

БАКУТА СЕРГІЙ ПЕТРОВИЧ

Допускається до захисту
завідувач кафедри біофізики,
к.х.н., доцент

Доценко О. І.
« » _____ 2024__

ЛАБОРАТОРНІ ПОКАЗНИКИ СКЛАДУ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У
ХВОРИХ НА 1 ТА 2 ТИП ДІАБЕТУ

Спеціальність 091 Біологія

Магістерська робота

Науковий керівник:
Доценко О.І. завідувач кафедри
біофізики.....
к.х.н., доцент

Оцінка: _____ / _____ / _____
(бал/за шкалою ЄКТС/за національною шкалою)

Голова Е.К.: _____
(підпис)

Вінниця 2024

Бакута С.П. Лабораторні показники складу периферичної крові у хворих на 1 та 2 тип діабету. 091 Біологія. Донецький національний університет імені Василя Стуса. Вінниця. 2024.

Проведено порівняльний аналіз біохімічних показників вуглеводного обміну та ліпідного і ліпопротеїдною складу крові у 45 осіб з цукровим діабетом 1 типу та 55 осіб, з діагнозом цукровий діабет 2 типу.

Встановлено, що в усіх хворих рівень глюкози та глікованого гемоглобіну був значно підвищений у середньому на 43,3% і 171,4% відповідно. У хворих на ЦД концентрація інсуліну в крові була достовірно вище, а С-пептиду - нижче на 32% від контрольних значень. У хворих на ЦД типу 1 відзначається підвищення показників холестерину, тригліцеридів, ЛПНЩ, ЛПДНЩ. У хворих на СД 2 виражені зміни ліпідного профілю плазми крові відбувалися на фоні зниження ліпопротеїдів високої щільності.

Bakuta S.P. Laboratory indicators of the composition of peripheral blood in patients with type 1 and type 2 diabetes. 091 Biology. Vasyl' Stus Donetsk National University. Vinnytsia. 2024.

A comparative analysis of biochemical indicators of carbohydrate metabolism and lipid and lipoprotein composition of blood was carried out in 45 people with type 1 diabetes and 55 people with a diagnosis of type 2 diabetes who were being treated in the endocrinology department.

It was established that in all patients the level of glucose and glycated hemoglobin was significantly increased by an average of 43.3% and 171.4%, respectively. In patients with diabetes mellitus, the concentration of insulin in the blood was significantly higher, and C-peptide was 32% lower than the control values. In patients with type 1 diabetes, there is an increase in cholesterol, triglycerides, LDL, and VLDL. In patients with type 2 diabetes, pronounced changes in the lipid profile of the blood plasma occurred against the background of a decrease in high-density lipoproteins.

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1. Етіологія і патогенез цукрового діабету першого і другого типів	8
1.2. Клінічна лабораторна діагностика цукрового діабету	18
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	24
2.1. Загальна характеристика хворих, що приймали участь у дослідженні та підготовка проб для дослідження	24
2.2. Лабораторні методи дослідження	25
2.2.1. Визначення концентрації глюкози глюкозооксидазним методом	25
2.2.2. Визначення вмісту глікозильованого гемоглобіну	26
2.2.3. Імуноферментний аналіз вмісту інсуліну, С-пептиду	27
2.2.4. Показники ліпідного спектра крові	28
2.3. Статистична обробка результатів	29
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	31
3.1. Оцінка показників вуглеводного обміну периферичної крові при цукровому діабеті першого і другого типів	31
3.2. Зміна ліпідного і ліпопротеїдною складу крові при СД 1 типу і його ускладненнях.	35
3.3 Зміна ліпідного і ліпопротеїдною складу крові при СД 2 типу	38
3.4. Обговорення результатів	41
ВИСНОВКИ	44
СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	45

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЦД 1	Цукровий діабет 1 типу
ЦД 2	Цукровий діабет 2 типу
ІР	Інсулінорезистентність
ВЖК	Вільні жирні кислоти
КПГ	Кінцеві продукти глікозилювання
ЛПНЩ	Ліпопротеїни низької щільності
ЛПВЩ	Ліпопротеїни високої щільності
ЛПДНЩ	Ліпопротеїни дуже низької щільності
ЗХС	Загальний холестерин
ХС	Холестерин
ТГ	Тригліцериди
ТТГ	Тест толерантності до глюкози
HbA _{1c}	Глікозильований гемоглобін
ІА	Індекс атерогенності

ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) сьогодні є серйозною медико-соціальною проблемою. За визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я, цукровий діабет набув статусу неінфекційної епідемії ХХІ ст. Захворюваність на цукровий діабет щороку зростає [18]. Згідно з офіційною статистикою, в Україні на сьогодні зареєстровано понад 1 млн хворих. Аналіз статистичних даних щодо поширення ЦД в Україні показав, збільшення показника поширення цукрового діабету в Україні (на 26% з 2005 року до 2010) [4]. Частіше цукровий діабет спостерігається серед населення промислово розвинених регіонів, однак показник поширеності більше залежить від стану профілактичної діяльності (раннє активне виявлення хворих на цукровий діабет 2-го типу). Також спостерігається значне зростання кількості нових зареєстрованих випадків (первинної захворюваності) захворювання населення України на цукровий діабет: від 194,8 на 100 тис. населення у 2005 р. до 249,8 – у 2010 р., тобто на 23,7% протягом 5 років. Проте число хворих збільшується в основному за рахунок цукрового діабету 2-го типу [5, 16, 27].

Сьогодні Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) визначає цукровий діабет як групу метаболічних (обмінних) захворювань, що характеризуються гіперглікемією, яка у свою чергу є результатом дефектів секреції інсуліну, дії інсуліну або обох цих чинників. Відомо, що хронічна гіперглікемія може бути причиною дисфункції різних органів, насамперед очей, нирок, нервів, серця і кровоносних судин. Тому цукровий діабет залишається хворобою ускладнень, є одним із найбільш витратних захворювань і посідає 4-5-е місце серед причин втрати працездатності [23, 28].

ЦД II типу становить 80% від загальної кількості хворих, більшість із яких має комплекс порушень процесів обміну речовин в організмі, потерпає від ожиріння, артеріальної гіпертонії та атеросклерозу. Такий стан визначають як метаболічний синдром.

Діабет асоціюється зі скороченням тривалості життя, специфічними для нього мікрovasкулярними і макроваскулярними ускладненнями (ішемічна хвороба серця, інсульт, захворювання периферичних судин) [18, 27].

На теперішній час сформульована досить струнка концепція патогенезу ЦД1, згідно з якою поєднання спадкової схильності і несприятливих факторів зовнішнього середовища призводить до імунної аутоагресії проти β -клітин острівців Лангерганса підшлункової залози і розвитку в кінцевому підсумку абсолютної інсулінової недостатності [18, 23]. Повна деструкція інсулінпродукуючих β -клітин підшлункової залози призводить до того, що інсулін в організмі людини перестає вироблятися, в зв'язку з чим потрібно довічна замісна терапія інсуліном. Без введення інсуліну розвивається кетоацидотичний стан, що несе за собою кому і смерть. Саме тому раніше ЦД1 називали інсулінозалежним типом діабету. Уявлення про патогенез при ЦД2 менш визначені. Більшість авторів визнають основною причиною його виникнення наявність дефектів в системі інсулінорецепторних взаємодій, що призводить до інсулінорезистентності (ІР). ІР має генетичну зумовленість, але до реалізації цієї генетичної програми призводять звичайні зовнішні чинники. В подальшому β -клітини підшлункової залози виснажуються і перестають секретувати інсулін, в слідстві чого ці хворі також, як і при ЦД1, потребують інсулінотерапії.

Тому верифікація типу ЦД в клінічній практиці має принципове значення, так як дозволяє вирішити питання про вибір лікувальної тактики. Однак далеко не у всіх випадках вдається віднести діабет до першого або другого типу. Ці обставини вимагають пошуку нових лабораторних тестів, що дозволяють визначати тип ЦД. Керуючись припущенням про можливі відмінності біохімічних процесів в тканинах хворих ЦД1 і ЦД2, обґрунтування метаболічних критеріїв гетерогенності ЦД дозволить розробити нові клініко-лабораторні підходи диференціальної діагностики, розширити відомості про молекулярні механізми, що лежать в основі формування тканинної ІР і доповнити знання про причинно-наслідкові зв'язки розвитку ЦД.

Мета роботи складалася в проведенні порівняльного аналізу біохімічних показників периферичної крові у хворих на 1 та 2 тип діабету.

Завдання дослідження:

1. Аналіз показників вуглеводного обміну периферичної крові при цукровому діабеті першого і другого типів;
2. Дослідження змінення ліпідного і ліпопротеїдного складу крові при СД 1 типу і його ускладненнях;
3. Дослідження змінення ліпідного і ліпопротеїдного складу крові при СД 2 типу.

Робота виконана на базі ендокринологічного відділення міської лікарні м Вінниці.

Об'єкт досліджень: 45 осіб у віці 23-35 років з цукровим діабетом 1 типу та 55 осіб, з діагнозом цукровий діабет 2 тип, що знаходилися на лікуванні та 30 осіб без ендокринної патології (контрольна група).

Предмет досліджень: сироватка і плазма крові, а також лізат еритроцитів умовно здорових пацієнтів та хворих, яким був встановлений діагноз цукровий діабет 1 та 2-го типів.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Етіологія і патогенез цукрового діабету першого і другого типів

Цукровий діабет - захворювання, обумовлене відносним або абсолютним дефіцитом гормону підшлункової залози – інсуліну. Розрізняють генетично й не генетично обумовлені форми цукрового діабету. Спадковий діабет залежно від патогенезу може бути розділений умовно на дві групи: інсулінзалежний (типу 1) і інсуліннезалежний (типу 2). При ЦД 1 типу існує головна генетична система, що називається лейкоцитарним антигеном людини (ЛАЛ) (В8, В18, ВW15, DW3, DW4, DRW3 і т.п.) [67].

Генетична схильність β - клітин до ушкодження реалізується за участю факторів зовнішнього середовища. Під впливом деяких вірусів (краснухи, епідемічного паротиту, коксаки) може відбуватися вибіркоче ушкодження β -клітин острівців Лангерганса, і, як наслідок, критичне зниження рівня інсуліну в крові [18, 25, 19]. У більшості хворих на ЦД 1 типу на ранніх етапах його розвитку (до 1 року) виявляють зміни в острівцях Лангерганса - "інсуліти" (інфільтрація лімфоцитами). Припускають, що "інсуліти" обумовлені попередньою вірусною інфекцією плюс аутоімунним процесом у залозі. ЦД 1 типу розвивається найбільш часто в критичні періоди максимального росту, гормональної, імунологічної й інших видів перебудови організму, які відповідають віковим періодам життя. Основний пік захворювання на ЦД 1 припадає на 11 років, трохи менше піки в 5-7 років та 21-23 роки [30].

В основі аутоімунного ураження клітин при ЦД 1 лежить їхнє ушкодження будь-якими цитотоксичними агентами. Це ураження викликає виділення аутоантигенів, які стимулюють активність макрофагів і Т-кілерів, що у свою чергу, приводить до утворення й виділення в кров інтерлейкінів у концентраціях, що мають токсичну дію на клітини підшлункової залози. Також клітини ушкоджуються макрофагами, що знаходяться у тканинах залози.

Серед провокуючих факторів можуть бути тривала гіпоксія клітин підшлункової залози й дієта, багата на вуглеводи й жири й бідна білками, що

приводить до зниження секреторної активності острівкових клітин і в перспективі до їхньої загибелі. Після початку масивної загибелі клітин запускається механізм їх аутоімунного ураження [19, 25].

На відміну від ЦД типу 1 при інсуліннезалежному цукровому діабеті (ЦД типу 2) більш вираженою є генетична схильність. В осіб, схильних до цукрового діабету, його розвитку можуть сприяти ендокринні захворювання (дифузійний токсичний зоб, хвороба Іценко-Кушинга, стероїдний цукровий діабет); тривале споживання лікарських препаратів, що впливають на вуглеводний обмін (диуретики, кортикостероїди, пероральні контрацептиви й ін.); вживання продуктів, що містять токсичні речовини, що безпосередньо вражають β -клітини підшлункової залози (алкоголь), а також білкове голодування [19].

У людини ЦД типу 2 найчастіше є обумовленим дефектами ряду генів, розташованих в 6-й хромосомі. Ці дефекти формують схильність до аутоімунної агресії організму до клітин підшлункової залози й негативно позначаються на регенераційній спроможності β -клітин [25].

Найважливішим пусковим зовнішнім фактором (тригером), який реалізує генетичну схильність до ЦД 2-го типу, є порушення харчової поведінки з надлишковим уживанням насичених жирів, переважно класу омега-6 і омега-9 вільних жирних кислот (ВЖК). По своїй суті ЦД 2-го типу - хвороба, що розвивається внаслідок неправильного харчування (способу життя) на фоні генетичної схильності. Відома величезна кількість генів, які кодують ЦД 2-го типу (наприклад, *Hnfs* (*hepatocyte nuclear factor*), *PPARG* (*Peroxisome proliferator activated receptor gamma*), *IPF-1*, *IB1* (*islet-brain-1*), *TIEG2/KLF11* (*transforming growth factor-beta-inducible early gene/Krueppel-like factor 11*) і визначають схильність і до дисліпідемій [47]. Так, *HHEX* (*hematopoietically expressed homeobox*) контролює діяльність панкреатичних структур [51], *SLC30A8* (*solute carrier family 30, member 8*) — транспорт цинку в острівкових β - клітинах; активація *FSADS1* і *PPARG* приводить до зміни метаболізму жирів, *IGF2BP2* (*insulinlike growth factor 2 mrna binding protein 2*) і *FTO* (*fat mass and obesity associated*)- до ожиріння й інсулінрезистентності [66], *TCF7L2* (*transcription*

factor 7 like 2) - до загального зниження секреторної відповіді; DGKB (*Diacylglycerol kinase beta*), FADS1 (*Fatty Acid Desaturase 1*), ГКК (Глюкокіназа), MTNR1B (*Melatonin receptor 1B*) заважають здійсненню 1-ї фази секреції інсуліну; WFS1 (*Wolfram syndrome 1*) відповідає за апоптоз β – клітин [62].

