

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ЧИТИНСКАЯ  
ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ» МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*



Троицкая Наталья Игоревна

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ НАРУШЕНИЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ  
СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки)

ДИССЕРТАЦИЯ  
на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Научный консультант:  
доктор медицинских наук, профессор  
Константин Геннадьевич Шаповалов

ЧИТА-2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	21
1.1 Этиология, факторы риска и патогенез синдрома диабетической стопы .....	21
1.1.1 Основные звенья патогенеза развития диабетической стопы .....	21
1.1.2 Нарушения циркуляции крови в патогенезе синдрома диабетической стопы .....	24
1.1.3 Резюме.....	29
1.2 Методы исследования микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы .....	30
1.2.1 Резюме.....	34
1.3 Роль полиморфизмов генов в патогенезе сахарного диабета 2 типа и синдрома диабетической стопы .....	35
1.3.1 Исследование генов-кандидатов развития сахарного диабета 2 типа.....	35
1.3.2 Исследование генов-кандидатов развития синдрома диабетической стопы .....	39
1.3.3 Вклад полиморфизмов генов в патогенез развития синдрома диабетической стопы.....	42
1.3.4 Резюме.....	49
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	51
2.1 Дизайн исследования .....	51
2.1.1 Характеристика группы больных с синдромом диабетической стопы....	60
2.1.2 Характеристика группы больных без синдрома диабетической стопы ...	62
2.1.3 Характеристика группы контроля.....	63
2.2 Методы исследования.....	64

2.2.1 Молекулярно-генетические исследования.....	64
2.2.2 Лазерная доплеровская флоуметрия.....	66
2.2.3 Иммуноферментные и биохимические методы.....	68
2.3 Методы статистической обработки результатов .....	69
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ У БОЛЬНЫХ С РАЗВИТИЕМ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ .....	
3.1. Состояние микроциркуляторного русла среди здоровых лиц, больных неосложненным сахарным диабетом и синдромом диабетической стопы .....	71
3.2. Изменения состояния микроциркуляторного русла в точке на нижней трети предплечья при развитии синдрома диабетической стопы .....	71
3.3 Изменения состояния микроциркуляторного русла в точке на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке при развитии синдрома диабетической стопы.....	76
3.4 Изменения состояния микроциркуляторного русла в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы при развитии синдрома диабетической стопы .....	80
3.5 Резюме .....	84
ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ МАРКЕРОВ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ, МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 9 И ГОМОЦИСТЕИНА У БОЛЬНЫХ С РАЗВИТИЕМ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ .....	
4.1 Изменения уровня маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9 и гомоцистеина при развитии синдрома диабетической стопы.....	86
4.2 Резюме .....	89
ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ РЕГУЛЯЦИИ СОСУДИСТОГО ТОНУСА, РЕЦЕПТОРОВ ТРОМБОЦИТОВ, РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ, ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ.....	
	90

5.1.1 Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма С786Т гена eNOS, Lys198Asn гена END1 у больных с развитием синдрома диабетической стопы.....	90
5.1.2 Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма T1565C(Leu33Pro) гена ITGB3 у больных с развитием синдрома диабетической стопы .....	93
5.1.3. Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизмов G1691A гена FV, G20210A гена FII у больных с развитием синдрома диабетической стопы.....	99
5.1.4. Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизмов C634G гена VEGFA, A8202G гена MMP9 у больных с развитием синдрома диабетической стопы.....	102
5.1.5. Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма A1298C гена MTHFR у больных с развитием синдрома диабетической стопы .....	105
5.2 Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизмов С786Т гена eNOS, Lys198Asn гена END1, T1565C(Leu33Pro) гена ITGB3, G1691A гена FV, G20210A гена FII, C634G гена VEGFA, A8202G гена MMP9, A1298C гена MTHFR у больных с развитием синдрома диабетической стопы в зависимости от пола .	111
5.3 Резюме .....	117
ГЛАВА 6. ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ РЕГУЛЯЦИИ СОСУДИСТОГО ТОНУСА, РЕЦЕПТОРОВ ТРОМБОЦИТОВ, РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ, ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ, СОСТОЯНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА, МАРКЕРОВ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ С РАЗВИТИЕМ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ.....	118

6.1 Состояние микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы в зависимости от носительства различных вариантов генотипов полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и полиморфизма A1298C гена MTHFR.....	118
6.2 Состояние амплитуды колебаний в эндотелиальном диапазоне в зависимости от носительства полиморфизма C786T гена eNOS и полиморфизма Lys198Asn гена END1 у пациентов с синдромом диабетической стопы .....	126
6.3 Взаимосвязь вариантов генотипов полиморфизма C634G гена VEGFA и полиморфизма A8202G гена MMP9 с показателями микроциркуляции при синдроме диабетической стопы.....	130
6.4 Взаимосвязь генотипов полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1, A8202G гена MMP9, A1298C гена MTHFR с маркерами дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназой 9 и гомоцистеином при развитии синдрома диабетической стопы.....	137
6.5 Резюме .....	139
ГЛАВА 7. СОЧЕТАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ИССЛЕДОВАННЫХ ГЕНОВ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ПРИ СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ.....	144
7.1 Сочетание полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1, T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3, G1691A гена FV, G20210A гена FII, A8202G гена MMP9, C634G гена VEGFA, A1298C гена MTHFR при развитии синдрома диабетической стопы.....	144
7.2. Модель индивидуального прогноза риска развития синдрома диабетической стопы на основе полиморфизма T1565C(Leu33Pro) гена ITGB3 и показателей микроциркуляторного русла .....	148
7.3 Модели индивидуального прогноза развития синдрома диабетической стопы на основе показателей состояния микроциркуляторного русла .....	155
7.4 Примеры использования моделей прогнозирования.....	159

7.5 Резюме .....	164
ГЛАВА 8. КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ФАКТОРОВ РИСКА СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ.....	165
8.1 Возможности многослойного персептрона в комплексировании факторов риска синдрома диабетической стопы.....	165
8.2 Резюме .....	172
ГЛАВА 9. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	173
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	198
ВЫВОДЫ: .....	201
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	203
ПЕРСПЕКТИВЫ            ДАЛЬНЕЙШЕЙ            РАЗРАБОТКИ            ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	204
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	205
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	208

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Сахарный диабет является одной из серьезных медицинских и социальных проблем современного мира [50, 133, 275, 210]. В настоящее время на планете Земля насчитывается более 537 миллионов взрослых людей, страдающих сахарным диабетом, и их число продолжает расти [173, 222]. По сведениям Международной диабетической ассоциации (IDF), около 60 млн взрослых европейцев страдают сахарным диабетом, у большей части из которых заболевание не диагностировано [248]. К 2045 г. ожидается увеличение числа заболевших на 51%, до 700 млн человек, преимущественно за счет сахарного диабета 2 типа [173, 290, 293].

При сахарном диабете существенной проблемой является развитие большого количества сосудистых осложнений заболевания, предрасполагающих к высокому уровню инвалидизации и смертности пациентов [121, 262, 287]. Особую роль при осложненном течении сахарного диабета играет развитие синдрома диабетической стопы в связи с его ассоциацией с высоким риском выполнения ампутации пораженной конечности, стойкой утратой нетрудоспособности, увеличением смертности и существенным снижением качества жизни пациентов [7, 36, 233, 218]. В настоящее время уже у 5 миллионов пациентов развился синдром диабетической стопы [18, 213].

К настоящему времени изучены некоторые звенья патогенеза диабетической стопы [20, 88, 98, 253, 266]. Одним из важнейших аспектов является развитие микроангиопатии, в основе которой лежит неферментативное гликозилирование белков базальной мембраны капилляров, связанное с длительной гипергликемией и активацией превращения глюкозы в сорбитол под влиянием альфаредуктазы [28]. Избыток сорбитола в сосудистой стенке приводит к ее утолщению и уплощению,

что нарушает ток крови в сосудах микроциркуляторного русла с развитием ишемии ткани [286, 301].

В результате нарушения соотношения между продукцией вазоконстрикторов и вазодилататоров развивается стойкая гиперперфузия и повышение внутрикапиллярного давления, что действует на клетки сосудистого эндотелия и базальной мембраны [332]. Эндотелиоциты в ответ запускают повышенную продукцию факторов релаксации сосудов, развивается стойкая эндотелиальная дисфункция [121, 180, 235]. Клетки базальной мембраны подвергаются структурной перестройке, что приводит к их утолщению [274, 332].

Гипергликемия через повышение скорости аутоокисления глюкозы увеличивает образование свободных радикалов, активирующих перекисное окисление липидов, изменение структуры белка и воздействующих на нуклеиновые кислоты, снижается активность факторов антиоксидантной защиты, что приводит к развитию осложнений со стороны сосудов при сахарном диабете [191, 189, 284].

Тромбоциты под действием повышенного уровня содержания глюкозы обладают высокой адгезивностью и склонностью к агрегации, что, в свою очередь, приводит к повышению риска тромбообразования и усугублению сосудистых нарушений [209, 301].

В патогенезе диабетической стопы существенную роль играет развитие нейропатии [253, 266, 312]. В результате метаболизма глюкозы по пропиоловому пути в нервной ткани накапливается сорбитол, влияющий на осмотическое состояние клетки, что приводит к нарушению внутриклеточного давления, отеку ткани [183, 202].

В настоящее время особую роль приобретает изучение генов-кандидатов, ассоциированных с развитием заболеваний [69]. На сегодняшний момент известно более 100 полиморфизмов разнообразных генов, повышающих риск развития сахарного диабета 2 типа, большинство из которых связаны с системой регуляции  $\beta$ -клеточной функции [48, 199]. Также с развитием указанного заболевания



ассоциированы гены, связанные с развитием инсулинорезистентности, воспаления, регулирующие липидный обмен [13]. В последние десятилетия ведутся активные научные исследования, направленные на исследование полиморфизмов различных генов для выявления признаков риска развития синдрома диабетической стопы [5, 238, 269]. По данным литературы, в настоящее время изучены полиморфизмы 29 генов, ассоциированных с указанным осложнением сахарного диабета. Только 9 полиморфных маркеров достоверно повышают риск развития синдрома диабетической стопы, к ним относятся гены, кодирующие индуцированный гипоксией фактор, фактор некроза опухолей  $\alpha$ , Toll-подобный рецептор, фибриноген, белки теплового шока, кальцитриол, фермент, окисляющий липиды, оментин-1 [225].

Несмотря на существенные успехи в изучении механизмов возникновения диабетической стопы, приходится отмечать, что некоторые звенья патогенеза развития данного осложнения до сих пор не известны. В настоящее время отсутствуют данные о комплексных научных исследованиях, посвященных прогнозированию риска развития синдрома диабетической стопы на основе исследований генетического статуса у конкретного индивида, в связи с чем данный аспект проблемы вызывает значительный научный интерес.

Требуют дополнительного исследования эпигенетические факторы, влияющие на реализацию влияния генов-кандидатов развития микроциркуляторных нарушений при синдроме диабетической стопы. Необходимо уточнение вклада генетических полиморфизмов для всестороннего понимания патогенеза развития указанного осложнения сахарного диабета, а также механизмов реализации их эффекта. Выявление данных закономерностей позволит совершенствовать подходы к профилактике и лечению сосудистых нарушений при сахарном диабете, выделению группы диспансерного наблюдения больных указанным заболеванием с высоким риском развития синдрома диабетической стопы. Это позволит уменьшить частоту сосудистых осложнений и улучшить качество жизни пациентов с сахарным диабетом.

## Степень научной разработанности проблемы

В настоящее время для многих мультифакториальных заболеваний, в том числе и для сахарного диабета и его осложнений, выявлено большое количество генов-кандидатов, способствующих их развитию. Поиск генетических маркеров заболевания во многом определяется биохимическими и патофизиологическими особенностями заболевания. Вместе с тем известно, что факт носительства определенного гена не всегда приводит к развитию патологии. Общей особенностью, характерной для практически всех мультифакториальных заболеваний является то, что рассматриваемые структурные особенности генов даже суммарно в полном объеме не объясняют вклад генетического компонента в развитие патологии. Наибольшую роль в развитии наследственной предрасположенности к сахарному диабету играют эпигенетические вариации, влияющие на характер экспрессии генов. Указанные модификации существенно подвержены влиянию внешних неблагоприятных факторов и могут более значимо, чем структурные полиморфизмы генов, отражать влияние факторов внешней среды в патогенезе заболевания.

При развитии синдрома диабетической стопы в литературе достаточно полно описана роль различных биологически-активных веществ в патогенезе указанного осложнения сахарного диабета. Вместе с тем анализ отечественной и зарубежной литературы показал, что механизмы реализации действия генов-кандидатов, их влияние на кодируемые вещества и конкретные пути, приводящие к развитию патологического состояния, описаны в меньшей степени.

С этой позиции рассматриваемая в диссертации научная проблема является недостаточно проработанной и слабо изученной.

**Цель исследования:** установить механизмы реализации полиморфизмов генов-кандидатов факторов регуляции сосудистого тонуса, ремоделирования

сосудистой стенки и гемостаза в развитии нарушений микроциркуляции при синдроме диабетической стопы у больных сахарным диабетом 2-го типа.

**Задачи исследования:**

1. Определить состояние микроциркуляторного русла и компонентов регуляции сосудистого тонуса конечности у больных сахарным диабетом 2 типа в зависимости от развития синдрома диабетической стопы.
2. Оценить функцию эндотелия по уровню маркеров дисфункции эндотелия (нитратов, нитритов, эндотелина-1, гомоцистеина), матриксной металлопротеиназы 9 у пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета.
3. Установить частоту встречаемости генотипов и аллельных вариантов генов факторов регуляции сосудистого тонуса (С786Т гена eNOS, Lys198Asn гена EDN1); рецепторов тромбоцитов (Т1565С (Leu33Pro) гена ITGB); ремоделирования сосудистой стенки (С634G гена VEGFA, А8202G гена MMP9); протромботических факторов (G1691А гена FV, G20210А гена FII, А1298С гена MTHFR) у больных сахарным диабетом 2 типа при развитии синдрома диабетической стопы, в том числе в зависимости от пола.
4. Выявить взаимосвязь полиморфизмов генов С786Т гена eNOS, Lys198Asn гена EDN1, Т1565С гена ITGB, С634G гена VEGFA, А8202G гена MMP9, А1298С гена MTHFR с изменениями состояния микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы.
5. Определить зависимость уровня метаболитов оксида азота, эндотелина 1, матриксной металлопротеиназы 9, гомоцистеина от полиморфизмов С786Т гена eNOS, Lys198Asn гена EDN1, А8202G гена MMP9, А1298С гена MTHFR при развитии синдрома диабетической стопы.
6. Оценить влияние полиморфизмов генов факторов регуляции сосудистого тонуса, ремоделирования сосудистой стенки и гемостаза в развитии синдрома диабетической стопы.

7. Разработать модель индивидуального прогноза риска развития синдрома диабетической стопы у больных сахарным диабетом 2 типа.

### **Научная новизна**

Проведенное комплексное исследование вносит определяющий вклад в понимание патогенетических механизмов реализации генетических факторов риска развития нарушений микроциркуляции при синдроме диабетической стопы.

Впервые на основе изучения состояния микроциркуляторного русла установлено, что при развитии синдрома диабетической стопы имеются различные изменения микрокровотока в точках вне стопы и на стопе. Новыми являются данные о том, что на уровне системы микроциркуляции вне стопы при синдроме диабетической стопы относительно неосложненного диабета отмечаются более существенные изменения активных и пассивных компонентов регуляции сосудистого тонуса.

Новыми являются данные об отсутствии значимого вклада молекулярных механизмов развития дисфункции эндотелия в возникновение нарушений микроциркуляции локально в органе-мишени при развитии синдрома диабетической стопы и их значимой роли в развитии нарушений микроциркуляторного русла на системном уровне при сахарном диабете 2 типа.

Получены принципиально новые данные, свидетельствующие о связи полиморфного варианта Т/С генотипа Т1565С гена ITGB3 с риском развития синдрома диабетической стопы. Установлено, что при наличии гетерозиготного генотипа Т1565С гена ITGB3 риск развития данного осложнения сахарного диабета 2 типа возрастает в 1,5 раза.

Новыми являются данные, свидетельствующие, что генотип G/G полиморфизма А8202G гена MMP9 у мужчин предрасполагает к развитию синдрома диабетической стопы, но не влияет на возникновение данного осложнения у женщин. Установлено, что носительство генотипа С/С

полиморфизма A1298C гена MTHFR у женщин ассоциировано с протективным эффектом относительно развития указанного осложнения сахарного диабета.

Впервые на основании изучения состояния микроциркуляторного русла при различных вариантах генотипов полиморфизма T1565C гена ITGB3 и полиморфизма A1298C гена MTHFR в разных точках определены новые закономерности изменений показателей микрокровотока. Установлено, что у носителей генотипов T/T и T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 при развитии синдрома диабетической стопы имеют место более выраженные изменения в системе микроциркуляции вне зоны повреждения и на стопе, проявляющиеся более выраженным ухудшением состояния микроциркуляции за счет повышения тонуса сосудов и снижения включения компенсаторных механизмов поддержания адекватного кровотока. У пациентов с синдромом диабетической стопы, носителей генотипов A/A полиморфизма A1298C гена MTHFR более существенные изменения микрокровотока вне зоны поражения за счет нарушения механизмов оптимизации состояния микроциркуляторного русла. Установлено, что носители генотипа A/C имеют более глубокие изменения состояния микроциркуляции на уровне вне зоны поражения и локально на стопе. При синдроме диабетической стопы и генотипе C/C более выражены локальные нарушения микроциркуляторного русла, проявляющиеся снижением микрокровотока.

Установлено, что у носителей полиморфизма C634G гена VEGFA при развитии синдрома диабетической более значимо снижается кровоток в нутритивном звене микроциркуляции. При наличии полиморфизма A8202G гена MMP9 отмечается более выраженная ишемия за счет сосудистого спазма.

Приоритетными являются сведения о влиянии полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1, A8202G гена MMP9 на уровень метаболитов оксида азота, эндотелина-1, матриксной металлопротеиназы 9 при синдроме диабетической стопы, что подтверждает роль вклада этих веществ в патогенез локальных изменений микроциркуляции при синдроме диабетической стопы.

Новыми являются данные о влиянии вариантов сочетания носительства полиморфизма генов на риск развития синдрома диабетической стопы. Установлено, что сочетание генотипов Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB, А/А полиморфизма А1298С гена MTHFR потенцирует риск развития диабетической стопы в 2,4 раза.

### **Теоретическая и практическая значимость**

В ходе исследования установлены принципиально новые закономерности формирования нарушений в микроциркуляторном русле при развитии синдрома диабетической стопы вне стопы и локально.

Уточнена роль полиморфных вариантов С786Т генов eNOS, Lys198Asn гена END1, Т1565С гена ITGB3, G1691A гена FV, G20210A гена FII, А8202G гена MMP9, С634G гена VEGFA, А1298С гена MTHFR в развитии микроциркуляторных нарушений при синдроме диабетической стопы.

Полученные сведения, касающиеся выявленных взаимосвязей между содержанием маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9 и полиморфизмами генов eNOS и MMP9 при развитии синдрома диабетической стопы, формируют новые знания о механизмах развития микроциркуляторных нарушений в развитии синдрома диабетической стопы.

Установленные данные, полученные при комплексном изучении изменений состояния микроциркуляторного русла, молекулярных маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9 и носительства полиморфизмов генов регуляции сосудистого тонуса, рецепторов тромбоцитов, ремоделирования сосудистой стенки и протромботических факторов способствуют расширению фундаментальных знаний об их патофизиологической роли, в том числе развитии синдрома диабетической стопы.

Полученные сведения являются определяющими для решения проблемы индивидуального прогнозирования развития синдрома диабетической стопы у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. По результатам исследования разработаны статистические модели прогнозирования риска развития синдрома диабетической стопы, позволяющие персонализировать его профилактику.

Результаты исследования внедрены в лечебно-диагностическую работу отделения гнойной хирургии ГУЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Читы. Полученные данные также используются при проведении практических и теоретических занятий на кафедре патологической физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, научно-практических конференций и циклов усовершенствования врачей.

### **Методология и методы исследования**

Группы пациентов и контроля были сформированы в период с января 2016 г. по май 2019 г. Все пациенты, участвовавшие в исследовании, были госпитализированы в отделения ГУЗ «Городская клиническая больница» г. Читы. Группа контроля набиралась из лиц, считающих себя практически здоровыми и не имеющих острых и обострения хронических заболеваний по данным диспансеризации.

Материалом для молекулярно-генетического анализа служили образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов периферической венозной крови. Выделение ДНК осуществлялось из цельной крови при помощи реагента «Проба Рапид» согласно инструкции производителя. Для анализа полиморфизма генов использовался метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с применением Амплификатора «ДТ-96» и набора реагентов (ООО Научно-производственная фирма «Литех», г. Москва). Полученные результаты трактовали согласно инструкции производителя.

Состояние микроциркуляторного русла исследовано методом лазерной доплеровской флоуметрии на аппарате ЛАКК-02 (НПП «Лазма», Россия). Исследование микроциркуляции в отдаленной точке осуществляли в точке на нижней трети предплечья, локализованной по средней линии на 4 см выше шиловидных отростков локтевой и лучевой костей, локальную микроциркуляцию оценивали в точках на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке и на подошвенной поверхности 1 пальца стопы.

Методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА-ридер «Expert 96», ACSY, Великобритания) в сыворотке крови определяли концентрацию эндотелина (1-21) с использованием набора реагентов «Biomedica Group» (Австрия); матричной металлопротеиназы 9 с помощью реагентов производства «RnD Systems» (США), гомоцистеина с использованием реагентов производства «ACSY» (Великобритания). Биохимическим методом оценивали уровень нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ), нитрата ( $\text{NO}_3^-$ ) и общего нитрита ( $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ) в сыворотке крови с применением реактивов фирмы «RnD Systems» (США). Определение содержания в сыворотке крови вышеуказанных веществ проводили согласно инструкциям производителя.

