

На правах рукописи



Хачерян Мария Камоевна

**МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И
ПОЛИМОРФИЗМ С(786)Т ГЕНА NOS3 ПРИ ФОРМИРОВАНИИ
ДИАБЕТИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ
ДИАБЕТОМ 1 ТИПА**

3.1.18. Внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

ЧИТА – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

Серебрякова Ольга Владимировна

Официальные оппоненты:

Друк Инна Викторовна – доктор медицинских наук, доцент
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой внутренних болезней и семейной медицины ДПО

Цыганкова Оксана Васильевна – доктор медицинских наук, доцент
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры неотложной терапии с эндокринологией и профпатологией факультета повышения квалификации и профессиональной подготовки врачей

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Иркутск.

Защита диссертации состоится «22» декабря 2021 г. в __ часов ⁰⁰ минут на заседании диссертационного совета 21.2.077.01 при ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (672000, г. Чита, ул. Горького 39а)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Читинская медицинская академия» Минздрава России и на сайте <http://chitgma.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета 21.2.007.01

д.м.н., доцент



Мироманова Наталья Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Сахарный диабет (СД) является одной из существенных проблем современного здравоохранения всего мира. Масштабы распространенности данного заболевания приняли размеры неинфекционной пандемии. По данным международной федерации диабета (International Diabetes Federation), количество пациентов с СД в мире к 2019 г. достигло 463 млн, что превысило ожидаемые темпы на 10-12 лет [И.И. Дедов, 2019; P. Saeedi, 2019]. По данным разных авторов, распространенность сосудистых осложнений среди больных СД составляет от 60 до 100% [И.А. Бондарь, 2008; А.С. Аметов, 2014; И.И. Дедов, М.В. Шестакова, 2019]. Сахарный диабет приводит как к патологическим изменениям миокарда, так и к развитию микро- и макроангиопатий сосудов сердца и кардиоваскулярной диабетической автономной нейропатии (КДАН) [А.С. Аметов, 2014; О.М. Драпкина, 2015; A. Lorenzo-Almoros, 2018; J.N. Starcevi, 2019; Н. А. Козиолова, 2020]. Следствием данных изменений являются систолическая и диастолическая дисфункции левого желудочка, приводящие к застойной сердечной недостаточности и фатальным аритмиям [О.М. Драпкина, 2015; A. Lorenzo-Almoros, 2018; J.N. Starcevi, 2019].

Степень разработанности темы исследования. Существенный вклад в изучение поражений сердца при СД внесли ряд отечественных и зарубежных ученых. Согласно взглядам К.А. Попова (2017), следует различать понятие автономной нейропатии и кардиомиопатии с точки зрения соотношения морфофункциональных и нейровегетативных нарушений деятельности сердца. По мнению Ф.В. Валеевой, М.Р. Шайдуллиной (2009), Д.А. Иванова (2013), A. Lorenzo-Almoros et al. (2017), КДАН предшествует развитию и проявлению кардиомиопатии. Z.Y. Fang et al. (2004) показали, что пациенты с диастолической дисфункцией левого желудочка имеют признаки КДАН.

Исследования, посвящённые изучению эндотелиальной дисфункции у больных сахарным диабетом 1 типа, выявили взаимосвязь повышения уровня

молекулы межклеточной адгезии-1 со степенью тяжести микрососудистых осложнений (ретинопатия, нефропатия) [М.А. Киселева, 2005; М.Ю. Шестакова, 2002]. Т.В. Кочемасова с соавторами (2002) выявили повышение уровней E-selectin и ICAM-1 у больных с диабетической ретинопатией, однако их изменения при диабетической кардиомиопатии не описаны.

J. Sokolovska (2020), Е.В. Бирюкова (2018), И.К. Богомолова и соавторы (2011), С.Г. Дзугкоев (2010) описали роль оксида азота (NO) в формировании микроангиопатий у больных СД 1 типа.

В работах А.А. Куба (2015), А.А. Сиверина (2019) описаны полиморфизмы генов синтазы NO, влияющих на развитие сердечно-сосудистых заболеваний. А.Ю. Сорокина с соавторами (2014) показали значение генотипов полиморфизма гена C(786)T NOS3 в развитии диабетической нефропатии и ретинопатии у больных СД 1 типа. Имеются данные, что гены HLA-DRB1 могут влиять на риск развития СД 1 типа (L.P. Zhao, 2019). Более того, по данным Е.А. Трошина (2020), при СД 1 типа некоторые аллели главного комплекса гистосовместимости (HLA) увеличивают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. Е.В. Спицина (2008) показала, что у лиц с СД 1 типа риск развития диабетической полинейропатии выше у носителей аллели С гена POLG1T(365)C.

Таким образом, изучение роли эндотелиальной дисфункции у больных СД 1 типа и кардиомиопатией с уточнением вклада генетических маркеров (полиморфизм C(786)T NOS3, T(365)C POLG1, HLA-DRB1) позволит расширить представления о патогенезе, клинике, диагностике диабетической кардиомиопатии.

Цель исследования: на основании изучения особенностей клинического течения сахарного диабета 1 типа, содержания в крови маркеров эндотелиальной дисфункции (sICAM-1; sE-selectin; sP-selectin) и полиморфизма генов C(786)T NOS3, T(365)C POLG1 и HLA-DRB1 разработать прогностические критерии развития диабетической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности клинических, вегетативных и эхокардиографических изменений у больных сахарным диабетом 1 типа с наличием и отсутствием диабетической кардиомиопатии.
2. Оценить уровень молекул межклеточной адгезии (sICAM-1; sE-selectin; sP-selectin) и оксида азота (NO) в сыворотке крови у больных сахарным диабетом 1 типа в зависимости от наличия кардиомиопатии.
3. Выявить встречаемость полиморфизма генов C(786)T NOS3, T(365)C POLG1 и HLA-DRB1 у больных сахарным диабетом 1 типа и определить их роль в развитии диабетической кардиомиопатии.
4. Разработать модели прогнозирования развития диабетической кардиомиопатии у пациентов с сахарным диабетом 1 типа с учетом влияния эндотелиальной дисфункции и наличия полиморфизмов генов C(786)T NOS3 и HLA-DRB1.