За твердженням Американської діабетичної асоціації (АДА) і Європейської асоціації по вивченню діабету по стратегії лікування ЦД 2-го типу, збільшення рівня глікемії обумовлене перевагою надходження глюкози в плазму крові над її депонуванням [46].

При цьому гіперглікемія натще, особливо ранкова, обумовлена надлишковим утворенням глюкози в печінці, а постпрандіальна гіперглікемія - переважно недостатнім пригніченням утворення глюкози й слабкою секреторною відповіддю, тобто дисфункцією панкреатичних β -клітин. Таким чином, в основі ЦД 2-го типу лежать кілька важливих порушень, головними з яких є:

- 1) Надлишковий утворення глюкози в печінці.
- 2) Дефект секреції інсуліну (базальна компенсаторна гіперінсулінемія й зниження викиду інсуліну після прийому їжі).

- 3) Інсулінорезистентність на фоні гіпертригліцеридемії.

Відомими механізмами порушення утилізації глюкози є:

- 1) Збільшення рівня глюкагона.
- 2) Підвищення рівня глюкозозалежного інсулінотропного поліпептиду.
- 3) Постпрандіальний дефіцит глюкагоноподібного пептиду 1 (ГПП-1), які також вимагають медикаментозної корекції.

Продукція глюкози печінкою (глюконеогенез) переважно відбувається в нічний час доби за рахунок з'їдених за день жирів – вільних жирних кислот, їх накопичення й окиснення в печінці. На самому початку розвитку ЦД 2-го типу ВЖК активують глюконеогенез, потім стимулюють пізню секрецію інсуліну, яка гальмує ендогенну продукцію глюкози. Компенсаторними механізмами, які стримують вплив підвищених рівнів ВЖК, є гіперінсулінемія й, сама гіперглікемія, що спрямовані на підтримку утилізації глюкози в чутливих до

інсуліну тканинах (м'язи, печінка, жирова тканина). Однак тривале існування надлишку ВЖК приводить до посилення інсулінорезистентності, виснаженню інсулярної відповіді й, в остаточному підсумку, до стійкої гіперглікемії. Ще одним ефектом, опосередкованим ВЖК, є гальмування окиснення вуглеводів, тобто зниження утилізації глюкози й збільшення її концентрації в крові [42].

Секреторний інсуліновий дефект підсилюється як через токсичний вплив вільних жирних кислот (ліпотоксичності) на панкреатичні β -клітини, так і через розвиток гіперглікемії (глюкозотоксичності), тому корекція таких порушень сприяє ефективному відновленню або збереженню ендокринної функції підшлункової залози [66].

У пацієнтів з цукровим діабетом мають місце макросудинні ускладнення (ураження коронарних, церебральних і периферичних артерій у результаті розвитку атеросклеротичних процесів) [51]. Однією з головних речовин, що синтезується ендотелієм, є оксид азоту (NO), що визначає судинний тонус [32] за рахунок стимуляції гуанілатциклази й збільшення внутрішньоклітинної концентрації циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ), зниження внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} , що приводить до вазодилатації [61]. При ЦД гіперглікемія, інсулінорезистентність, окисний стрес, дисліпідемія приводять до розвитку ендотеліальної дисфункції й прогресуванню атеросклерозу [49]. Посилене руйнування оксиду азоту вільними радикалами кисню в ендотелії судин, порушення реологічних властивостей крові, гемостазу, приводять до підвищення функції вазоконстрикторів [37].

При ЦД відбувається процес глікозилювання білків завдяки здатності глюкози взаємодіяти з аміногрупами з утворенням речовин, які, вступаючи в хімічні реакції, утворюють стійкі сполуки. Кількість кінцевих продуктів глікозилювання (КПГ) прямо пропорційно рівню глюкози в крові, і навіть помірне підвищення глікемії (7–8 ммоль/л) приводить до достовірного їхнього збільшення. КПГ взаємодіють із білками базальної мембрани, що приводить до її потовщення й порушення функцій (зниженню еластичності судинної стінки, зменшенню відповіді на дію оксиду азоту). Накопичуючись у тканинах, КПГ

приводять до утворення вільних радикалів кисню й збільшують окисний стрес. КПП у плазмі сприяють формуванню окиснених ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), які з легкістю проходять у субундотелій і беруть участь в атерогенезі [31, 56]. Взаємодія КПП зі своїми рецепторами веде до збільшення тромбомодуліну й також активує рецептори для інтерлейкіну 1, фактору некрозу пухлини альфа (ФНП- α) і ростових факторів, що приводить до міграції й проліферації гладеньких м'язових клітин [35].

Ще одним механізмом формування судинних ускладнень на фоні гіперглікемії є активація поліолового шляху окиснення глюкози під впливом ферменту альдозоредуктази. У нормі цей фермент інактивує токсичні альдегіди алкоголю. У результаті цього глюкоза під впливом альдозоредуктази перетворюється в сорбітол, що приводить до виснаження NADPH [1]. Виснаження NADPH приводить до ослаблення антиоксидантного захисту, сорбітол що утворився, у свою чергу, повільно метаболізується, накопичується в клітині й приводить до дисбалансу в клітинному гомеостазі [1].

Збільшення перетворення сорбітолу у фруктозу під дією сорбутолдегідрогенази приводить до підвищення синтезу діацилгліцеролу (ДАГ).

У цей час багато авторів розглядають окисний стрес, індукований гіперглікемією, основним механізмом ушкодження β -клітин і прогресуванням ЦД [53, 55, 64]. Окиснення глюкози при цьому приводить до утворення активних форм кисню (ROS): супероксиду ($\bullet\text{O}^{2-}$), гідропероксиду ($\bullet\text{HRO}^{2-}$), гідроксил радикалу ($\bullet\text{OH}$), пероксид радикалу ($\bullet\text{RO}_2$). Поряд з активними формами кисню утворюються частки активного азоту: окис азоту ($\bullet\text{NO}$), нітроген діоксид ($\bullet\text{NO}^{2-}$), пероксинітрит (ONOO^-) [8].

В умовах ЦД утворення активних форм кисню відбувається за рахунок низки процесів:

1. Активація поліолового шляху окиснення глюкози приводить до виснаження NADPH, що, у свою чергу, знижує активність системи глутатіону – важливого антиоксиданту [52].

2. Підвищена кількість діацилгліцеролу [58].

3. Утворення кінцевих продуктів глікозилювання (КПГ) приводить до продукції активних форм кисню (АФК) [58].

4. Активація NADPH оксидази в ендотеліальних і гладком'язових клітинах, як відомо, є одним з найважливіших джерел АФК.

Надлишкове утворення супероксидних і гідроксильних радикалів ініціює окиснення ЛПНЩ, які здобувають більш високий атерогенний потенціал. При постійній гіперглікемії більш згубними є коливання рівня глюкози, відмічувані в пацієнтів зі ЦД [59].

Наявність при цукровому діабеті 2-го типу артеріальної гіпертензії, гіперхолістеринемії, дисліпідемії і інсулінрезистентності є причинами виникнення ішемічної хвороби серця [41].

Інсулін - самий потужний анаболічний гормон, що знижує рівень цукру і бере участь у процесі обміну речовин, й забезпечує життєдіяльність організму. Це гормон негайної дії, швидко синтезується й секретується. Увесь процес синтезу займає близько 1 години. Загальна кількість накопиченого в острівцях інсуліну становить приблизно 200 ОД, швидкість синтезу в дорослої людини - 30 ОД у добу. Інсулін і С-пептид виділяються в систему воротної вени й надходять у печінку. Біологічна дія інсуліну полягає в регуляції метаболічних реакцій (обмін вуглеводів, жирів і білків) і мітогенних процесів (процесів росту, диференціювання тканин, синтезу ДНК, транскрипції генів) [38]. Інсулін стимулює білоксинтезуючу активність клітин шляхом збільшення утворення всіх типів РНК і активування зв'язування амінокислот з тРНК. Клінічні прояви ЦД обумовлені порушеннями різних видів метаболізму: вуглеводного, ліпідного, білкового й водно-сольового, що пов'язано з функціональними змінами в геномі й білок - синтезуючому апараті клітин [6].

Основна причина більшості проявів ЦД – абсолютний дефіцит інсуліну у випадку ЦД 1 типу або недостатня його дія й/або неадекватна секреція, а також недостатня дія гормону на периферії. Основою порушень метаболізму вуглеводів, жирів, білків при діабеті є недостатність дії інсуліну в тканинах

мішенях. Виникаюча гіперглікемія, блокує вуглеводний обмін. У жировій тканині, кістякових м'язах, міокарді ускладнюється активний транспорт глюкози із крові й позаклітинної рідини усередину клітин. Уповільнення поглинання глюкози тканинами, що депонують її в нормальних умовах життєдіяльності в м'язах у формі глікогену або в жировій тканині у вигляді ліпідів, суттєво відбивається на енергетичному забезпеченні всього організму [22].

У нормі клітини печінки вільно проникні для глюкози, а швидкість її надходження в клітини залежить від швидкості її внутрішньоклітинного фосфорилування, яке здійснюється високоспецифічною глюкокіназою. При нестачі інсуліну в першу чергу гальмується глюкокіназна реакція (гексокіназа) і тим самим утрудняється перший етап засвоєння молекули глюкози - її фосфорилування. Глюкоза + АТФ \rightarrow Глюкозо-6-Фосфат+ АДФ. Глюкокіназа забезпечує утилізацію глюкози при більш високих концентраціях у клітинах. Гальмування біосинтезу ферментів, що залучають глюкозу в енергетичний обмін клітин, приводить до порушення подальших етапів метаболізму [22]. Інсулінова недостатність приводить до порушень всіх видів обміну речовин. Нестача інсуліну проявляється в порушенні транспорту глюкози з периферичного судинного русла в клітини інсуліннезалежних тканин. У результаті в організмі розвивається стан нестачі енергії, у силу чого активуються всі катаболічні процеси. Це приводить до істотного підвищення концентрації глюкагону в крові - антагоністу інсуліну.

Оскільки інсулін більше не стримує процеси, які глюкагон стимулює в печінці, продукція глюкози (у результаті розпаду глікогену й глюконеогенезу) різко посилюються. У той же час утилізація глюкози печінкою, м'язами й жировою тканиною знижується. Гіперглікемія наростає також і через підвищення рівнів інших гормонів - кортизолу, адреналіну й гормону росту. Збільшення вмісту глюкози в крові вище ниркового порогу (7-9 ммоль/л) викликає глюкозурію, яка супроводжується поліурією, тому що надлишок глюкози при виведенні із сечею за законами осмосу захоплює за собою велику кількість рідини.

Дефіцит глюкози в клітинах приводить до більш інтенсивного використання в якості джерела енергії ліпідів. Уся кількість ацетил-КоА, що утворюється при цьому, не здатна використовуватися в ЦТК, до того ж швидкість споживання ацетил-КоА в даному циклі падає у зв'язку зі зменшенням кількості проміжних продуктів обміну вуглеводів, які в нормі активують початкові процеси ЦТК. При цьому частина ацетил-КоА у циклі Кребса окислюється до ацетоацетату й β -оксибутирату [10]. Нагромадження кетонів тіл в організмі приводить до метаболічного кетоацидозу. Компенсаторно організм намагається знизити вміст у крові продуктів, що викликають закислення внутрішнього середовища, і виводить їх із сечею (кетонурія) і видихуванним повітрям. Оскільки органічні аніони ацетооцтової і β -гідроксималяної кислот пов'язані з іонами Na^+ і K^+ , відбувається їхнє виведення із сечею, а ниркові каналця намагаються замінити втрачені іони катіонами й реабсорбують H^+ і іони NH_4^+ . Наростаючий ацидоз компенсується за рахунок буферних систем, зокрема гідрокарбонату Na . У міру наростання ацидозу й виснаження ємності буферних систем розвивається некомпенсований метаболічний ацидоз, що приводить до компенсаторної гіпервентиляції легенів, що сприяє додатковій втраті рідини через легені [10,21].

Недолік інсуліну підсилює також катаболізм білків організму. Включення амінокислот, що утворилися при цьому у глюконеогенез веде, у по-перше, до збільшення гіперглікемії, по-друге, до втрати амінокислот і порушення синтезу білка й, по-третє, до росту синтезу сечовини й, як наслідок, до негативного азотистого балансу. Найнебезпечнішим наслідком описаних порушень може бути випадок діабетичної коми. Її виникнення пов'язано з розвитком гіперосмотичної дегідратації у зв'язку з виділенням із сечею великої кількості розчинних речовин - глюкози, кетонів тіл, сполук, що містять нітроген, і натрію. Клітинна дегідратація з ураженням функцій мозку веде до розвитку діабетичної коми [22].

