. et al., Measurement of RBC deformation and velocity in capillaries in vivo // *Microvasc. Res.* — 2006. — Vol. 71 (3). — P. 212-217.
130. Jin Q., Ma R.C.W. Metabolomics in Diabetes and Diabetic Complications: Insights from Epidemiological Studies // *Cells.* - 2021. - Vol.10(11). - P.2832-2835.
131. Kannenkeril D., Jung S., Harazny J. et al. Tissue sodium content correlates with hypertrophic vascular remodeling in type 2 diabetes // *J Diabetes Complications.* - 2021. - Vol.35(12). - P.108055.
132. Karastergiou K., Mohamed-Ali V. The autocrine and paracrine roles of adipokines // *Mol. Cell. Endocrinol.* — 2010. — Vol. 318. — P. 69-78.
133. Katchalsky A., Danon D., Nevo A. Interactions of basic polyelectrolytes with the red blood cell. II. Agglutination of red blood cells by polymeric bases // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1959. — Vol. 33 (1). — P. 120-138.
134. Kato M., Castro N.E., Natarajan R. MicroRNAs: potential mediators and biomarkers of diabetic complications // *Free Radic. Biol. Med.* — 2013. — Vol. 64. — P.

85-94.

135. Kesmarky G., Kenyeres P., Rábai M., Tóth K. et al., Plasma viscosity: a forgotten variable // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2008. — Vol. 39 (1-4). — P. 243-246.

136. Khan M.A.B., Hashim M.J., King J.K. et al. Epidemiology of type 2 diabetes — global burden of disease and forecasted trends // *J. Epidemiol. Glob. Health.* — 2020. — Vol. 10. — P. 107–111.

137. Kojima H., Kim J., Chan L. Emerging roles of hematopoietic cells in the pathobiology of diabetic complications // *Trends Endocrinol. Metab.* — 2014. — Vol. 25 (4). — P. 178-187.

138. Kopp J.B., Factor V.M., Mozes M. et al. Transgenic mice with increased plasma levels of TGF-beta 1 develop progressive renal disease // *Lab Invest.* — 1996. — Vol. 74 (6). — P. 991-1003.

139. Korotaeva T.V., Firsov N.N., Bjelle A., Vishlova M.A. Erythrocytes aggregation in healthy donors at native and standard hematocrit: the influence of sex, age, immunoglobulins and fibrinogen concentrations. Standardization of parameters // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2007. — Vol. 36 (4). — P. 335-343.

140. Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A. High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria // *FEBS Lett.* — 1997. — Vol. 416 (1). — P. 15-18.

141. Kowluru R.A. Effect of reinstitution of good glycemic control on retinal oxidative stress and nitrative stress in diabetic rats // *Diabetes.* — 2003. — Vol. 52 (3). — P. 818-823.

142. Koya D., Jirousek M.R., Lin Y.W. et al. Characterization of protein kinase C beta isoform activation on the gene expression of transforming growth factor-beta, extracellular matrix components, and prostanoids in the glomeruli of diabetic rats // *J. Clin. Invest.* — 1997. — Vol. 100. — P. 115-126.

143. Kuwabara Y., Horie T., Baba O. et al. MicroRNA-451 exacerbates lipotoxicity in cardiac myocytes and high-fat diet-induced cardiac hypertrophy in mice through suppression of the LKB1/AMPK pathway // *Circ. Res.* — 2015. — Vol. 116 (2). — P. 279-288.