Научная новизна. Впервые установлено, что при повышении уровня маркеров эндотелиальной дисфункции, в частности, sICAM-1 и sE-selectin, у больных сахарным диабетом 1 типа повышается риск формирования диастолической дисфункции левого желудочка.

Выявлено, что наличие у больных сахарным диабетом 1 типа автономной кардиоваскулярной нейропатии является одним из факторов риска по формированию диастолической дисфункции левого желудочка.

Обнаружено, что аллель T гена NOS3 C(786)T может предрасполагать к развитию сахарного диабета 1 типа. Гомозиготный вариант TT гена NOS3 C(786)T увеличивает риск развития диабетической кардиомиопатии у больных с данным заболеванием.

Впервые разработана модель прогнозирования риска формирования диабетической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа, основанная на определении уровня sICAM-1, генетического полиморфизма гена NOS3 (C786T) и наличия диабетической автономной нейропатии.

Практическая и теоретическая значимость работы. Полученные данные о значении эндотелиальной дисфункции и генетических полиморфизмов расширяют представления о формировании и клинических проявлениях диабетической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа. Выявленные изменения позволяют раскрыть некоторые механизмы формирования поражения миокарда при сахарном диабете 1 типа.

В результате проведенного исследования подтверждена необходимость диагностики кардиоваскулярной автономной нейропатии для своевременного прогнозирования развития кардиомиопатии с определением маркеров эндотелиальной дисфункции у больных сахарным диабетом 1 типа.

Разработана прогностическая модель оценки риска формирования кардиомиопатии в зависимости от концентрации молекулы межклеточной адгезии sICAM-1 в крови больных, факта наличия диабетической автономной кардиоваскулярной нейропатии, наличия аллеля T гена NOS3.

Внедрение результатов в практику. Полученные в результате исследования данные используются в образовательной, научной и клинической деятельности кафедр госпитальной терапии и эндокринологии, поликлинической терапии с курсом медицинской реабилитации ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия».

Труды научного исследования используются в практической работе отделения нефро-эндокринологии ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» города Чита» и эндокринологического отделения ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Читы.

Методология и методы исследования. Методология диссертационного исследования базируется на научно-исследовательских работах отечественных и зарубежных авторов в области изучения патогенетических механизмов поражения сердца у больных сахарным диабетом 1 типа. В процессе исследования проведены клинические, биохимические и инструментальные обследования больных на базе отделения эндокринологии ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Читы и

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России. Результаты исследования подвергались статистической обработке.

Положения, выносимые на защиту:

1. При сахарном диабете 1 типа регистрируется высокая распространённость диабетической кардиомиопатии. На частоту развития диастолической дисфункции левого желудочка влияют длительность сахарного диабета, степень компенсации углеводного обмена и наличие кардиоваскулярной формы диабетической автономной нейропатии.

2. Наличие гомозиготного варианта TT гена NOS3 C(786)T, аллели 03 гена HLA-DRB1 и повышение уровня селектина sE-selectin и sICAM-1 ассоциируются с формированием кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа.

3. Прогностической значимостью в развитии диабетической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа обладают некоторые клинические и лабораторные характеристики, такие как наличие диабетической автономной кардиоваскулярной нейропатии и аллели T гена NOS3, увеличение содержания в крови молекулы межклеточной адгезии-1.

Степень достоверности и апробация результатов.

Материалы исследования доложены на XV межрегиональной научно-практической конференции «Медицина завтрашнего дня» (Чита, 2016), VI Межрегиональной научно-практической конференции «Современные достижения эндокринологии врачу-терапевту» (Чита, 2019), VIII Съезде терапевтов Забайкальского края (Чита, 2020).

Достоверность полученных результатов исследования установлена обработкой современными статистическими методами, большим объемом подбора когорты больных.

Публикации. На тему диссертационного исследования опубликовано 13 научных работ, из них 4 в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации.

Структура и объём диссертации. Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 4-х глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка условных сокращений, списка литературы, включающего 210 источников (128 отечественных, 82 иностранных). Работа иллюстрирована 26 таблицами, одним рисунком.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В соответствии с поставленными целью и задачами обследовано 190 пациентов в период с 2013 по 2019 гг. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЧГМА (протокол № 57 от 13.11.2013 г.). Среди обследованных пациентов 140 лиц имели сахарный диабет 1 типа и 50 человек составляли контрольную группу практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

Все лица, участвующие в исследовании, были информированы о проводимой научной работе и подписали добровольное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения в исследование: верифицированный диагноз сахарного диабета 1 типа, согласно критериям, принятым ВОЗ (1999, 2006 гг.) в возрасте от 16 до 40 лет, с длительностью заболевания более трех лет.

Критерии исключения из исследования: отказ пациента от исследования; период беременности и лактации; сахарный диабет 2 типа и другие специфические типы диабета; острые осложнения сахарного диабета в течение 2 месяцев; онкологические заболевания (любой локализации); хронические и острые воспалительные заболевания; заболевания сердца (перикардит, миокардит, эндокардит, ИБС, гипертрофическая и дилатационная кардиомиопатия); тяжелые нарушения ритма сердца; артериальная гипертензия любого генеза; ХОБЛ; почечная и печёночная недостаточность; нейропатия недиабетического генеза; применение

антиаритмических препаратов; аутоиммунные поражения соединительной ткани; болезни крови; ОНМК; бронхиальная астма; заболевания, сопровождающиеся легочной гипертензией; наличие патологии щитовидной железы, надпочечников, паращитовидных желез; хронический алкоголизм.

Согласно критериями включения и исключения выполнялся отбор больных с сахарным диабетом 1 типа с последующим одномоментным исследованием и оценкой клинических показателей, результатов лабораторных и инструментальных обследований.

Всем участникам исследования выполнялись следующие обследования: детальный сбор анамнеза и жалоб, антропометрические измерения (рост, вес, окружность талии), расчёт индекса массы тела, определение физикальных данных (пульс, АД). Комплексное лабораторное и инструментальное обследование включало: общий анализ крови и мочи, биохимические анализы крови (АЛТ, АСТ, креатинин, мочевины, глюкоза, билирубин, общий белок, холестерин), липидный спектр, гликированный гемоглобин, ионограмма, микроальбуминурия, стандартная ЭКГ, эхокардиография, суточное холтеровское мониторирование, осмотр офтальмолога, невролога.