При діабеті спостерігається посилення процесу неферментативного глікозилування. Це досить розповсюджений вид посттрансляційної модифікації

білків, який має місце в тканинах здорових людей, але з більшою швидкістю відбувається в "гіперглікемічних" осіб. При цьому глюкоза (або інший моносахарид) зв'язується ковалентно з NH_2 -групами деяких амінокислот. Така модифікація відмічається для багатьох білків, включаючи гемоглобін (Hb), білки мембрани еритроцитів, білки кристалика ока, колаген, альбумін, фібриноген, інсулін, трансферин, глобуліни, мієліни, а також усі класи ліпопротеїнів. Важливо відзначити, що глікозильований гемоглобін зв'язує необоротно кисень, погіршуючи його доставку тканинам. Неферментативне глікозилювання може змінювати деякі фізичні й функціональні властивості білків і в такий спосіб відігравати істотну роль у розвитку діабетичних ускладнень [24].

Внаслідок нестачі інсуліну відбувається недостатнє використання глюкози інсулінозалежними тканинами, у першу чергу печінкою, м'язовою й жировою. А в інсуліннезалежних тканинах (ендотелії судин очей, нирок, нервової тканини) підсилюється перетворення глюкози по поліоловому шляху утилізації глюкози - сорбітоловому, у якому глюкоза відновлюється до багатоатомного спирту сорбітолу з наступним його окисненням у фруктозу. Ферменти, що регулюють ці реакції, не чутливі до інсуліну й тому їх активність повністю визначається доступністю субстратів. Отже, при збільшенні концентрації глюкози зростає й швидкість продукції сорбітолу й фруктози [36].

Однією з найбільш характерних особливостей дефіциту інсуліну є швидка мобілізація жирних кислот з жирової тканини. При ЦД 1 типу підвищений рівень ліполізу при інсуліновій недостатності є спільним результатом відсутності інсуліну й резистентності клітин і тканин до інсуліну. Одним з наслідків надмірної мобілізації жирних кислот при ЦД 1 типу є виробництво кетонових тіл у печінці. Жирні кислоти в мітохондріях гепатоцитів перетворюються або в їхні КоА-ефіри, або етеріфікуються в гліцероліпіди або окислюються до ацетил-КоА. Значна частина ацетил - КоА може перетворитися в ацетооцтову кислоту й 3- гідроксибутират. Швидкість переносу жирних ацильних груп в мітохондрії регулюється активністю карнітин-пальмітоїлтрансферазою I (EC 2.3.1.21), яка на внутрішній мітохондріальній мембрані каталізує першу стадію

мітохондріального окиснення жирних кислот. За недостатності інсуліну, швидкість синтезу жирних кислот у печінці знижується й, отже, концентрація малоніл-КоА також зменшується, і спорідненість карнітин-пальмітоїлтрансферази для малоніл-КоА також зменшується [14, 33].

Підвищення рівня тригліцеридів плазми у хворих цукровим діабетом, як правило, пов'язані із ЛПДНЩ, і меншою мірою ЛПНЩ і ЛПВЩ [33, 64].

Основними характеристиками дисліпідемії при ЦД 2 типу є підвищення рівня тригліцеридів у складі ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) і зниження рівня холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХС, ЛПВЩ). Концентрація холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ХС, ЛПНЩ) у хворих на ЦД практично не відрізняється від такої в осіб без даного захворювання, однак у пацієнтів зі ЦД 2 типу переважає фракція дрібних щільних ЛПНЩ, що володіють підвищеною атерогенністю внаслідок високої здатності до окиснення. Кількісні зміни ліпідного спектра можуть зустрічатися ізольовано, але частіше вони сполучаються з утворенням ліпідних тріад, що має назву атерогенної дисліпідемії. Основною причиною гіпертригліцеридемії при ЦД 2 типу є низька чутливість вісцеральної жирової тканини до антиліполітичної дії інсуліну, що веде до підвищеного ліполізу, надходженню великої кількості вільних жирних кислот у портальний кровотік і, у комбінації з гіперінсулінемією, підвищенню синтезу тригліцеридів і ЛПДНЩ печінкою. Крім цього, у хворих на ЦД 2 типу при гіперглікемії знижена активність едотеліальної ліпопротеїнліпази, відповідальної за катаболізм. Крім кількісних, при ЦД 2 типу мають місце також якісні зміни ліпідного спектру: при гіперглікемії зростає частка глікозильованих ЛПНЩ, у тому числі дрібних щільних ЛПНЩ, що володіють підвищеною атерогенністю у зв'язку з високою здатністю до окиснення й нагромадженню в артеріальній стінці, а також до вповільненого кліренсу й тривалого знаходження в плазмі [69, 70]. При діабеті 2 типу, тканини не в змозі адекватно реагувати на інсулін, що приводить до нагромадження надлишкової енергії глюкози в жировій тканині, а також у таких областях, як печінка, скелетні м'язи й ін.

Особливістю ліпідного спектру при ЦД-2 є розвиток «ліпідної тріади», що

включає збільшення концентрації тригліцеридів, зниження рівня холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) і переважання в крові дрібних щільних часток ліпопротеїнів низької щільності [44]. Такий стан є наслідком наступних подій: у результаті інсулінорезистентності й недостатньої секреції інсуліну порушується постпрандиальна регуляція ліпідів, підвищується рівень вільних жирних кислот (ВЖК) у крові, збільшується вироблення ліпопротеїнів дуже низької щільності печінкою й знижується їхній гідроліз ліпопротеїніпазою, що приводить до росту кількості багатих тригліцедами циркулюючих ліпопротеїдних часток [30]. Також знижується концентрація ХС ЛПВЩ через підвищений перенос ефірів ХС із ЛПВЩ у ЛПДНЩ і хіломікрони в обмін на тригліцериди. Дрібні щільні ЛПНЩ характеризуються підвищеною окисненістю в умовах окисного стресу, характерного для ЦД-2. Макрофаги, що активізуються дрібними щільними ЛПНЩ, захоплюють окиснені дрібні щільні ЛПНЩ і перетворюються в збагачені холестерином «пінисті» клітини [3,29].

Крім того, деякі дослідники також виявили ефекти ліпідного обміну на рівень глюкози в крові. Встановлено, що при діабеті в осіб з нормальною вагою введення інсуліну приводить до збільшення концентрації глюкози в чутливих тканинах до інсуліну, гальмуванню ліполізу й зниженню рівнів вільних жирних кислот у сироватці.

1.2. Клінічна лабораторна діагностика цукрового діабету

Для постановки діагнозу і моніторингу ЦД використовуються наступні лабораторні дослідження (за рекомендаціями ВООЗ від 2002 г.) [71]:

Рутинні лабораторні тести [26, 34, 54]:

- глюкоза (кров, сеча);
- кетони;
- глюкозотолерантний тест;
- HbA1c;
- Фруктозамін;

- Мікроальбумін;
- Креатинін в сечі;
- Ліпідний профіль.

Додаткові лабораторні тести, що дозволяють більш детально спостерігати за дебетом:

- визначення антитіл до інсуліну;
- визначення С-пептиду;
- визначення антитіл до острівців Лангенгарса;
- визначення антитіл до тірозінфосфатазе (ІА2);
- визначення антитіл до декарбоксилази глутамінової кислоти;
- визначення лептину, греліну, резистину, адипонектину;
- HLA- типування.

Діагноз СД може бути поставлений при підвищенні рівня глюкози в плазмі крові натще $> 7,0$ ммоль/л і в капілярної крові - $>6,1$ ммоль/л (табл. 1.1) [26, 34, 54]. Необхідно відзначити, що показники для сироватки і плазми будуть на 12-14% вище, ніж наведені значення для цільної крові. У частини пацієнтів рівень глюкози підвищений, але він не досягає значень, які класифікуються як ЦД. У цьому випадку говорять про «порушення толерантності до глюкози». Серед пацієнтів з порушенням толерантності до глюкози, також як серед хворих на ЦД, збільшений ризик розвитку інфаркту міокарда та інсульту.

У неясних випадках необхідно провести тест толерантності до глюкози (ТТГ). ТТГ проводиться в тому випадку, якщо неясний діагноз. Якщо ж діагноз «СД» не викликає сумнівів з клінічної картини і підвищеного рівня глюкози натще або після їжі, то проведення ТТГ не показано, тому що цей тест не безпечний для функції ПЖ.

Таблиця 1.1. Діагностичний рівень концентрації глюкози (ммоль/л) [71]

Діагноз	Момент взяття проби	Цільна кров		Плазма венозної крові
		Венозна	Капілярна	
Норма	натще	3,3-5,5	3,3-5,5	4,0-6,1
	після 2 год навантаження глюкозою	<6,7	<7,8	<7,8
Порушення толерантності до глюкози	натще	<6,1	<6,1	<7,0
	через 2 ч після навантаження глюкозою			
Цукровий діабет	натще	≥6,1	≥6,1	≥7,0
	після 2 год навантаження глюкозою	≥10,0	≥11,1	≥11,1

Стандартизованими методами визначення глюкози є ферментні (глюкозооксидазний і гексокіназну), концентрація реєструється по оптичній густині при 340 нм на різних спектрофотометричних приладах [26]. Різниця концентрацій глюкози, яка визначається обома методами, становить менше 5%. До недоліків глюкозооксидазного методу визначення глюкози відноситься взаємодія перекису водню, що утворюється в ході реакції, з присутніми в крові компонентами: аскорбіновою кислотою, мочевою кислотою, білірубінном, що призводить до заниження результатів визначення глюкози. На відміну від глюкозооксидазного, гексокіназний метод визначення глюкози відрізняється високою специфічністю, так як при його використанні утворюється НАДН, який не вступає в реакції з іншими компонентами крові. Це дало підставу визнати метод референтним для визначення глюкози.

Дослідженням змісту глікозильованого гемоглобіну - є значущим маркером повноцінного глікемічного контролю і предиктором пізніх судинних ускладнень. В практиці часто нехтують цим показником, що суперечить повідомленнями про високий ризик розвитку ЦД 2 типу при показнику більш

6,0-6,4% [2, 17, 26, 45, 48]. Американська діабетична асоціація офіційно рекомендує тестування рівня глікозильованого гемоглобіну для діагностики і моніторингу СД [57]. У той же час повідомляється про аномальний зростання глікозилювання білка у хворих на ЦД 2 типу з залізодефіцитними станами.

Розроблено понад 30 методів визначення HbA_{1c}: фотометричні і хроматографічні [26]. Рекомендується користуватися методом, у якому коефіцієнт варіації менше 5%, ідеально - менше 3%, між паралелями - менше 2%. Контроль з двох концентрацій HbA_{1c} (високий і нормальний) виконується на початку і в кінці роботи щодня.

У здорових осіб вміст HbA_{1c} становить 4-6% від загального Hb. Зміна змісту HbA_{1c} на 1% відповідає зміні вмісту глюкози в плазмі крові приблизно на 2 ммоль/л (35 мг/дл) [13, 24, 48].

При станах, що скорочують термін життя еритроцитів (гемолітична анемія, гострі лейкози, гемоглобінопатії), прийомі великих доз вітамінів E, C рівень HbA_{1c} знижується [58].

Визначення концентрації інсуліну в крові необхідно для діагностики різних форм ЦД, вибору лікарського препарату, підбору оптимальної терапії, встановлення ступеня недостатності β-клітин. Визначення концентрації циркулюючого інсуліну може бути корисно для діагностичної оцінки деяких інших станів. Підвищений вміст інсуліну в присутності низьких концентрацій глюкози може бути показником патологічної гіперінсулінемії, а саме, незидіобластоз і пухлини клітин острівців Лангерганса підшлункової залози. Підвищений рівень інсуліну під час голодування в присутності як нормальних, так і підвищених концентрацій глюкози, а також підвищення інсуліну і глюкози у відповідь на введення глюкози є показником інсулін-резистентних форм непереносимості глюкози і ЦД, а також інших інсулін-резистентних станів. Високі концентрації циркулюючого інсуліну можуть бути пов'язані з патогенезом гіпертензії і серцево-судинних захворювань. Визначення інсуліну застосовується для підтвердження діагнозу у людей з прикордонними

порушеннями толерантності до глюкози. СД I типу характеризується зниженим, а II типу - нормальним або підвищеним базальним рівнем інсуліну [26, 71].

Інсулін і С-пептид секретуються в кров в еквімолярних кількостях. Час напіврозпаду С-пептиду в крові довше, ніж у інсуліну: співвідношення С-пептид/інсулін становить 5: 1. С-пептид біологічно неактивний і піддається відносно меншій трансформації в печінці. З огляду на те, що лікувальні препарати інсуліну не містять С-пептид, ще одна перевага визначення цього маркера полягає в тому, що він дозволяє відрізнити ендогенний інсулін від лікарського інсуліну. У хворого ЦД величина базального рівня С-пептиду і особливо його концентрація після навантаження глюкозою (при проведенні ГТТ) дозволяють встановити наявність резистентності або чутливості до інсуліну, визначити фази ремісії і тим самим скорегувати терапевтичні заходи. При загостренні ЦД, особливо I типу, рівень С-пептиду в крові знижується, що говорить про недостатність ендогенного гормону. З огляду на всі ці фактори, можна зробити висновок про те, що дослідження концентрації С-пептиду дозволяє оцінити секрецію інсуліну в різних клінічних ситуаціях.

У хворих з інсуліновою концентрація С-пептиду в крові значно збільшена.

Стан секреторної відповіді по С-пептиду має головне прогностичне значення в дебюті ЦД I типу. Облік частоти розвитку ремісії при різних схемах лікування використовується як об'єктивний спосіб оцінки їх клінічної ефективності.