144. Kuwajima S. Immunochemical determination of advanced glycation end products in erythrocyte peripheral-membrane proteins from diabetic patients // *Hokkaido Igaku Zasshi*. — 1993. — Vol. 68 (5). — P. 695-704.
145. Laakso M. Hyperglycemia as a risk factor for cardiovascular disease in type 2 diabetes // *Prim. Care*. — 1999. — Vol. 26. — P. 829–839.
146. Lang K.S., Duranton C., Poehlmann H. et al. Cation channels trigger apoptotic death of erythrocytes // *Cell Death Differ*. — 2003. — Vol. 10 (2). — P. 249-256.
147. Le Devehat C., Khodabandehlou T., Vimeux M. Impaired hemorheological properties in diabetic patients with lower limb arterial ischaemia // *Clin. Hemorheol*. — 2001. — Vol. 25. — P. 43.
148. Le Devehat C., Khodabandehlou T., Vimeux M. Relationship between hemorheological and microcirculatory abnormalities in diabetes mellitus // *Diabete Metab*. — 1994. — Vol. — 20 (4). — P. 401–404.
149. Le Dévéhat C., Vimeux M., Khodabandehlou T. Blood rheology in patients with diabetes mellitus // *Clin. Hemorheol. Microcir*. — 2004. — Vol. 30. — P. 297-300.
150. Lee K., Kinnunen M., Khokhlova M.D. et al. Optical tweezers study of red blood cell aggregation and disaggregation in plasma and protein solutions // *J. Biomed. Opt*. — 2016. — Vol. 21 (3). — 035001.
151. Lee K., Priezzhev A., Shin S., Yaya F., Meglinski I. Characterization of shear stress preventing red blood cells aggregation at the individual cell level: The temperature dependence // *Clin. Hemorheol. Microcirc*. — 2016. — Vol. 64. — P. 853-857.
152. Lee K., Wagner C., Priezzhev A.V. Assessment of the "cross-bridge"-induced interaction of red blood cells by optical trapping combined with microfluidics // *J Biomed Opt*. - 2017. - Vol.22(9). - P.91516-91519.
153. Lee S., Lee M.Y., Nam J.S. et al. Hemorheological Approach for Early Detection of Chronic Kidney Disease and Diabetic Nephropathy in Type 2 Diabetes // *Diabetes Technol. Ther*. — 2015. — Vol. 17 (11). — P. 808-815.
154. Lominadze D., Dean W.L. Involvement of fibrinogen specific binding in erythrocyte aggregation // *FEBS Lett*. — 2002. — Vol. 517 (1-3). — P. 41-44.
155. Long J., Wang Y., Wang W. et al. MicroRNA-29c is a signature microRNA

under high glucose conditions that targets Sprouty homolog 1, and its in vivo knockdown prevents progression of diabetic nephropathy // *J. Biol. Chem.* — 2011. — Vol. 286 (13). — P. 11837-11848.

156. Loyola-Leyva A., Loyola-Rodríguez J.P., Atzori M., González F.J. Morphological changes in erythrocytes of people with type 2 diabetes mellitus evaluated with atomic force microscopy: A brief review. // *Micron.* — 2018. — Vol. 105. — P. 11-17.

157. Mantskava M., Momtselidze N., Pargalava N., Mchedlishvili G. Hemorheological disorders in patients with type 1 or 2 diabetes mellitus and foot gangrene // *Clinical Hemorheology and Microcirculation.* — 2006. — Vol. 35. — P. 307–310.

158. Mantskava M., Pargalava N., Mchedlishvili G. Direct beneficial effect of insulin on blood rheological disorders in the microcirculation // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2004. — Vol. 30 (3-4). — P. 431-433.

159. Marsh S.A., Collins H.E., Chatham J.C. Protein O-GlcNAcylation and cardiovascular (patho)physiology // *J. Biol. Chem.* — 2014. — Vol. 289 (50). — P. 34449-34456.

160. Maruyama T., Hieda M., Mawatari S., Fujino T. Rheological Abnormalities in Human Erythrocytes Subjected to Oxidative Inflammation // *Front Physiol.* - 2022.- Feb 23;13:837926.

161. Maslianitsyna A., Ermolinskiy P., Lugovtsov A. et al. Multimodal Diagnostics of Microrheologic Alterations in Blood of Coronary Heart Disease and Diabetic Patients // *Diagnostics (Basel).* - 2021. - Vol.11(1). - P.76.

162. Matsuda T., Murakami M. Relationship between fibrinogen and blood viscosity // *Thromb. Res.* — 1976. — Vol. 8 (2). — P. 25-33.