Для статистического анализа использовались критерии хи-квадрат Пирсона, отношение шансов, критерии Шапиро-Уилка, критерий Манна-Уитни с применением поправки Бонферрони, корреляционный анализ с определением коэффициента корреляции Спирмена, его доверительного интервала, силы связи и ее направления по шкале Чеддока, бинарного логистического регрессионного анализа. Разработка прогностических моделей выполнялась на основании уравнения нелинейной регрессии. Оценка эффективности указанных моделей проводилась на основании площади под ROC-кривой. Использовалась тестовая база данных, лежащая в основе обучения многослойного персептрона и включающая исследованные параметры. Информативность персептрона оценивалась путем ROC-анализа.



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

1. При синдроме диабетической стопы присутствуют изменения в состоянии микроциркуляторного русла как вне стопы, так и локально, которые проявляются в виде стазических и ишемических нарушений. Уровень маркеров дисфункции эндотелия повышается при сахарном диабете 2 типа, но не зависит от наличия синдрома диабетической стопы.
2. Для развития нарушений микроциркуляции при синдроме диабетической стопы существенное значение имеют полиморфизмы T1565C гена ITGB3, A8202G гена MMP9. Имеются отличия по полу в распределении полиморфизмов генов MMP9 и A1298C гена MTHFR, ассоциированных с развитием синдрома диабетической стопы.
3. Носительство полиморфизмов генов факторов регуляции сосудистого тонуса, рецепторов тромбоцитов, ремоделирования сосудистой стенки и протромботических факторов определяет механизмы развития нарушений микроциркуляции при синдроме диабетической стопы.
4. Индивидуальный прогноз развития синдрома диабетической стопы определяется совокупностью наличия полиморфизмов генов факторов регуляции сосудистого тонуса, рецепторов тромбоцитов, ремоделирования сосудистой стенки, протромботических факторов и изменений микроциркуляторного русла.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Диссертация выполнена в НИИ «Молекулярной медицины» (в лаборатории молекулярной генетики и лаборатории экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии) ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Достоверность и объективность результатов исследования были подтверждены за счет использования репрезентативных выборок объектов,

достаточного объема наблюдений и применения генеральных совокупностей с адекватными методами исследования. Данные были обработаны с применением современных подходов к обработке информации, с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0».

### **Личный вклад автора**

В ходе работы автором был проанализирован широкий спектр отечественных и зарубежных научных литературных источников, а также официальных источников информации. Диссертантом был организован и проведен сбор первичного материала. Автор активно участвовала в лабораторных исследованиях, анализировала полученные данные и подготовила публикации. Лично проведена математико-статистическая обработка результатов исследования. Была проведена аналитическая работа, в ходе которой были проинтерпретированы результаты исследования, сделаны выводы и сформулированы практические рекомендации.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты настоящего исследования внедрены в лечебно-диагностическую работу отделения гнойной хирургии ГУЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Читы Забайкальского края, кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

### **Апробация результатов исследования**

Основные материалы диссертационной работы доложены на научно-практической конференции «Современные проблемы анестезиологии и реаниматологии» (Чита, 27-28 апреля 2016 г.); на межрегиональной научно-практической конференции «Хирурги Забайкалья в России-2» (Чита, 13-14 апреля

2017 г.); IV съезде анестезиологов-реаниматологов Забайкалья (Чита, 25-27 апреля 2017 г.); VIII съезде анестезиологов-реаниматологов Забайкалья (Чита, 28-29 апреля 2021 г.); научно-практической межрегиональной конференции «Актуальные вопросы эндохирургии» (Чита, 6 июня 2022 года); I ежегодной Научной сессии ФГБОУ ВО ЧГМА (Чита, 15 декабря 2022 года.); II ежегодной Научной сессии ФГБОУ ВО ЧГМА, посвященной 70-летию академии (Чита, 10 октября 2023 года); III научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии и лабораторной диагностики» (Чита, 29-30 ноября 2023 года); Межвузовском научном симпозиуме с международным участием, посвященном 110-летию со дня члена-корреспондента НАН Беларуси Н.И. Аринчина (Гродно, Беларусь, 28 февраля 2024 года); Международной конференции «Scientific Research of the SCO countries: Synergy and Integration» (Пекин, Китай, 14 февраля 2024 года); VIII Межрегиональной научно-практической конференции «Современные вопросы эндокринологии. Опыт и инновации в клинических примерах» (Нижний Новгород, 5 марта 2024 года); Российском форуме по тромбозу и гемостазу (Москва, 14-16 марта 2024 года); II Международной научно-практической конференции, посвященной памяти Прокопенко Л.Г. (Курск, 21 марта 2024); IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современная патология: опыт, проблемы, перспективы», посвященной памяти профессора Н. Шляпникова (Самара, 22-23 марта 2024 года); XII съезде терапевтов Забайкальского края (Чита, 11-12 апреля 2024 года); Всероссийском терапевтическом конгрессе с международным участием «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 18-19 апреля 2024 года); XI Всероссийской школе-конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности с международным участием, посвященной 70-летию открытия механизма мышечного сокращения (Москва, 22-25 апреля 2024 г.); Научно-практической конференции с международным участием «Инновации в эндокринологии-2024» (Санкт-Петербург, 25-27 апреля 2024 года).

## Публикации

По материалам диссертации опубликовано 26 работ, из них 13 статей в журналах, рецензируемых ВАК Минобрнауки России, 6 публикаций - в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, 10 уровня К1 и К2, зарегистрировано 2 патента на изобретения, 2 программы для ЭВМ.

## Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 252 страницах машинописного текста и состоит из введения, девяти глав («Обзор литературы», «Материалы и методы», «Исследование состояния микроциркуляторного русла методом лазерной доплеровской флоуметрии у больных с развитием синдрома диабетической стопы», «Исследование маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9 и гомоцистеина у больных с развитием синдрома диабетической стопы», «Исследование полиморфизмов генов регуляции сосудистого тонуса, рецепторов тромбоцитов, ремоделирования сосудистой стенки, протромботических факторов у больных с развитием синдрома диабетической стопы», «Взаимосвязь полиморфизмов генов регуляции сосудистого тонуса, рецепторов тромбоцитов, ремоделирования сосудистой стенки, протромботических факторов, состояния микроциркуляторного русла, маркеров дисфункции эндотелия у больных с развитием синдрома диабетической стопы», «Сочетание полиморфизмов исследованных генов и прогностические модели при синдроме диабетической стопы», «Комплексная оценка факторов риска синдрома диабетической стопы», «Обсуждение полученных результатов»), заключения, выводов, списка литературы. Данные проиллюстрированы 61 таблицей, 13 рисунками, 3 схемами. Библиографический указатель включает 333 источника, из них 174 отечественных и 159 зарубежных.

## **ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

### **1.1 Этиология, факторы риска и патогенез синдрома диабетической стопы**

В основе механизмов осложнений сахарного диабета лежит токсическое действие гипергликемии, развивающееся в результате дефицита секреции инсулина или дефекта его действия, или их сочетания [119].

К факторам риска возникновения диабетической стопы относятся: возраст старше 40 лет, стаж заболевания более 10 лет, некомпенсированный сахарный диабет, курение, атеросклероз сосудов нижних конечностей, деформация стоп, гиперкератоз стоп, неудобная обувь [78, 296]. К факторам риска развития гнойных и некротически-язвенных осложнений при диабетической стопе относятся: периферическая нейропатия и ангиопатия, деформации и травмы стоп, язвенные дефекты стоп и ампутации в анамнезе, диабетическая нефропатия и ретинопатия, пожилой возраст больного, повышенная масса тела, вредные привычки, наличие сопутствующей патологии, степень ее компенсации и влияние на основное заболевание [4, 52].

#### **1.1.1 Основные звенья патогенеза развития диабетической стопы**

Синдром диабетической стопы развивается в результате одновременного действия нескольких факторов риска, таких как поражение микро- и макрососудов, периферическая полинейропатия, изменение конфигурации стоп с появлением зон повышенного давления и инфицирование мягких тканей [4, 253].

Существенный вклад в механизм формирования диабетической стопы вносит диабетическая нейропатия [232]. Данный патологический процесс проявляется

поражением центральной и периферической нервных систем на фоне гипергликемии и затрагивает сенсорные и моторные волокна. Диабетическая нейропатия может быть как самостоятельным состоянием, так и сочетаться с поражением сосудов [119, 235]. Действие высокого уровня глюкозы на нервные клетки приводит к развитию метаболических и сосудистых изменений, являющихся причинами развития полинейропатии [192].

Под влиянием повышенного содержания глюкозы в нервной ткани, вместе с окислительным фосфорилированием, запускается дополнительный путь утилизации – полиоловый шунт [267]. Глюкоза с помощью фермента альдозоредуктазы превращается в многоатомный спирт сорбитол [212]. Данное вещество при накоплении имеет цитотоксический эффект, приводящий к повышению осмолярности межклеточного матрикса, отеку нервов, уменьшению скорости проведения импульса по миелиновым волокнам [169].

Известны и другие отрицательные результаты влияния на нервную ткань повышенного содержания глюкозы в крови. К ним относятся: угнетение в нейронах активности калий-натриевой АТФ-азы, гликолизирование белков, отвечающих за аксональный транспорт, повышение содержания активных форм кислорода, пролиферация эндотелия, приводящая к утолщению базальной мембраны микрососудов и предрасполагающая к развитию микротромбозов, захват миелином иммуноглобулинов, недостаток фактора роста нервной ткани и др. [42, 140]. Также при гипергликемии нарушается продукция оксида азота, являющегося основным вазодилататором, что приводит к развитию дисбаланса тонуса сосудов [314]. Совместное воздействие этих факторов в итоговом результате ведет к окклюзии *vasa nervorum*, развитию гипоксии и ишемии, что приводит к гибели нервов и прогрессированию диабетической нейропатии [27].

Существенный вклад в формирование диабетической полинейропатии вносит и повышенная продукция активных форм кислорода с последующим развитием окислительного стресса, в результате которого развивается клеточный энергетический дефицит [169].

Морфологически диабетическая полинейропатия проявляется сегментарной демиелинизацией и дегенерацией аксонов [285]. В зависимости от того, «толстые» или «тонкие» нервные волокна поражаются первично, различается начало, течение и клинические проявления полинейропатии [161]. В клинике появляется прогрессирующим снижением болевой, температурной чувствительности, утратой тактильной, вибрационной и проприоцептивной чувствительности, ослаблением ахилловых и коленных сухожильных рефлексов, замедлением скорости проведения нервного импульса по нерву, развитием типичных деформаций стоп [123, 283].

При снижении дистальной сенсорной чувствительности у пациентов с синдромом диабетической стопы уменьшается способность расценивать опасность различных повреждающих агентов [312]. К факторам, способствующим развитию тяжелого, часто незаметного поражения стоп, относятся: инородные тела, обувь, сдавливающая стопу, высокая температура, химические агенты [82, 140].

Моторная дистальная полинейропатия является одной из причин, способствующих изменению конфигурации стоп за счет атрофии межкостных мышц [333]. В результате этого на стопе появляются участки, которые подвергаются повышенному давлению при ходьбе [204]. В этих зонах формируются области участки гиперкератоза [315]. Данные участки повышают давление на кожу под ними, что вызывает ее деструкцию, образование гематом, склонных быстро инфицироваться, и ведут к формированию трофических язв, остеомиелита, флегмон [140, 322].

Автономная нейропатия служит причиной развития диабетической остеоартропатии или стопы Шарко, приводящей к тяжелой деформации стоп [192]. Пусковым фактором формирования данного осложнения сахарного диабета является травма - вывих или перелом костей стопы [206]. Вследствие симпатической денервации сосудов происходит увеличение шунтирующего кровотока в костях стопы [220]. Данный процесс приводит к образованию остеокластов, снижению функции остеобластов, увеличению резорбции костной

ткани [134]. В процессе ремоделирования костной ткани непосредственную роль играет инсулин, участвующий в регуляции активности костного роста вместе с паратгормоном, кальцитонином, гормоном роста [119].

Метаболические нарушения, развивающиеся при сахарном диабете, приводят к изменениям во всех органах и тканях, в том числе и в коже [161]. В результате наличия хронической гипергликемии в кожных покровах отмечается хроническое вялотекущее воспаление и накопление конечных продуктов гликирования [181]. С увеличением стажа заболевания в результате развития диабетической нейропатии нарушается работа сальных и потовых желез, снижаются процессы регенерации эпидермиса, повышается чувствительность к действию повреждающих факторов, снижается выработка коллагена. Кожа теряет эластичность и гидрофильность, развивается ксероз кожи [157].

Основные механизмы развития язвенных дефектов стоп у больных сахарным диабетом связаны с наличием периферической нейропатии и регулярно повторяющейся травмы кожи из-за обычной ходьбы в областях стопы, подвергающихся умеренному или высокому давлению [196]. Деформации стопы, ограниченная подвижность суставов, частичные ампутации стопы и другие структурные деформации часто предрасполагают к неправильной нагрузке на стопу, повышенному давлению и действию аномальных сил сдвига, при которых значительно увеличивается риск их изъязвления [317].

Изменение кровотока и иннервации в области стоп при синдроме диабетической стопы, уменьшение фагоцитарной активности нейтрофилов приводит к развитию патогенной микрофлоры и активации потенциально патогенных микроорганизмов уже при минимальном повреждении кожных покровов, что ведет к возникновению гнойных осложнений [104].

### **1.1.2 Нарушения циркуляции крови в патогенезе синдрома диабетической стопы**



Поражение сосудов при развитии диабетической стопы является одним из важнейших компонентов развития данного осложнения [123].

Факторами риска возникновения поражения микро- и макрососудов при сахарном диабете являются: длительное повышенное содержание глюкозы в крови, инсулинорезистентность и гиперинсулинемия, гипер- и дислипидемия, артериальная гипертензия, повышение свертываемости крови и агрегации тромбоцитов, снижение фибринолиза, нарушение функции эндотелия сосудов [123, 175, 306].

Длительно существующий высокий уровень глюкозы крови приводит к активированию каскада метаболических нарушений и является ведущим фактором развития сосудистых осложнений сахарного диабета [203]. Неферментативное гликозилирование белков протекает за счет способности глюкозы образовывать с аминокислотными остатками белков различные соединения, участвующие в обмене веществ [188]. В ходе химических реакций данные вещества являются субстратом для образования конечных продуктов гликозилирования, имеющих более длительный период полураспада, чем у белков [252]. С увеличением гликемии появляются необратимые продукты гликозилирования [307]. Данные вещества откладываются в различных тканях, воздействуя на транскрипцию генов, структуру протеинов, и приводят к нарушению функции многих клеток, сосудистым повреждениям [203].

При гипергликемии метаболизм глюкозы протекает двумя инсулиннезависимыми путями – сорбитоловому и глюкуроонатному [124]. В стенке сосуда увеличение содержания сорбитола способствует ее гиперосмолярности с формированием отека за счет повышения в клетках концентрации ионов натрия и потери ионов калия [301]. В эритроцитах повышается концентрация гликозилированного гемоглобина, нарушается транспорт кислорода, что приводит к кислородному голоданию эндотелия сосудов [63].

Одним из факторов, запускающих развитие сосудистых осложнений при диабетической стопе, является дислипопротеинемия [227]. Данное состояние

сопровождается нарушением обмена липопротеинов низкой и очень низкой плотности, триглицеридов, холестерина [294]. Указанные изменения характеризуются повышением содержания липопротеинов очень низкой плотности, а также окисленных, гликозилированных и «малых» липопротеидов, которые, накапливаясь в стенке сосуда, способствуют повреждению ее эндотелия [119, 135].

К диабетической микроангиопатии относят специфическое поражение сосудов микроциркуляторного русла – капилляров, артериол и венул [82]. При сахарном диабете происходит значительное утолщение базальной мембраны капилляров за счет накопления в ней мукополисахаридов, фруктозы, сорбитола, липидов, различных белковых веществ [298]. Происходит утолщение и пролиферация цитоплазмы клеток, что затрудняет транскапиллярный обмен, избирательную фильтрацию биологических жидкостей и диффузию, препятствует удалению продуктов обмена и поступлению питательных веществ и кислорода [257]. Сосудистая стенка становится ригидной и теряет сократительную способность [78].

Наличие диабетической нейропатии может способствовать развитию микроангиопатии [124]. Изменение проводимости нервных волокон способствует паралитическому расширению микрососудов, в результате чего повышается их проницаемость, нарушается функция и снижается тканевая перфузия [235]. Также нарушается функция нервов, иннервирующих сосуды, что приводит к развитию микроциркуляторных нарушений [140].

В формировании развития диабетической стопы огромную роль играет нарушение состояния и функции микрососудов [28]. В настоящее время доказано, что микроангиопатия в 30% случаев может приводить к развитию гнойно-некротических осложнений [52].

Макроангиопатия при сахарном диабете развивается вследствие системного атеросклероза, протекающего у больных сахарным диабетом тяжелее и с более раннего возраста [241]. Особенностью поражения сосудов при диабете является

полисегментарный двухсторонний характер [175]. При этом чаще встречается поражение сосудистого русла дистальнее коленного сустава, множественная локализация участков сужения [139, 156]. Поражения артерий при сахарном диабете встречается в виде атеросклеротических бляшек, образующихся в результате активации сложных процессов, обусловленных накоплением конечных продуктов гликозилирования в соединительнотканых элементах и мобилизации из них липопротеинов низкой плотности [119]. При сахарном диабете часто диффузно поражается средний слой стенки артерий эластического и эласто-мышечного типов с дальнейшим развитием фиброза и склероза, а также кальциноза или артериосклероза Менкеберга, что приводит к развитию стойкого спазма сосудов, снижению эластичности артериальной стенки, расслоению ее и возможному разрыву сосуда [258].

Гемодинамические нарушения в системе микроциркуляции органов и тканей сопровождаются стойкой гипергликемией и предшествуют развитию микрососудистых осложнений сахарного диабета [45]. У больных с синдромом диабетической стопы отмечается снижение показателей тканевого кровотока (объемная и линейная скорость перфузии) [163]. Даже при сохраненных значениях тканевого кровотока при диабетической стопе с помощью инструментальных исследований определяется эндотелиальная дисфункция, не имеющая клинических проявлений [216].

Дисфункция эндотелия при развитии сахарного диабета проявляется снижением вазодилатации и условным повышением вазоконстрикции, увеличением пролиферации, гиперкоагуляцией и повышением проницаемости сосудистой стенки [244]. Существенную роль в уменьшении процессов вазодилатации играют сдвиги уровней оксида азота, эндотелина-1, брадикинина, гиперполяризующего фактора, простагландинов, простациклина [45, 156].

Дисфункция эндотелия развивается под действием гипергликемии с помощью нескольких механизмов: с участием конечных продуктов гликирования, повреждающих эндотелий и при увеличении окислительного стресса [1, 166].

Наиболее значимым звеном, повреждающимся в эндотелии при развитии его дисфункции, является система синтеза оксида азота (NO) [280]. Большинство химических факторов, синтезируемых в эндотелии или циркулирующих с кровью, реализуют свое действие через NO [295]. При развитии сахарного диабета на ранних стадиях вследствие увеличенного синтеза оксида азота происходит повышение кровотока, которое может приводить к повреждению эндотелиальных клеток [263]. По мере прогрессирования эндотелиальной дисфункции синтез оксида азота и чувствительность к нему уменьшается. Данный процесс облегчает функционирование механизмов, следствием которых и является ускорение всех структурных изменений в стенке сосуда, типичных для ангиопатии [26].

Также значимый вклад в повреждение сосудистой стенки вносит гипергомоцистеинемия, которая при сахарном диабете 2 типа способствует усугублению эндотелиальной дисфункции за счет неблагоприятного воздействия на эндотелий сосудов и гладко-мышечный компонент сосудистой стенки, это приводит к ее функциональным и структурным изменениям, увеличивает активность тромбоцитов, что способствует нарушению реологических свойств крови [236].

Значимой причиной нарушения микроциркуляции при развитии диабетической стопы являются изменения реологических свойств крови и системы гемостаза [209]. Выраженные нарушения отмечаются уже на ранних стадиях поражения сосудов и проявляются повышением вязкости крови и плазмы, способности тромбоцитов к агрегации [87]. Регистрируются нарушения структуры и функции эритроцитов, происходит их деформация, снижается их гибкость, что приводит к замедлению кровотока и повреждению интимы артерий [139]. Нарушения в системе микроциркуляторного русла при диабете усугубляются повышенной вязкостью крови, связанной с увеличением содержания фибриногена, фибронектина, фактора Виллебранда, С-реактивного белка [77, 147].

### 1.1.3 Резюме

Одним из важнейших факторов развития синдрома диабетической стопы является поражение сосудистого русла на уровне микро- и макрососудов. Механизмы возникновения ангиопатии в литературе описаны достаточно полно. Ключевыми моментами патогенеза микроангиопатии являются развитие эндотелиальной дисфункции, патологическое ремоделирование сосудистой стенки и окружающих тканей, нарушение реологических свойств крови. Вместе с тем практически отсутствуют данные о вкладе генетических и эпигенетических факторов в указанные механизмы развития поражения сосудистого русла при синдроме диабетической стопы.

## 1.2 Методы исследования микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы

В литературе описано огромное число методик исследования состояния микроциркуляторного русла [35, 65, 237, 278]. Наиболее широко используемыми из них в экспериментальных и клинических лабораториях являются: термография, прижизненное исследование биоптатов кожи, сцинтиграфия, позитронно-эмиссионная томография, транскутанное измерение напряжения кислорода, чрезкожная полярография, биомикроскопия сосудов конъюнктивы, компьютерная капилляроскопия, лазерная доплеровская флоуметрия [66, 135]. Оценка состояния микроциркуляторного русла используется в клинике в качестве дополнительных методов к способам оценки состояния кровотока в магистральных сосудах [65].