З диференційно-діагностичною метою між ЦД I і II типу в дебюті захворювання визначається рівень в крові інсуліну і С-пептиду як натще, так і в ході ГТТ [23].

Інсулін, С-пептид в крові визначаються радіоіммунологічним (RIA) і імунорадіометричним (IRMA) методами. Розроблені в останні роки імуноферментний, імунофлюоресцентний, імунометричний методи визначення цих гормонів залежать від технології виробників. Для них RIA- і IRMA-методи є методами порівняння (референс-методами), так як відрізняються високою чутливістю, специфічністю і, отже, точністю. Вміст інсуліну у здорових осіб

натще коливається від 50 до 160 пмоль/л, (7,0 23,7 мкЕД / мл); С-пептиду - 0,48-3,3 нг / мл (120-1100 пмоль / л) [26, 34, 54, 71].

Численні дослідження останніх років показали, що основна роль у патогенезі судинних ускладнень ЦД належить гіперглікемії, а при ЦД 2 типу ще й порушення ліпідного обміну. Порушення обміну ліпідів безпосередньо пов'язано з надлишковою масою тіла. З збільшенням індексу маси тіла (ІМТ) підвищується частота гіперхолестеринемії, причому рівень загального холестерину зазвичай виявляється вищою в осіб з абдомінальним типом ожиріння. Крім того, із збільшенням ІМТ підвищується рівень тригліцеридів, знижується рівень холестерину ЛВП і підвищується рівень холестерину ЛНЩ. Такий тип ліпідного профілю характерний для попередника цукрового діабету 2 типу — синдрому інсулінорезистентності.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загальна характеристика хворих, що приймали участь у дослідженні та підготовка проб для дослідження

В умовах ендокринологічного відділення м. Вінниці було обстежено 100 хворих обох статей, які страждають на цукровий діабет.

Хворі поступили в стаціонар у зв'язку з погіршенням загального стану, а також для корекції доз застосовуваних препаратів. Всі пацієнти протягом 10 днів перебували на дієті, отримували пероральні гіпоглікемічні препарати груп бігуанідів і сульфонілсечовини, людський інсулін тривалої, короткої та середньої тривалості дії для підшкірного введення, антиоксидантну інфузійну терапію тіоктової (α -ліпоєвої) кислоти.

Матеріалом для дослідження послужила кров хворих на ЦД. Забір матеріалу для дослідження проводили двічі в умовах стаціонару при надходженні хворого в відділення. Кров для дослідження брали з ліктьової вени натще. У відповідності до методик в якості антикоагулянту використовували ЕДТА або гепарин.

Всі пацієнти були розділені на 2 групи, відповідно до діагнозу (таблиця 2.1.)

1-я група включала в себе 45 осіб у віці 23-35 років з цукровим діабетом 1 типу. Всі хворі перебували у фазі декомпенсації. Дану групу розділили на 2 підгрупи: з ускладненнями і без ускладнень.

2-у групу хворих склали 55 осіб, з діагнозом цукровий діабет 2 тип, вперше виявлений. Середній вік пацієнтів склав 52 роки. Хворі поступили в стаціонар в декомпенсованому стані, перебіг захворювання був ускладнений ІХС, іншими ангіопатіями.

Групу контролю склали 30 осіб без ендокринної патології. Причому, контрольна група для порівняння з СД 1 типу складалася з 15 осіб того ж віку, для ЦД 2 типу - 15 осіб 40 - 65 років, середній вік 52 роки.

Таблиця 2.1. Загальна характеристика пацієнтів, що брали участь у дослідженні

Характеристика	Група контролю		Хворі на ЦД 1		Хворі на ЦД 2
	1	2	3 ускладненнями	Без ускладнень	
Кількість	15	15	15	30	55
Рік	27±4,9	52±12,6	28±5,5	26±6,1	52±13

У всіх обстежуваних брали кров з ліктьової вени після 10-12 годин голодування в 8-9 годин ранку для визначення рівнів глюкози, глікозильованого гемоглобіну, інсуліну, С-пептиду і показників ліпідного спектра крові.

Для проведення лабораторних досліджень використовували цільну кров хворих. Забір матеріалу проводили в дві біохімічні пробірки: з ЕДТА і з гранулами. У відповідності до методик визначення матеріалом для дослідження служила сироватка і плазма крові, а також лізат еритроцитів.

Для підготовки проби з метою дослідження цільну кров центрифугували при 3 000 об / хв протягом 10 хв., Після чого відділяли плазму. Потім еритроцити відмивали триразовим центрифугуванням з використанням ізотонічного розчину хлориду натрію 0,9% при 3000 об/хв протягом 15 хвилин. Отриману еритроцитарну масу доводили до початкового об'єму 0,9% -м розчином NaCl, дотримуючись до кількості гематориту. Потім в співвідношенні 1:10 розводили кров холодною дистильованою водою для лізіса еритроцитів, і заморожували приготований лізат.

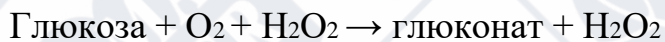
Біохімічне дослідження проб проводили в лабораторії відділення лікувально-діагностичного центру м. Моршин.

2.2. Лабораторні методи дослідження

2.2.1. Визначення концентрації глюкози глюкозооксидазним методом

Для визначення концентрації глюкози використовували аналітичний набір для ферментативного визначення глюкози в крові «Філісіт-Діагностика» (Україна) [65].

Принцип методу базується на реакції окиснення глюкози до глюконової кислоти з утворенням пероксиду водню (H_2O_2).



У присутності пероксидази H_2O_2 реагує з фенолом та 4-амінофеназолом з утворенням хіноніміну червоно-фіолетового кольору:



інтенсивність забарвлення якого пропорційна концентрації глюкози в крові.

Для проведення аналізу до 0,9 мл стабілізуючого розчину (1,34% розчин щавлевокислого натрію у 0,85% NaCl) вносили 0,1 мл цільної крові. Проби центрифугували для осадження еритроцитів при 3000 об/хв впродовж 5 хв. Для приготування дослідної проби відбирали 0,1 мл надосадової рідини та додавали 1 мл розчину ензимів. Для приготування калібрувальної проби замість зразка додавали 0,1 мл калібрувального розчину глюкози. Вимірювання проводили проти холостої проби, яка містила 0,1 мл фізіологічного розчину. Через 20 хв вимірювали оптичну густину розчину при довжині хвилі 498 нм. Розрахунок концентрації глюкози (в ммоль/л) здійснювали за формулою:

$$C = \frac{E_1 \cdot 100}{E_2}$$

де E_1 і E_2 – оптичні густини дослідної та калібрувальної проб відповідно;
10 – концентрація глюкози в калібрувальному розчині, ммоль/л.

2.2.2. Визначення вмісту глікозильованого гемоглобіну

Вміст глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) в еритроцитах визначали колориметричним методом [12, 68], який ґрунтується на кислотному гідролізі кетоамінного зв'язку в присутності щавелевооцтової кислоти. У результаті реакції утворюється 5-оксиметилфурфурол, який, взаємодіючи з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК), утворює забарвлений комплекс, інтенсивність якого визначається на спектрофотометрі при довжині хвилі 443 нм.

До 2 мл гемолізату додавали 1 мл 0,3 М щавелевооцтової кислоти. Суміш інкубували при 95°C протягом 1 год, охолоджували і додавали 1 мл 40% трихлороцтової кислоти (ТХО), струшували і центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. До 2 мл супернатанту додавали 0,5 мл 0,05 М ТБК та інкубували при 40°C протягом 40 хв. Через 20 хв вимірювали оптичну густину досліджуваного зразка при довжині хвилі 443 нм. Значення екстинкції 0,029 відповідає концентрації HbA1c, що становить 1%.

2.2.3. Імуноферментний аналіз вмісту інсуліну, С-пептиду

Вміст інсуліну, С-пептиду у плазмі крові визначали імуноферментним методом на приладі Stat Fax 303+ застосовуючи стандартні набори ELISA фірми Sigma (USA) згідно інструкцій фірм-виробників.

Визначення інсуліну з використанням наборів ELISA є твердофазним ензим-зв'язаним імуносорбентним аналізом (ELISA), що базується на принципі сендвіча. Комірки мікропланшета покриті моноклональним антитілом, що може зв'язуватися з унікальною антигенною стороною на молекулі інсуліну.

Аліквота сироватки пацієнта, що містить ендогенний інсулін, інкубується в комірках, покритих ензимним кон'югатом, що є анти-інсулін антитілом, кон'югованим біотином. Після інкубації незв'язаний матеріал вимивається.

Під час другої інкубації стрептавидин пероксидазний ензимний комплекс зв'язується з біотин-анти-інсулін антитілом. Кількість зв'язаного HRP комплексу

пропорційна концентрації інсуліну в зразку. Після додавання розчину субстрату, інтенсивність забарвлення, що розвивається, пропорційна концентрації інсуліну в зразку плазми або сироватки пацієнта.

У методиці аналізу вмісту С-пептиду використовуються два типи високоспецифічних моноклональних антитіл в системі імуноферментного аналізу, який включає стадію магнітного твердофазного поділу. Всі часи інкубації і обсяги реагентів визначаються специфічним протоколом програмного забезпечення.

Певні кількості флуоресцеїн-кон'югованих моноклональних антитіл до С-пептиду і моноклональних антитіл до С-пептиду, кон'югованих з лужною фосфатазою, додаються до зразка, калібратора, контролю. Реакційна суміш інкубується при 37°C. В процесі інкубації флуоресцеїн-кон'юговані моноклональні антитіла до С-пептиду зв'язуються з певним сайтом молекули С-пептиду. Моноклональні антитіла до С-пептиду, кон'юговані з лужною фосфатазою, зв'язуються з іншим сайтом молекули С-пептиду, формуючи сендвіч.

В кінці інкубаційного періоду анти-флуоресцеїн, зв'язаний з магнітними частинками, додається в надлишку. Він швидко і специфічно зв'язується з комплексом моноклональних антитіл з пептидом і осідає в магнітному полі. Після видалення рідкої фази і промивання твердої фази, розчин ферментного субстрату, фенолфталеїн-монофосфат, додається в інкубаційну комірку, і кожна комірка інкубується при 37°C. Після інкубації, ферментна реакція зупиняється додаванням стоп-розчину, а інтенсивність забарвлення вимірюється фотометрично. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна, в рамках робочого діапазону аналізу, концентрації С-пептиду в зразку. Концентрація С-пептиду в зразку пацієнта або контролю потім визначається методом інтерполяції з допомогою збереженої стандартної кривої.

2.2.4. Показники ліпідного спектра крові

Концентрацію холестерину в сироватці крові визначали за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Метод визначення є ферментативний колориметричний тест. Холестерин визначається ферментативно із застосуванням холестеринестерази і холестериноксидази. Ефір холестерину розщеплюється під впливом холіністерази, утворюючи вільний холестерин і жирні кислоти. Холестерин перетворюється в Δ^4 -холестенон і перекис водню під впливом кисню в присутності холестериноксидази.

Перекис водню, що утворюється, дає червоне забарвлення в реакції з 4 - аміноантипіріном і фенолом в результаті каталітичного впливу пероксидази. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації холестерину і може бути виміряна фотометрично в ммоль/л. Значення норми для ХС 3-5,4 ммоль/л.

Визначення триацилгліцеридів в сироватці крові проводили за допомогою стандартних наборів реактивів фірми «Філісіт-Діагностика». В результаті сполучених реакцій під дією ряду ферментів: ліпази, гліцеролкінази, оксидази і пероксидази утворюється кольоровий комплекс. Концентрацію тригліцеридів визначали спектрометрично і вимірювали в ммоль/л. Норма ТГ коливається в межах 0,8-1,8 ммоль/л.

Визначення концентрації ліпопротеїнів високої щільності в сироватці крові (ЛПВЩ) проводили стандартним набором реагентів фірми. Принцип даного методу заснований на тому, що специфічний детергент гідролізує холестерин з ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) і хіломікронів. Холестерин окислюється холестерол оксидазою з утворенням нефарбованих продуктів реакції. Другий детергент переводить холестерин зразка з ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) в розчинну форму. ЛПВЩ вимірюють спектрофотометрично і концентрацію висловлюють в ммоль/л. Референтні значення ЛПВЩ складають 0,7-1,9 ммоль/л.

Визначення ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) і ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) в сироватці крові оцінювали за розрахунковою формулою Friedewald W. [40]. Значення норми для ЛПНЩ складають 2,6-3,6 ммоль / л. Концентрація ЛПДНЩ не повинна перевищувати 0,9 ммоль/л.

Індекс атерогенності (ІА) крові визначали по формулі:

$$\text{Індекс атерогенності} = \frac{ХС - ЛПВЩ}{ЛПВЩ}$$

У нормі значення ІА не повинно перевищувати 3,0.

2.3. Статистична обробка результатів

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали з допомогою програми Microsoft Excel. Обчислення основних статистичних показників проводили за безпосередніми кількісними даними, отриманими в результаті досліджень (середнє арифметичне значення – М; стандартна похибка середнього арифметичного – m). Різницю показників оцінювали методами варіаційної статистики за критерієм Стюдента і критерієм ANOVA (для непараметричних даних). Вірогідною вважали різницю при показах вірогідності $p \geq 0,95$ (рівень значимості $P < 0,05$), знайдену після обчислення t за таблицею t-розподілу.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Оцінка показників вуглеводного обміну периферичної крові при цукровому діабеті першого і другого типів

Результати клініко-лабораторних досліджень хворих на ЦД наведені в таблиці 3.1 та на рис. 3.1- 3.3.