Кардиоваскулярная форма диабетической автономной нейропатии выявлена в соответствии с клиническими рекомендациями «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» (2019 г.) Проводились: ортостатическая проба (тест Шелонга); изменение частоты сердечных сокращений при медленном глубоком дыхании (6 в минуту); проба Вальсальвы. Диагноз КДАН подтверждается при обнаружении трех положительных диагностических проб.

Эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ) сердца проведено на аппаратах «AcusonSC 2000» и «VividE9» согласно стандартной методике исследования.

Анализ оценки вариабельности ритма сердца (BPC) проводили ХМ-ЭКГ на аппарате "Кардиотехника-4000" (Инкарт, СПб) и "Rozinn" (США) с одноименным программным обеспечением. Холтеровское

мониторирование проводилось в условиях свободной активности пациента непрерывной записью электрокардиограммы для оценки сердечного ритма пациентов в дневное и ночное время суток.

Определение показателей эндотелиальной дисфункции: молекулы межклеточной адгезии 1 (sICAM-1); sE-selectin; sP-selectin производилось в сыворотке крови на аппарате автоматического ИФА-анализатора с использованием готовых наборов «Bender MedSystems» (Австрия).

Для количественного определения уровня метаболитов оксида азота (NO) нитритов/нитратов в сыворотке крови использовался набор готовых тестовых систем «R&D systems» (США).

Определение генетического полиморфизма гена оксида азота NOS3 (C786T), гена ДНК полимеразы гамма1 POLG 1 T(365)C и HLA-DRB проводили методом ПЦР с использованием наборов НПФ «Литех» (Москва).

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием специализированных программ Statistics 21.0, результаты отображены в виде медианы (Me) 25 и 75 перцентилей. При анализе вариационные ряды протестированы на нормальность с применением критерия Колмогорова-Смирнова. При сравнении 3-х и более показателей применялся непараметрический критерий Крускала–Уоллиса для количественных признаков. Для сопоставления 2 групп использовался критерий Манна–Уитни. Анализ качественных показателей проводился с использованием критерия хи-квадрат Пирсона (χ^2). Для четырехпольных таблиц использовался критерий хи-квадрат с поправкой Йейтса. Для построения прогностической модели применялся метод бинарного логистического анализа с пошаговым исключением признаков, проведенных при помощи языка R. Точность прогноза рассчитывали, определяя чувствительность, специфичность, прогностическую ценность положительного и отрицательного результата.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В исследование включено 140 больных с СД 1 типа (68 женщин и 72 мужчины) в возрасте от 16 до 40 лет (среднее значение 34 года). Все пациенты разделены на 2 группы: с диабетической кардиомиопатией (n=34) и пациенты без данного осложнения (n=106). Контрольную группу составили 50 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с основной группой.

Распространенность осложнений сахарного диабета 1 типа

Нами выявлено, что кардиоваскулярная форма диабетической автономной нейропатии (ДКАН) обнаруживалась среди 42,1% лиц (59 человек) на основании проведенных функциональных проб.

Кроме этого, в исследуемой группе пациентов встречались следующие осложнения сахарного диабета: 82,3% – нефропатия; 22,6% – диабетическая ретинопатия (ДР) 1 стадии, 4,8% – ДР 2 стадии; 61,3% – сенсомоторная форма диабетической полинейропатии (табл.1).

Таблица 1

Распространенность осложнений у больных сахарным диабетом 1 типа
(Me [25; 75])

Параметры	Контрольная группа, n=50	Пациенты с сахарным диабетом 1 типа, n=140	p
Осложнения			
Возраст, лет	34 [24,4; 40,2]	32 [26,7; 40,3]	p=0,347
Гликированный гемоглобин, %	5,1 [4,8; 5,5]	8,7 [7,6; 10,0]	p=0,002
Диабетическая нефропатия, ХБП С1-3а А2 (абс.,%)	-	115 (82,3%)	p=0,047
Диабетическая ретинопатия 1 ст. (абс.,%)	-	32 (22,6%)	p=0,003
Диабетическая ретинопатия 2 ст. (абс.,%)	-	7 (4,8%)	p=0,0011
ДПН, сенсомоторная форма (абс.,%)	-	86 (61,3%)	p=0,012
ДКАН (абс.,%)	-	59 (42,1%)	p=0,011

Примечание: p – статистическая значимость отличий при сравнении группы с контролем.

При изучении распределения частоты встречаемости осложнений СД 1 типа выявлено, что у больных с длительностью заболевания более 5 лет чаще встречались сосудистые осложнения (табл. 2). При этом диабетическая кардиоваскулярная автономная нейропатия среди больных СД 1 типа со стажем заболевания 5–10 лет выявлена у 49,5% пациентов, а при длительности СД более 10 лет встречалась чаще относительно лиц с меньшей продолжительностью заболевания (88,9%, $p=0,005$).

Таблица 2

Особенности распространённости диабетических осложнений в зависимости от длительности сахарного диабета 1 типа

	Больные СД 1 типа (n=140)			p
	Стаж заболевания			
	3–5 лет (n=26)	5–10 лет (n=72)	более 10 лет (n=42)	
Возраст	29 [25; 31,3]	31,5 [25; 36,3]	32 [24,4; 38,2]	$p=0,3$
Гликированный гемоглобин	8,1 [7,6; 10,0]	8,5 [7,6; 10,0]	9 [7,6; 10,0]	$p_1=0,005$
Нефропатия, абс., %	-	22 (30,3%)	21 (50%)	$p=0,08$
Диабетическая ретинопатия 1 ст., абс., %	-	6 (7,6%)	27 (63,9%)	$p=0,09$
Диабетическая ретинопатия 2 ст. абс., %	-	-	7 (16,7%)	$p=0,6$
ДПН, сенсомоторная форма, абс., %	5 (18,2%)	39 (54,5%)	42 (96%)	$p=0,5$
ДАН, кардиоваскулярная форма, абс., %	-	29 (40,9%)	37 (88,9%)	$p_1=0,005$

Примечание: p – статистическая значимость отличий при 1 и 2; p_1 – статистическая значимость отличий при сравнении группы 1 и 3.