Одним из методов оценки состояния тканевого кровотока является термография, выполнение которой возможно бесконтактным и контактными способами [1]. Для осуществления бесконтактной термографии используют тепловизоры или термографы, воспринимающие и регистрирующие тепловое излучение тела в инфракрасной области спектра [92]. При снижении температуры на участках тела изменяется величина потока излучения [134]. Термограф преобразует их в электрический сигнал, который усиливается и воспроизводится на экране в виде черно-белого или цветного изображения термограммы [112]. Контактную термографию проводят с помощью жидких кристаллов, обладающих оптической анизотропией и изменяющих цвет в зависимости от температуры [1]. Контакт термограммы получают путем прикладывания к поверхности тела исследуемой области пленки или паст с жидкокристаллическим соединением [73]. Данный метод позволяет оценить нейрогенные влияния, соотношение констрикторных и дилаторных реакций артериального и венозного отдела сосудистого русла, а также соотношение реакции кожи и мышц [165].

Достоинствами термографии являются физиологичность, безвредность, неинвазивность, отсутствие лучевой нагрузки, простота выполнения [79]. Недостатками метода являются необходимость использования дорогостоящего оборудования, и низкая специфичность метода [82, 135].

Исследование биоптатов кожи, взятых у одного больного в динамике, с последующим их анализом с помощью световой, реже - электронной микроскопии способно проследить развитие поражения микроциркуляторного русла в динамике [138]. Биопсия позволяет исследовать плотность капиллярной сети, а также определить отношение толщины сосудистой стенки к диаметру просвета сосуда [165]. Вместе с тем данное исследование является травматичным для больного, чревато инфицированием, что не способствует его применению в широкой клинической практике, и используется главным образом в экспериментальных исследованиях [138].

Сцинтиграфия является радионуклидным методом диагностики состояния микроциркуляторного кровотока [49]. Данное исследование основано на оценке скорости накопления и выведения изотопа из тканей, что позволяет оценить состояние тканевого кровотока не только в коже, но и в мышцах и других органах [84]. Вместе с тем использование сцинтиграфии требует наличия в лечебном учреждении дорогостоящей радиоизотопной лаборатории [138]. Кроме того, недостатками данного метода являются высокая стоимость и продолжительность исследования, а также невозможность определения тяжести тканевой ишемии [49].

Позитронно-эмиссионная томография является неинвазивным методом исследования, позволяющим оценить большое количество различных процессов, таких как транспорт веществ, лиганд-рецепторные взаимодействия и другие [7]. Исследование позволяет многократно измерить кровотоки в течение одного и того же сеанса и получить функциональную характеристику микроциркуляции [84]. Во время проведения позитронно-эмиссионной томографии возможно оценить жизнеспособность тканей, оценить кровотоки с помощью меченных изотопом соединений [129]. К несомненным достоинствам методики относятся также

высокая точность и воспроизводимость результатов [182]. К недостаткам метода можно отнести использование радиоактивных изотопов и высокую стоимость исследования [135].

Транскутанное измерение напряжения кислорода позволяет оценить функциональное состояние сосудистой системы, включая наличие адекватного коллатерального кровотока, определение степени ишемии тканей, сделать правильный выбор между консервативным и оперативным лечением [140]. Данный метод исследования отражает пропускную способность артериального русла конечности в целом [135]. В комплексе с другими методами исследования сосудистого русла, определение транскутанного напряжения кислорода позволяет оценить тяжесть нарушения кровотока [208]. На достоверность результатов исследования могут влиять гипоксические состояния, наличие отеков нижних конечностей [156].

Чрескожная полярография является неинвазивным методом диагностики, с помощью которого регистрируют парциальное давление кислорода и углекислого газа в поверхностных слоях кожи [51]. Метод является безвредным для пациента и может применяться многократно [297]. Исследование проводится с помощью мембранного закрытого электрода, имеющего подогревающее устройство, которое позволяет создавать локальную гипертермию и гиперемию [200]. Локальная реактивная гипертермия, создаваемая с помощью тепла, вызывает местное усиление кровообращения и диффузию газов через мембрану электрода [297]. Дальнейший процесс основан на явлении электрохимического восстановления свободного кислорода на платиновом катоде кожного датчика, в результате чего возникает электрический ток, регистрируемый дисплеем прибора [200]. Недостатком полярографического исследования является недостаточная информативность, при проведении функциональных проб метод позволяет оценить только резервные возможности терминального отдела сосудистого русла и выявить латентные нарушения в системе микроциркуляции [281].



Для оценки состояния микроциркуляторного русла также применяют биомикроскопические методы исследования капиллярного кровотока [35]. Биомикроскопия сосудов конъюнктивы и ногтевого ложа относится к группе методик, выполняемых в отраженном свете, поэтому их использование позволяет визуализировать только функционирующие сосуды [82]. Проведение этих исследований позволяет оценить диаметр микрососудов, движение крови по ним, агрегатное состояние крови, плотность расположения капилляров [65]. Вместе с тем такие процессы, происходящие в системе микроциркуляции, как эндотелиально-клеточные взаимодействия, ремоделирование сосудов, метаболический и газовый гомеостаз, лимфоциркуляция, оценить с помощью биомикроскопии невозможно [46, 65].

Компьютерная капилляроскопия является неинвазивным методом оценки состояния сосудов микроциркуляции, изучающим состояние кровотока в капиллярах с помощью оптической системы с высоким разрешением ( $\times 400$ ,  $\times 500$ ) [66, 203]. В качестве объектов изучения выступает ногтевое ложе пальцев рук, ног или десна [57, 61]. Морфофункциональные преобразования, происходящие в терминальном сосудистом русле, носят системный характер [65, 203]. Исследование позволяет оценить такие показатели, как форма капилляров, плотность капиллярной сети, площадь кислородообменной поверхности на уровне ногтевого ложа, гемодинамические характеристики кровотока, размеры единичных капилляров изолированно в артериальном и венозном отделах [289]. Отмечается связь между типом капилляроскопической картины и стадией поражения артерий нижних конечностей [115]. Вместе с тем в связи с высокой трудоемкостью и стоимостью оборудования для микроскопии методика в клинической практике применяется крайне редко [66].

Одним из широко применяемых неинвазивных методов диагностики состояния микроциркуляторного русла при различной патологии является метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) [80, 194]. Исследование основано на эффекте Доплера и позволяет оценить степень перфузии ткани, осцилляции

кровотока различного генеза, оценивать состояние микроциркуляторного русла в динамике [138]. При проведении исследования удастся оценить такие параметры, как скорость потока и размер капилляров, а также реакцию на различные воздействия (холод, тепло, ортостатическая проба, проба Вальсавы) [97, 115]. Метод ЛДФ не требует больших финансовых затрат, не имеет ограничений при выборе тестируемой области [93]. Неинвазивность метода позволяет неоднократно выполнять исследование [16]. Экспозиция ЛДФ-метрии может быть разной продолжительности, что дает возможность проследить динамику показателей во время проведения исследования, для воспроизведения методики не требуется высокой квалификации исследователя, безусловным преимуществом ЛДФ является простота воспроизведения и трактовки получаемых данных [70, 149].

### 1.2.1 Резюме

В литературе описано большое количество методов, применяемых для исследования состояния микроциркуляторного русла. Большинство описанных способов трудоемки, требуют наличия специального, дорогостоящего оборудования, что существенно ограничивает возможности их применения. Метод лазерной доплеровской флоуметрии имеет существенные преимущества относительно других существующих способов в связи с простотой, относительной доступностью и возможностью неоднократного использования.

### **1.3 Роль полиморфизмов генов в патогенезе сахарного диабета 2 типа и синдрома диабетической стопы**

#### **1.3.1 Исследование генов-кандидатов развития сахарного диабета 2 типа**

Сахарный диабет 2 типа является серьезным многофакторным заболеванием, в реализации фенотипа которого участвуют генетические и средовые факторы [32]. В исследованиях последнего десятилетия, посвященных поиску ассоциативных генов, выявлено большое количество однонуклеотидных вариантов, связанных с риском развития сахарного диабета 2 типа [319].

С началом использования полигеномных исследований в начале 21 века был достигнут наибольший прогресс в определении генетических условий развития сахарного диабета 2 типа [47, 199, 254]. В 2007 г. впервые были опубликованы результаты первого полногеномного исследования, в которых сообщалось о девяти генах, связанных с развитием сахарного диабета 2 типа [48]. В настоящее время, благодаря достижениям молекулярной генетики, описано более 100 общих генетических вариантов, связанных с риском развития данной патологии [26].

Одним из впервые выявленных генов, с установленной в геномных исследованиях взаимосвязью с сахарным диабетом 2 типа, является ген IGF2BP2, кодирующий белок 2 связывающий мРНК инсулиноподобного фактора роста 2 [32]. В ряде исследований была выявлена ассоциация полиморфного варианта rs11927381 с риском данного заболевания [201].

В 1997 г. С.Г. Yen с соавторами описал взаимосвязь полиморфного маркера rs18012824 гена PPAR $\gamma$ 2 с повышенным риском развития сахарного диабета 2 типа [26]. Указанный ген кодирует рецептор пролифератора пероксисом гамма 2 типа, который принадлежит к суперсемейству ядерных рецепторов, входящих в группу факторов транскрипции [96]. Его активация и связывание с ретиноидным

рецептором X формируют гетеродимер, взаимодействующий со специфическими последовательностями ДНК, которые кодируют белки, участвующие в метаболизме липидов и глюкозы [324]. В исследованиях было установлено, что пациенты, являющиеся носителями гомозиготного варианта Pro12Pro, имеют более высокую невосприимчивость к инсулину, ожирение и повышенный на 20% риск развития сахарного диабета 2 типа по сравнению с носителями Ala12Ala [26].

Еще одним геном, ассоциированным с развитием сахарного диабета 2 типа, является ген KCNJ11, расположенный на хромосоме 2q36 [15]. Продукт гена – белок Kir6.2 участвует в образовании канала для ионов калия, которые участвуют в регуляции секреции инсулина путем изменения потенциала клеточной мембраны [159]. Мутации в гене KCNJ11 приводят к изменениям в структуре белка Kir6.2 [169].

В 2000 г. был описан ген, кодирующий выработку адипонектина (ADIPOQ), белка, секретируемого адипоцитами, связанного с инсулинорезистентностью, метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа [26, 298]. Ген ADIPOQ локализуется на хромосоме 3 (3q27) [282]. Ассоциации аллелей данного гена с развитием сахарного диабета были исследованы в разных популяциях Европы и Азии [26].

В 2003 г. обнаружен ген TCF7L2, расположенный в области 10q25.3 и кодирующий ядерный рецептор  $\beta$ -катенина, канонического активатора Wnt-сигнального пути [14]. Было доказано, что взаимодействие TCF7L2 ядерного рецептора с белками Wnt-сигнального пути регулирует секрецию проглюкагона, что определяет глюкозозависимую секрецию инсулина, а также влияет на созревание  $\beta$ -клеток поджелудочной железы из полипотентных стволовых клеток [26]. Ген TCF7L2 (10q25.3) был впервые описан в качестве предрасполагающего к развитию сахарного диабета 2 типа в популяциях исландцев и американцев мексиканского происхождения, что в дальнейшем подтверждено многочисленными исследованиями [4].

Изучен ген *ABCC8*, кодирующий рецептор к сульфонилмочевине, являющийся белком, относящимся к семейству АТФ-связывающих кассетных транспортеров [251]. Выявлено более 10 мутаций данного гена, ассоциированных с гиперинсулинемией [29]. Подтверждена взаимосвязь между риском развития сахарного диабета 2 типа и носительством полиморфного локуса S1369A гена *ABCC8* [175].

Одним из важных результатов геномных исследований стало открытие области между генами *HNF1X* и *IDE*, ассоциированной с развитием сахарного диабета 2 типа. Оба гена расположены на хромосоме 10q24 [302]. Ген *HNF1X* кодирует транскрипционный фактор, участвующий в эмбриональном развитии [4]. Ген *IDE* кодирует белок инсулиназу, принимающую участие в процессах деградации инсулина и других пептидных гормонов [246]. В области *HNF1X-IDE* было обнаружено несколько полиморфизмов, имеющих взаимосвязь с сахарным диабетом 2 типа в разных популяциях [47, 185]. Среди них наиболее достоверная ассоциация найдена для маркера rs1111875 [304].

Ген *CAPN10*, кодирующий синтез кальцийзависимых цистеиновых протеаз, принимающих участие в реализации апоптоза и процессов экзоцитоза, ремоделировании цитоскелета клетки, регуляции функции митохондрий, рассматривают как один из генов-кандидатов, ответственных за риск развития сахарного диабета 2 типа [29]. В работе Costa V. et al., 2017 г., продемонстрирована ассоциативная взаимосвязь между риском носительства DD-генотипа полиморфного локуса *CAPN10 I/D* и сахарного диабета 2 типа [201].

С развитием сахарного диабета 2 типа ассоциированы гены *CDKN2A/2B* [185, 187]. Указанные гены находятся на хромосоме 9p21 [15]. Белки, кодируемые генами *CDKN2A/2B*, регулирующих клеточный цикл, пролиферацию и дифференциацию клеток [187]. Они экспрессируются во всех тканях, включая адипоциты и панкреатические  $\beta$ -клетки [14].

Ген *KCNQ1* располагается в локусе 11p15.5 и отвечает за кодировку белка, играющего ведущую роль в реполяризации сердечного потенциала действия, а

также в транспортировке воды и соли в эпителиальных тканях [12]. Белок, кодируемый указанным геном, вырабатывается в островках Лангерганса и участвует в регуляции секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы [169]. Выявлена взаимосвязь полиморфизма rs2237892, локализуемого в 15-м интроне гена KCNQ1, с повышенным риском развития сахарного диабета 2 типа [12].

Ген вольфрамина (WSF1) отвечает за кодировку трансмембранного белка мембран эндоплазматического ретикулама, участвующего в регуляции гомеостаза ионов кальция [179]. Изменения в структуре указанного белка изменяют кальциевый гомеостаз, что нарушает секрецию инсулина бета-клетками поджелудочной железы [29]. Полиморфизм rs1801214 гена WSF1 имеет связь с развитием сахарного диабета 2 типа, что подтверждено исследованиями в популяции американцев африканского происхождения [26].

Наличие полиморфизма или мутаций в гене, кодирующем синтез рецепторов к мелатонину, локализующихся в том числе и в островках поджелудочной железы, связывают с риском развития сахарного диабета 2 типа [250]. Низкая выработка мелатонина может являться предрасполагающим фактором развития сахарного диабета в связи с циркадным ритмом секреции инсулина [279]. Ген MTNR1B кодирует выработку рецептора к мелатонину 1B [62]. Доказано, что однонуклеотидный полиморфизм rs10830963 гена MTNR1B достоверно связан с повышением уровня глюкозы натощак и снижением выработки инсулина [29].

Для нормального хранения и выработки инсулина бета-клетками поджелудочной железы необходимы ионы цинка [169]. Ген SLC30A8 является ответственным за выработку трансмембранного белка, транспортирующего ионы цинка типа 8, выполняющего функцию канала, через который ионы  $Zn^{2+}$  поступают в секреторные везикулы [11]. Подтверждено, что однонуклеотидный полиморфизм rs13266634 гена SLC30A8 ассоциирован с риском развития сахарного диабета 2 типа в африканской, европейской и азиатской популяциях [169].

Ген UCP2, локализующийся на плече 11q13, вырабатывается многими видами тканей и препятствует выработке инсулина клетками поджелудочной железы [169]. Функцией белка UCP2 является перенос протонов через внутреннюю мембрану митохондрий [10]. Также данный белок влияет на скорость метаболизма [169]. Генетические изменения в гене UCP2 воздействуют на патогенез развития ожирения и сахарного диабета 2 типа [329]. Доказано, что мутация rs659366 G/A гена UCP2 нарушает нормальную выработку инсулина клетками поджелудочной железы [169]. Аллель Val полиморфизма Ala55Val гена UCP2 ассоциирована с повышенным риском развития сахарного диабета 2 типа и ожирения [54, 169].

В развитии инсулинорезистентности играют роль изменения функции митохондрий, проявляющиеся снижением их массы и/или их окислительной функции, а также нарушения фолдинга митохондриальных белков [210, 328]. В исследовании Е.Ю. Клесовой и соавторов, 2021 г., изучалась ассоциация rs1046495 гена GFER, кодирующего FAD-зависимую сульфгидрилоксидазу [109]. Выявлена ассоциация данного полиморфизма гена с пониженным риском развития сахарного диабета у пациентов, не имеющих ожирения [109].

### **1.3.2 Исследование генов-кандидатов развития синдрома диабетической стопы**

В патогенезе развития синдрома диабетической стопы известны различные механизмы, такие как активация пропиеолового пути обмена глюкозы, образование конечных продуктов гликозилирования, изменение структуры белков матрикса, развитие эндотелиальной дисфункции, нарушение микроциркуляции, активация перекисного окисления липидов и многие другие, происходящие с участием большого количества биологически-активных веществ, выработка которых регулируется соответствующими генами [119, 332]. В связи с чем ведется изучение генов-кандидатов, ассоциированных с развитием указанного осложнения сахарного диабета.

В литературных источниках имеются противоречивые данные о связи различных полиморфных локусов гена VEGFA с развитием синдрома диабетической стопы [204, 269]. В работе Русанова А.В. и соавторов, 2019 г., посвященной изучению взаимосвязи полиморфизма C936T гена VEGFA и развитию синдрома диабетической стопы в украинской популяции, не было выявлено ассоциации генотипов указанного полиморфизма гена VEGFA с развитием данного осложнения сахарного диабета [5]. В работах некоторых авторов показана протективная роль полиморфных локусов C2578A, G634C указанного гена относительно развития риска синдрома диабетической стопы [259, 330].

В исследованиях Erdogan M. и соавторов, 2018 г., в турецкой популяции не выявлено ассоциации полиморфизма C936T гена VEGF и его аллельных вариантов с развитием синдрома диабетической стопы [322]. В работе Li X. и соавторов, 2018 г., получены данные об ассоциации полиморфизма rs699947 гена VEGF с возникновением диабетической стопы в китайской популяции [257]. По данным авторов, минорный аллель А может снижать восприимчивость к развитию указанного осложнения сахарного диабета [258].

В исследовании, проведенном Singh K. и соавторами, 2017 г., изучалась ассоциация полиморфизма C1562T гена MMP9 с развитием синдрома диабетической стопы в индийской популяции [176]. По полученным данным, у пациентов с развитием данного осложнения сахарного диабета и в контрольной группе имеются значимые различия в частоте встречаемости аллелей указанного полиморфизма гена MMP9 [176]. По данным авторов, полиморфизм C1562T гена MMP9 связан с риском развития синдрома диабетической стопы [176].

Y. Wang и соавторами, 2010 г., исследована частота генотипов полиморфизма C1562T гена MMP9 у пациентов с диабетической стопой с развитием макроангиопатии и без нее [223]. Выявлена разница между распределением частоты генотипов исследованного полиморфизма гена MMP9 у пациентов в



зависимости от наличия макроангиопатии [223]. Частота аллеля Т была выше в группе с развитием макроангиопатии [223].

В исследованиях М. Erdogan и соавторов, 2018 г., изучалась ассоциация полиморфизма G894T гена eNOS с развитием синдрома диабетической стопы в турецкой популяции [322]. В исследовании не было выявлено связи указанного полиморфизма гена eNOS с развитием данного осложнения сахарного диабета [322].

Белковый транскрипционный фактор Nrf2 является ключевым регулятором цитопротекции, запускающим в условиях развития окислительного стресса выработку более 100 генов антиоксидантной защиты и детоксикации ксенобиотиков [234]. Nrf2 является ключевым фактором транскрипции, участвующим в заживлении ран путем регуляции ангиогенеза. [111]. В работе R. Теена и соавторов, 2020 г., исследовали ассоциацию полиморфизма rs35652124 гена NRF2 с развитием синдрома диабетической стопы [224]. По данным авторов, генотип ТТ rs35652124 был связан со значительным риском развития указанного осложнения сахарного диабета [224].

Моноцитарный хемотаксический протеин (MCP) – цитокин, относящийся к группе хемокинов, является наиболее мощным фактором хемотаксиса моноцитов в организме млекопитающих, а также Т-клеток памяти и дендритных клеток, к фокусам воспаления и продуцируется при повреждении тканей или внедрении инфекции [53, 219]. N. Su и соавторы, 2018 г., в своих исследованиях изучали ассоциацию полиморфизма rs1024611 гена MCP-1 с риском развития синдрома диабетической стопы [190]. Установлено, что пациенты с генотипами AG и GG полиморфизма rs1024611 указанного гена, а также носители аллеля G имели более высокую предрасположенность к развитию данного осложнения сахарного диабета [190]. Также в работе X. Li, 2018 г., подтверждена связь генотипа GG и аллеля G полиморфизма –2518A/G гена MCP-1 с развитием синдрома диабетической стопы [259].

Белки теплового шока (HSP) вырабатываются организмом в ответ на действие каких-либо агрессивных воздействий и играют роль буферной защиты, стабилизируя состояние клеток [76]. Также HSP участвуют в регуляции иммунной системы [54]. В исследованиях, проведенных М. Zubair и соавторами, 2018 г., изучалась связь полиморфизма С2437Т гена HSP с развитием синдрома диабетической стопы [333]. Выявлена ассоциация аллеля Т с развитием синдрома диабетической стопы [333].