163. Melmed S., Polonsky K., Larsen P.R. *Williams Textbook of Endocrinology.* Elsevier/Saunders, 2011. - 1897 p.

164. Miyamoto K., Khosrof S., Bursell S.E. et al. Prevention of leukostasis and vascular leakage in streptozotocin-induced diabetic retinopathy via intercellular adhesion molecule-1 inhibition // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1999. — Vol. 96. — P. 10836-10841.

165. Miyamoto K., Khosrof S., Bursell S.E. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced retinal vascular permeability is mediated by intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) // *Am. J. Pathol.* — 2000. — Vol. 156. — P. 1733-1739.

166. Mizutani M., Kern T.S., Lorenzi M. Accelerated death of retinal microvascular cells in human and experimental diabetic retinopathy // *J. Clin. Invest.* — 1996. — Vol. 97 (12). — P. 2883-2890.

167. Mortaş T., Arıkan Durmaz Ş., Sezen Ş.C., Savranlar Y. Assessment of erythrocyte morphology in patients with type 2 diabetes mellitus: a pilot study of electron microscopy-based analysis in relation to healthy controls // *Turk J Med Sci.* - 2021.- Vol.51(5). - P.2534-2542.

168. Neu B., Meiselman H.J. Depletion-mediated red blood cell aggregation in polymer solutions // *Biophys. J.* — 2002. — Vol. 83 (5). — P. 2482-2490.

169. Nguyen D., Ping F., Mu W. et al. Macrophage accumulation in human progressive diabetic nephropathy // *Nephrology.* — 2006. — Vol. 11 (3). — P. 226-231.

170. Nicolay J.P., Schneider J., Niemoeller O.M. et al. Stimulation of suicidal erythrocyte death by methylglyoxal // *Cell Physiol. Biochem.* — 2006. — Vol. 18 (4-5). — P. 223-232.

171. Nishikawa T., Edelstein D., Du X.L. et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage // *Nature.* — 2000. — Vol. 404 (6779). — P. 787-790.

172. Nishino T., Horii Y., Shiiki H. et al. Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end products within the vascular lesions and glomeruli in diabetic nephropathy // *Hum. Pathol.* — 1995. — Vol. 26 (3). — P. 308-313.

173. Niwa T., Katsuzaki T., Miyazaki S. et al. Immunohistochemical detection of imidazolone, a novel advanced glycation end product, in kidneys and aortas of diabetic patients // *J. Clin. Invest.* — 1997. — Vol. 99 (6). — P. 1272-1280.

174. Ojo O. Recent Advances in Nutrition and Diabetes // *Nutrients.* - 2021. - Vol.13(5). - P.1573- 1578.

175. Paul S., Ali A., Katare R. Molecular complexities underlying the vascular complications of diabetes mellitus — A comprehensive review // *J. Diabetes Complicat.*

— 2020. — Vol. 34 (8). — 107613.

176. Peduzzi M., Melli M., Fonda S. et al. Comparative evaluation of blood viscosity in diabetic retinopathy // *Int. Ophthalmol.* — 1984. — Vol. 7 (1). — P. 15–19.

177. Pinho D., Carvalho V., Gonçalves I.M. et al. Visualization and Measurements of Blood Cells Flowing in Microfluidic Systems and Blood Rheology: A Personalized Medicine Perspective // *J Pers Med.* - 2020. - Vol.10(4). - P.249.

178. Putta S., Lanting L., Sun G. et al. Inhibiting microRNA-192 ameliorates renal fibrosis in diabetic nephropathy // *J. Am. Soc Nephrol.* — 2012. — Vol. 23 (3). — Vol. 458-469.

179. Reidy K., Kang H.M., Hostetter T., Susztak K. Molecular mechanisms of diabetic kidney disease // *J. Clin. Invest.* — 2014. — Vol. 124 (6). — P. 2333-2340.

180. Reverberi R., Govoni M., Verenini M. Deformability and viability of irradiated red cells // *Ann. Ist. Super Sanita.* — 2007. — Vol. 43 (2). — P. 176-185.

181. Rhodin J.A. The ultrastructure of mammalian arterioles and pre-capillary sphincters // *J. Ultrastruct. Res.* — 1967. — Vol. 18. — P. 181–223.