Таблиця 3.1. Лабораторні показники у хворих на ЦД

Показник	Групи обстежених			
	Контроль		ЦД I	ЦД II
	I група	II група		
Глюкоза, ммоль/л	4,59±0,2	5,07±0,35	10,97±0,6*	8,6±0,5**
HbA1c, %	4,66±0,35	5,5±0,45	9,72±1,29*	7,93±1,19*
Інсулін, мкЕд/мл	12,1±1,1	11,34±1,1	15,61±1,29	19,66±1,5
С-пептид, нг/мл	1,9±0,2	2,3±0,2	0,7±0,1	1,3±0,2

* - відмінності, статистично значущі в порівнянні з контрольною групою ($p \leq 0,01$)

В ході проведених досліджень показано, що в групі практично здорових осіб рівень глюкози не відрізнявся від рекомендацій ВООЗ і не перевищував граничного значення 6,1 ммоль/л. Зіставлення показників свідчило про те, що в усіх хворих (95%) рівень глюкози був значно підвищений у середньому на 43,3% в порівнянні з рекомендованим рівнем і більш, ніж в 1,91 рази вище в порівнянні з групою здорових осіб (табл. 3.1, рис. 3.1).

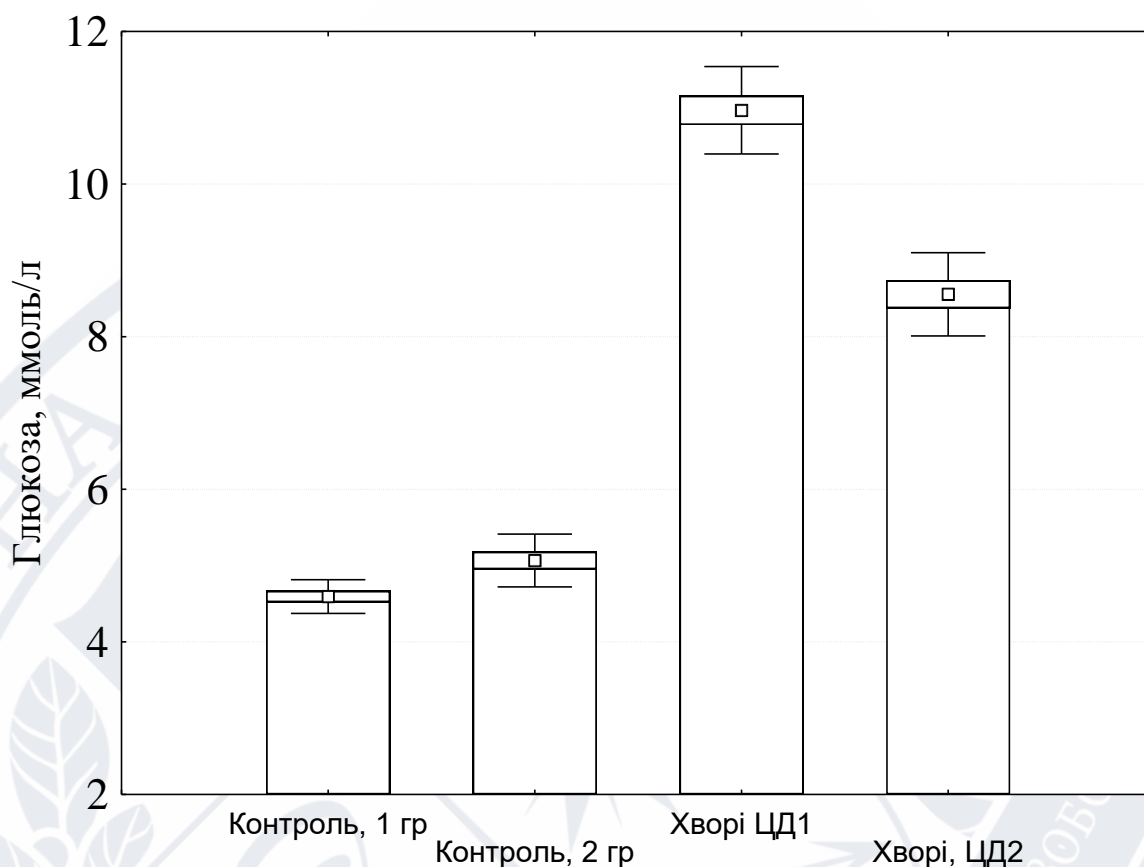


Рис. 3.1. Вміст глюкози в плазмі крові досліджених груп пацієнтів.

□ - Середнє, □ - Середнє ± Помилка середнього, T - Середнє ± Стандартне відхилення.

Згідно з рекомендаціями Комітету з контролю за діабетом і його клінічними ускладненнями (Diabetes Control and Complication Trial, DCCT), оцінити вуглеводний обмін у хворого за тривалий період часу можна, визначивши концентрацію глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) в крові. Вміст глікозильованого гемоглобіну відображає рівень глікемії пацієнта за попередній період [15].

У проведеному дослідженні підвищення вмісту глікозильованого гемоглобіну було виявлено у 98% обстежених хворих і достовірно перевищувала його рівень у контрольних групах (табл. 3.1, рис. 3.2). При підрахунку середнього значення HbA1c дана величина перевищувала аналогічний показник контрольної групи на 171,4% (табл. 3.1). Значно підвищений рівень HbA1c був у хворих ЦД 1 з ускладненнями (15 осіб) в середньому на 180% в порівнянні з

рекомендованим рівнем і більш, ніж в 2,5 рази вище в порівнянні з контрольною групою. Практично всі здорові обстежувані не мали змін у змісті HbA1c в порівнянні з рекомендованими значеннями. Таким чином, можна зробити висновок, що HbA1c є важливим маркером в тривалому контролі над глікемією у пацієнтів з цукровим діабетом I і II типів. Вимірювання HbA1c дозволяє використовувати його як показник можливого ризику розвитку ускладнень діабету.

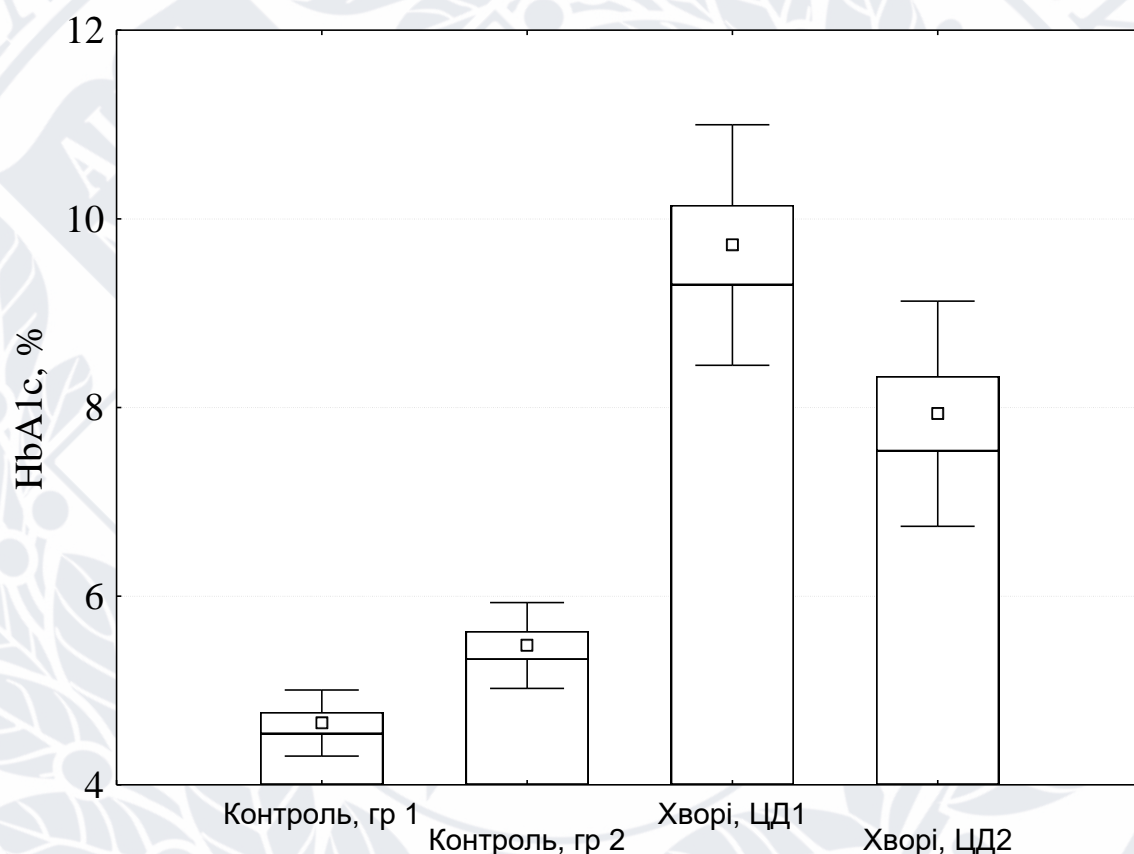


Рис. 3.2. Вміст глікозильованого гемоглобіну в гемолізатах еритроцитів досліджених груп пацієнтів. \square - Середнє, \square - Середнє ± Помилка середнього, \perp - Середнє ± Стандартне відхилення.

Вихідний рівень інсуліну в групі хворих СД1 є інтегральним показником, що залежить як від секреції ендogenous інсуліну, так і від концентрації екзогенного інсуліну, що надходить в кров в процесі лікування.

Прийнято вважати, що як рівень інсуліну, так і вміст у крові С-пептиду відображають функціональну активність β -клітинного апарату підшлункової

залози [9, 20, 50]. Тим часом, у хворих ЦД2 концентрація інсуліну в крові була достовірно вище, а С-пептиду - нижче на 32% контрольних значень (рис 3.3, А, Б).

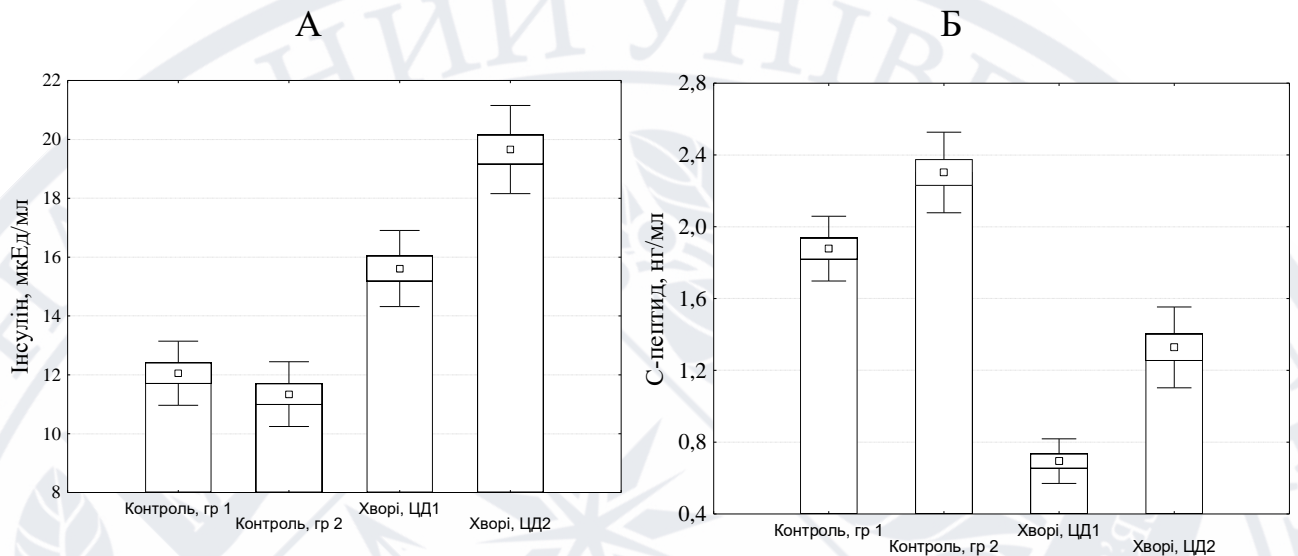


Рис. 3.3. Вміст інсуліну (мкЕд/мг) і С- пептиду (нг/мл) в плазмі крові досліджених груп пацієнтів. \square - Середнє, \square - Середнє \pm Помилка середнього, Γ - Середнє \pm Стандартне відхилення.

Виявлене протиріччя може бути пояснено відомим фактом зниження активності печінкової інсулінази у хворих ЦД2 [39]. Не можна виключити також можливість підвищення концентрації циркулюючого інсуліну внаслідок зниження його утилізації тканинами в результаті характерною для цієї категорії хворих тканинної інсулінорезистентності (ТІР) [15].

Відомо, що рівень С-пептиду є більш стабільним індикатором секреції інсуліну, ніж рівень самого гормону, який може швидко змінюватися. З огляду на те, що лікувальні препарати не містять С-пептид, можна вказати ще одну перевагу визначення цього маркера, яка полягає в тому, що цей показник дозволяє відрізнити ендогенний інсулін від лікарського інсуліну.

При загостренні СД, особливо І типу, рівень С-пептиду в крові знижується, що говорить про недостатність ендогенного гормону (рис. 3.3, Б). З огляду на всі ці фактори, можна зробити висновок про те, що дослідження концентрації С-

пептиду дозволяє оцінити секрецію інсуліну в різних клінічних ситуаціях.