V. Viswanathan и соавторы, 2018 г., исследовали ассоциацию полиморфизма –174 G>C гена интерлейкина 6 (IL-6), полиморфизмов –308G > A и –238G > A гена фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и полиморфизма +801G >A гена фактора стромально-клеточного происхождения (SDF-1) с микробной инфекцией при развитии диабетической стопы, степенью язвенного поражения по Вагнеру и частотой ампутаций при данной патологии [311]. Выявлена связь SNP –174G > C гена IL-6, –308G >> A гена TNF- $\alpha$  и +801G >>> A гена SDF-1 с тяжелыми микробными инфекциями при диабетической стопе. Полиморфизмы –308G > A и –238G >> A гена TNF- $\alpha$  были связаны с тяжелыми степенями язвенных дефектов по Вагнеру [311]. SNP +801G > A гена SDF-1 был связан с выполнением ампутации [311].

Сао Н.Н. и соавторами, 2020 г., выявлена протективная роль полиморфизма rs3093030 гена, кодирующего молекулы межклеточной адгезии 1 (ICAM1) при развитии синдрома диабетической стопы в китайской популяции Хань [195].

### **1.3.3 Вклад полиморфизмов генов в патогенез развития синдрома диабетической стопы**

Существенными аспектами патогенеза развития нарушений сосудистого русла при синдроме диабетической стопы является развитие эндотелиальной дисфункции, патологическое ремоделирование сосудистой стенки и окружающих тканей и нарушение реологических свойств крови [184, 266, 306]. В указанных

процессах принимает участие большое количество биологически-активных веществ, важнейшими из которых является оксид азота, эндотелин 1, гомоцистеин, матриксные металлопротеиназы, факторы свертывания крови и рецепторы тромбоцитов [217, 291, 310]. В свою очередь, концентрация указанных соединений находится под многоуровневой регуляцией, одним из основных компонентов которой является состояние генов, кодирующих указанные вещества.

Синтез NO с участием фермента NO-синтазы (NOS), имеющей 3 формы: нейрональная (nNOS), индуцибельная (iNOS) и эндотелиальная (eNOS). В выработке NO преимущественно принимает участие eNOS, катализирующая реакцию его образования из L-аргинина, участвующая в торможении сократительного аппарата гладкомышечных клеток [20, 56]. Указанный фермент кодируется геном NOS3, локализующимся на 7 хромосоме, и состоит из 26 экзонов [40, 108]. В настоящее время описаны и изучаются ряд полиморфизмов гена NOS3: интрон 18 локус A27C, интрон 23 локус G10T, интрон 4 NOS34a/b полиморфизм, экзон 7 Glu298Asp полиморфизм (структурный), мутация T786-C в 5-конце гена NOS-3 [105].

Мутация T786-C в 5-конце гена NOS-3 является одной из наиболее часто изучаемых и приводит к значительному угнетению промоторной активности указанного гена и, как следствие, к снижению синтеза эндотелиального NO [105]. В свою очередь, это приводит к нарушению физиологического равновесия между вазодилататорами и вазоконстрикторами, дизрегуляции функции эндотелия и к повышению сосудистого тонуса [159]. В ответ на повышение сосудистого тонуса возрастает продукция NO, обеспечиваемая экспрессией iNOS, под действием эндо- и экзотоксинов через эффекты цитокинов и активацию G-белков [260]. При сахарном диабете снижается биодоступность NO за счет действия пероксинитрита, образующегося при реакции супероксида и NO [119]. Также инсулин регулирует активность eNOS за счет фосфорилирования протеинкиназы B [240]. При недостатке NO повышается адгезия лейкоцитов, агрегация тромбоцитов, пролиферация гладкомышечных клеток сосудов, нарушается ингибирование

окислительной модификации липопротеинов низкой плотности, что лежит в основе атеросклеротических изменений стенки сосудов, тромбоза и ишемии [86].

В развитии дисфункции эндотелия существенную роль играет повышенный уровень эндотелина-1, являющегося мощнейшим вазоконстриктором и митогенным фактором для гладкомышечных клеток сосудов, фибробластов, кардиомиоцитов [121]. В низких концентрациях данный пептид участвует в регуляции роста клеток эндотелия, стимулирует продукцию ими NO и простаглицина [9, 46, 77]. Также эндотелин-1 способен активировать перестройку компонентов внеклеточного матрикса и стимулировать выработку фибробластами коллагена [114].

Ген EDN1, кодирующий эндотелин-1, локализуется на хромосоме 6p24-23 и состоит из 5 экзонов [105]. В 5-м экзоне гена EDN1 была выявлена SPN Lys198Asn, представляющая собой трансверсию G>T в 5665-м нуклеотиде, приводящую к замене лизина (Lys) на аспарагин (Asn) в 198-м положении аминокислотной последовательности [245]. Предположительно указанный однонуклеотидный полиморфизм этого гена обуславливает белковую структуру и активность фермента [6].

В высоких концентрациях эндотелин-1 активирует рецепторы, расположенные на гладкомышечных клетках, что приводит к стойкому спазму сосудов, пролиферации средней оболочки мелких артерий [277]. Также указанный пептид обладает инотропными и митогенными свойствами, влияет на гомеостаз ионов и воды, изменяет центральную и периферическую симпатическую активность и стимулирует ренин-ангиотензин-альдостероновую систему, участвует в процессах ремоделирования сосудистого русла, вызывает фиброз интимы сосудов с повышением жесткости сосудистой стенки [74, 299]. Уровень эндотелина-1 определяет тяжесть и риск возможных осложнений сахарного диабета, сердечно-сосудистых и других заболеваний [231, 243, 316].

В патогенезе развития синдрома диабетической стопы существенную роль играет развитие макроангиопатии, одним из факторов прогрессирования которой являются тромботические факторы, нарушение системы гемостаза [31].

ITGB3, или гликобелок IIIa, является самым множественным мембранным белковым комплексом, принимающим участие в процессах фибриноген-вызванной агрегации тромбоцитов и формировании тромба [37]. С данными рецепторами может соединяться фибриноген, фибронектин, витронектин, фактор Виллебранда и др. [1].

Ген ITGB3, кодирующий субъединицу GPIIb/IIIa, локализуется на длинном плече (q) 17 хромосомы [227]. Описано большое количество SNP, большое количество которых ассоциированы с различной патологией [37]. В основе структуры полиморфизма T1565C лежит мутация замены цитозина на тимидин в гене ITGB3, приводящей к повышению агрегации тромбоцитов и увеличению риска развития тромбоза и уменьшению толщины фиброзной покрышки атеросклеротической бляшки, делая ее более склонной к разрыву [111]. Указанные изменения приводят к изменению реологических свойств крови, замедлению тока крови и ухудшению состояния микроциркуляторного русла, нарушению гемодинамики на уровне органа, что является одним из механизмов развития синдрома диабетической стопы [114].

Фактор свертывания крови II, или протромбин, является витамин - К - зависимым проферментом и участвует в финальном этапе каскада свертывания крови, превращаясь под действием FXa в тромбин [68, 195]. Ген протромбина расположен на хромосоме 11(11p11—q12), состоит из 14 экзонов и 13 интронов [270]. При наличии замены гуанина на аденин в позиции 20210 гена протромбина увеличивается стабильность мРНК, происходит повышенная экспрессия гена, при этом развивается гиперпротромбинемия, что приводит к повышению риска тромбоза вен или артерий [244].

Фактор свертывания крови V (FV) является кофактором протромбиназного комплекса, который в своей активной форме (FVa) выступает в качестве кофактора

активной формы фактора X (FXa) и катализирует превращение протромбина в тромбин [68]. В неактивной форме фактор V выступает в качестве кофактора активированного протеина C при регуляции активности активированного фактора VIII (FVIIIa) [175].

Ген, кодирующий FV, расположен на длинном плече хромосомы 1(1q23), имеет размер около 80 тысяч пар нуклеотидов и состоит из 25 экзонов и 24 интронов [310]. Наличие мутации гена фактора V, влияющей на активность или уровень экспрессии указанного вещества, может приводить к проявлению тромботического или геморрагического состояния [327].

При развитии синдрома диабетической стопы одним из факторов развития микро- и макрососудистых осложнений может быть дисфункция VEGFA [5]. При развитии эндотелиальной дисфункции происходит истощение и нарушение дилатирующей функции эндотелия с преобладанием вазоконстрикции и пролиферации, что сопровождается ремоделированием сосудистой стенки и нарушением процессов ангиогенеза, что, в свою очередь, ускоряет развитие атеросклероза и ишемического поражения, относящихся к процессу патологического ангиогенеза [44]. Недостаточное кровоснабжение ведёт к гипоксии вследствие уменьшения диффузии кислорода. Гипоксия является основным стимулом процессов ангиогенеза, при которых происходит активация метаболических путей, управляемых специфическими белками, такими как индуцируемый гипоксией фактор 1, что приводит к повышению экспрессии проангиогенных факторов, включая VEGF и факторы роста фибробластов [168]. VEGF-A входит в наиболее изученную группу проангиогенных факторов. Он стимулирует миграцию, пролиферацию и адгезию эндотелиальных клеток, формирует капилляроподобные структуры в трехмерных гелях, обеспечивает выход из сосудов плазменных белков и активирует экспрессию тканевого фактора, что приводит к формированию зацепок для мигрирующих эндотелиальных, гладкомышечных и воспалительных клеток [44, 168, 271]. В момент, когда влияние проангиогенных факторов превышает действие антиангиогенных, клетки

эндотелия переходят в активное состояние, происходит разрыв базальных мембран и внеклеточного матрикса в результате повышения активности матриксных металлопротеиназ [275]. Это способствует миграции эндотелиальных клеток во внесосудистое пространство, где они начинают активно делиться, после чего клетки организуются в трубочки с просветом, образуя новую капиллярную сеть [261]. В ходе этого процесса подключаются перициты, прикрепляющиеся к новым сосудам и стабилизирующие их. До этой точки созревания целостность и выживание эндотелиальных клеток зависят от VEGF [221].

Ген VEGFA находится на коротком плече 6-й хромосомы (6p21.3) и состоит из 8 экзонов, разделенных 7 интронами [5]. В настоящее время описано 4578 полиморфных сайтов гена VEGFA, которые могут существенно влиять на концентрацию в крови указанного пептида [331].

Существенную роль в процессе образования язв, поражении костно-суставного аппарата при развитии синдрома диабетической стопы принадлежит матриксным металлопротеиназам (ММР) [95, 131, 264, 330]. ММР относятся к семейству цинк-зависимых эндопептидаз, способных гидролизировать все типы белков внеклеточного матрикса [256]. Данные вещества принимают участие в обмене белков соединительной ткани, в процессах нормального развития и ремоделирования клеточного матрикса, эмбриогенезе, репарации тканей, неоангиогенезе [43]. Матриксные металлопротеиназы известны и как ангиогенные факторы, которые действуют на коллаген и протеогликановый матрикс, регулируя ремоделирование ткани сосудов [110].

ММР 9 относится к классу желатиназа В и является одной из наиболее хорошо изученных протеаз, регулирующих патологические процессы ремоделирования [17]. Данное вещество играет главную роль в деградации внеклеточного матрикса при различных физиологических и патологических процессах, которые включают процессы ремоделирования тканей [172]. Основной функцией ММР 9 является разрушение белков экстрацеллюлярного матрикса [323]. Они расщепляют декорин, эластин, фибриллин, ламинин, желатин, коллагены IV,

V, XI и XVI типов, а также активируют различные факторы роста, такие как pro-TGF- $\beta$  и pro-TNF- $\alpha$  [308]. В физиологических концентрациях MMP 9, совместно с другими MMP, играют важную роль в процессах ремоделирования ткани, таких как рост аксонов, эмбриональное развитие, ангиогенез, овуляция, инволюция молочной железы и заживление ран [325]. Активность MMP9 контролируется и подавляется тканевыми ингибиторами металлопротеиназ, и в здоровых тканях их содержание отмечается в небольшом количестве, однако в условиях посттравматического ремоделирования их экспрессия резко возрастает [64, 325].

Известно, что нарушение экспрессии генов, кодирующих выработку матриксных металлопротеиназ, может приводить к нарушению баланса между синтезом и деградацией внутриклеточного матрикса, что приводит к уменьшению способности стенки сосудов к ремоделированию [83].

В патогенезе макрососудистых осложнений сахарного диабета существенная роль принадлежит повышенному уровню гомоцистеина [170]. В условиях гипергомоцистеинемии активируется окислительный стресс и усиливается образование гомоцистеиновой кислоты [106]. Данные вещества, с одной стороны, непосредственно стимулируют рост активных форм кислорода в цитоплазме нейронов, становясь причиной их апоптоза, с другой – гомоцистеиновая кислота, вступая во взаимодействие с эндогенными тиолами, генерирует образование супероксид-анион-радикала  $O_2^-$ , восстанавливаясь в гомоцистеин [239, 255]. Чрезмерное образование  $O_2^-$  стимулирует производство других более токсичных активных форм кислорода, накопление которых и истощение запасов системы антиоксидантной защиты в условиях гипергомоцистеинемии необратимо повреждает клетки, сосуды микроциркуляторной системы и нервные волокна [320]. Под влиянием активных форм кислорода происходят: утолщение базальной мембраны, пролиферация эндотелиальных клеток, пристеночное отложение фибрина, утолщение стенок и сужение просвета эндоневральных капилляров [3]. Нарушение кровоснабжения в тканях приводит к гипоксии и еще большей генерации свободных радикалов [209]. Параллельно с этим развивается



эндотелиальная дисфункция, при которой активные формы кислорода, с одной стороны, блокируют активность NO-синтазы, а с другой, конъюгируясь с NO, непосредственно участвуют в образовании пероксинитрита, приводя к снижению биодоступности NO, что создает благоприятные условия для активации тромбообразования и медиаторов воспаления, что приводит к структурному повреждению эндотелиальных клеток [244]. Еще одной причиной повреждения эндотелиальных клеток является высокий уровень пероксинитрита, который образуется в ходе воздействия активных форм кислорода с NO [171]. Пероксинитрит приводит к гибели клеток организма, так как обладает цитотоксическим эффектом и повреждает ДНК, липиды и белки [236].

MTHFR является основным ферментом, участвующим в метаболизме гомоцистеина в плазме крови, катализируя превращение 10-метилтетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат [271]. Генетические дефекты, приводящие к недостаточности ферментов, ответственных за метаболизм этой аминокислоты, относятся к одной из причин увеличения содержания гомоцистеина в плазме крови. Ген MTHFR локализован на хромосоме 1p36.3 [58]. На сегодняшний день в гене, кодирующем выработку указанного вещества, описано более 40 SNP [324]. Полиморфизм A1298C гена MTHFR является вторым по распространённости [41].

#### 1.3.4 Резюме

Таким образом, высокие темпы заболеваемости синдромом диабетической стопы, имеющим высокую социальную значимость, недостаточная эффективность имеющихся методов лечения данной патологии свидетельствуют о наличии пробелов в понимании механизмов развития указанного осложнения сахарного диабета и требуют поиска новых путей решения. Современный научный подход, основанный на поиске генов, ассоциированных с развитием заболеваний, позволяет существенно расширить представления о механизмах патогенеза,

профилактике и лечении. В доступной литературе имеются единичные, разрозненные сведения о изучении частоты полиморфизмов генов, вклада генетического аспекта в развитие синдрома диабетической стопы, их воздействия на молекулярном и клеточном уровнях.

В связи с вышеизложенным, расширение сведений о патогенезе синдрома диабетической стопы, поиск генов-кандидатов, участвующих в развитии данной патологии, изучение частоты генетических полиморфизмов, механизмов действия генов, является перспективным направлением в теоретическом и практическом отношении. Исследование механизмов развития указанного осложнения сахарного диабета на молекулярном, клеточном и молекулярно-генетическом уровнях в комплексе даст возможность расшифровать не только неизвестные ранее патогенетические механизмы, но и может способствовать возможности персонального тестирования пациентов с сахарным диабетом на предрасположенность к развитию синдрома диабетической стопы и проведению профилактических мероприятий по предотвращению развития данной патологии.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, в редакции 2013 года, изменения внесены на 64-й Генеральной Асамблее ВМАЮ, Форталеза, Бразилия, октябрь 2013 года) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 года.

Диссертационное исследование одобрено в локальном этическом комитете ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России 06.11.2015 года, протокол № 74.

Исследования проводились в период с января 2016 года по май 2019 года в НИИ «Молекулярной медицины» (в лаборатории молекулярной генетики и лаборатории экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии) ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (ректор – д.м.н., профессор Н.В. Ларева). Набор клинического материала осуществлялся на базе отделений ГУЗ «Городская клиническая больница № 1» Министерства здравоохранения Забайкальского края (главный врач – Ф.Р. Чепцов). Набор клинической группы осуществлялся по результатам диспансеризации на базе поликлинического подразделения.

### 2.1 Дизайн исследования

Структура настоящего исследования состояла из трех этапов, включающих оценку состояния микроциркуляторного русла, определение уровня биологически активных веществ, влияющих на состояние микроциркуляции и выявление частоты носительства полиморфизмов генов регуляции сосудистого тонуса, рецепторов

тромбоцитов, ремоделирования сосудистой стенки и протромботических факторов.

На первом этапе исследования нами было сформированы 3 группы исследуемых, у которых методом лазерной доплеровской флоуметрии изучалось состояние микроциркуляторного русла в трех точках – на 1 пальце стопы, в 1 межплюсневом промежутке на тыле стопы и на предплечье.

Для решения поставленной задачи были сформированы следующие группы исследуемых:

1. Группа больных с синдромом диабетической стопы – включала 30 пациентов с сахарным диабетом 2 типа и нейроишемической формой синдрома диабетической стопы (15 (50%) мужчин и 15 (50%) женщин). Средний возраст обследованных пациентов составил  $63,2 \pm 5,0$  лет. Диагноз сахарный диабет с синдромом диабетической стопы был выставлен на основании критериев ВОЗ и действующих на момент обследования клинических рекомендаций «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом», утвержденных Минздравом России (2017 г.) [2].

2. Группа больных сахарным диабетом без синдрома диабетической стопы – включала 30 пациентов с сахарным диабетом 2 типа без синдрома диабетической стопы (15 (50%) мужчин и 15 (50%) женщин). Средний возраст больных составил  $63,4 \pm 5,0$  лет. Диагноз сахарный диабет был выставлен на основании критериев ВОЗ и действующих на момент обследования клинических рекомендаций «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом», утвержденных Минздравом России (2017 г.) [2].

3. Группу контроля составили 30 человек, не имеющих острых и обострения хронических заболеваний, нарушения углеводного обмена, из которых было 15 (50%) мужчины и 15 (50%) женщины. Средний возраст обследованных составил  $63,1 \pm 4,1$  лет.

Все включенные в исследование подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Включенные в исследование пациенты были сопоставимы

по полу, возрасту, стажу болезни, получаемой терапии основного заболевания и сопутствующей патологии, уровню гликированного гемоглобина и не имели других осложнений сахарного диабета 2 типа, острых и обострения хронических заболеваний.

Критериями включения в группу больных с синдромом диабетической стопы являлись:

- 1) подписанное информированное согласие;
- 2) наличие подтвержденного диагноза: Сахарный диабет, 2 тип;
- 3) наличие нейроишемической формы синдрома диабетической стопы.

Критериями включения в группу больных с неосложненным течением сахарного диабета являлись:

- 1) подписанное информированное согласие;
- 2) наличие подтвержденного диагноза: Сахарный диабет, 2 тип.

Критериями исключения из групп больных различными вариантами течения сахарного диабета являлись:

- 1) возраст моложе 40 лет и старше 75 лет;
- 2) отсутствие нарушений углеводного обмена;
- 3) другие осложнения сахарного диабета;
- 4) сердечно-сосудистая патология IIб – III ст.;
- 5) дыхательная недостаточность III ст.;
- 6) органическое поражение центральной нервной системы.;
- 7) острое нарушение мозгового кровообращения и инфаркт миокарда в первые 6 месяцев после развития;
- 8) тяжелое нарушение функции печени;
- 9) хроническая болезнь почек IV-V ст.;
- 10) злокачественные новообразования;
- 11) ожирение III ст.;
- 12) хронические заболевания в стадии обострения.

Критериями включения в контрольную группу являлись:

1) считающие себя относительно здоровыми лица;  
 2) отсутствие объективных признаков острых или обострения хронических заболеваний;

3) отсутствие нарушений углеводного обмена.

Критериями исключения из группы контроля являлись:

- 1) возраст моложе 40 лет и старше 75 лет;
- 2) беременность;
- 3) злокачественные новообразования;
- 4) острые заболевания и хронические в стадии обострения на момент включения в группу;
- 5) органическое поражение центральной нервной системы;
- 6) острое нарушение мозгового кровообращения и инфаркт миокарда в первые 6 месяцев после развития;
- 7) ожирение III ст.

Подробные характеристики обследуемых пациентов представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Характеристика пациентов с разными вариантами течения сахарного диабета 2 типа**

Показатель, Ед	Пациенты с неосложнённым течением сахарного диабета (n = 30)	Пациенты с синдромом диабетической стопы (n = 30)	p
Возраст, лет	63,4 (60,5; 71,3)	63,1 (61,2; 71,9)	0,423
Число мужчин, n (%)	15 (50%)	15 (50%)	0,631
Число женщин, n (%)	15 (50%)	15 (50%)	0,670
Стаж заболевания, лет	5,0 (4,0; 7,0)	5,0 (4,2; 7,2)	0,537
Гликированный гемоглобин, HbA1c, %	8,0 (7,1; 8,9)	8,0 (7,4; 9)	0,781

*Примечание:* n – количество обследованных, p – уровень значимости между группами.

Вторым этапом исследования в отобранных для исследования микроциркуляторного русла группах нами изучался уровень содержания маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9 и гомоцистеина.

Третьим этапом исследования в группах больных с синдромом диабетической стопы и неосложненным течением сахарного диабета, группе контроля определялась частота носительства исследуемых полиморфизмов генов.