Показатель гликированного гемоглобина (HbA1c) у всех больных превышал показатели целевого диапазона и составлял 8,5%, как у лиц со стажем сахарного диабета от 3 до 5 лет, так и у пациентов со стажем заболевания от 5 до 10 лет. У больных, имеющих стаж болезни более 10 лет,

обнаружено статистически значимое повышение уровня гликированного гемоглобина до 9%.

Таблица 3

Распространенность осложнений у лиц с сахарным диабетом в зависимости от наличия кардиомиопатии (Me [25; 75])

Группы/показатели	Контроль (n=50)	Пациенты с сахарным диабетом 1 типа		p
		с ДКМ, n=34	без ДКМ, n=106	
Гликированный гемоглобин, (%)	5,1 [4,79; 5,54]	8,5 [7,77; 9,21]	7,1 [6,79; 7,12]	p=0,02
Диабетическая ретинопатия, (%)	-	52% (18)	44% (47)	p=0,07
Диабетическая нефропатия, (%)	-	45% (16)	41% (44)	p=0,058
ДПН, сенсомоторная форма (%)	-	78% (27)	80% (84)	p=0,05
ДКАН (%)	-	100%* (34)	28% (32)	p=0,0009

Примечание: n – количество обследованных лиц; p – значимость различий между всеми группами.

Пациенты СД 1 типа с диабетической кардиомиопатией и без таковой были сопоставимы по возрасту и полу; в обеих группах одинаково часто встречались диабетическая ретинопатия, нефропатия в стадии микроальбуминурии, а также полинейропатия. При этом у всех больных с диабетической кардиомиопатией выявлена ДКАН (табл. 3).

Показатели эхокардиографического обследования у лиц с сахарным диабетом 1 типа

Всем пациентам проводилось ЭхоКГ-исследование по стандартной методике. По результатам исследования значимых структурных изменений миокарда в сравнении со здоровыми лицами не выявлено. При оценке функциональных показателей выявлена диастолическая дисфункции левого желудочка (ДДЛЖ). Выявленная диастолическая дисфункция левого желудочка расценивается как проявление диабетической кардиомиопатии, которая обнаружена у 24,3% больных СД 1 типа (34 человека) (рис. 1).

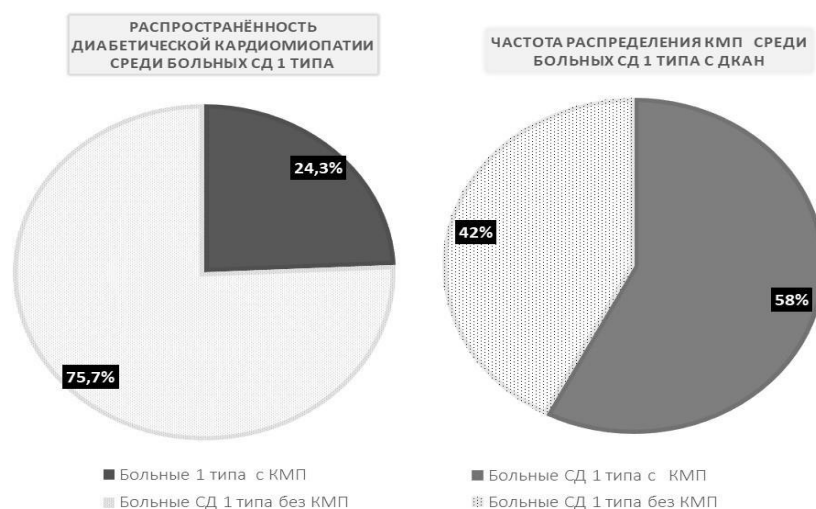


Рисунок 1. Распространенность диабетической кардиомиопатии среди больных СД 1 типа

По данным ЭхоКГ, существенных различий структурных показателей сердца в группах с наличием диабетической КМП и без нее не выявлено, несмотря на обнаруженную статистическую разницу некоторых показателей, которые не выходили за пределы референсных значений нормы.

Установлено, что диабетическая кардиомиопатия у больных СД 1 типа чаще встречалась у больных в группе с длительностью сахарного диабета более 10 лет (рис. 2).

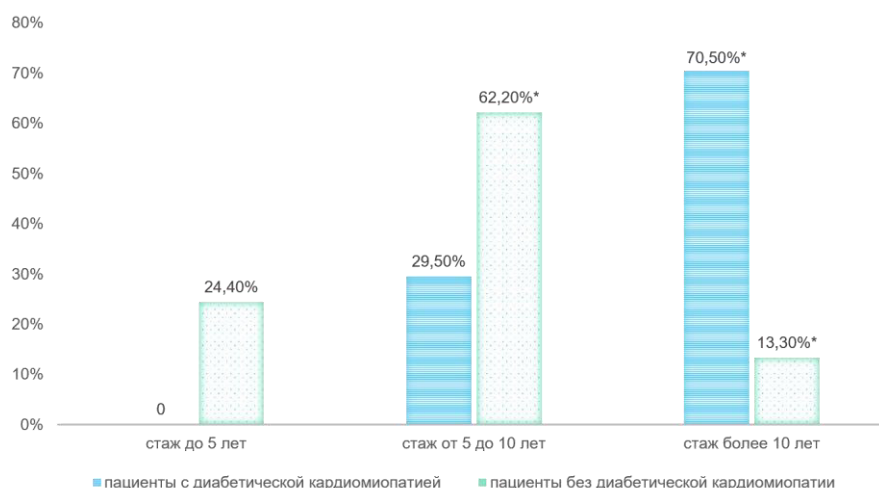


Рисунок 2. Распространенность диабетической кардиомиопатии в зависимости от стажа сахарного диабета

Примечание: *- статистическая значимость отличий ($p < 0,05$)

Содержание маркеров эндотелиальной дисфункции у пациентов с сахарным диабетом 1 типа

Установлено, что у пациентов СД 1 типа с кардиоваскулярной формой диабетической автономной нейропатии уровень sE-selectin выше на 5% ($p=0,032$), а уровень sICAM-1 выше на 6,5% ($p=0,025$), чем у больных сахарным диабетом 1 типа без КДАН.