3.2. Зміна ліпідного і ліпопротеїдного складу крові при СД 1 типу і його ускладненнях

Численні дослідження останніх років показали, що основна роль в патогенезі судинних ускладнень при цукровому діабеті належить гіперглікемії, а при ЦД II типу ще й порушення ліпідного обміну. При декомпенсованому перебігу ЦД I типу може виникнути виражена гіпертригліцеридемія, яка проявляється збільшенням ліпопротеїдів дуже низької щільності і хіломікронів. Це пов'язано з тим, що через дефіцит інсуліну збільшується потік вільних неестерифікованих жирних кислот із жирової тканини в печінку, і дефіцитом ліпопротеїнліпази для синтезу тригліцеридів. Ступінь гіпертригліцеримидії має кореляцію з рівнем глікемії.

Результати досліджень ліпідного і ліпопротеїдного складу крові свідчать, що у хворих на ЦД типу 1 відзначається підвищення показників холестерину, тригліцеридів, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, а також ІА в порівнянні з контрольними значеннями незалежно від наявності ускладнень (табл.3.2, рис. 3.4). Для групи хворих з ЦД типу 1 ці зміни дозволяють стверджувати, що розвиток СД 1 у пацієнтів супроводжується суттєвими змінами атерогенного характеру. При цьому у хворих з СД з ускладненнями має місце більш виражені зміни кількісного складу ліпідів крові. ІА підвищувався у цих хворих в 2 рази ($p < 0,05$), у порівнянні з контролем на фоні збільшення концентрацій ХС, ТГ, ЛПНЩ, ЛПДНЩ (табл.3.2, рис. 3.5).

Зазначені у хворих зміни ліпідного обміну можуть розглядатися як несприятливі, особливо якщо вони протікають на фоні зниження адаптивних можливостей організму

Таблиця 3.2. Зміна показників ліпідного та ліпопротеїдною складу плазми крові у хворих на цукровий діабет типу 1 з ускладненнями і без ускладнень (M \pm SD)

Показник	Контрольна група (n=15)	Хворі на ЦД 1 без ускладнень (n = 25)	Хворі на ЦД 1 з ускладненнями (n = 20)
ЛПВП, ммоль/л	0,755 \pm 0,03	0,613 \pm 0,025 p1<0,05	0,772 \pm 0,032 p1>0,05; p2<0,05
ЛПНЩ, ммоль/л	2,183 \pm 0,141	2,128 \pm 0,132 p1>0,05	2,375 \pm 0,155 p1<0,05; p2<0,05
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,438 \pm 0,11	0,438 \pm 0,12 p1>0,05	0,733 \pm 0,129 p1<0,01; p2<0,01
Загальний холестерин, ммоль/л	4,39 \pm 0,29	6,68 \pm 0,24 p1<0,05	8,37 \pm 0,26 p1<0,001; p2<0,01
Загальний вміст тригліцеридів, ммоль/л	1,72 \pm 0,11	1,36 \pm 0,09 p1<0,05	2,44 \pm 0,13 p1<0,001; p2<0,01
ІА	3,39 \pm 0,3	5,68 \pm 0,2 p1<0,01	7,37 \pm 0,3 p1<0,01; p2<0,001

Примітка: Р-достовірність по відношенню до контрольної групи; p1 -рівень значущості відмінностей в порівнянні зі значеннями в контрольній групі; p2 - рівень значущості відмінностей в порівнянні зі значеннями у пацієнтів на цукровий діабет типу 1. ЛПНЩ - ліпопротеїни низької щільності, ЛПДНЩ ліпопротеїни дуже низької щільності, ЛПВЩ - ліпопротеїни високої щільності.

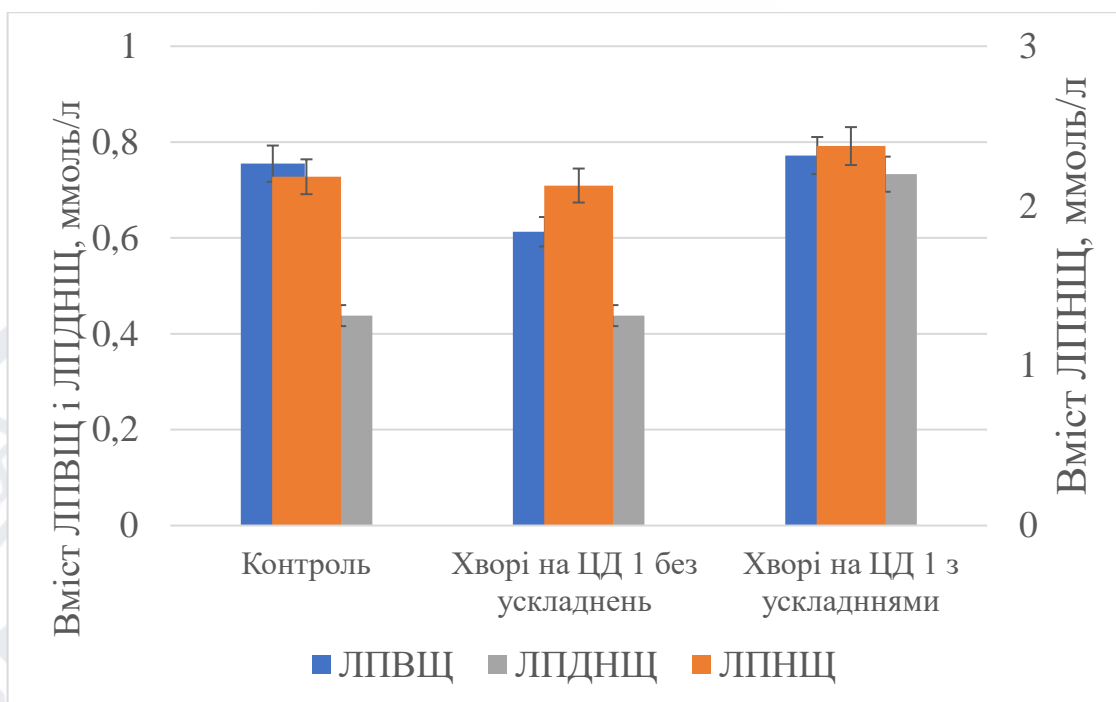


Рис. 3.4. Зміна ліпопротеїдного складу плазми крові у хворих на цукровий діабет типу 1 з ускладненнями і без ускладнень ($M \pm SD$)

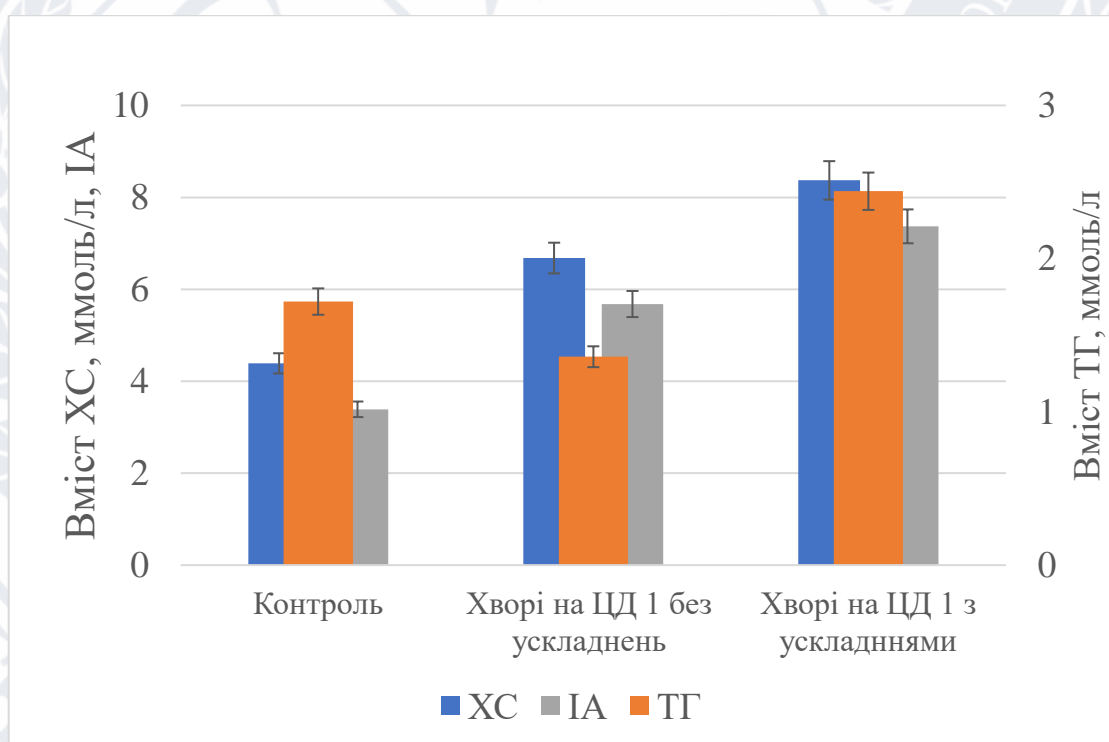


Рис. 3.5. Зміна вмісту холестерину, тригліцеридів, ммоль/л та індексу атерогенності плазми крові у хворих на цукровий діабет типу 1 з ускладненнями і без ускладнень ($M \pm SD$)

У хворих на ЦД типу 1 відзначається підвищення показників холестерину, тригліцеридів, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, а також ІА в порівнянні з контрольними значеннями незалежно від наявності ускладнень. Ці зміни дозволяють стверджувати, що розвиток СД1 у пацієнтів супроводжується дисліпідемією атерогенного характеру. При цьому у хворих з СД з ускладненнями має місце більш виражені зміни кількісного складу ліпопротеїнів плазми крові.

3.3. Зміна ліпідного і ліпопротеїдного складу крові при СД 2 типу

Відомо, що в основі розвитку цукрового діабету 2 типу лежать інсулінорезистентність периферичних тканин і недостатня секреція інсуліну. Численні дослідження підтверджують тісний зв'язок між ожирінням і цукровим діабетом 2 типу.

Інсулінорезистентність часто виявляється у осіб з ожирінням [7]. На думку ряду авторів, формування резистентності до інсуліну передуює дефіцит в клітинах есенціальних поліненасичених жирних кислот (ПННЖК). Ендогенний недолік в клітинах (ПННЖК) призводить до зміни жирно-кислотного складу фосфоліпідів і фізико - хімічних властивостей плазматичних мембран, зниження їх рідинні, порушення функціонування рецепторів до інсуліну і транспортних систем надходження в клітину глюкози. Внаслідок блокади поглинання жирних кислот (ЖК) посилюється компенсаторне збільшення пасивного поглинання клітинами неестерифікованих вільних жирних кислот (СЖК) [11], що активізує ліполіз, підсилює секрецію інсуліну і розвитку гіперінсулінемії (ГІ). Порушення ауторегуляції інсулінових рецепторів при ГІ ще більше підсилює периферичну інсулінорезистентність (ІР).

Гіпертригліцеридемія вважається одним з основних порушень ліпідного обміну у хворих на цукровий діабет 2 типу. Вимірювання концентрації ТГ є рекомендованим ВООЗ для цієї групи хворих.

В ході проведеного дослідження високі значення ТГ в сироватці крові були виявлені у 73,3% обстежених хворих (40 чоловік) і значимо перевищували

контрольні значення. При підрахунку середнього значення ТГ ця величина склала $2,93 \pm 0,37$ ммоль/л, але також перевищувала аналогічний показник в контрольній групі в 4,3 рази (табл. 3.3).

Підвищення рівня загального холестерину було статистично значущим в порівнянні з даними контрольної групи ($p \leq 0,01$). У групі пацієнтів з СД II типу рівень загального холестерину склав $6,52 \pm 0,68$ ммоль/л, що на 44% перевищило значення в контрольній групі. Гіперхолестеринемія спостерігалася у 96% хворих (53 чоловік) і перевищувала рекомендовані значення в 1,25 рази.

Отримані результати свідчать, що при СД 2 відбуваються значні зміни в ліпідному складі крові, підвищення рівня загального ХС, ТГ, ЛПНЩ і ЛПДНЩ. При цьому знижується рівень ліпопротеїдів високої щільності. Гіпертригліцеридемія пов'язана з підвищенням вмісту ЛПДНЩ, мабуть, внаслідок відсутності гальмуючого впливу інсуліну на продукцію і формування ЛПДНЩ.

Таблиця 3.3. Зміна деяких клініко-метаболических показників у хворих з ЦД 2 типу ($M \pm SD$)

Показник	Контроль (n = 15)	СД тип 2 (n= 55)
ЛПВП, ммоль/л	$1,73 \pm 0,03$	$1,04 \pm 0,01$, $p < 0,01$
ЛПНП, ммоль/л	$2,48 \pm 0,06$	$3,77 \pm 0,01$, $p < 0,01$
ЛПДНП, ммоль/л	$0,41 \pm 0,02$	$0,75 \pm 0,01$, $p < 0,01$
ХС, ммоль/л	$4,68 \pm 0,08$	$6,52 \pm 0,68$, $p < 0,01$
ТГ, ммоль/л	$0,68 \pm 0,05$	$2,93 \pm 0,3$ $p < 0,01$
ІА	$3,68 \pm 0,5$	$5,52 \pm 0,5$, $p < 0,01$

Примітка - достовірно в порівнянні з контрольною групою ($p < 0,01$).

Отже, аналіз отриманих даних свідчить, що у хворих на ЦД 2 типу відзначається підвищення показників холестерину, тригліцеридів, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, а також ІА в порівнянні з контрольною групою (рис. 3.6, 3.7). Ці зміни дозволяють стверджувати, що розвиток ЦД 2 супроводжується дисліпідемією атерогенного характеру.