Для решения поставленной задачи были сформированы 3 группы исследуемых:

1. Группа больных с синдромом диабетической стопы – включала 199 пациентов с сахарным диабетом 2 типа и нейроишемической формой синдрома диабетической стопы (63 (31,7%) мужчин и 136 (68,3%) женщин). Средний возраст составил  $66,1 \pm 7,0$  лет. Диагноз сахарный диабет с синдромом диабетической стопы был выставлен на основании критериев ВОЗ и действующих на момент обследования клинических рекомендаций «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом», утвержденных Минздравом России (2017 г.) [2].

2. Группа больных сахарным диабетом без синдрома диабетической стопы – включала 198 пациентов с сахарным диабетом 2 типа без синдрома диабетической стопы (68 (34,3%) мужчин и 130 (65,7%) женщин). Средний возраст больных составил  $65,4 \pm 6,8$  лет. Диагноз сахарный диабет был выставлен на основании критериев ВОЗ и действующих на момент обследования клинических рекомендаций «Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом», утвержденных Минздравом России (2017 г.) [2].

3. Группу контроля составили 100 человек (53 (53%) мужчины и 47 (47%) женщины). Средний возраст обследованных составил  $60,8 \pm 2,1$  лет.

Все включенные в исследование подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Включенные в исследование пациенты были сопоставимы по получаемой терапии.

Критериями включения в группу больных с синдромом диабетической стопы являлись:

- 1) подписанное информированное согласие;
- 2) наличие подтвержденного диагноза: Сахарный диабет, 2 тип;
- 3) наличие нейроишемической формы синдрома диабетической стопы.

Критериями включения в группу больных с неосложненным течением сахарного диабета являлись:

- 1) подписанное информированное согласие;
- 2) наличие подтвержденного диагноза: Сахарный диабет, 2 тип.

Критериями исключения из групп больных с различными вариантами течения сахарного диабета являлись:

- 1) возраст моложе 40 лет и старше 75 лет;
- 2) отсутствие нарушений углеводного обмена;
- 3) другие осложнения сахарного диабета тяжелой степени;
- 4) сердечно-сосудистая патология IIб – III ст.;
- 5) дыхательная недостаточность III ст.;
- 6) органическое поражение центральной нервной системы;
- 7) острое нарушение мозгового кровообращения и инфаркт миокарда в первые 6 месяцев после развития;
- 8) тяжелое нарушение функции печени;
- 9) хроническая болезнь почек IV - V ст.;
- 10) злокачественные новообразования;
- 11) ожирение III ст.;
- 12) хронические заболевания в стадии обострения.

Критериями включения в контрольную группу являлись:

- 1) считающие себя относительно здоровыми лица;



2) отсутствие объективных признаков острых или обострения хронических заболеваний;

3) отсутствие нарушений углеводного обмена.

Критериями исключения из группы контроля являлись:

1) возраст моложе 40 лет и старше 75 лет;

2) беременность;

3) злокачественные новообразования;

4) острые заболевания и хронические в стадии обострения на момент включения в группу;

5) органическое поражение центральной нервной системы;

6) острое нарушение мозгового кровообращения и инфаркт миокарда в первые 6 месяцев после развития;

7) Ожирение III ст.

Подробные характеристики обследуемых пациентов представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Характеристика пациентов с сахарным диабетом без диабетической стопы и с указанным осложнением сахарного диабета**

Показатель, Ед	Пациенты с неосложненным течением сахарного диабета (n = 198)	Пациенты с синдромом диабетической стопы (n = 199)	p
Возраст, лет	66 (60; 70)	66 (61; 73)	0,322
Число мужчин, n (%)	68 (34,3%)	63 (31,7%)	0,570
Число женщин, n (%)	130 (65,7%)	136 (68,3%)	0,570
Стаж заболевания, лет	5,9 (5; 7,65)	10,0 (7,6; 11,9)	<b>&gt;0,001</b>
Гликированный гемоглобин, HbA1c, %	8,0 (7,4; 8,3)	8,7 (8,4; 9)	<b>&gt;0,001</b>

Диабетическая ангиоретинопатия, n (%)	75 (37,9%)	89 (44,7%)	0,154
Диабетическая нефропатия, n (%)	70 (35,3%)	83 (41,9%)	0,194

*Примечание:* n – количество обследованных, p – уровень значимости между группами. Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Схема дизайна исследования представлена на рисунке 1.

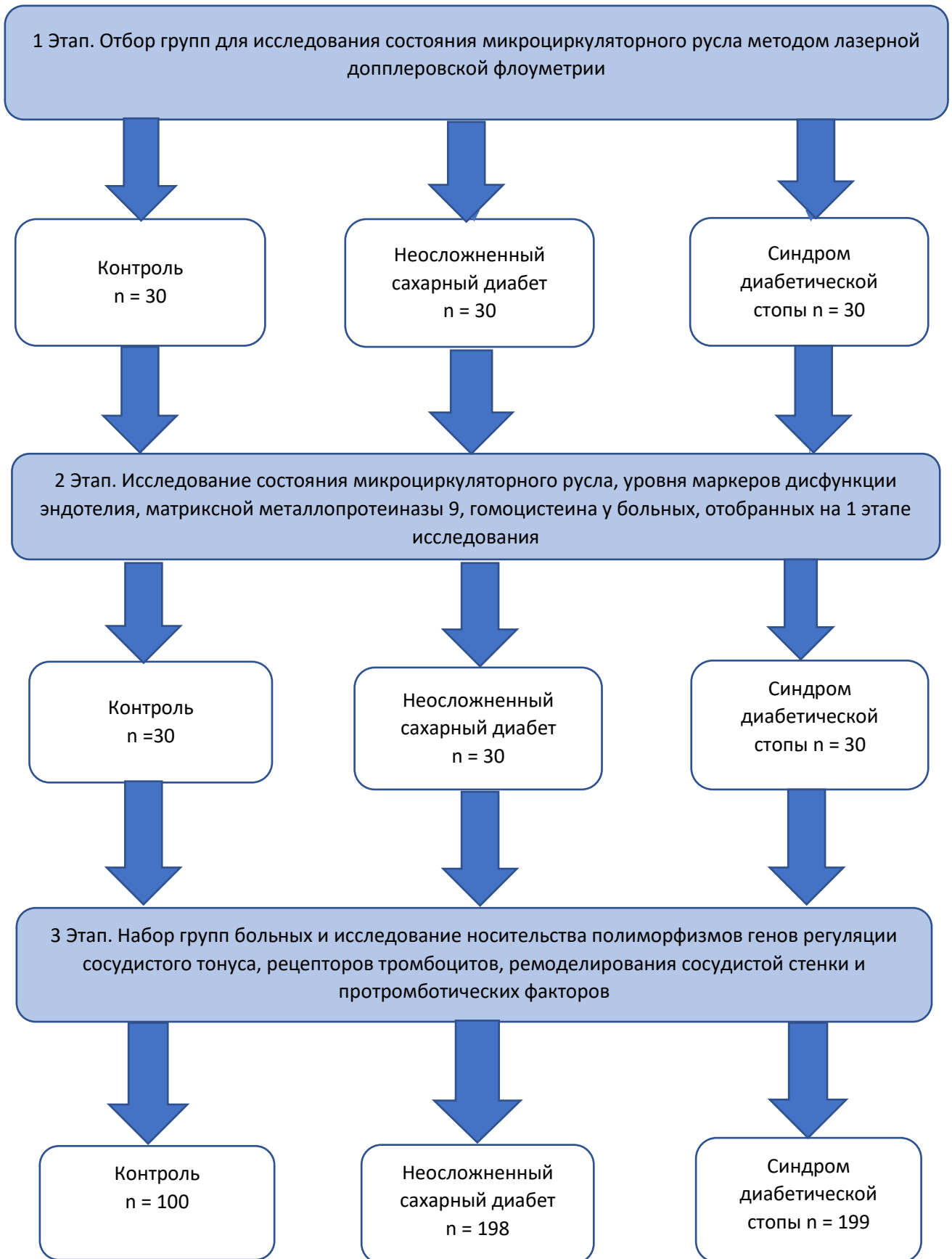


Рисунок 1. Дизайн исследования

### 2.1.1 Характеристика группы больных с синдромом диабетической стопы

Методом сплошной выборки в исследование были включены пациенты (63 (31,7%) мужчины и 136 (68,3%) женщин), доставленные в отделение гнойной хирургии ГУЗ «Городская клиническая больница № 1».

В отделении гнойной хирургии все пациенты были консультированы эндокринологом или терапевтом. Стаж заболевания сахарным диабетом в группе обследованных пациентов составил 10,0 лет. Показатель гликированного гемоглобина составил 8,7%. У пациентов данной группы не был достигнут целевой уровень гликированного гемоглобина.

Включенные в исследование пациенты не имели критического уровня поражения сосудов по данным УЗДГ сосудов нижних конечностей.

Диабетическая ангиоретинопатия наблюдалась у 89 пациентов. Диабетическая нефропатия была зарегистрирована у 83 больных.

Среди сопутствующих заболеваний у пациентов были зарегистрированы: артериальная гипертензия I–II ст., стенокардия напряжения I–III ф. к., хроническая обструктивная болезнь легких вне обострения, хронический пиелонефрит вне обострения, хронический панкреатит вне обострения (таблица 3).

Таблица 3

#### Наиболее часто встречаемые сопутствующие заболевания у пациентов с синдромом диабетической стопы, абс. (%) (n = 199)

Заболевания	Количество зарегистрированных случаев (абс.)	Количество зарегистрированных случаев (%)
Артериальная гипертензия I–II ст.	182	91,5
Стенокардия напряжения I–III ф. к.	167	83,9
Хроническая обструктивная болезнь легких вне обострения	47	23,6
Хронический пиелонефрит вне обострения	36	18,1

Хронический панкреатит вне обострения	32	16,1
---------------------------------------	----	------

У всех пациентов в данной группе имелись трофические язвы на стопе, наиболее часто локализующиеся на подошвенной поверхности стопы и пальцах (таблица 4).

Таблица 4

**Локализация язвенного дефекта у пациентов с синдромом  
диабетической стопы, абс. (%) (n = 199)**

Локализация язвы	Пальцы стопы	Пяточная область	Подошвенная поверхность	Тыл стопы	Культя стопы
Количество пациентов	92 (46,2%)	13 (6,5%)	66 (33,2%)	24 (12,1%)	4 (2%)

Язвенные дефекты на стопах соответствовали 1 и 2 степени классификации по Wagner F.W. (1979 г).

Распределение пациентов по площади раневого дефекта представлено в таблице 5. Наиболее часто язвенные дефекты были площадью до 5 см<sup>2</sup>.

Таблица 5

**Площадь язвенного дефекта у пациентов с синдромом диабетической  
стопы, абс. (%) (n = 199)**

Площадь язвенного дефекта (см <sup>2</sup> )	1–5	6–10	11–15
Количество пациентов	132 (66,3%)	28 (14,1%)	39 (19,6%)

## 2.1.2 Характеристика группы больных без синдрома диабетической стопы

Методом сплошной выборки в исследование были включены пациенты (68 (34,3%) мужчин и 130 (65,7%) женщин), доставленных в отделения ГУЗ «Городская клиническая больница № 1».

Все пациенты были осмотрены эндокринологом или терапевтом. Средний стаж заболевания сахарным диабетом составил  $6,1 \pm 1,7$  лет. Уровень гликированного гемоглобина составил 8,0%. У 60% пациентов данной группы был достигнут целевой уровень гликированного гемоглобина, у 40% целевые показатели гликированного гемоглобина достигнуты не были по объективным причинам.

Включенные в исследование пациенты не имели критического уровня поражения сосудов по данным УЗДГ сосудов нижних конечностей.

Диабетическая ангиоретинопатия наблюдалась у 75 пациентов. Диабетическая нефропатия была зарегистрирована у 70 больных.

Среди сопутствующих заболеваний у пациентов были зарегистрированы артериальная гипертензия I–II ст., стенокардия напряжения I–III ф. к., хроническая обструктивная болезнь легких вне обострения, хронический пиелонефрит вне обострения, хронический гастрит вне обострения (таблица 6).

Таблица 6

### Наиболее часто встречаемые сопутствующие заболевания у пациентов без синдрома диабетической стопы, абс. (%) (n = 198)

Заболевания	Количество зарегистрированных случаев (абс.)	Количество зарегистрированных случаев (%)
Артериальная гипертензия I–II ст.	178	89,9
Стенокардия напряжения I–III ф. к.	147	74,2
Хроническая обструктивная болезнь легких вне обострения	35	17,7

Хронический пиелонефрит вне обострения	29	14,6
Хронический гастрит вне обострения	45	22,7

### **2.1.3 Характеристика группы контроля**

В контрольную группу (группу сравнения) вошли 100 человек, из них 53 (53%) мужчины и 43 (43%) женщины, проживающие в г. Чите и считающие себя относительно здоровыми. На момент обследования в данной группе не было выявлено острых заболеваний или обострения хронических патологий. Средний возраст резидентов контрольной группы составил  $60,8 \pm 2,1$  лет.

## 2.2 Методы исследования

### 2.2.1 Молекулярно-генетические исследования

Материалом для молекулярно-генетического анализа служили образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов периферической венозной крови. Выделение ДНК осуществлялось из цельной крови пациентов с синдромом диабетической стопы и неосложненным течением сахарного диабета при помощи реагента «Проба Репид» производства ООО «ДНК-Технология» (г. Москва) согласно инструкции производителя.

Для анализа полиморфизма генов использовался метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с применением Амплификатора «ДТ-96», произведенного ЗАО «НПФ ДНК-Технология», г. Москва.

Использовались наборы реагентов (ООО Научно-производственная фирма «Литех», г. Москва). Полученные результаты трактовали согласно инструкции производителя.

Нами были выбраны 8 SPN генов, потенциально значимых, на наш взгляд, в патогенезе развития диабетической стопы (таблица 7). Мы сгруппировали эти варианты по наибольшему влиянию на ту функцию, нарушение которой может быть фактором риска развития указанного осложнения сахарного диабета, условно сформировав несколько групп.

Таблица 7

#### Характеристика изучаемых генетических полиморфизмов

№	Ген	Локус	SPN ID	Замена	Производитель наборов
I. Генетические полиморфизмы, ассоциированные с дисфункцией эндотелия					
1.	eNOS	7q35-q36	rs2070744	786C>T	НПФ «Литех»
2.	END1	6	rs5370	9272G>T (Lys198Asn)	НПФ «Литех»



II. Генетический полиморфизм, ассоциированный с рецепторами тромбоцитов					
3.	ITGB3	17q21.32	rs5918	1565T>C (Leu33Pro)	НПФ «Литех»
III. Генетические полиморфизмы, ассоциированные с протромботическими факторами					
4.	F2	11p11-q12	11p11-q12	20210 G>A	НПФ «Литех»
5.	F5	1q23	1q24	1691G>A (Arg506Gln)	НПФ «Литех»
IV. Генетические полиморфизмы, ассоциированные с ремоделированием сосудистой стенки					
6.	MMP9	20q11.2-13.1	rs11697325	8202 A>G	НПФ «Литех»
7.	VEGFA	6p21.3	rs13450612	2578A>C	НПФ «Литех»
V. Генетический полиморфизм, ассоциированный с нарушением обмена гомоцистеина					
8.	MTHFR	1p36.3	rs1801131	1298A>C (Glu429Ala)	НПФ «Литех»

### 2.2.2 Лазерная доплеровская флоуметрия

Состояние микроциркуляторного русла исследовано методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). В основе указанной методики лежит использование зондирования тканей лазерным излучением с известной длиной волны [138].

В связи с параметрами волны слой зондирования тканей может содержать артериолы, метартериолы, капилляры, посткапиллярные венулы, венулы и артериоло-венулярные анастомозы [39].

Амплитуда отраженного сигнала формируется в результате отражения излучения от совокупности эритроцитов, движущихся с разными скоростями в различных сосудах. Далее в методе ЛДФ применяется алгоритм усреднения, который позволяет получить средний доплеровский сдвиг частоты по всей совокупности эритроцитов, попадающих в зондируемую область [138].

Динамика величины показателей микроциркуляции определяется вариациями диаметров просветов сосудов во времени, которые контролируются активными механизмами и пассивными факторами в системе микроциркуляции [34]. Объектом приложения активных факторов контроля является мышечный компонент сосудистой стенки. Пассивные факторы также влияют на сосудистую стенку посредством колебаний кровотока [117].

Установленные колебания кровотока обрабатываются путем вейвлет-преобразования. В результате рассчитываются максимальные амплитуды колебаний в эндотелиальном, нейрогенном, миогенном, дыхательном и пульсовом диапазоне [77].

С целью изучения сосудистого тонуса проводили запись осцилляций кровотока на аппарате ЛАКК-02 (НПП «Лазма», Россия). Обследование людей проводилось с соблюдением стандартных условий для методики ЛДФ.

Исследования проводились в одно и то же время суток. Перед исследованиями пациенты и здоровые люди не принимали пищу или напитки, изменяющие состояние микроциркуляции, не курили.

При тестировании все обследуемые находились в положении лежа. Исследования проводились при одинаковой температуре в помещении: +22 - 24°C. В течение 15 минут до начала диагностики испытуемые находились в спокойном состоянии.

Исследование микроциркуляции в отдаленной точке осуществляли в точке на нижней трети предплечья, локализованной по средней линии на 4 см выше шиловидных отростков локтевой и лучевой костей, локальную микроциркуляцию оценивали в точках на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке и на подошвенной поверхности 1 пальца стопы. ЛДФ-граммы регистрировались в течение 7–10 минут. Оценивались: показатель микроциркуляции (ПМ), характеризующий поток эритроцитов в единицу времени через единицу объема ткани; среднеквадратичное отклонение колебаний кровотока ( $\sigma$ ); коэффициент вариации ( $Kv$ ), отражающий соотношение между перфузией ткани и величиной ее изменчивости; индекс эффективности микроциркуляции (ИЭМ), который отражает соотношение активных и пассивных механизмов в регуляции кровотока по микрососудам. Перечисленные показатели измеряли в перфузионных единицах (пф. ед.). С помощью вейвлет-анализа устанавливались показатель шунтирования (ПШ), миогенный тонус (МТ), нейрогенный тонус (НТ), а также максимальные амплитуды: эндотелиального, нейрогенного, миогенного, дыхательного и сосудистого диапазонов (Аэ, Ан, Ам, Ад, Ас).

### 2.2.3 Иммуноферментные и биохимические методы

Методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА-ридер «Expert 96», ACSY, Великобритания) в сыворотке крови определяли концентрацию эндотелина (1-21) с использованием набора реагентов «Biomedica Group» (Австрия); матриксной металлопротеиназы 9 с помощью реагентов производства «RnD Systems» (США), гомоцистеина с применением реагентов «ACSY» (Великобритания). Биохимическим методом оценивали уровень нитрита (NO<sub>2</sub>-), нитрата (NO<sub>3</sub>-) и общего нитрита (NO<sub>2</sub>-/NO<sub>3</sub>-) в сыворотке крови с применением реактивов фирмы «RnD Systems» (США). Определение содержания в сыворотке крови вышеуказанных веществ проводили согласно инструкциям производителя. Количественное содержание эндотелина-1 выражали в фмоль/л; нитрита, нитрата и общего нитрита, гомоцистеина - в мкмоль/л, матриксной металлопротеиназы-9 в нг/мл.

### 2.3 Методы статистической обработки результатов

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0». Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений, процентных долей, десятичной доли единицы. Оценка статистической значимости различий показателей исследования проводилась за счет построения произвольной таблицы сопряженности с использованием критерия хи-квадрат Пирсона. Зависимость относительных показателей оценивалась путем сравнения полученного значения критерия хи-квадрат с критическим (определяло уровень значимости  $p$ ). Учитывая наличие результативных и факторных признаков, проспективный анализ исследования, оценка значимости различий показателей проводилась за счет определения отношения шансов (OR). Статистическая значимость относительного риска оценивалась, исходя из значений 95% доверительного интервала (95% CI). Значение уровня двухсторонней значимости  $p < 0,05$  рассматривалось как статистически значимое.

Оценка нормальности распределения проводилась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Критерий Шапиро-Уилка в данной ситуации является наиболее эффективным, так как он обладает наибольшей мощностью по сравнению с альтернативными критериями. Полученные данные представлены в виде медианы и интерквартильного интервала (Me (25%; 75%)). Для более точного описания наблюдаемых тенденций при сравнении групп попарно использован критерий Манна-Уитни с применением поправки Бонферрони при оценке значения  $p$ . Статистически значимые отличия считались при  $p \leq 0,05$ .

Для определения степени параллелизма выполнялся корреляционный анализ с определением непараметрического коэффициента корреляции Спирмена ( $\rho$ ), его доверительного интервала (95% CI). Сила связи и ее направление определялись по

шкале Чеддока. Значение уровня  $p < 0,05$  рассматривалось как статистически значимое.

Связь различных сочетаний генотипов полиморфизмов исследуемых генов с развитием синдрома диабетической стопы оценивалась на основании проведения бинарного логистического регрессионного анализа.

Разработка прогностических моделей выполнялась на основании уравнения нелинейной регрессии. Оценка эффективности указанных моделей проводилась на основании площади под ROC-кривой.

Использовалась тестовая база данных, лежащая в основе обучения многослойного персептрона и включающая исследованные параметры. Информативность персептрона оценивалась путем ROC-анализа.

### **ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ У БОЛЬНЫХ С РАЗВИТИЕМ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**

#### **3.1. Состояние микроциркуляторного русла среди здоровых лиц, больных неосложненным сахарным диабетом и синдромом диабетической стопы**

В патогенезе синдрома диабетической стопы существенную роль играет развитие микроциркуляторных изменений, что отмечено рядом авторов [78, 105, 119].

Состояние микроциркуляторного русла оценивалось у 30 здоровых лиц, 30 пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и 30 больных с развитием синдрома диабетической стопы в 3 точках. Исследование микроциркуляторных изменений в отдаленной области осуществляли в точке на нижней трети предплечья, расположенной по срединной линии на 4 см выше основания шиловидных отростков локтевой и лучевой кости, локальные нарушения микроциркуляции определяли в точках на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке и на подошвенной поверхности 1 пальца стопы.