При изучении показателей дисфункции эндотелия у больных сахарным диабетом 1 типа обнаружено повышения содержания sE-селектина, sP-селектина, sICAM -1 по сравнению со здоровыми лицами. Так, у больных СД 1 типа с ДДЛЖ и без нее содержание sE-селектина выше на 55,6% ($p=0,008$) и на 28,9% ($p=0,011$) по сравнению со здоровыми людьми.

Уровень sP-селектина у больных СД 1 типа без поражения сердца превышал значения контрольной группы на 14,6% ($p=0,011$), а при наличии диастолической дисфункции ЛЖ – на 10,6% ($p=0,019$). Концентрация молекулы межклеточной адгезии 1 у пациентов с СД 1 типа, не имеющих ДДЛЖ, была выше на 11,9% ($p=0,028$), а у группы с диастолической дисфункцией на 58,4% при сравнении с контролем ($p=0,01$) (рис. 3).

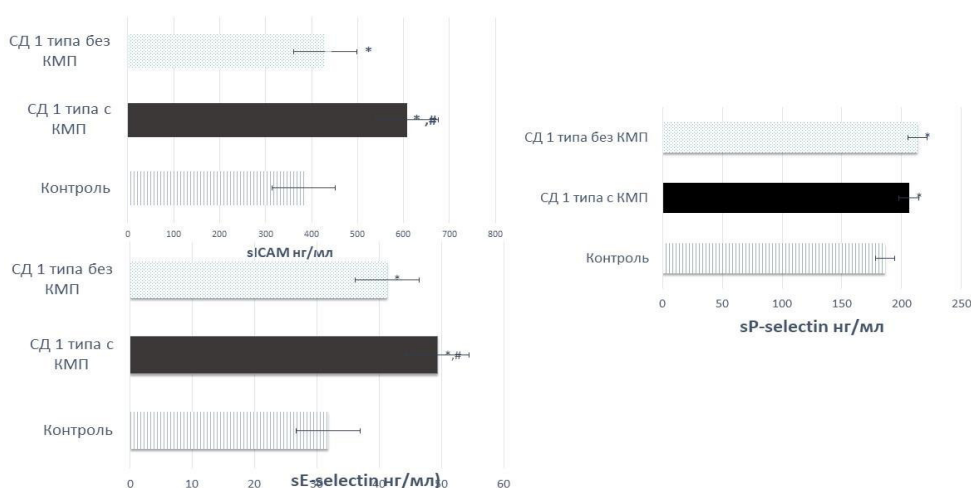


Рисунок 3. Содержание sICAM -1, sP-selectin, sE-selectin в сыворотке крови у пациентов СД 1 типа и с ДДЛЖ

Примечание: * – статистическая значимость отличий при сравнении группы с контролем ($p < 0,05$); # – статистическая значимость отличий при сравнении группы с группой пациентов с КДЛЖ

При сравнении изучаемых показателей между группами с наличием и отсутствием ДДЛЖ выявлено, что в группе пациентов с ДДЛЖ регистрировались большие значения уровней sE-селектина на 20,7% ($p=0,009$), sICAM-1 на 41,5% ($p=0,03$) относительно показателей больных без данного осложнения (рис. 3).

При исследовании содержания оксида азота NO_x (сумма эндогенных нитритов и нитратов) и эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS3) в крови пациентов с сахарным диабетом 1 типа получены следующие результаты: лица с СД 1 типа имеют более низкий уровень оксида азота и его метаболитов в сравнении с группой здоровых лиц ($p>0,05$).

Анализ ассоциации гена NOS3 C(786)T, T(-365)C гена POLG1 и HLA-DRB1 с развитием диабетической кардиомиопатии

В результате проведенного генетического анализа среди пациентов с СД 1 типа с наличием или отсутствием ДДЛЖ обнаружено, что распределение частот аллелей и генотипов исследуемых полиморфизмов соответствует закону Харди–Вайнберга (табл. 4).

Таблица 4

Встречаемость генотипов и аллелей у пациентов с СД 1 типа в зависимости от наличия и отсутствия ДДЛЖ

Генотипы и аллели	Отсутствие ДДЛЖ, n=106	Наличие ДДЛЖ, n=34	p
NOS3 C(786)T			
CC	6 (5,6%)	3 (8,8%)	0,001
CT	56 (52,8%)	9 (26,4%)	
TT	44 (41,5%)	22 (64,7%)	
Аллель С	62 (38,3%)	12 (35,3%)	0,062
Аллель Т	100 (61,7%)	31 (91,7%)	0,95

HLA-DRB1			
Аллель 01	15(8,6%)	5 (9%)	0,83
Аллель 02	0	0	-
Аллель 05	2 (1,1%)	0	0,97

Примечание: p – статистическая значимость отличий при сравнении между группами пациентов с наличием и отсутствием ДДЛЖ.

В результате анализа генетического полиморфизма выявлено, что среди лиц с СД 1 типа при ДДЛЖ и без указанного осложнения гетерозиготы СТ NOS3 C(786)T встречались в 26,4% и 52,8% случаев соответственно. В группе пациентов без диастолической дисфункции в 1,6 раза чаще выявлялись гомозиготы СС и в 1,6 раза реже регистрировались гомозиготы ТТ гена NOS3 C(786)T, чем среди испытуемых с ДДЛЖ (p=0,02).