182. Robles D.T., Eisenbarth G.S. Type 1A diabetes induced by infection and immunization // *J. Autoimmun.* — 2001. — Vol. 16 (3). — P. 355-262.

183. Rosengren A., Welin L., Tsipogianni A., Wilhelmsen L. Impact of cardiovascular risk factors on coronary heart disease and mortality among middle aged diabetic men: a general population study // *BMJ.* — 1989. — Vol. 299 (6708). — P. 1127-1131.

184. Roy S., Sala R., Cagliero E., Lorenzi M. Overexpression of fibronectin induced by diabetes or high glucose: phenomenon with a memory // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* — 1990. — Vol. 87 (1). — P. 404-408.

185. Schmid-Schonbber G.W., D'Ambrosio G.O. What is the relevance of the microcirculation in cardiovascular disease? // *Microcirculation and cardiovascular disease.* — 2000. — Vol. 2 (1). — P. 1-13.

186. Segal S.S. Integration of blood flow control to skeletal muscle: key role of feed arteries // *Acta. Physiol. Scand.* — 2000. — Vol. 168. — P. 511–518.

187. Sertoglu E., Kurt I., Tapan S. et al. Comparison of plasma and erythrocyte

membrane fatty acid compositions in patients with end-stage renal disease and type 2 diabetes mellitus // *Chem. Phys. Lipids.* — 2014. — Vol. 178. — P. 11-17.

188. Shin S., Ku Y.H., Ho J.X. et al. Progressive impairment of erythrocyte deformability as indicator of microangiopathy in type 2 diabetes mellitus // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2007. — Vol. 36 (3). — P. 253-261.

189. Shin S., Yang Y., Suh J.S. Measurement of erythrocyte aggregation in a microchip-based stirring system by light transmission // *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2009, vol. 41, pp. 197–207.

190. Siddiqi F.S., Advani A. Endothelial-podocyte crosstalk: the missing link between endothelial dysfunction and albuminuria in diabetes // *Diabetes.* — 2013. — Vol. 62 (11). — P. 3647-3655.

191. Silva D.C., Jovino C.N., Silva C.A., Fernandes H.P., Milton Filho M., Lucena S.C., Costa A.M., Cesar C.L., Barjas-Castro M.L., Santos B.S., Fontes A. Optical tweezers as a new biomedical tool to measure zeta potential of stored red blood cells // *PloS one.*, 2012, vol. 7(2); e31778.

192. Singh M., Shin S. Changes in erythrocyte aggregation and deformability in diabetes mellitus: A brief review // *Indian Journal of Experimental Biology.* — 2009. — Vol. 47. — P. 7-15.

193. Skovborg F., Nielsen A.V., Schlichtkrull J., Ditzel J. Blood-viscosity in diabetic patients // *Lancet.* — 1966. — Vol. 1 (7429). — P. 129–131.

194. Sokolova I.A., Kachalova A.V., Fabrichnova A.A. et al. // Hemorheological properties in patients with type-1 and type-2 diabetes mellitus // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering.* — 2016. — Vol. 3 (3). — P. 0304021-0304026.

195. Sokolova I.A., Muravyov A.V., Khokhlova M.D. et al., An effect of glycoprotein IIb/IIIa inhibitors on the kinetics of red blood cells aggregation // *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2014. — Vol. 57 (3). — P. 291-302.

196. Son N.H., Ananthakrishnan R., Yu S. et al. Cardiomyocyte aldosereductase causes heart failure and impairs recovery from ischemia // *PLoS ONE.* — 2012. — Vol. 7 (9). — e46549.

197. Stitt A.W., Li Y.M., Gardiner T.A. et al. Advanced glycation end products

(AGEs) co-localize with AGE receptors in the retinal vasculature of diabetic and of AGE-infused rats // *Am. J. Pathol.* — 1997. — Vol. 150 (2). — P. 523-531.

198. Stitt A.W., Moore J.E., Sharkey J.A. et al. Advanced glycation end products in vitreous: structural and functional implications for diabetic vitreopathy // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 1998. — Vol. 39 (13). — P. 2517-2523.