#### **3.2. Изменения состояния микроциркуляторного русла в точке на нижней трети предплечья при развитии синдрома диабетической стопы**

Нами проведено исследование состояния микроциркуляции в отдаленной точке на предплечье в группе контроля и у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета. Полученные данные представлены в таблице 8.

При анализе полученных данных нами выявлены значимые различия ИЭМ у здоровых лиц и пациентов с неосложненным течением сахарного диабета. Данный

показатель был ниже в 1,2 раза в группе больных и составил 1,24 ( $p = 0,025$ ). Значимых отличий между остальными изучаемыми показателями микроциркуляции в исследуемых группах нами выявлено не было.

Таблица 8

**Показатели микроциркуляции у здоровых лиц и при неосложненном течении сахарного диабета в точке на предплечье (Ме (25-й; 75-й))**

Показатели	Контроль n = 30	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n = 30	Критерии Манна- Уитни
ПМ, пф. ед.	4,96 (4,39; 5,89)	4,9 (3,69; 5,77)	$p = 0,271$
$\sigma$ , пф. ед	1,14 (0,81; 1,4)	1,13 (0,74; 1,47)	$p = 0,796$
Кv, %	23,78 (17,91; 30,23)	23,48 (14,57; 33,99)	$p = 0,657$
ИЭМ	1,44 (1,25; 1,7)	1,24 (1,04; 1,58)	<b><math>p = 0,025</math></b>
Аэ, пф. ед	0,49 (0,39; 0,88)	0,36 (0,3; 0,6)	$p = 0,096$
Ан, пф. ед	0,51 (0,38; 0,72)	0,54 (0,29; 0,68)	$p = 0,237$
Ам, пф. ед	0,48 (0,37; 0,65)	0,39 (0,29; 0,62)	$p = 0,075$
Ад, пф. ед	0,29 (0,23; 0,39)	0,28 (0,19; 0,42)	$p = 0,274$
Ас, пф. ед	0,18 (0,14; 0,25)	0,21 (0,17; 0,29)	$p = 0,122$
МТ	2,32 (1,97; 2,64)	2,44 (2,03; 3,27)	$p = 0,212$
ПШ	1,07 (0,93; 1,14)	1,14 (0,92; 1,39)	$p = 0,209$
НТ	2,1 (1,78; 2,64)	2,15 (1,89; 2,72)	$p = 0,595$

*Примечание:* n – число обследованных; p – уровень значимости различий между группами; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Нами проанализированы значения показателей микроциркуляции в контрольной группе и в группе с развитием синдрома диабетической стопы. Полученные данные представлены в таблице 9.



Согласно полученным данным, установлено, что значение ПМ было ниже в группе с развитием диабетической стопы в 1,4 раза относительно аналогичного показателя в группе контроля ( $p = 0,003$ ). Параметр  $\sigma$  в группе с диабетической стопой был ниже в 1,6 раза относительно группы контроля ( $p = 0,003$ ).

Таблица 9

**Показатели микроциркуляции у здоровых лиц и при синдроме диабетической стопы в точке на предплечье (Ме (25-й; 75-й))**

Показатели	Контроль n = 30	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	Критерии Манна- Уитни
ПМ, пф. ед.	4,96 (4,39; 5,89)	3,59 (2,88; 5,01)	<b>p = 0,003</b>
$\sigma$ , пф. ед	1,14 (0,81; 1,4)	0,73 (0,61; 0,97)	<b>p = 0,003</b>
Kv, %	23,78 (17,91; 30,23)	21,1 (14,8; 34,2)	p = 0,762
ИЭМ	1,44 (1,25; 1,7)	1,43 (1,2; 1,7)	p = 0,836
Аэ, пф. ед	0,49 (0,39; 0,88)	0,34 (0,21; 0,61)	<b>p = 0,03</b>
Ан, пф. ед	0,51 (0,38; 0,72)	0,35 (0,23; 0,52)	<b>p = 0,002</b>
Ам, пф. ед	0,48 (0,37; 0,65)	0,29 (0,21; 0,43)	<b>p &lt; 0,001</b>
Ад, пф. ед	0,29 (0,23; 0,39)	0,18 (0,13; 0,26)	<b>p &lt; 0,001</b>
Ас, пф. ед	0,18 (0,14; 0,25)	0,15 (0,11; 0,25)	p = 0,113
МТ	2,32 (1,97; 2,64)	2,57 (2,12; 3,01)	<b>p = 0,041</b>
ПШ	1,07 (0,93; 1,14)	1,12 (0,96; 1,33)	p = 0,075
НТ	2,1 (1,78; 2,64)	2,18 (1,93; 2,56)	p = 0,865

*Примечание:* n – число обследованных; p – уровень значимости различий между группами; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

При анализе значений амплитуд осцилляций кровотока установлено, что значение Аэ в группе больных с развитием диабетической стопы было ниже в 1,4 раза по сравнению с группой контроля ( $p = 0,03$ ). Уровень Ан у пациентов с

диабетической стопой был в 1,5 раза ниже относительно данного показателя у здоровых лиц ( $p = 0,002$ ). Значение Ам при развитии синдрома диабетической стопы было ниже в 1,6 раза относительно здоровых лиц ( $p < 0,001$ ). Уровень Ад у больных осложненным сахарным диабетом составил 0,18 пф. ед, что было ниже аналогичного показателя в контрольной группе в 1,6 раза ( $p < 0,001$ ).

Установлено, что показатель МТ при развитии синдрома диабетической стопы был выше, чем в группе контроля и составил 2,57 ( $p = 0,041$ ).

Полученные нами данные о состоянии показателей микроциркуляторного русла у пациентов с различным течением сахарного диабета представлены в таблице 10.

Таблица 10

**Показатели микроциркуляции при различных вариантах течения сахарного диабета в точке на нижней трети предплечья (Ме (25-й; 75-й))**

Показатели	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n = 30	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	Критерии Манна-Уитни
ПМ, пф. ед.	4,9 (3,69; 5,77)	3,59 (2,88; 5,01)	<b>p = 0,031</b>
σ, пф. ед	1,13 (0,74; 1,47)	0,73 (0,61; 0,97)	<b>p = 0,001</b>
Кv, %	23,48 (14,57; 33,99)	21,1 (14,8; 34,2)	p = 0,637
ИЭМ	1,24 (1,04; 1,58)	1,43 (1,2; 1,7)	p = 0,053
Аэ, пф. ед	0,36 (0,3; 0,6)	0,34 (0,21; 0,61)	p = 0,629
Ан, пф. ед	0,54 (0,29; 0,68)	0,35 (0,23; 0,52)	<b>p = 0,028</b>
Ам, пф. ед	0,39 (0,29; 0,62)	0,29 (0,21; 0,43)	<b>p = 0,026</b>
Ад, пф. ед	0,28 (0,19; 0,42)	0,18 (0,13; 0,26)	<b>p = 0,013</b>
Ас, пф. ед	0,21 (0,17; 0,29)	0,15 (0,11; 0,25)	<b>p = 0,014</b>
МТ	2,44 (2,03; 3,27)	2,57 (2,12; 3,01)	p = 0,976
ПШ	1,14 (0,92; 1,39)	1,12 (0,96; 1,33)	p = 0,891

НТ	2,15 (1,89; 2,72)	2,18 (1,93; 2,56)	$p = 0,767$
----	-------------------	-------------------	-------------

*Примечание:* n – число обследованных; p – уровень значимости различий между группами; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Установлено, что значение ПМ при синдроме диабетической стопы ниже, чем при неосложненном сахарном диабете в 1,4 раза в точке на предплечье ( $p = 0,031$ ). Значение показателя  $\sigma$  при синдроме диабетической стопы было достоверно ниже, чем при сахарном диабете в 1,6 раза ( $p = 0,001$ ).

По полученным нами данным, выявлены статистически значимые различия между показателями  $A_n$ ,  $A_m$ ,  $A_d$ ,  $A_c$  в группах. У пациентов с синдромом диабетической стопы отмечалось снижение значений  $A_n$ ,  $A_m$ ,  $A_d$ ,  $A_c$  по сравнению с неосложненным течением сахарного диабета в 1,5, 1,3, 1,5 и 1,4 раза соответственно ( $p = 0,028$ ,  $p = 0,026$ ,  $p = 0,013$ ,  $p = 0,014$ ) [129].

### 3.3 Изменения состояния микроциркуляторного русла в точке на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке при развитии синдрома диабетической стопы

Нами проанализированы показатели микроциркуляторного русла у здоровых лиц, пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и среди больных с синдромом диабетической стопы в точке на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке. Полученные данные представлены в таблицах 11, 12, 13.

При анализе значений показателей микроциркуляторного русла у больных неосложненным сахарным диабетом и в контрольной группе выявлены значимые отличия показателя Аэ ( $p = 0,004$ ). Значение Аэ в группе больных сахарным диабетом без осложнений было ниже в 1,3 раза и составило 0,27 пф. ед. Значимых отличий между уровнями других исследуемых показателей в сравниваемых группах зарегистрировано не было.

Таблица 11

#### Показатели микроциркуляции у здоровых лиц и при неосложненном течении сахарного диабета в точке на стопе (Ме (25-й; 75-й))

Показатели	Контроль n = 30	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n = 30	Критерии Манна- Уитни
ПМ, пф. ед.	3,83 (3,17; 4,62)	3,52 (2,36; 4,23)	$p = 0,107$
$\sigma$ , пф. ед	1,0 (0,68; 1,21)	0,72 (0,45; 1,16)	$p = 0,056$
Кv, %	21,5 (16,97; 30,62)	20,51 (15,69; 32,75)	$p = 0,145$
ИЭМ	1,34 (1,1; 1,46)	1,28 (1,06; 1,62)	$p = 0,425$
Аэ, пф. ед	0,35 (0,28; 0,52)	0,27 (0,18; 0,46)	<b><math>p = 0,004</math></b>
Ан, пф. ед	0,42 (0,3; 0,62)	0,3 (0,2; 0,52)	$p = 0,333$

Ам, пф. ед	0,4 (0,27; 0,57)	0,3 (0,21; 0,5)	p = 0,249
Ад, пф. ед	0,27 (0,19; 0,42)	0,21 (0,15; 0,4)	p = 0,252
Ас, пф. ед	0,18 (0,13; 0,27)	0,51 (0,11; 0,23)	p = 0,947
МТ	2,3 (1,9; 2,8)	2,4 (2,04; 2,8)	p = 0,058
ПШ	1,01 (0,92; 1,25)	1,06 (0,96; 1,25)	p = 0,186
НТ	2,15 (1,94; 2,46)	2,27 (1,88; 2,53)	p = 0,473

*Примечание:* n – число обследованных; p – уровень значимости различий между группами; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Нами проанализированы показатели микроциркуляторного русла в точке на стопе в контрольной группе и у пациентов с развитием диабетической стопы. По полученным данным, значение ПМ при развитии синдрома диабетической стопы было ниже в 2 раза, чем аналогичный показатель в контрольной группе ( $p < 0,001$ ). Уровень  $\sigma$  при развитии диабетической стопы составил 0,85 пф. ед и был ниже в 1,2 раза показателя в группе контроля ( $p < 0,001$ ).

Таблица 12

**Показатели микроциркуляции у здоровых лиц и при осложненном течении сахарного диабета в точке на стопе (Ме (25-й; 75-й))**

Показатели	Контроль n = 30	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	Критерии Манна- Уитни
ПМ, пф. ед.	3,83 (3,17; 4,62)	1,94 (1,45; 2,88)	<b>p &lt; 0,001</b>
$\sigma$ , пф. ед	1,0 (0,68; 1,21)	0,85 (0,41; 1,12)	<b>p &lt; 0,001</b>
Kv, %	21,5 (16,97; 30,62)	34,3 (23,61; 62,82)	p = 0,119
ИЭМ	1,34 (1,1; 1,46)	1,33 (0,98; 1,6)	p = 0,329
Аэ, пф. ед	0,35 (0,28; 0,52)	0,34 (0,19; 0,48)	<b>p = 0,001</b>
Ан, пф. ед	0,42 (0,3; 0,62)	0,38 (0,17; 0,56)	<b>p &lt; 0,001</b>
Ам, пф. ед	0,4 (0,27; 0,57)	0,34 (0,15; 0,47)	<b>p &lt; 0,001</b>

Ад, пф. ед	0,27 (0,19; 0,42)	0,24 (0,13; 0,43)	<b>p = 0,001</b>
Ас, пф. ед	0,18 (0,13; 0,27)	0,16 (0,11; 0,27)	<b>p = 0,004</b>
МТ	2,3 (1,9; 2,8)	2,39 (2,05; 2,93)	p = 0,959
ПШ	1,01 (0,92; 1,25)	1,01 (0,92; 1,2)	p = 0,09
НТ	2,15 (1,94; 2,46)	2,21 (1,8; 2,63)	<b>p = 0,043</b>

*Примечание:* n – число обследованных; p – уровень значимости различий между группами; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

При исследовании амплитуд колебаний микрокровотока у больных с развитием синдрома диабетической стопы и в контрольной группе выявлены значимые отличия исследуемых параметров. Установлено, что значение Аэ у больных синдромом диабетической стопы было ниже аналогичного показателя в контрольной группе и составило 0,34 пф. ед (p = 0,001). Показатель Ан среди больных диабетической стопой был ниже в 1,1 раза по сравнению с группой здоровых лиц (p < 0,001). При развитии синдрома диабетической стопы значение Ам составило 0,34 пф. ед, что было ниже указанного значения в контрольной группе в 1,2 раза (p < 0,001). Уровень Ад среди больных был ниже в 1,1 раза относительно группы здоровых лиц (p = 0,001). Значение Ас в группе с развитием синдрома диабетической стопы было ниже, чем в группе контроля и составило 0,16 пф. ед. (p = 0,004).

Установлено, что значение НТ в группе больных превышало аналогичный показатель в группе контроля и составило 2,21 (p = 0,043).

Таблица 13

**Показатели микроциркуляции при различных вариантах течения сахарного диабета в точке на стопе (Ме (25-й; 75-й))**

Показатели	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n = 30	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	Критерии Манна-Уитни

М, пф. ед.	3,52 (2,36; 4,23)	1,94 (1,45; 2,88)	<b>p = 0,003</b>
σ, пф. ед	0,72 (0,45; 1,16)	0,85 (0,41; 1,12)	p = 0,938
Kv, %	20,51 (15,69; 32,75)	34,3 (23,61; 62,82)	<b>p = 0,020</b>
ИЭМ	1,28 (1,06; 1,62)	1,33 (0,98; 1,6)	p = 0,677
Аэ, пф. ед	0,27 (0,18; 0,46)	0,34 (0,19; 0,48)	p = 0,769
Ан, пф. ед	0,3 (0,2; 0,52)	0,38 (0,17; 0,56)	p = 0,744
Ам, пф. ед	0,3 (0,21; 0,5)	0,34 (0,15; 0,47)	p = 0,655
Ад, пф. ед	0,21 (0,15; 0,4)	0,24 (0,13; 0,43)	p = 0,786
Ас, пф. ед	0,51 (0,11; 0,23)	0,16 (0,11; 0,27)	p = 0,867
МТ	2,4 (2,04; 2,8)	2,39 (2,05; 2,93)	p = 0,964
ПШ	1,06 (0,96; 1,25)	1,01 (0,92; 1,2)	p = 0,660
НТ	2,27 (1,88; 2,53)	2,21 (1,8; 2,63)	p = 0,734

*Примечание:* n – число обследованных; p – уровень значимости различий между группами; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Установлено, что значение ПМ при синдроме диабетической стопы было ниже, чем при неосложненном сахарном диабете в 1,8 раза (p = 0,003). Нами выявлено статистически значимое повышение уровня Kv при синдроме диабетической стопы по сравнению с неосложненным течением сахарного диабета в 1,7 раза.

### 3.4 Изменения состояния микроциркуляторного русла в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы при развитии синдрома диабетической стопы

Оценено состояние микроциркуляторного русла у здоровых лиц, пациентов с неосложненным сахарным диабетом и больных с развитием синдрома диабетической стопы в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы. Полученные данные представлены в таблицах 14, 15, 16.

Установлено, что в группах контроля и при неосложненном течении сахарного диабета значимых отличий между оцениваемыми показателями микроциркуляторного русла выявлено не было.

Таблица 14

**Показатели микроциркуляции у здоровых лиц и при неосложненном течении сахарного диабета в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы (Ме (25-й; 75-й))**

Показатели	Контроль n = 30	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n = 30	Критерии Манна- Уитни
ПМ, пф. ед.	4,73 (3,31; 5,56)	3,66 (2,79; 4,57)	p = 0,139
σ, пф. ед	1,36 (0,95; 1,77)	1,11 (0,65; 1,58)	p = 0,152
Kv, %	29,13 (20,61; 39,04)	26,62 (16,77; 54,42)	p = 0,853
ИЭМ	1,39 (1,16; 1,6)	1,31 (0,95; 1,59)	p = 0,589
Аэ, пф. ед	0,74 (0,37; 0,97)	0,51 (0,25; 0,67)	p = 0,053
Ан, пф. ед	0,64 (0,42; 0,95)	0,57 (0,27; 0,85)	p = 0,07
Ам, пф. ед	0,55 (0,37; 0,81)	0,49 (0,25; 0,79)	p = 0,095
Ад, пф. ед	0,39 (0,25; 0,55)	0,3 (0,21; 0,57)	p = 0,101



Ас, пф. ед	0,23 (0,16; 0,31)	0,23 (0,18; 0,35)	p = 0,117
МТ	2,28 (2,1; 2,61)	2,12 (2,0; 2,35)	p = 0,605
ПШ	1,17 (1,01; 1,32)	1,05 (0,94; 1,26)	p = 0,673
НТ	1,9 (1,75; 2,25)	1,95 (1,8; 2,4)	p = 0,734

*Примечание:* n – число обследованных; p – уровень значимости различий между группами; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

В группе больных с диабетической стопой и среди здоровых лиц значимо отличались показатели М, Ам и Ас. Уровень ПМ у пациентов с развитием синдрома диабетической стопы был ниже в 1,9 раза относительно контрольной группы ( $p < 0,001$ ). Значение показателя Ам в группе больных с диабетической стопой лиц было ниже, чем значение аналогичного показателя у практически здоровых и составило 0,51 пф. ед. ( $p = 0,021$ ). Показатель Ас в группе больных также был ниже и составил 0,2 пф. ед. ( $p = 0,05$ ).

Таблица 15

**Показатели микроциркуляции у здоровых лиц и при осложненном течении сахарного диабета в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы (Ме (25-й; 75-й))**

Показатели	Контроль n = 30	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	Критерии Манна- Уитни
ПМ, пф. ед.	4,73 (3,31; 5,56)	2,46 (1,94; 3,4)	<b>p &lt; 0,001</b>
σ, пф. ед	1,36 (0,95; 1,77)	1,08 (0,7; 1,7)	p = 0,053
Кv, %	29,13 (20,61; 39,04)	41,36 (26,58; 54,53)	p = 0,888
ИЭМ	1,39 (1,16; 1,6)	1,29 (1,09; 1,7)	p = 0,865
Аэ, пф. ед	0,74 (0,37; 0,97)	0,54 (0,31; 0,7)	p = 0,176
Ан, пф. ед	0,64 (0,42; 0,95)	0,55 (0,32; 0,88)	p = 0,135

Ам, пф. ед	0,55 (0,37; 0,81)	0,51 (0,28; 0,8)	<b>p = 0,021</b>
Ад, пф. ед	0,39 (0,25; 0,55)	0,34 (0,2; 0,48)	p = 0,058
Ас, пф. ед	0,23 (0,16; 0,31)	0,2 (0,16; 0,29)	<b>p = 0,05</b>
МТ	2,28 (2,1; 2,61)	2,3 (2,02; 2,6)	p = 0,802
ПШ	1,17 (1,01; 1,32)	1,09 (1,0; 1,18)	p = 0,784
НТ	1,9 (1,75; 2,25)	2,13 (1,79; 2,45)	p = 0,953

*Примечание:* n – число обследованных; p – уровень значимости различий между группами; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Нами проанализированы показатели микроциркуляции в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы в группах с неосложненным течением сахарного диабета и при развитии синдрома диабетической стопы.

Таблица 16

**Показатели микроциркуляции при различных вариантах течения сахарного диабета в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы  
(Me (25-й; 75-й))**

Показатели	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n = 30	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	Критерии Манна-Уитни
ПМ, пф. ед.	3,66 (2,79; 4,57)	2,46 (1,94; 3,4)	<b>p = 0,004</b>
σ, пф. ед	1,11 (0,65; 1,58)	1,08 (0,7; 1,7)	p = 0,633
Кv, %	26,62 (16,77; 54,42)	41,36 (26,58; 54,53)	<b>p = 0,007</b>
ИЭМ	1,31 (0,95; 1,59)	1,29 (1,09; 1,7)	p = 0,695
Аэ, пф. ед	0,51 (0,25; 0,67)	0,54 (0,31; 0,7)	p = 0,359
Ан, пф. ед	0,57 (0,27; 0,85)	0,55 (0,32; 0,88)	p = 0,918
Ам, пф. ед	0,49 (0,25; 0,79)	0,51 (0,28; 0,8)	p = 0,688
Ад, пф. ед	0,3 (0,21; 0,57)	0,34 (0,2; 0,48)	p = 0,533

Ас, пф. ед	0,23 (0,18; 0,35)	0,2 (0,16; 0,29)	p = 0,511
МТ	2,12 (2,0; 2,35)	2,3 (2,02; 2,6)	p = 0,272
ПШ	1,05 (0,94; 1,26)	1,09 (1,0; 1,18)	p = 0,701
НТ	1,95 (1,8; 2,4)	2,13 (1,79; 2,45)	p = 0,705

*Примечание:* n – число обследованных; p – уровень значимости различий между группами; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Установлено, что значение ПМ при синдроме диабетической стопы было ниже, чем при неосложненном сахарном диабете в 1,5 раза в точке на 1 пальце стопы (p = 0,004). Выявлено статистически значимое повышение уровня Kv в 1,5 раза при синдроме диабетической стопы по сравнению с неосложненным течением сахарного диабета в исследуемой точке (p = 0,007).