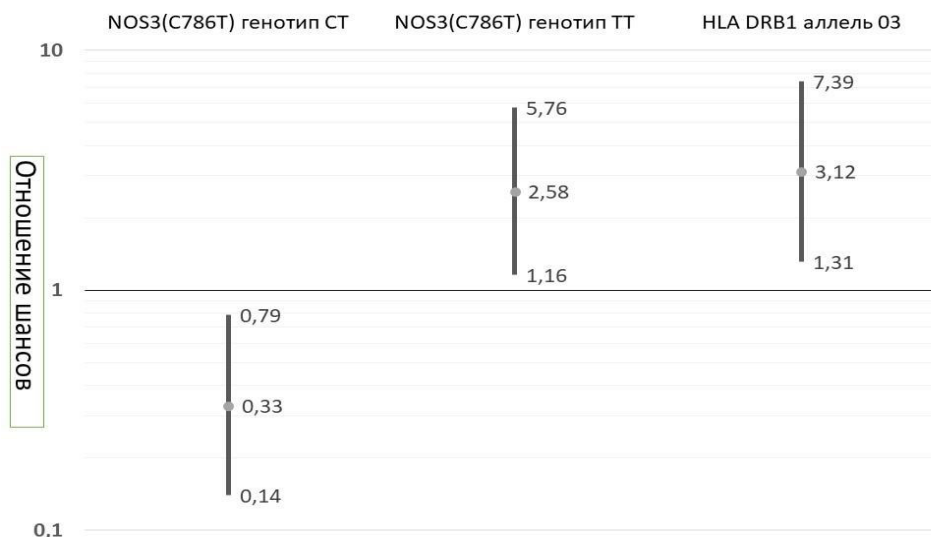


Рисунок 4. Отношение шансов развития диастолической дисфункции левого желудочка у больных сахарным диабетом 1 типа в зависимости от генотипа и аллелей гена NOS3 C(786)T и HLA DRB1

Примечание: * – статистическая значимость отличий при сравнении между группами пациентов с наличием и отсутствием ДДЛЖ (p<0,05).

Исходя из полученных данных о распределении частот, шанс развития диастолической дисфункции левого желудочка у больных сахарным диабетом 1 типа возрастает у лиц с гомозиготным генотипом ТТ NOS3(C786T) (ОШ 2,58; 95% ДИ: 1,16-5,76, p=0,03) и снижается при

генотипе СТ в 3 раза (ОШ 0,33; 95% ДИ: 0,14-0,79, $p=0,01$). Частота аллели 03 гена HLA-DRB1 на 16,8% выше у больных СД 1 типа с наличием ДДЛЖ, чем у пациентов СД без диастолической дисфункции ЛЖ (ОШ 3,12; 95% ДИ: 1,31-7,39) (рис. 4).

Распределение генотипов T(365)C POLG1 у больных СД 1 типа, независимо от наличия кардиомиопатии, не отличалось от здоровой популяции.

Известно, что мутация в гене синтазы оксида азота может повлиять на активность фермента и выработку NO в эндотелии. Именно по этой причине важно было проследить уровень NOS3 и NOx в зависимости от полиморфных мутаций гена NOS3 C(786)T при диабетической кардиомиопатии (табл. 5).

Таблица 5

Показатели метаболитов NO у больных диабетической кардиомиопатией в зависимости от полиморфизма гена C(786)T NOS3 (Me [25;75])

Генотип	NOS3 (мкмоль/л)	NO2- (мкмоль/л)	NO3- (мкмоль/л)	NO _x (мкмоль/л)
ТТ	67,8 [44,8; 96,7]	21,8 [17,5; 25,6]	14,1 [13,2; 17,8]	30,4 [25,1; 38,3]
СТ	67 [49,7; 91,6]	20,8 [13,6; 26,6]	18,4 [14,4; 22]	28 [26,4; 30,9]
СС	58 [33; 76,8]	20,8 [13,6; 26,6]	16 [14,4; 20,1]	27,6 [14,4; 29]
p	0,7	0,5	0,6	0,08

Примечание: p – статистическая значимость отличий при сравнении между группами.

Таким образом, не выявлено влияние генотипа C(786)TNOS3 на содержание NO_x в сыворотке крови у больных СД 1 типа и диабетической кардиомиопатией.

В связи с редкой встречаемостью носителей генотипа ТТ полиморфизма гена NOS3 C(786)T в группе больных и группе контроля, а также для усиления размера (объема) выборки носители генотипов СТ и ТТ были объединены в одну группу – СТ+ТТ. Выявлена взаимосвязь влияния

рецессивного типа наследования на содержание оксида азота, сцепленное с аллелей Т (табл. 6).

Таблица 6

Уровень метаболитов NO и NOS3 у больных СД 1 типа и диабетической кардиомиопатией в зависимости от полиморфизма гена C(786)T NOS3 (Me [25; 75])

Генотип	NOS3 (мкмоль/л)	NO2- (мкмоль/л)	NO3- (мкмоль/л)	NO _x (мкмоль/л)	p
CC+CT n=12	67,8 [44,8; 96,7]	21,8 [17,5; 25,6]	14,1 [13,2; 17,8]	30,4 [25,1; 38,3]	0,6
TT n=22	67 [49,7; 91,6]	20,8 [13,6; 26,6]	18,4 [14,4; 22]	31,4 [26,4; 35,9]	0,7

Примечание: p – статистическая значимость отличий при сравнении между группами.

Как видно из данных таблицы 6, выявлено незначительное увеличение содержание NO_x у носителей аллели Т (p=0,7).

Таким образом, генотип TT C(786)T NOS3 увеличивает относительный риск развития КПМ в 2,5 раза у больных сахарным диабетом 1 типа, не влияя на уровень метаболитов оксида азота. Носительство аллеля С может рассматриваться протективным фактором в развитии кардиомиопатии у больных СД 1 типа.

Прогнозирование развития диастолической дисфункции левого желудочка у больных сахарным диабетом 1 типа

Установлено, что диабетическая кардиомиопатия развивается не у всех пациентов с сахарным диабетом 1 типа. Для выявления факторов прогнозирования вероятности развития диастолической дисфункции ЛЖ использован метод бинарной логистической регрессии. В формировании модели применены следующие факторы, которые показали статистически значимые отличия при кардиомиопатии: концентрации в сыворотке крови молекулы межклеточной адгезии sICAM-1, наличие у пациента КДАН, аллели гена NOS3.

Характеристика модели: вклад факторов, включенных в модель – 65,2%; положительная предсказующая ценность – 74,1%; итоговые потери составили 5,873577, $\chi^2=74,2\%$ для 3 степеней свободы, при уровне значимости $p=0,006811$, что указывает на достаточно высокую степень достоверности используемой математической модели (табл. 7).