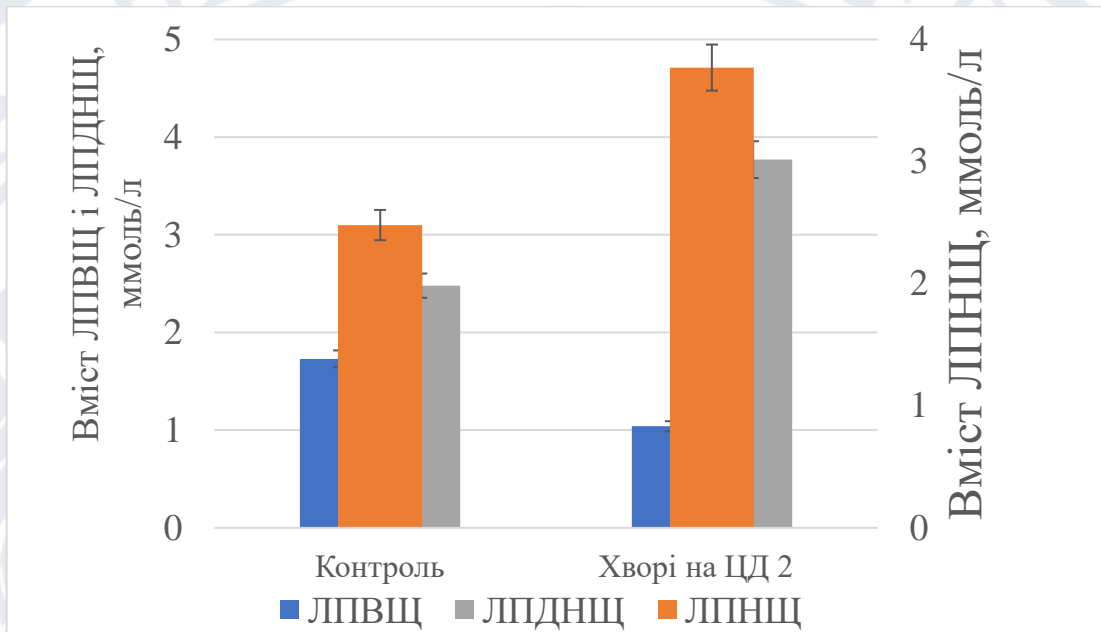


Рис. 3.6. Зміна ліпопротеїдного складу плазми крові у хворих на цукровий діабет типу 2 ($M \pm SD$)

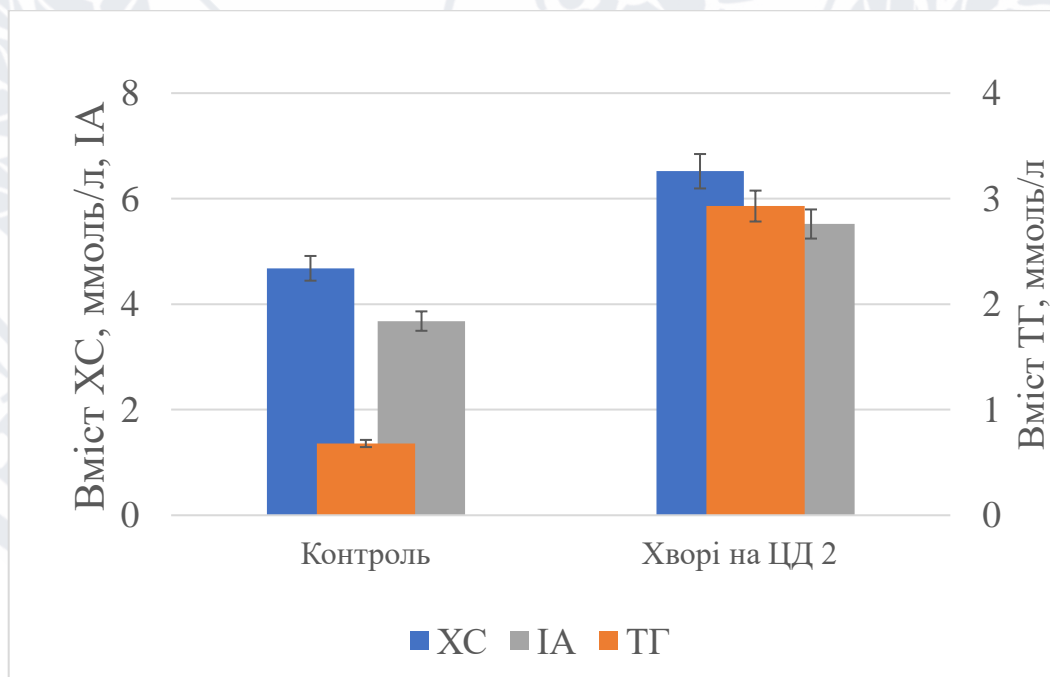


Рис. 3.7. Зміна вмісту холестерину, тригліцеридів, ммоль/л та індексу атерогенності плазми крові у хворих на цукровий діабет типу 2 ($M \pm SD$)

Як відомо, порушення метаболізму жирних кислот супроводжуються наростанням концентрації вільних радикалів і зниженням активності ферментів антиоксидантного захисту, наслідком чого є зниження інсулінзв'язуючої активності клітин і порушення процесів утилізації глюкози.

3.4. Обговорення результатів

В даний час проблема захворюваності на ЦД - одна з найбільш актуальних в сучасній ендокринології. Особлива її значимість визначається загрозою ранньої інвалідизації пацієнтів і зниженням загальної тривалості життя в зв'язку з розвитком важких судинних ускладнень. Спостерігається значне зростання кількості нових зареєстрованих випадків (первинної захворюваності) захворювання населення України на цукровий діабет: від 194,8 на 100 тис. населення у 2005 р. до 249,8 – у 2010 р., тобто на 23,7% протягом 5 років. Встановлено, що кількість хворих збільшується в основному за рахунок цукрового діабету 2-го типу [5, 16, 27].

Незважаючи на численні дослідження в галузі вивчення обмінних процесів при цукровому діабеті, багато питань, пов'язаних з особливостями порушення ліпідного обміну, в тому числі, обміну жирних кислот в еритроцитах, печінці, серцевому м'язі і шкірі у діабетичних хворих, залишаються невивченими.

Для виявлення особливостей ліпідного обміну і взаємозв'язків між порушенням гомеостазу глюкози і обміном ліпопротеїнів, холестерину та триацилгліцеридів плазми крові при цукровому діабеті і його ускладненнях проведено дослідження, метою якого було вивчення патогенетичних механізмів порушення ліпідного обміну при цукровому діабеті

В ході роботи обстежено 100 хворих обох статей, які страждають на цукровий діабет у віці від 25 до 65 років. Дослідження проводилися в період ремісії супутніх захворювань. В якості контрольної групи обстежено 30 осіб (обох статей) того ж віку, без ендокринної патології, того ж віку.

Відомо, що ЦД супроводжується окисним стресом, наслідками якого є накопичення продуктів пероксидації структурних компонентів клітин. Наслідком цих процесів є поява в мембранах своєрідних пор за рахунок збільшення вмісту гідрофільних вуглеводневих хвостів, збільшення жорсткості мембран за рахунок зниження вмісту ненасичених жирних кислот, що може впливати на стан інсулінових рецепторів, знижати їх гормон-зв'язуючу активність і вести до зниження споживання глюкози клітинами. Підтвердженням цього є отримані нами дані по визначенню утилізації глюкози у пацієнтів хворих на ЦД 1 типу і ЦД 2 типу. Було показано, що в усіх хворих (95%) рівень глюкози був значно підвищений у середньому на 43,3% в порівнянні з рекомендованим рівнем і більш, ніж в 1,91 рази вище в порівнянні з групою здорових осіб. Вміст HbA1c перевищував аналогічний показник контрольної групи на 171,4%. Значно підвищений рівень HbA1c був у хворих ЦД 1 з ускладненнями (15 осіб) в середньому на 180% в порівнянні з рекомендованим рівнем і більш, ніж в 2,5 рази вище в порівнянні з контрольною групою.

Таким чином, отримані нами результати по зниженню ступеня споживання глюкози еритроцитами дозволяють вважати, що клітинні мембрани при СД зазнають істотні структурні і функціональні зміни, що супроводжуються зниженням енергозабезпеченням клітин.

Дисліпідемія мала місце у хворих двох груп. ЗХ, ТГ, ЛПНЩ, ЛПДНЩ та коефіцієнт атерогенності були достовірно підвищені в обох групах щодо групи контролю ($p < 0,001$). У групі з ЦД 1 не було виявлено зміни рівня ЛПВЩ, хоча рівні ЛПНЩ та ЛПДНЩ були більш високими, ніж в контрольній групі, і в групі з ускладненнями, порівняльно з групою без ускладнень. У групі з ЦД 2 вміст ЛПВЩ були достовірно ($p < 0,001$) знижені порівняльно з групою контролю, що зумовлено високим рівнем ТГ в сироватці крові.

Звертає на себе увагу зниження ЛПВЩ у хворих ЦД 2, функція якого полягає у видаленні холестерину з зовнішньої поверхні клітини. Втрата захопленого з поверхні мембрани холестерину відразу ж заповнюється надходженням його всередину клітини. Цей процес йде безперервно. При

збільшенні в крові ЛПНЩ і ЛПДНЩ відбувається затримка катаболізму цих атерогенних ліпопротеїнів, гальмується утворення ЛПВЩ, які зазвичай затримують проникнення холестерину в клітини судинної стінки в складі атерогенних ЛПНЩ, ЛПДНЩ за рахунок конкуренції з їх рецепторами. Захоплений з поверхні мембрани холестерин в складі ЛПВЩ в плазмі крові піддається естерифікації при дії лецитинхолестеринацетилтрансферази, і потім холестерин транспортується в складі ЛПВЩ в печінку, де частково виділяється з жовчю, перетворюючись в жовчні кислоти [21].

Якщо вміст загального холестерину збільшується на 6-28%, в порівнянні з нормою, то під час гістологічного дослідження судин серця виявляються зміни в артеріях міокарда середнього і дрібного калібру у вигляді накопичення кислих глікозаміногліканів в стовщеннях інтими, а також сегментарної або циркулярної жирової інфільтрації внутрішньої і середньої оболонок судин.

При більш значному збільшенні вмісту загального холестерину в сироватці крові в порівнянні з нормативним показником - на 34-66%, в судинах міокарда, поряд з ліпоїдозом їх стінок, виявляються сформовані атеросклеротичні бляшки, які мають добре виражений сполучнотканинний каркас і переважання в основній речовині нейтральних глікозаміногліканів.

Виявлені порушення можуть сприяти атерогенним змінам в організмі, що підтверджується проведеним дослідженням. Підвищення вмісту ЛПДНЩ і ЛПНЩ зі зниженням концентрації ЛПВЩ і утилізації глюкози свідчать про те, що у всіх досліджуваних групах хворих на ЦД дисліпідемія має атеросклеротичну спрямованість.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що в усіх хворих (95%) рівень глюкози був значно підвищений у середньому на 43,3% в порівнянні з рекомендованим рівнем і більш, ніж в 1,91 рази вище в порівнянні з групою здорових осіб.

2. Середній вміст HbA1c перевищував аналогічний показник контрольної групи на 171,4%. Значно підвищений рівень HbA1c був у хворих ЦД 1 з ускладненнями (15 осіб) в середньому на 180% в порівнянні з рекомендованим рівнем і більш, ніж в 2,5 рази вище в порівнянні з контрольною групою.

3. У хворих на ЦД концентрація інсуліну в крові була достовірно вище, а С-пептиду - нижче на 32% контрольних значень. Зниження рівня С-пептиду спостерігали при загостренні СД, особливо І типу.

4. У хворих на ЦД типу 1 відзначається підвищення показників холестерину, тригліцеридів, ЛПНЩ, ЛПДНЩ, а також ІА в порівнянні з контрольними значеннями незалежно від наявності ускладнень. Ці зміни дозволяють стверджувати, що розвиток СД1 у пацієнтів супроводжується дисліпідемією атерогенного характеру. При цьому у хворих з СД з ускладненнями має місце більш виражені зміни кількісного складу ліпопротеїнів плазми крові.

5. При СД 2 відбуваються значні зміни в ліпідному складі крові, підвищення рівня загального ХС, ТГ, ЛПНЩ і ЛПДНЩ. При цьому знижується рівень ліпопротеїнів високої щільності. Гіпертригліцеридемія пов'язана з підвищенням вмісту ЛПДНЩ, мабуть, внаслідок відсутності гальмуючого впливу інсуліну на продукцію і формування ЛПДНЩ.