### 3.5 Резюме

Оценивая состояние микроциркуляторного русла в точках на предплечье, на тыльной поверхности стопы и на подошвенной поверхности 1 пальца стопы в группе контроля, при неосложненном течении сахарного диабета и при развитии синдрома диабетической стопы нами выявлены различные изменения микроциркуляторного русла в зависимости от точки, где проводилось исследование.

При оценке состояния показателей микроциркуляции в точке на предплечье в контрольной группе и у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета выявлено повышение показателя, характеризующего эффективность микроциркуляции у здоровых лиц. При сравнении данных контрольной группы и пациентов с развитием диабетической стопы в указанной точке выявлено снижение общих показателей микроциркуляции, амплитуд осцилляций в эндотелиальном, нейрогенном, миогенном, дыхательном и пульсовом диапазонах, миогенного тонуса в группе пациентов с патологией. При оценке состояния микроциркуляторного русла в группах с неосложненным сахарным диабетом и развитием синдрома диабетической стопы выявлено более выраженное снижение показателей, характеризующих общее состояние микроциркуляции и амплитуд осцилляций микрокровотока при осложненном течении заболевания.

В точке на тыле стопы в группе контроля отмечалось более высокое значение амплитуды эндотелиальных колебаний относительно больных с неосложненным сахарным диабетом и общих показателей микроциркуляции, амплитуд осцилляций, нейрогенного тонуса по сравнению с больными с развитием синдрома диабетической стопы. При оценке показателей микроциркуляции в указанной точке при различных вариантах течения сахарного диабета выявлены более глубокие изменения параметров, характеризующих общую микроциркуляцию.

При оценке состояния микроциркуляторного русла в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы у здоровых лиц и в группах больных установлено более низкое значение общего показателя микроциркуляции и амплитуд миогенного и пульсового диапазонов при развитии синдрома диабетической стопы. При сопоставлении параметров микроциркуляторного русла, исследованных в указанной точке при различных вариантах течения сахарного диабета, выявлены более выраженные изменения общего состояния микроциркуляторного русла при развитии диабетической стопы. Полученные данные представлены в таблице 17.

Таблица 17

**Достоверные изменения показателей микроциркуляции в различных отделах сосудистого русла при развитии синдрома диабетической стопы**

Исследуемая точка	Показатели микроциркуляции
Точка на нижней трети предплечья	ПМ, $\sigma$ , Ан, Ам, Ад, Ас
Точка на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке	ПМ, Kv
Точка на подошвенной поверхности 1 пальца стопы	ПМ, Kv

## **ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ МАРКЕРОВ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ, МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 9 И ГОМОЦИСТЕИНА У БОЛЬНЫХ С РАЗВИТИЕМ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**

### **4.1 Изменения уровня маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9 и гомоцистеина при развитии синдрома диабетической стопы**

Эндотелий сосудов является активным органом, который вырабатывает большое количество различных биологически активных веществ, таких как вазодилататоры, вазоконстрикторы, активаторы плазминогена, факторы роста. Клетки эндотелия активно участвуют в ремоделировании сосудов, процессах ангиогенеза. Дисфункция эндотелия является одним из компонентов патогенеза развития большого количества заболеваний, в том числе и сахарного диабета [116].

Эндотелин-1 является одним из мощных вазоконстрикторов, повышенная выработка которого во многом определяет развитие дисфункции эндотелия [9].

Оксид азота в организме человека выполняет ряд важных функций: вазодилатирующую, модулирует высвобождение вазоактивных веществ, ингибирует адгезию лейкоцитов, участвует в ремоделировании сосудистой стенки, подавляет выработку провоспалительных генов, адгезию и агрегацию тромбоцитов. В норме клетки эндотелия постоянно выделяют данное вещество в небольшом количестве для поддержания дилатации сосудов, при развитии патологических процессов его продукция существенно уменьшается [9, 116].

ММР 9 относится к желатиназам, участвует в расщеплении многих молекул экстрацеллюлярного матрикса, включая коллагены IV, V, XI типов, ламинин базальных мембран, но главной особенностью этих ферментов является

способность гидролизовать денатурированные коллагены, являясь важнейшим регулятором процессов ангиогенеза [22].

Гомоцистеин образуется при расщеплении метионина, при нарушении метаболизма которого развивается гипергомоцистеинемия. Данное вещество принимает участие в патогенезе развития многих заболеваний, в том числе и сосудистых осложнений сахарного диабета за счет различных механизмов, таких как воздействие на гладкомышечные клетки и эндотелий сосудов с возникающими в результате изменениями функции и структуры артерий, увеличение пролиферации тромбоцитов, усиление инсулинорезистентности и дисфункции эндотелия [212].

В ходе проведения исследования нами сопоставлялись уровни эндотелина-1, нитрита азота, нитрата азота и общего нитрата, матричной металлопротеиназы 9, гомоцистеина у пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета и в контрольной группе. Полученные данные представлены в таблице 18.

Таблица 18

**Показатели маркеров дисфункции эндотелия, матричной металлопротеиназы 9 и гомоцистеина в группе контроля и при различных вариантах течения сахарного диабета (Me (25-й; 75-й))**

Показатель	Контроль n = 30	Пациенты с различными вариантами течения сахарного диабета n = 60	Критерии Манна- Уитни
Эндотелин (1-21), фмоль/л	0,75 (0,3; 1,23)	1,02 (0,65; 1,79)	<b>p = 0,026</b>
NO <sub>2</sub> , мкмоль/л	13,73 (11,46; 16,23)	11,23 (9,74; 14,23)	p = 0,463
NO <sub>3</sub> , мкмоль/л	20,91 (16,64; 24,34)	5,89 (4,23; 10,32)	<b>p = 0,039</b>
NO <sub>2</sub> -/NO <sub>3</sub> -мкмоль/л	20,91 (16,64; 24,34)	17,24 (15,75; 19,32)	<b>p = 0,046</b>

ММР 9, нг/мл	558,5 (398,9; 930,9)	425,5 (305,8; 904,3)	p = 0,503
Гомоцистеин, мкмоль/л	7,02 (5,39; 7,09)	6,89 (4,9; 7,6)	p = 0,409

*Примечание:* n – число обследованных; p – уровень значимости различий между группами; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

При анализе полученных данных нами выявлены значимые отличия уровня эндотелина-1, NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>-/NO<sub>3</sub>- при различных вариантах течения сахарного диабета и в группе контроля. Концентрация данного эндотелина-1 была выше в группе больных сахарным диабетом в 1,4 раза (p = 0,026). Содержание NO<sub>3</sub> в группе пациентов было ниже в 3,5 раза (p = 0,039) относительно здоровых лиц. Уровень NO<sub>2</sub>-/NO<sub>3</sub>- при различных вариантах течения сахарного диабета был ниже, чем среди здоровых лиц в 1,2 раза (p = 0,046). Значимых отличий концентрации остальных исследуемых показателей в сравниваемых группах обнаружено не было.

У 30 больных с диабетической стопой и 30 пациентов с сахарным диабетом без осложнений нами исследован и сопоставлен уровень маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9 и гомоцистеина. Полученные данные представлены в таблице 19.

Таблица 19

**Показатели маркеров дисфункции эндотелия, матриксной  
металлопротеиназы 9 и гомоцистеина при различных вариантах течения  
сахарного диабета ((Me (25-й; 75-й))**

Показатель	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n=30	Пациенты с синдромом диабетической стопы n=30	Критерии Манна- Уитни
Эндотелин (1-21), фмоль\л	1,02 (0,63; 1,82)	0,99 (0,7; 1,45)	p = 0,668
NO <sub>2</sub> , мкмоль\л	11,9 (9,1; 14,25)	11,23 (9,99; 13,3)	p = 0,617
NO <sub>3</sub> , мкмоль\л	5,89 (4,31; 9,2)	6,33 (4,08; 10,83)	p = 0,367



NO <sub>2</sub> -/NO <sub>3</sub> - мкмоль/л	17,38 (15,83; 19,32)	16,94 (15,75; 19,02)	p = 0,194
ММР 9, нг/мл	465,4 (319,1 – 844,35)	478,7 (279,3 – 691,5)	p = 0,567
Гомоцистеин, мкмоль/л	6,89 (6,15; 7,12)	6,78 (6,25; 6,79)	p = 0,873

*Примечание:* n – число обследованных; p – уровень значимости различий между группами.

Установлено, что достоверно значимых отличий уровня эндотелина-1, нитрита азота, нитрата азота и общего нитрата, матриксной металлопротеиназы 9, гомоцистеина у пациентов с диабетической стопой относительно группы больных с неосложненным сахарным диабетом не выявлено [118].

## 4.2 Резюме

Оценивая уровень маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9, гомоцистеина в контрольной группе и при различных вариантах течения сахарного диабета, нами выявлено повышение содержания эндотелина-1 у пациентов с неосложнённым сахарным диабетом относительно здоровых лиц. Других отличий концентрации изучаемых веществ в сравниваемых группах нами выявлено не было.

## **ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ РЕГУЛЯЦИИ СОСУДИСТОГО ТОНУСА, РЕЦЕПТОРОВ ТРОМБОЦИТОВ, РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ, ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**

### **5.1 Влияние полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1, T1565C(Leu33Pro) гена ITGB3, G1691A гена FV, G20210A гена FII, C634G гена VEGFA, A8202G гена MMP9, A1298C гена MTHFR на состояние микроциркуляции при синдроме диабетической стопы**

Принимая во внимание роль маркеров дисфункции эндотелия, рецепторов тромбоцитов, факторов ремоделирования сосудистой стенки и протромботических факторов в течении различных физиологических и патологических процессов, а также сведения о формировании предрасположенности у лиц-носителей полиморфизмов генов к различным заболеваниям, нами изучено распределение частоты аллелей и генотипов полиморфных ДНК-локусов генов, кодирующих выработку данных веществ.

#### **5.1.1 Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1 у больных с развитием синдрома диабетической стопы**

Одними из активно исследуемых полиморфизмов генов являются полиморфизм C786T гена эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и полиморфизм Lys198Asn гена эндотелина-1 (END1). Указанный SNP гена eNOS связан с заменой тимина (Т) на цитозин (С) в позиции 786 гена [136]. Ген EDN1

локализован на хромосоме 6, занимает 5,5 kb и содержит 5 экзонов и 4 интрона [166].

Нами изучены частоты распределения генотипов и аллелей полиморфизмов C786T генов eNOS, Lys198Asn гена END1 у здоровых лиц, пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и при развитии синдрома диабетической стопы в Забайкальском крае.

В результате исследования обнаружены все исследуемые полиморфные варианты в гомо- и гетерозиготном состоянии, которые соответствовали равновесию Харди-Вайнберга, что дало нам возможность сравнивать частоту носительства этих полиморфизмов в исследуемых группах (таблица 20).

Таблица 20

**Равновесие Харди-Вайнберга для полиморфизмов C786T гена eNOS и Lys198Asn гена END1 (df = 1)**

Генотип	Наблюдаемость частоты	HWE	$\chi^2$	p
<b>Полиморфизм C786T гена eNOS, контроль, n = 100</b>				
Генотип C/C	0,36	0,735	0,412	0,814
Генотип C/T	0,57	0,195		
Генотип T/T	0,07	0,265		
<b>Полиморфизм C786T гена eNOS, сахарный диабет, n = 198</b>				
Генотип C/C	0,152	0,39	0,146	0,93
Генотип C/T	0,399	0,238		
Генотип T/T	0,449	0,61		
<b>Полиморфизм C786T гена eNOS, диабетическая стопа, n = 199</b>				
Генотип C/C	0,146	0,382	0,164	0,922
Генотип C/T	0,417	0,236		
Генотип T/T	0,437	0,618		
<b>Полиморфизм Lys198Asn гена END1, контроль, n = 100</b>				
Генотип Lys/Lys	0,67	0,64	0,088	0,957
Генотип Lys/Ash	0,2	0,23		
Генотип Ash/Ash	0,13	0,36		
<b>Полиморфизм Lys198Asn гена END1, сахарный диабет, n = 198</b>				
Генотип Lys/Lys	0,616	0,743	0,141	0,932
Генотип Lys/Asn	0,318	0,191		
Генотип Ash/Asn	0,066	0,257		
<b>Полиморфизм Lys198Asn гена END1, диабетическая стопа, n = 199</b>				

Генотип Lys/Lys	0,603	0,755	0,159	0,924
Генотип Lys/Asn	0,337	0,185		
Генотип Ash/Asn	0,06	0,245		

При сравнении частоты встречаемости генотипов полиморфизмов С786Т гена eNOS, Lys198Asn гена EDN1 в трех исследуемых группах значимых различий нами не получено, что не позволило в дальнейшем сравнивать их попарно (таблица 21).

Таблица 21

**Частота генотипов полиморфизмов С786Т гена eNOS и Lys198Asn гена EDN1 среди здоровых лиц и пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета (df = 2)**

Полиморфный вариант гена		Контроль n=100		Пациенты с сахарным диабетом n = 198		Пациенты с диабетической стопой n = 199		$\chi^2$	p
		n	%	n	%	n	%		
С786Т гена eNOS	C/C	36	36	89	44,9	87	43,7	0,528	0,768
	C/T	57	57	79	39,9	83	41,7		
	T/T	7	7	30	15,2	29	14,6		
Lys198Ash гена EDN1	Lys/Lys	67	67	122	61,6	120	60,3	0,236	0,889
	Lys/Ash	20	20	63	31,8	67	33,7		
	Ash/Ash	13	13	13	6,6	12	6		

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат для трех сравниваемых групп, p – уровень значимости между группами.

### 5.1.2 Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 у больных с развитием синдрома диабетической стопы

Повышение свертываемости крови и агрегации тромбоцитов являются одними из факторов развития микро- и макроангиопатий при сахарном диабете, приводящих к развитию синдрома диабетической стопы [119]. Процесс агрегации тромбоцитов заканчивается конформационным изменением комплекса GPIIb/IIIa, преобразующегося в рецептор для фибриногена. Субъединица GPIIIa кодируется геном ITGB3. У носителей аллели С полиморфизма T1565C данного гена регистрируется более высокая степень агрегации тромбоцитов, что лежит в основе предрасположенности к развитию атеротромбоза [1, 175].

Нами проведено сравнение частот генотипов полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и его аллельных вариантов среди здоровых лиц и больных с неосложненным сахарным диабетом и с развитием синдрома диабетической стопы.

В ходе исследования нами обнаружены искомые SNP в гомо- и гетерозиготном состоянии. Изучаемые полиморфные варианты соответствовали равновесию Харди–Вайнберга, что позволило нам сравнивать частоту их носительства в исследуемых группах (таблица 22).

Таблица 22

#### Равновесие Харди-Вайнберга для полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 (df = 1)

Генотип	Наблюдаемость частоты	HWE	$\chi^2$	p
Полиморфизм T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3, контроль, n = 100				
Генотип T/T	0,7	0,9	0,189	0,91
Генотип T/C	0,29	0,09		

Генотип С/С	0,01	0,1		
Полиморфизм Т1565С (Leu33Pro) гена ITGB3, сахарный диабет, n = 198				
Генотип Т/Т	0,712	0,776		
Генотип Т/С	0,283	0,196	0,212	0,9
Генотип С/С	0,005	0,224		
Полиморфизм Т1565С (Leu33Pro) гена ITGB3, диабетическая стопа, n = 199				
Генотип Т/Т	0,603	0,859		
Генотип Т/С	0,377	0,121	0,261	0,878
Генотип С/С	0,02	0,141		

При сравнении частоты встречаемости генотипов полиморфизма Т1565С (Leu33Pro) гена ITGB3 в трех исследуемых группах нами получены значимые различия, что позволило в дальнейшем сравнивать их попарно (таблица 23).

Таблица 23

**Частота генотипов полиморфизма Т1565С (Leu33Pro) гена ITGB3 среди здоровых лиц и пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета (df = 2)**

Полиморфный вариант гена		Контроль n=100		Пациенты с сахарным диабетом n = 198		Пациенты с диабетической стопой n = 199		$\chi^2$	p
		n	%	n	%	n	%		
Полиморфизм Т1565С (Leu33Pro) гена ITGB3	Т/Т	70	70	141	71,2	120	60,3	<b>8,205</b>	<b>0,017</b>
	Т/С	29	29	56	28,3	75	37,7		
	С/С	1	1	1	0,5	4	2		

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат для трех сравниваемых групп, p – уровень значимости между группами. Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Нами сопоставлены частоты встречаемости вариантов полиморфизма Т1565С (Leu33Pro) гена ITGB3 и его аллелей у здоровых лиц и в группах пациентов. Полученные данные представлены в таблицах 24, 25.

**Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 среди здоровых лиц и у пациентов с неосложненным сахарным диабетом (df = 2)**

Полиморфный вариант гена			Контроль n = 100		Пациенты с сахарным диабетом n = 198		$\chi^2$	p
			n	%	n	%		
Полиморфизм T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3	Генотипы	T/T	70	70	141	71,2	1,454	0,484
		T/C	29	29	56	28,3		
		C/C	1	1	1	0,5		
	Аллели	T	0,845		0,776		0,076	0,783
		C	0,155		0,224			

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, p – уровень значимости между группами.

При анализе полученных данных нами не выявлено значимых различий в частоте встречаемости вариантов генотипов полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и его аллелей у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и здоровых лиц. Генотип T/T указанного полиморфизма гена ITGB3 отмечался в 71,2% в группе больных и в 70% контрольной группе. Гетерозиготный генотип T/C полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 был выявлен в 28,3% у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и в 29% случаев у здоровых лиц. Генотип C/C изучаемого полиморфизма гена ITGB3 выявлялся в 0,5% в группе больных неосложненным сахарным диабетом и в 1% в контрольной группе.

Частота встречаемости аллели T в группе больных составила 0,776, у здоровых лиц - 0,845, аллели C – 0,224 у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и 0,155 в группе контроля.

При анализе полученных данных нами установлено, что частота встречаемости генотипов полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и его аллельных вариантов у здоровых лиц и у пациентов с развитием диабетической стопы значимо не отличалась.

**Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 среди здоровых лиц и у пациентов с развитием синдрома диабетической стопы (df = 2)**

Полиморфный вариант гена			Контроль n = 100		Пациенты с диабетической стопой n = 199		$\chi^2$	p
			n	%	n	%		
Полиморфизм T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3	Генотипы	T/T	70	70	120	60,3	2,836	0,243
		T/C	29	29	75	37,7		
		C/C	1	1	4	2		
	Аллели	T	0,845		0,859		2,473	0,116
		C	0,155		0,141			

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, p – уровень значимости между группами.

Частота встречаемости гомозиготного генотипа T/T изучаемого полиморфизма гена ITGB3 среди пациентов с неосложненным течением сахарного диабета составила 60,3%, среди здоровых лиц - 70%. Генотип T/C полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 в группе больных регистрировался в 37,7%, в группе контроля - в 29%. Гомозиготный полиморфизм C/C выявлялся в 2% у больных с неосложненным течением сахарного диабета и в 1% у здоровых лиц [143].

Частота аллели T составила 0,859 в группе больных и 0,845 в группе контроля, частота аллели C – 0,141 среди пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и 0,155 - в группе здоровых лиц.

В таблице 26 представлены частоты генотипов полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и его аллельных вариантов у пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета.



**Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 у пациентов с неосложненным сахарным диабетом и развитием диабетической стопы (df = 2)**

Полиморфный вариант гена		Пациенты с сахарным диабетом n = 198		Пациенты с диабетической стопой n = 199		$\chi^2$	p	OR (95 % CI)	
		n	%	n	%				
Полиморфизм T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3	Генотипы	T/T	141	71,2	120	60,3	<b>6,243</b>	<b>0,045</b>	0,614 (0,404–0,933)
		T/C	56	28,3	75	37,7			<b>1,534</b> <b>(1,006–2,338)</b>
		C/C	1	0,5	4	2			4,041 (0,448–36,48)
	Аллели	T	0,776		0,859		2,168	0,141	1,486 (0,921–2,396)
		C	0,224		0,141				0,673 (0,417–1,085)

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, OR – отношение шансов, 95% CI – 95% доверительный интервал OR, p – уровень значимости между группами. Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Согласно полученным результатам исследования, выявлены значимые различия между генотипами полиморфизма T1565C гена ITGB3 при различных вариантах течения сахарного диабета. При развитии диабетической стопы распространенность нормального гомозиготного генотипа T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 была ниже, чем при неосложненном течении сахарного диабета и составила 60,3%. В то же время при сахарном диабете с синдромом

диабетической стопы чаще, чем при сахарном диабете без осложнений, встречался гетерозиготный генотип Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 (37,7% и 28,3% соответственно ( $\chi^2 = 6,243$ ,  $p = 0,045$ ). По частоте встречаемости мутантного гомозиготного генотипа Т/Т полиморфизма Т1565С гена ITGB3 и аллельных вариантов гена значимых различий между группами не выявлено.

Нами выявлено, что риск развития диабетической стопы при носительстве генотипа Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 в 1,5 раза выше, чем при других вариантах генотипа (OR = 1,534 (95% CI 1,006 – 2,338),  $p < 0,05$ ). Поэтому носительство данного генотипа полиморфизма гена в гетерозиготном состоянии может предрасполагать к развитию данного осложнения сахарного диабета.