Таблица 7

Многофакторная модель прогнозирования развития диастолической дисфункции у больных сахарным диабетом 1 типа

Шаг	Показатель	Оценка	95% ДИ	p	χ^2 Вальда	p-Вальда
1	B0	-0,2343	-0,1039; -0,2814	0,0069	6,6771	0,0071
2	sICAM-1	0,1637	0,0519; 0,1871	0,0092	9,7813	0,0087
3	КДАН	0,1611	0,0431; 0,2235	0,0015	7,7434	0,0011
4	Аллель Т гена NOS3	0,8222	0,3799; 0,9907	0,0003	7,8684	0,0004

Примечание: B0 – свободный член; концентрация в сыворотке крови молекулы межклеточной адгезии sICAM-1; при КДАН – при наличии диабетической автономной кардиопатии принят равным 1, при отсутствии равен 0, при наличии аллеля Т гена NOS3 принят равным 1, при отсутствии равен 0.

Получено итоговое уравнения вероятности развития диастолической дисфункции у больных сахарным диабетом 1 типа:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-0.2343 + 0.1637x + 0.1611y + 0.8222z)}}$$

где p – вероятность развития диабетической кардиопатии; x – sICAM-1 при концентрации свыше 608 Nr/Mn равен 3, при концентрации от 415 до 608 Nr/Mn равен 2, при концентрации менее 415 Nr/Mn равен 1; y – при наличии диабетической автономной КДАН принят равным 1, при отсутствии равен 0; z – при наличии аллеля Т гена NOS3 принят равным 1, при отсутствии равен 0.

Таким образом, при значении $p < 0,5$ вероятность развития ДКМП отсутствует, а при $p > 0,5$ вероятно развитие ДКМП.

ВЫВОДЫ

1. У больных сахарным диабетом 1 типа молодого возраста часто выявляется диабетическая нефропатия (82,3%), полинейропатия (63,3%), диабетическая ретинопатия (22,6%), диабетическая автономная нейропатия (42,1%). Диабетическая кардиомиопатия встречается в 24,3% случаев. Уровень гликированного гемоглобина, стаж сахарного диабета и частота диабетической автономной нейропатии в группе больных диабетической кардиомиопатией выше по сравнению с аналогичными показателями пациентов с сахарным диабетом 1 типа без данного осложнения.

2. В группе пациентов с сахарным диабетом 1 типа выявленный повышенный уровень sE-селектина, sP-селектина и растворимой молекулы межклеточной адгезии-1 (sICAM-1) свидетельствует об эндотелиальной дисфункции. При этом степень выраженности эндотелиальной дисфункции, оцененная по уровню sICAM-1, прямолинейно связана с длительностью диабета.

3. Уровень sE-селектина увеличивался в группе пациентов с диабетической автономной нейропатией на 5%, растворимой формы молекулы межклеточной адгезии-1 – на 6,5% относительно показателей больных сахарным диабетом 1 типа без данного осложнения. При диабетической кардиомиопатии концентрации sE-селектина, растворимой молекулы межклеточной адгезии-1 соответственно увеличивались на 20,7% и на 41,5% по сравнению с пациентами, не имеющими данного осложнения.

4. Генотип TT гена NOS3 C(786)T выявлялся на 22,7% чаще в группе больных с диабетической кардиомиопатией. Риск развития диабетической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа в 2,5 раза выше у носителей аллеля T. У пациентов с наличием сахарного диабета 1 типа и диастолической дисфункцией левого желудочка частота аллеля 03 гена HLA-DRB1 на 16,8% выше, чем у лиц с сахарным диабетом без кардиогемодинамических нарушений. Наличие аллеля С снижает риск развития кардиомиопатии на 61%. Существенных различий в концентрации

стабильных метаболитов оксида азота у пациентов с диабетической кардиомиопатией в зависимости от генотипа гена NOS3 C(786)T не выявлено. Распределение генотипов T(365)C POLG1 у больных сахарным диабетом 1 типа, независимо от наличия кардиомиопатии, не отличалось от здоровой популяции.

5. Независимыми факторами риска развития диабетической кардиомиопатии являются наличие диабетической автономной кардиоваскулярной нейропатии, концентрация растворимой формы молекулы межклеточной адгезии-1 и наличие аллеля T гена NOS3 синтазы оксида азота.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Больным сахарным диабетом 1 типа рекомендовано проводить комплексное обследование, включающее выполнение кардиоваскулярных «прикроватных» тестов с целью диагностики диабетической автономной кардиоваскулярной нейропатии при длительности заболевания более 5 лет, а также лабораторные исследования уровня sE-selectin и sICAM-1 крови и ЭхоКГ для определения структурно-функциональных параметров сердца с целью ранней диагностики диабетической кардиомиопатии.

2. Для оценки риска развития кардиомиопатии у больных СД 1 типа возможно использовать расчёт по формуле

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-0.2343 + 0.1637x + 0.1611y + 0.8222z)}}$$

где p – вероятность развития диабетической кардиомиопатии; x – sICAM-1 при концентрации свыше 608 Ng/Mn равен 3, при концентрации от 415 до 608 Ng/Mn равен 2, при концентрации менее 415 Ng/Mn равен 1; y – при наличии диабетической автономной КДАН принят равным 1, при отсутствии равен 0; z – при наличии аллеля T гена NOS3 принят равным 1, при отсутствии равен 0.