6. Показано, що порушення ліпопротеїнового обміну більш виражені у пацієнтів з цукровим діабетом типу 2 в порівнянні з такими у хворих на цукровий діабет типу 1 і характеризуються значним збільшенням вмісту в крові ліпопротеїнів дуже низької щільності, тригліцеридів і загального холестерину.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Тронько М., Большова О., Ховака В. Фармакотерапія ендокринних захворювань. Книга 1. Цукровий діабет та його ускладнення. 2022, 164 с.
2. Коваль С.М., Юшко К.О. Цукровий діабет 2-го типу та серцево-судинні захворювання. Частина I. Визначення проблеми, стратифікація кардіоваскулярного ризику і основні напрямки профілактики серцево-судинних захворювань у хворих на цукровий діабет 2-го типу. Артеріальна гіпертензія, 2020, 13(5), С. 11- 19.
3. Антонова К.В., Недосугова Л.В., Балаболкин М.И. Влияние компенсации углеводного обмена на свободнорадикальное окисление липопротеинов низкой плотности и активность ферментативной антиоксидантной системы при сахарном диабете типа 2. Проблемы эндокринологии, 2003, 49(2), С. 51 – 54
4. Антощук Р.Я. Цукровий діабет: етіологія захворювання. Young Scientist, 2016, № 6 (33), С. 77-280.
5. Атлас Диабета IDF, шестое издание. Международная Федерация Диабета, 2013.
6. Солнцева А. В., Волкова Н.В. Проблема інсулінорезистентності у дітей з цукровим діабетом 1 типу. Частина 1. Український журнал дитячої ендокринології, 2019, 1, С. 16-24.
7. Skrupnyk, N., Romaniv, T., Vlasiuk, T., & Gudz, I. Взаємозв'язок інсулінорезистентності з функціональним станом печінки у хворих на метаболічний синдром із цукровим діабетом 2-го типу. Терапевтика, 2021, 2(1), 45-51.
8. Галушко О.А. Цукровий діабет у практиці лікаря-анестезіолога: фокус на діабетичну нейропатію. Медицина невідкладних станів, 2020, Том 16, № 3, С. 37- 46.
9. Pankiv V. I., Yuzvenko T. Yu., Pashkovska N. V., Pankiv I. V. Effect of vitamin D on insulin resistance and anthropometric parameters in patients with type 2 diabetes mellitus. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія, 2019, 1 (65), С. 53- 58.

10. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль М.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой. *Вопр. мед. Химии*, 1987, 1, С. 118-121.

11. Сірчак Є. С., Пацкун С. В. Особливості перебігу діабетичної нейропатії у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу та хронічним гастритом. *Український журнал медицини, біології та спорту*, 2020, Том 5, № 6 (28), С. 170- 175.

13. Данилова Л.А., Лопатина Н.И. Колориметрический метод определения гликозилированных гемоглобинов. *Лаб. Дело*, 1986, 5, С. 281-283.

14. Кривенко В. І., Бородавко О. І. Стан оксидативного стресу у хворих з поєднаним перебігом цукрового діабету 2 типу та остеопорозу. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*, 2018, № 3, С. 75 – 80.

15. Майданник В.Г., Шевченко Т.А. Стан перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи у дітей, хворих на цукровий діабет 1 типу, залежно від наявності хронічних ускладнень. *Проблеми клінічної педіатрії*, 2018, 4 (42), С. 6 – 13.

16. Зелінська Н.Б., Глоба Є.В., Погадаєва Н.Л. Статистика цукрового діабету у дітей в Україні (аналіз і прогноз). *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*, 2013, 1 (42), С. 80-83.

17. Кононенко И.В, Смирнова О.М. Воздействие на факторы риска – реальный путь профилактики сосудистых осложнений сахарного диабета 2 типа *Сахарный диабет*, 2012, №4, С. 103–108.

18. Кот Л., Богданова О, Остапченко Л. Сучасні уявлення про біохімічні механізми патогенезу інсуліннезалежного цукрового діабету. *Вісн. НАН України*, 2008, № 9, С. 18-26.

19. Кузишин О.В., Ковалишин Н.В., Алмашина Х.В. Біохімія цукрового діабету: 1. Теоретична частина (огляд). *Медична хімія*, 2010, С. 75- 115.

20. Максимов Р.В. Характеристика изменений показателей циклазной системы и гормональной регуляции углеводного обмена у больных сахарным диабетом 1 и 2 типов / Р.В. Максимов, А.Н. Дрыгин, С.Б. Шустов //–*Вестник российской военно-медицинской академии* 2013 1(41).- С. 76-79.

21. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. М.:Мир, 2009, Т.2, С.415.
22. Михайлов В. В. Основы патологической физиологии: Руководство для врачей. / В. В. Михайлов, Б. Сагалович. –М.:Медицина.– 2001.– 704 с.
23. Молекулярная эндокринология /под ред. Дедова И.И., Мельниченко Г. А., 2013.- 600 с.
24. Савицький І. В., Величко В. І., Прейс Н. І., Сірман Я. В., Сарахан В. М. Особливості системи антиоксидантного захисту та перекисного окиснення ліпідів при мікроангіопатіях на тлі цукрового діабету 2 типу. Інтегративна Антропологія, 2019, № 1 (33), С. 37 – 40.
25. Kolesnikova O.V., Radchenko A.O. Сучасний погляд на механізми розвитку оксидативного стресу і його біомаркери при найбільш поширених неінфекційних захворюваннях. Український терапевтичний журнал, 2020, 1, С. 51- 61.
26. Тишенина Р.С. Современные лабораторные методы, принципы диагностики и контроля лечения сахарного диабета. Альманах клинической медицины, 2005, № 8-1, С. 239-301.
27. Ткаченко В.І., Видиборець Н.В., Коваленко О.Ф. Аналіз поширеності та захворюваності на цукровий діабет і його ускладнення серед населення України та Київської області за 2004-2013 рр. Здобутки клінічної і експериментальної медицини, 2014,№2, С.177-182.
28. Тронько М.Д. Гендерні та статеві особливості цукрового діабету/ М.Д. Тронько, О.В.Корпачова- Зінич.-К., Книга Плюс,2008-205 с.
29. Abiaka C, Al-Awadi F., Olusi S. Effect of storage on the activities of superoxide dismutase, glutathione reductase and glutathione peroxidase. Clin Chem, 2000, 46, С. 566-567.
30. Al-Abrash A.S., Al-Quobaili F.A., Al-Akhras G.N.. Catalase evaluation in different human diseases associated with oxidative stress. Saudi Medical Journal, 2000, 21 (9), P. 826-830

31. Asakava T, Matsushita E. Tiobarbiture Heid Test for Detecting Lipid Lipids, 1979, 14, P. 401-406.

32. Liu LL, Yan L, Chen YH, et al. A role for diallyl trisulfide in mitochondrial antioxidative stress contributes to its protective effects against vascular endothelial impairment. *Eur J Pharmacol.* 2014, 725, P. 23-31.

33. Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab.* 2000, 26(3),163-176.

34. Kesavadev J, Sadikot S, Wangnoo S, et al. Consensus guidelines for glycemic monitoring in type 1/type 2 & GDM. *Diabetes Metab Syndr.* 2014;8(3):187-195.

35. Halimi, S., Schweizer, A., Minic, B., Foley, J., & Dejager, S. (2008). Combination treatment in the management of type 2 diabetes: focus on vildagliptin and metformin as a single tablet. *Vascular health and risk management*, 4(3), P. 481–492.

36. Deeney JT, Gromada J, Høy M, et al. Acute stimulation with long chain acyl-CoA enhances exocytosis in insulin-secreting cells (HIT T-15 and NMRI beta-cells). *J Biol Chem.* 2000, 275(13), P. 9363-9368.

37. Hsu WT, Tsai LY, Lin SK, Hsiao JK, Chen BH. Effects of diabetes duration and glycemic control on free radicals in children with type 1 diabetes mellitus. *Ann Clin Lab Sci.* 2006, 36(2), P. 174-178.

38. Engelen W, Keenoy BM, Vertommen J, De Leeuw I. Effects of long-term supplementation with moderate pharmacologic doses of vitamin E are saturable and reversible in patients with type 1 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2000, 72(5), P.1142-1149.

39. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction?. *Diabetes.* 2003, 52(1), P. 1-8.

40. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem.* 1957, 226(1), P. 497-509.

41. Steinberg HO, Paradisi G, Hook G, Crowder K, Cronin J, Baron AD. Free fatty acid elevation impairs insulin-mediated vasodilation and nitric oxide production. *Diabetes*. 2000, 49(7), P. 1231-1238.
42. Ginsberg HN, Zhang YL, Hernandez-Ono A. Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes. *Arch Med Res*. 2005, 36(3), P. 232-240.
43. Grune T, Davies KJ. Breakdown of oxidized proteins as a part of secondary antioxidant defenses in mammalian cells. *Biofactors*. 1997, 6(2), P. 165-172.
44. Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol*. 1999;300:156-166.
45. Breen, C., Ryan, M., McNulty, B., Gibney, M. J., Canavan, R., & O'Shea, D. (2014). High saturated-fat and low-fibre intake: a comparative analysis of nutrient intake in individuals with and without type 2 diabetes. *Nutrition & diabetes*, 4(2), e104.
46. Ho JE, Paultre F, Mosca L; Women's Pooling Project. Is diabetes mellitus a cardiovascular disease risk equivalent for fatal stroke in women? Data from the Women's Pooling Project. *Stroke*. 2003, 34(12), P. 2812-2816.
47. Donath MY, Størling J, Maedler K, Mandrup-Poulsen T. Inflammatory mediators and islet beta-cell failure: a link between type 1 and type 2 diabetes. *J Mol Med (Berl)*. 2003, 81(8), P. 455-470.
48. Takahashi K, Kamada C, Yoshimura H, et al. Effects of total and green vegetable intakes on glycated hemoglobin A1c and triglycerides in elderly patients with type 2 diabetes mellitus: the Japanese Elderly Intervention Trial. *Geriatr Gerontol Int.*, 2012,12 Suppl 1:50-58.
49. Kahn SE. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2003, 46(1), P. 3-19.
50. Kaneto H., Nakatani Y., Miyatsuka T. Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Endocrine Journal*, 2008, Vol. 55, № 4, P. 235–252.

51. Kocić R, Cirić V. New aspects about the impact of oxidative stress on development of chronic diabetic complications. *Med Pregl.*, 2009, 62(3), C.70-74.
52. Komosińska-Vassev K, Olczyk K, Olczyk P, Winsz-Szczotka K. Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2005, 68(3), P. 207-216.
53. Cnop M, Welsh N, Jonas JC, Jörns A, Lenzen S, Eizirik DL. Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. *Diabetes.* 2005, 54., Suppl 2:S97-S107.
54. Montagnana M, Caputo M, Giavarina D, Lippi G. Overview on self-monitoring of blood glucose. *Clin Chim Acta.* 2009, 402(1-2), P. 7-13.
55. Mylona-Karayanni C, Gourgiotis D, Bossios A, Kamper EF. Oxidative stress and adhesion molecules in children with type 1 diabetes mellitus: a possible link. *Pediatr Diabetes.* 2006, 7(1), P. 51-59.
56. Augustyniak A, Bartosz G, Cipak A, et al. Natural and synthetic antioxidants: an updated overview. *Free Radic Res.* 2010;44(10):1216-1262.
57. Kagawa M, Kuroiwa C, Uenishi K, Mori M, Hills AP, Binns CW. New percentage body fat prediction equations for Japanese females. *J Physiol Anthropol.* 2007, 26(1), P. 23-29.
58. Haber EP, Ximenes HM, Procópio J, Carvalho CR, Curi R, Carpinelli AR. Pleiotropic effects of fatty acids on pancreatic beta-cells. *J Cell Physiol.* 2003, 194(1), P. 1-12.
59. Poitout V., Robertson RP. Minireview: Secondary beta-cell failure in type 2 diabetes-a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology*, 2002, 143(2), P. 339-342
60. Bono A, Caimi G, Catania A, Sarno A, Pandolfo L. Red cell peroxide metabolism in diabetes mellitus. *Horm Metab Res.* 1987;19(6):264-266.
61. Ramana KV, Friedrich B, Tammali R, West MB, Bhatnagar A, Srivastava SK. Requirement of aldose reductase for the hyperglycemic activation of protein kinase C and formation of diacylglycerol in vascular smooth muscle cells. *Diabetes.* 2005;54(3):818-829.

62. Rorsman P., Renstrom E. granule dynamics in pancreatic beta cells. *Diabetologia*, 2003, 46, P. 1029-1045.

63. Sharafetdinov Kh.Kh, Meshcheriakova V.A., Plotnikova O.A. Methodology of use of an enteral nutrition formulas in diet therapy of patients with type 2 diabetes *Vopr Pitan*, 2005, V.74, N4, P. 17–22.

64. Singh B.M., Holland M.R., Bascar V. Is microalbuminuria a reliable indicator of underlying renal reserve in diabetes. *Diabetologia*, 2004, 47, P. 393.

65. Tringer P. Determination of blood glucose using 4-amino phenazone as oxygen acceptor. *Ann. Clin. Patol*, 1969, 22, № 2, P. 246–248.

66. Uauy R. Dietary fat quality for optimal health and well-being: overview of recommendations. *Ann Nutr Metab*, 2009, 54(1), C. 2-7.

67. Unger RH, Zhou YT. Lipotoxicity of beta-cells in obesity and in other causes of fatty acid spillover. *Diabetes*. 2001;50 Suppl 1:S118-S121.

68. van Kampen EJ, Zijlstra WG. Spectrophotometry of hemoglobin and hemoglobin derivatives. *Adv Clin Chem*. 1983;23:199-257.

69. Vaxillaire M, Froguel P. Monogenic diabetes in the young, pharmacogenetics and relevance to multifactorial forms of type 2 diabetes. *Endocr Rev*. 2008, 29(3), P. 254-264.

70. Wood LG, Fitzgerald DA, Lee AK, Garg ML. Improved antioxidant and fatty acid status of patients with cystic fibrosis after antioxidant supplementation is linked to improved lung function. *Am J Clin Nutr*. 2003, 77(1), P. 150-159.

71. Reinauer H., Home P.D., Kanagasabapathy A. S., Heuck C.-C. World Health Organization Laboratory Diagnosis and Monitoring of Diabetes Mellitus, 2002, 26 p.