199. Sun J., Han K., Xu M. et al. Blood Viscosity in Subjects With Type 2 Diabetes Mellitus: Roles of Hyperglycemia and Elevated Plasma Fibrinogen // *Front Physiol.* — 2022. — Vol. 13. — 827428.

200. Symeonidis A., Athanassiou G., Psiroyannis A. et al. Impairment of erythrocyte viscoelasticity is correlated with levels of glycosylated hemoglobin in diabetic patients // *Clin. Lab. Haematol.* — 2001. — Vol. 23. — P. 103.

201. Teck J. Diabetes-Associated Comorbidities // *Prim Care.* - 2022. - Vol.49(2). - P.275-286.

202. Tentolouris A., Eleftheriadou I., Tzeravini E. et al. Endothelium as a therapeutic target in diabetes mellitus: From basic mechanisms to clinical practice // *Curr. Med. Chem.* — 2020. — Vol. 27. — P. 1089–1131.

203. Tepper O.M., Galiano R.D., Capla J.M. et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures // *Circulation.* — 2002. — Vol. 106 (22). — P. 2781-2786.

204. Thornalley P.J. The glyoxalase system: new developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life // *Biochem. J.* — 1990. — Vol. 269 (1). — P. 1-11.

205. Toker S., Rogowski O., Melamed S. et al. Association of components of the metabolic syndrome with the appearance of aggregated red blood cells in the peripheral blood. An unfavorable hemorheological finding // *Diabetes Metab. Res. Rev.* — 2005. — Vol. 21 (2). — P. 197-202.

206. Tomaiuolo G. Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics // *Biomicrofluidics.* — 2014. — Vol. 8 (5). — 051501.

207. Tomaiuolo G., Carciati A., Caserta S., Guido S. Blood linear viscoelasticity by small amplitude oscillatory flow // *Rheol. Acta.* — 2016. — Vol. 55. —

P. 485–495.

208. Tooke J. E. Microcirculation and diabetes // *Br. Med. Bull.* — 1989. — Vol. 45 (1). — P. 206-223.

209. Torregiani F., Umansky-Zeverin M., Riqueline B., Rasia R. Hemorheological alterations in diabetic patients // *Clin. Hemorheol.* — 1995. — Vol. 15. — P. 687.

210. Triggle C.R., Ding H., Marei I. et al. Why the endothelium? The endothelium as a target to reduce diabetes-associated vascular disease // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 2020. — Vol. 415–430.

211. Tzatsos A., Kandrор K.V. Nutrients suppress phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling via raptor-dependent mTOR-mediated insulin receptor substrate 1 phosphorylation // *Mol. Cell. Biol.* — 2006. — Vol. 26. — P. 63-76.

212. van Sloten T.T., Sedaghat S., Carnethon M.R. et al. Cerebral microvascular complications of type 2 diabetes: stroke, cognitive dysfunction, and depression // *Lancet Diabetes Endocrinol.* - 2020. - Vol.8(4). - P.325-336.

213. Vedantham S., Thiagarajan D., Ananthakrishnan R. et al. Aldose reductase drives hyperacetylation of Egr-1 in hyperglycemia and consequent upregulation of proinflammatory and prothrombotic signals // *Diabetes.* — 2014. — Vol. 63 (2). — P. 761-774.

214. Verma N, Liu M, Ly H, Loria A, Campbell KS, Bush H, Kern PA, Jose PA, Taegtmeyer H, Bers DM, Despa S, Goldstein LB, Murray AJ, Despa F. Diabetic microcirculatory disturbances and pathologic erythropoiesis are provoked by deposition of amyloid-forming amylin in red blood cells and capillaries // *Kidney Int.* — 2020. — Vol. 97 (1). — P. 143-155. doi: 10.1016/j.kint.2019.07.028.

215. Vidal-Puig A. Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the metabolic syndrome // *Endocrinol. Nutr.* — 2013. — Vol. 60 (1). — P. 39-43.

216. Vincent A.M., Callaghan B.C., Smith A.L., Feldman E.L. Diabetic neuropathy: cellular mechanisms as therapeutic targets // *Nat. Rev. Neurol.* — 2011. — Vol. 7 (10). — P. 573-583.