При значении $p < 0,5$ вероятность развития кардиомиопатии отсутствует, а при $p \geq 0,5$ вероятно развитие кардиомиопатии.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в научных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ:

1. Некоторые маркеры дисфункции эндотелия у больных сахарным диабетом 1 типа при диабетической кардиоваскулярной автономной нейропатии / М.К. Хачерян, Д.М. Серкин, О.В. Серебрякова [и др.] // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2016. – № 4. – С. 11–16. – URL: <http://zabmedvestnik.ru> (дата обращения: 05.02.2017).
2. Маркеры эндотелиальной дисфункции и некоторые цитокины у больных сахарным диабетом 1 типа с диабетической кардиомиопатией / М.К. Хачерян, В.И. Просяник, О.В. Серебрякова [и др.] // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2017. – № 4. – С. 25–32. – URL: <http://zabmedvestnik.ru> (дата обращения: 09.01.2017).
3. Роль генетического полиморфизма NOS3 (C786T) в развитии диабетической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа, проживающих в Забайкальском крае / М.К. Хачерян, О.В. Серебрякова, В.И. Просяник [и др.] // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2018. – № 4. – С. 81–86. – URL: <http://zabmedvestnik.ru> (дата обращения: 01.01.2019).
4. Изменения внутрисердечной гемодинамики у больных сахарным диабетом 1 типа / М.К. Хачерян, В.И. Просяник, О.В. Серебрякова [и др.] // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2018. – № 2. – С. 48–54. – URL: <http://zabmedvestnik.ru> (дата обращения: 07.06.2018).

Работы, опубликованные в других изданиях:

5. Хачерян М.К. Участие молекул адгезии в формировании кардиоваскулярной диабетической автономной нейропатии / М.К. Хачерян // Медицина завтрашнего дня : материалы XV межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, 19-22 апреля 2016 г., г. Чита / ответственный за выпуск Д.М. Серкин. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2016. – С. 17–18.
6. Роль маркеров дисфункции эндотелия в формировании автономной кардиоваскулярной нейропатии / В.И. Просяник, М.К. Хачерян, О.В. Серебрякова [и др.] // Достижения персонализированной медицины сегодня – результат практического здравоохранения завтра : VII Всероссийский конгресс эндокринологов : сборник тезисов, 2-5 марта 2016 г., г. Москва. – Москва, 2016. – С. 198. – URL: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_26358295_54711282.pdf (дата обращения: 07.06.2018).
7. Диастолическая дисфункция левого желудочка у больных сахарным диабетом 1 типа / М.К. Хачерян, В.И. Просяник, О.В. Серебрякова [и др.] // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины : материалы международной научно-практической конференции, посвященной

65-летию образования Читинской государственной медицинской академии, 26 октября 2018 г., г. Чита / под редакцией Н.В. Ларевой. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2018. – С. 197–199. – ISBN 978-5-904934-17-0.

8. Особенности дисфункции эндотелия у больных сахарным диабетом 1 типа при диабетической кардиомиопатии / М.К. Хачерян, Д.М. Серкин, О.В. Серебрякова [и др.] // Новые технологии – в практику здравоохранения : Российский национальный конгресс кардиологов 2018 (с международным участием) : материалы конгресса, 25-28 сентября 2018 г., г. Москва. – Москва, 2018. – С. 427.

9. Роль генетического полиморфизма NOS3 (C786T) в развитии диабетической кардиомиопатии / М.К. Хачерян, О.В. Серебрякова, В.И. Просяник [и др.] // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию образования Читинской государственной медицинской академии, 26 октября 2018 г., г. Чита / под редакцией Н.В. Ларевой. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2018. – С. 217–218. – ISBN 978-5-904934-17-0.

10. Генетический полиморфизм NOS3 (c786t) у больных сахарным диабетом 1 типа и диабетической кардиомиопатией, проживающих в Забайкалье / В.И. Просяник, М.К. Хачерян, О.В. Серебрякова, Д.М. Серкин // Персонализированная медицина и практическое здравоохранение : VIII (XXVI) национальный конгресс эндокринологов с международным участием : сборник тезисов, 22-25 мая 2019 г., г. Москва. – Москва : УП ПРИНТ, 2019. – С. 119–120.

11. Роль маркеров эндотелиальной дисфункции в поражении сердца при сахарном диабете 1 типа / М.К. Хачерян, О.В. Серебрякова, В.И. Просяник, Д.М. Серкин // VIII съезд терапевтов Забайкальского края : сборник научных трудов, 24-25 сентября 2020 г. / под редакцией Н.В. Ларевой. – Чита, 2020. – С. 120–125. – ISBN 978-5-904934-27-9.

12. Влияние полиморфизма гена NOS3 (C786T) и POLG1 т(-365)с у больных сахарным диабетом 1 типа на развитие диастолической дисфункции левого желудочка / В.И. Просяник, М.К. Хачерян, Д.М. Серкин, О.В. Серебрякова // IX съезд терапевтов Забайкальского края : сборник научных трудов, г. Чита, 13-14 апреля 2021 г., г. Чита / ответственный за выпуск Н.В. Ларёва. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2021. – С. 65–66. – 1 CD-ROM. – ISBN 978-5-904934-30-9.

13. Исследование полиморфизма гена NOS3 (C786T) у больных сахарным диабетом 1 типа с диабетической кардиоваскулярной автономной нейропатией / В.И. Просяник, М.К. Хачерян, Д.М. Серкин, О.В. Серебрякова // IX съезд терапевтов Забайкальского края : сборник научных трудов, г. Чита, 13-14 апреля 2021 г., г. Чита / ответственный за выпуск Н.В. Ларёва. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2021. – С. 64–65. – 1 CD-ROM. – ISBN 978-5-904934-30-9.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ	– артериальная гипертензия
АД	– артериальное давление
ВРС	– вариабельность ритма сердца
ДДЛЖ	– диастолическая дисфункция левого желудочка
ДИ	– доверительный интервал
ДКАН	– диабетическая кардиоваскулярная автономная нейропатия
ДПН	– диабетическая полинейропатия
ДР	– диабетическая ретинопатия
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
ЛЖ	– левый желудочек
КМП	– диабетическая кардиомиопатия
Me	– медиана
СД	– сахарный диабет
ХБП	– хроническая болезнь почек
ХСН	– хроническая сердечная недостаточность
ЧСС	– частота сердечных сокращений
ЭКГ	– электрокардиография
ЭхоКГ	– эхокардиография
HbA1c	– гликированный гемоглобин
ICAM-1	– молекула межклеточной адгезии-1
NO	– оксид азота
NOS3	– эндотелиальная синтаза оксида азота
sE-selectin	– растворимый E-селектин
sP-selectin	– растворимый S-селектин