217. Wallace D.C. Diseases of the mitochondrial DNA // *Ann. Rev. Biochem.* — 1992. — Vol. 61. — P. 1175-1212.

218. Wang B., Koh P., Winbanks C. et al. miR-200a prevents renal fibrogenesis through repression of TGF-beta2 expression // *Diabetes*. — 2011. — Vol. 60 (1). — P. 280-287.
219. Wang Z., Xie Z., Lu Q. et al. Beyond Genetics: What Causes Type 1 Diabetes // *Clinic Rev. Allerg Immunol.* — 2017. — Vol. 52 (2). — P. 273-286.
220. Watala C., Zawodniak M., Bryszewska M., Nowak S. Nonenzymatic protein glycosylation. Lowered erythrocyte membrane fluidity in juvenile diabetes // *Ann. Clin. Res.* — 1985. — Vol. 17 (6). — P. 327–330.
221. Wautier J.L., Wautier M.P., Schmidt A.M. et al. Advanced glycation end products (AGEs) on the surface of diabetic erythrocytes bind to the vessel wall via a specific receptor inducing oxidant stress in the vasculature: a link between surface-associated AGEs and diabetic complications // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1994. — Vol. 91 (16). — P. 7742-7746.
222. Wautier J.L. Blood cells and vascular cell interaction and in diabetes // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* — 2001. — Vol. 25. — P. 49-53.
223. Wei Y., Chen H., Chi Q. et al. Synchronized research on endothelial dysfunction and microcirculation structure in dorsal skin of rats with type 2 diabetes mellitus // *Med Biol Eng Comput.* - 2021. - Vol.59(5). - P.1151-1166.
224. Wells-Knecht K.J., Zyzak D.V., Litchfield J.E. et al. Mechanism of autoxidative glycosylation: identification of glyoxal and arabinose as intermediates in the autoxidative modification of proteins by glucose // *Biochemistry*. — 1995. — Vol. 34 (11). — P. 3702-3709.
225. Yang J., Zheng X., Mahdi A. et al. Red blood cells in type 2 diabetes impair cardiac post-ischemic recovery through an arginase-dependent modulation of nitric oxide synthase and reactive oxygen species // *JACC Basic Transl. Sci.* — 2018. — Vol. 3. — P. 450–463.
226. Yip J., Facchini F.S., Reaven G.M. Resistance to insulin-mediated glucose disposal as a predictor of cardiovascular disease // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 1998. — Vol. 83 (8). — P. 2773-2776.
227. Yu T., Robotham J.L., Yoon Y. Increased production of reactive oxygen

species in hyperglycemic conditions requires dynamic change of mitochondrial morphology // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2006. — Vol. 103 (8). — P. 2653-2658.

228. Zhang Q., Monroe M.E., Schepmoes A.A. et al. Comprehensive identification of glycosylated peptides and their glycosylation motifs in plasma and erythrocytes of control and diabetic subjects // *J. Proteome Res.* — 2011. — Vol. 10 (7). — P. 3076-3088.

229. Zhang Q., Tang N., Schepmoes A.A. et al. Proteomic profiling of nonenzymatically glycosylated proteins in human plasma and erythrocyte membranes // *J. Proteome Res.* — 2008. — Vol. 7 (5). — P. 2025-2032.

230. Zhong Y., Li J., Chen Y. et al. Activation of endoplasmic reticulum stress by hyperglycemia is essential for Muller cell-derived inflammatory cytokine production in diabetes // *Diabetes.* — 2012. — Vol. 61 (2). — P. 492-504.

231. Ziegler O., Guerci B., Muller S. et al. Increased erythrocyte aggregation in insulin-dependent diabetes mellitus and its relationship to plasma factors: a multivariate analysis // *Metabolism.* — 1994. — Vol. 43 (9). — P. 1182-1186.

232. Zimny S., Dessel F., Ehren M. et al. Early detection of microcirculatory impairment in diabetic patients with foot at risk // *Diabetes Care.* — 2001. — Vol. 24 (10). — P. 1810-1814.