### **5.1.3. Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизмов G1691A гена FV, G20210A гена FII у больных с развитием синдрома диабетической стопы**

Фактор свертывания крови V (FV) обладает прокоагулянтными и антикоагулянтными свойствами и является кофактором протромбиназного комплекса, который катализирует превращение протромбина в тромбин [60]. Полиморфизм G1691A гена фактора V связан с развитием резистентности к антикоагулянтному действию протеина C и постоянным, генетически обусловленным риском развития тромботических состояний [60, 175].

Фактор свертывания II или протромбин (FII) является предшественником сериновой протеазы тромбина, фермента, участвующего в процессе свертывания крови и имеющего прокоагулянтную активность. Протромбин принимает участие в заключительном этапе свертывающего каскада, превращаясь под действием FXa в тромбин [1]. При наличии мутации в гене протромбина происходит замена гуанина на аденин в позиции 20210, что приводит к повышению уровня протромбина в плазме на 30% и к увеличению риска венозного или артериального тромбоза [244].

В ходе исследования мы сравнивали частоту генотипов и аллельных вариантов полиморфизма G1691A гена FV и полиморфизма G20210A гена FII среди здоровых лиц, у больных с неосложненным течением сахарного диабета и с развитием синдрома диабетической стопы.

При анализе полученных данных установлено, что изучаемые полиморфные варианты генов соответствовали равновесию Харди – Вайнберга, что дало нам возможность сравнивать частоты генотипов в группах (таблица 27).

Таблица 27

#### **Равновесие Харди-Вайнберга для полиморфизмов G1691A гена FV и G20210A гена FII (df = 1)**

Генотип	Наблюдаемость частоты	HWE	$\chi^2$	p
Полиморфизм G1691A гена FV, контроль, n = 100				
Генотип G/G	0,97	0,98	0,025	0,988
Генотип G/A	0,03	0,015		
Генотип A/A	0	0,02		
Полиморфизм G1691A гена FV, сахарный диабет, n = 198				
Генотип G/G	0,96	0,98	0,027	0,987
Генотип G/A	0,04	0,02		
Генотип A/A	0	0,02		
Полиморфизм G1691A гена FV, диабетическая стопа, n = 199				
Генотип G/G	0,94	0,97	0,059	0,971
Генотип G/A	0,06	0,014		
Генотип A/A	0	0,03		
Полиморфизм G20210A гена FII, контроль, n = 100				
Генотип G/G	0,92	0,9	0,073	0,965
Генотип G/A	0,07	0,09		
Генотип A/A	0,01	0,1		
Полиморфизм G20210A гена FII, сахарный диабет, n = 198				
Генотип G/G	0,97	0,98	0,025	0,988
Генотип G/A	0,03	0,015		
Генотип A/A	0	0,02		
Полиморфизм G20210A гена FII, диабетическая стопа, n = 199				
Генотип G/G	0,96	0,96	0,039	0,981
Генотип G/A	0,04	0,039		
Генотип A/A	0	0,04		

При сравнении частоты встречаемости генотипов полиморфизмов G1691A гена FV и G20210A гена FII в трех исследуемых группах значимых различий нами не получено, что не позволило в дальнейшем сравнивать их попарно (таблица 28).

Таблица 28

**Частота генотипов полиморфизмов G1691A гена FV и G20210A гена FII среди здоровых лиц и у больных с различными вариантами течения сахарного диабета (df = 2)**

Полиморфный вариант гена		Контроль n=100		Пациенты с сахарным диабетом n = 198		Пациенты с диабетической стопой n = 199		$\chi^2$	p
		n	%	n	%	n	%		
Полиморфизм G1691A гена FV	G/G	97	97	190	96	187	94	1,0	1,0
	G/A	3	3	8	4	12	6		
	A/A	0	0	0	0	0	0		
Полиморфизм G20210A гена FII	G/G	92	92	192	97	190	95,5	1,0	1,0
	G/A	8	8	6	3	9	4,5		
	A/A	0	0	0	0	0	0		

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, p – уровень значимости между группами.

#### 5.1.4. Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизмов С634G гена VEGFA, А8202G гена MMP9 у больных с развитием синдрома диабетической стопы

Ключевыми звеньями патогенеза многих патологических процессов являются развитие воспаления и пролиферации в сосудистой стенке, контролируемые различными полиморфными генами, среди которых значительный вклад вносят гены факторов роста. Одним из основных ангиогенных факторов считается фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [107]. Ген VEGFA находится на коротком плече 6-й хромосомы (6p21.3) и состоит из 8 экзонов, разделенных 7 интронами [11].

Матриксная металлопротеиназа 9 (MMP 9) относится к группе желатиназ и обладает эластолитической активностью [111]. Данный фермент принимает активное участие в последних этапах каскада реакций по разрушению внеклеточного матрикса, процессах ангиогенеза [22]. Изменение экспрессии генов, кодирующих матриксные металлопротеиназы, может приводить к нарушению баланса между синтезом и деградацией внутриклеточного матрикса, что влечет за собой снижение способности сосудистой стенки к ремоделированию [83].

В ходе исследования мы проанализировали частоту встречаемости генотипов полиморфизма С634G гена VEGFA и полиморфизма А8202G гена MMP9 у здоровых лиц, пациентов с сахарным диабетом без осложнений и при развитии синдрома диабетической стопы.

Исследуемые нами полиморфные варианты указанных генов соответствовали закону Харди–Вайнберга (таблица 29).

Таблица 29

#### Равновесие Харди-Вайнберга для полиморфизмов С634G гена VEGFA и А8202G гена MMP9 (df = 1)

Генотип	Наблюдаемость	HWE	$\chi^2$	p
---------	---------------	-----	----------	---

	частоты			
<b>Полиморфизм С634G гена VEGFA, контроль, n = 100</b>				
Генотип G/G	0,42	0,564		
Генотип G/C	0,39	0,246	0,125	0,94
Генотип C/C	0,19	0,436		
<b>Полиморфизм С634G гена VEGFA, сахарный диабет, n = 198</b>				
Генотип C/C	0,091	0,302		
Генотип C/G	0,343	0,221	0,254	0,881
Генотип G/G	0,566	0,698		
<b>Полиморфизм С634G гена VEGFA, диабетическая стопа, n = 199</b>				
Генотип C/C	0,065	0,255		
Генотип C/G	0,337	0,19	0,155	0,926
Генотип G/G	0,598	0,745		
<b>Полиморфизм А8202G гена MMP9, контроль, n = 100</b>				
Генотип A/A	0,24	0,49		
Генотип A/G	0,39	0,25	0,112	0,946
Генотип G/G	0,37	0,51		
<b>Полиморфизм А8202G гена MMP9, сахарный диабет, n = 198</b>				
Генотип A/A	0,35	0,492		
Генотип A/G	0,359	0,25	0,09	0,956
Генотип G/G	0,258	0,508		
<b>Полиморфизм А8202G гена MMP9, диабетическая стопа, n = 199</b>				
Генотип A/A	0,301	0,549		
Генотип A/G	0,327	0,248	0,064	0,969
Генотип G/G	0,372	0,451		

При сравнении частоты встречаемости генотипов полиморфизмов G1691A гена FV и G20210A гена FII в трех исследуемых группах значимых различий нами не получено, что не позволило в дальнейшем сравнивать их попарно (таблица 30).

**Частота генотипов и аллельных вариантов полиморфизмов С634G гена VEGFA и А8202G гена MMP9 у здоровых лиц и пациентов с неосложненным течением сахарного диабета (df = 2)**

Полиморфный вариант гена	Контроль n=100	Пациенты	Пациенты	$\chi^2$	p
--------------------------	-------------------	----------	----------	----------	---

				с сахарным диабетом n = 198		с диабетической стопой n = 199			
		n	%	n	%	n	%		
Полиморфизм G634C гена VEGFA	G/G	42	42	112	56,6	119	59,8	1,218	0,554
	G/C	39	39	68	34,3	67	33,7		
	C/C	19	19	18	9,1	13	6,5		
Полиморфизм A8202G гена MMP9	A/A	24	24	70	35,4	60	30,1	4,781	0,092
	A/G	39	39	71	35,8	65	32,7		
	G/G	37	37	57	28,8	74	37,2		

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, p – уровень значимости между группами.



### 5.1.5. Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизма A1298C гена MTHFR у больных с развитием синдрома диабетической стопы

Метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR) – внутриклеточный фермент, участвующий в превращении гомоцистина в метионин [54, 271]. В результате нуклеотидных замен в гене, кодирующем MTHFR, активность данного фермента может уменьшаться и приводить к снижению метилирования и избыточному накоплению в клетке гомоцистеина [161].

Нами изучена частота генотипов и аллельных вариантов полиморфизма A1298C гена MTHFR у здоровых лиц, пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и развитием синдрома диабетической стопы.

Исследованные полиморфные варианты гена соответствовали равновесию Харди-Вайнберга, что дало нам возможность сравнивать частоты генотипов в исследуемых группах (таблица 30).

Таблица 30

#### Равновесие Харди-Вайнберга для полиморфизма A1298C гена MTHFR (df = 1)

Генотип	Наблюдаемость частоты	HWE	$\chi^2$	p
Полиморфизм A1298C гена MTHFR, контроль, n = 100				
Генотип A/A	0,47	0,588	0,112	0,946
Генотип A/C	0,36	0,242		
Генотип C/C	0,17	0,412		
Полиморфизм A1298C гена MTHFR, сахарный диабет, n = 198				
Генотип A/A	0,41	0,64	0,206	0,903
Генотип A/C	0,45	0,23		
Генотип C/C	0,13	0,36		
Полиморфизм A1298C гена MTHFR, диабетическая стопа, n = 199				
Генотип A/A	0,518	0,563	0,076	0,963
Генотип A/C	0,29	0,246		
Генотип C/C	0,191	0,437		

При сравнении частоты встречаемости генотипов полиморфизма A1298C гена MTHFR в трех исследуемых группах нами получены значимые различия, что позволило в дальнейшем сравнивать их попарно (таблица 31).

Таблица 31

**Частота генотипов полиморфизма A1298C гена MTHFR  
среди здоровых лиц и у пациентов различными вариантами течения  
сахарного диабета (df = 2)**

Полиморфный вариант гена		Контроль n = 100		Пациенты с сахарным диабетом n = 198		Пациенты с диабетической стопой n = 199		$\chi^2$	p
		n	%	n	%	n	%		
Полиморфизм A1298C гена MTHFR	A/A	47	47	82	41,4	103	52,8	<b>15,851</b>	<b>0,001</b>
	A/C	36	36	90	45,4	58	29,1		
	C/C	17	17	26	13,1	38	19,9		

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, p – уровень значимости между группами, жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Нами проанализированы частоты генотипов полиморфизма A1298C гена MTHFR в группе контроля и у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета. Полученные данные представлены в таблице 32.

Таблица 32

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма A1298C гена MTHFR  
среди здоровых лиц и у пациентов с неосложненным сахарным диабетом  
(df = 2)**

Полиморфный вариант гена			Контроль n = 100		Пациенты с сахарным диабетом n = 198		$\chi^2$	p
			n	%	n	%		
Полиморфизм A1298C гена MTHFR	Генотипы	A/A	47	47	82	41,4	2,573	0,277
		A/C	36	36	90	45,4		
		C/C	17	17	26	13,1		

	Аллели	A	0,65	0,64	0,043	0,837
		C	0,35	0,36		

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, p – уровень значимости между группами.

При исследовании частоты встречаемости генотипов полиморфизма A1298C гена MTHFR у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и у здоровых лиц значимых отличий выявлено не было.

Гомозиготный генотип A/A исследуемого полиморфизма A1298C гена MTHFR в группе с неосложненным сахарным диабетом встречался реже в 1,1 раза и составил 41,4%. Гетерозиготный генотип A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR чаще регистрировался у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета в 1,3 раза по сравнению со здоровыми лицами. Частота генотипа C/C изучаемого полиморфизма гена у больных сахарным диабетом без осложнений была ниже в 1,3 раза по сравнению с контрольной группой.

Аллель A в группе больных неосложнённым сахарным диабетом регистрировалась с частотой 0,64, в группе контроля - с частотой 0,65. Частота аллели C в группе больных с сахарным диабетом без развития осложнений составила 0,36, в группе здоровых лиц - 0,35.

В ходе исследования нами изучена частота встречаемости вариантов генотипа полиморфизма A1298C гена MTHFR в группе контроля и у пациентов с развитием синдрома диабетической стопы. Полученные данные представлены в таблице 33.

При анализе полученных данных нами не выявлено значимых различий между частотой встречаемости генотипов полиморфизма гена MTHFR и его аллельных вариантов.

Таблица 33

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма A1298C гена MTHFR среди здоровых лиц и у пациентов с диабетической стопой (df = 2)**

Полиморфный вариант гена			Контроль n = 100		Пациенты с диабетической стопой n = 199		$\chi^2$	p
			n	%	n	%		
Полиморфизм A1298C гена MTHFR	Генотипы	A/A	47	47	103	52,8	1,454	0,484
		A/C	36	36	58	29,1		
		C/C	17	17	38	19,9		
	Аллели	A	0,65		0,563		0,105	0,746
		C	0,35		0,437			

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, p – уровень значимости между группами.

Генотип A/A полиморфизма A1298C гена MTHFR чаще регистрировался при синдроме диабетической стопы и составил 52,8%. Гетерозиготный генотип A/C изучаемого полиморфизма гена MTHFR в группе больных выявлялся реже в 1,2 раза. Гомозиготный вариант C/C полиморфизма A1298C гена MTHFR чаще отмечался у пациентов с синдромом диабетической стопы и составил 19,9%.

Частота встречаемости аллели A у больных с диабетической стопой составила 0,563, у здоровых лиц - 0,65. Аллель C в группе с синдромом диабетической стопы регистрировалась с частотой 0,437 в группе контроля отмечалась с частотой 0,35.

В таблице 34 представлены частоты распределения генотипов вариантов полиморфизма A1298C гена MTHFR при различных вариантах течения сахарного диабета.

Таблица 34

**Частота генотипов и аллелей полиморфизма A1298C гена MTHFR  
у пациентов с неосложненным сахарным диабетом и  
синдромом диабетической стопы (df = 2)**

Полиморфный вариант гена	Пациенты с сахарным диабетом n = 198	Пациенты с диабетической стопой	$\chi^2$	p	OR (95% CI)
-----------------------------	---	--	----------	---	-------------------

					n = 199				
			n	%	n	%			
Полиморфизм A1298C гена MTHFR	Генотипы	A/A	82	41,4	103	52,8	<b>11,55</b>	<b>0,004</b>	1,439 (0,966– 2,145)
		A/C	90	45,4	58	29,1			<b>0,494</b> <b>(0,326–</b> <b>0,747)</b>
		C/C	26	13,1	38	19,9			1,561 (0,907– 2,688)
	Аллели	A	0,64		0,563		1,947	0,163	0,824 (0,63 – 1,078)
		C	0,36		0,437				1,213 (0,928– 1,587)

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, OR – отношение шансов, 95% CI – 95% доверительный интервал OR, p – уровень значимости между группами. Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Исследование частоты генотипов полиморфизма A1298C гена MTHFR выявило, что гомозиготный генотип A/A указанного полиморфизма гена MTHFR определялся у 52,8% больных с диабетической стопой и у 41,4% пациентов с сахарным диабетом без осложнений. Вместе с тем гетерозиготный генотип A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR реже выявлялся в группе с развитием синдрома диабетической стопы, чем в группе с неосложненным сахарным диабетом (29,1% и 45,4%), что является статистически значимым ( $\chi^2 = 11,55$ ,  $p = 0,004$ ). Мутантный гомозиготный генотип C/C указанного полиморфизма гена MTHFR определялся в 19,9% случаев при синдроме диабетической стопы и в 13,3% случаев при сахарном диабете без осложнений.

При развитии синдрома диабетической стопы аллель A встречалась с частотой 0,563, аллель C – 0,437. У пациентов с неосложненным течением сахарного диабета частота встречаемости аллели A составила 0,64, аллели C – 0,36.

Статистически значимых различий по аллельным вариантам данного полиморфизма гена MTHFR нами не выявлено [154].

**5.2 Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1, T1565C(Leu33Pro) гена ITGB3, G1691A гена FV, G20210A гена FII, C634G гена VEGFA, A8202G гена MMP9, A1298C гена MTHFR у больных с развитием синдрома диабетической стопы в зависимости от пола**

Нами изучено распределение частоты аллелей и генотипов полиморфных ДНК-локусов генов, кодирующих выработку маркеров дисфункции эндотелия, рецепторов тромбоцитов, факторов ремоделирования сосудистой стенки и протромботических факторов у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и развитием синдрома диабетической стопы в зависимости от пола. Полученные результаты представлены в таблицах 35, 36.

Таблица 35

**Частота встречаемости полиморфизмов исследованных генов среди мужчин (df = 2)**

Полиморфный вариант гена		Пациенты с сахарным диабетом n = 73		Пациенты с диабетической стопой n = 72		$\chi^2$	p	OR (95% CI)
		n	%	n	%			
Полиморфизм C786T гена	Генотип C/C	33	45,2	40	55,6	2,248	0,326	1,515 (0,787–2,916)
	C/T	25	34,5	23	31,9			0,901 (0,451–1,801)

		T/T	15	20,5	9	12,5			0,552 (0,225– 1,359)
Полиморфизм Lys198Asn гена ENDI	Генотип	Lys/Lys	46	63	41	56,9	0,628	0,731	0,776 (0,399– 1,511)
		Lys/Asn	21	28,8	83	34,8			1,317 (0,653– 2,657)
		Asn/ Asn	6	8,2	6	8,3			1,015 (0,311– 3,309)
Полиморфизм T1565C (Leu33Pro)	Генотип	T/T	54	74	43	59,7	3,695	0,158	0,522 (0,258– 1,054)
		T/C	18	24,7	26	36,1			1,758 (0,859 – 3,6)
		C/C	1	1,4	3	4,2			3,130 (0,318– 30,826)
Полиморфизм G1691A гена FV	Генотип	G/G	67	91,8	66	91,7	1,0	1,0	0,985 (0,302– 3,211)
		G/A	6	8,2	6	8,8			1,015 (0,311– 3,309)
		A/A	-	-	-	-			-
Полиморфизм G20210A гена FII	Генотип	G/G	69	94,5	66	94,4	1,0	1,0	0,957 (0,23 – 3,983)
		G/A	4	5,5	4	5,6			1,045 (0,251– 4,353)
		A/A	-			-			-



Полиморфизм A8202G гена MMR9	Генотип	A/A	21	28,8	22	30,6	<b>6,767</b>	<b>0,034</b>	1,090 (0,534– 2,223)
		A/G	31	42,5	17	23,6			0,618 (0,291– 1,315)
		G/G	21	28,8	33	45,8			<b>2,055</b> <b>(1,033– 4,088)</b>
Полиморфизм A1298C гена MTHFR	Генотип	A/A	30	41,1	37	51,4	4,964	0,084	1,515 (0,786– 2,921)
		A/C	32	43,8	19	26,4			0,459 (0,228– 0,924)
		C/C	11	15,1	16	22,2			1,61 (0,689– 3,762)
Полиморфизм C634G гена VEGFA	Генотип	G/G	35	47,9	37	51,4	0,212	0,9	1,148 (0,598– 2,202)
		G/C	29	39,7	26	36,1			0,858 (0,438– 1,679)
		C/C	9	12,3	9	12,5			1,016 (0,379– 2,726)

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, OR – отношение шансов, 95% CI – 95% доверительный интервал OR, p – уровень значимости между группами. Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

По полученным данным, у мужчин с синдромом диабетической стопы и с неосложненным сахарным диабетом не выявлено значимых отличий в частоте распределения полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1, T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3, G1691A гена FV, G20210A гена FII, A1298C гена MTHFR и C634G гена VEGFA.

Согласно данным нашего исследования, у мужчин с синдромом диабетической стопы и неосложненным течением сахарного диабета выявлены значимые различия между частотой встречаемости вариантов полиморфизма

A8202G гена MMP9 ( $\chi^2 = 6,767$ ,  $p = 0,034$ ). Частота встречаемости генотипа A/A указанного полиморфизма гена MMP9 в группах сравнения не отличалась (30,6% и 28,8% соответственно). Генотип A/G полиморфизма A8202G исследованного гена встречался реже в 1,8 раза при синдроме диабетической стопы. Частота встречаемости генотипа G/G при синдроме диабетической стопы была выше, чем при неосложненном течении заболевания в 1,6 раза. Нами установлено, что при указанном варианте генотипа полиморфизма A8202G гена MMP9 у мужчин риск развития синдрома диабетической стопы возрастает в 2 раза (OR = 2,055, (95% CI 1,033–4,088)).

Таблица 36

**Частота встречаемости полиморфизмов исследованных генов среди женщин  
(df = 2)**

Полиморфный вариант гена			Пациенты с сахарным диабетом n = 125		Пациенты с диабетической стопой n = 127		$\chi^2$	p	OR (95% CI)
			n	%	n	%			
Полиморфизм C786T гена eNOS3	Генотип	C/C	56	44,8	47	37	1,589	0,452	0,724 (0,437–1,198)
		C/T	53	42,4	61	48			1,256 (0,764–2,064)
		T/T	16	12,8	19	15			1,198 (0,586–2,453)
Полиморфизм Lys198Asn гена END1	Генотип	Lys/Lys	76	60,8	79	62,2	0,119	0,943	1,061 (0,639–1,763)
		Lys/Asn	42	33,6	42	33,1			0,976 (0,578–1,649)
		Asn/Asn	7	5,6	6	4,7			0,836 (0,273–2,561)

Полиморфизм T1565C (Leu33Pro)	Генотип	T/T	86	68,8	74	58,3	3,062	0,217	0,633 (0,377– 1,062)
		T/C	38	30,5	52	40,9			1,587 (0,944– 2,670)
		C/C	1	0,8	1	0,8			1,008 (0,062– 16,292)
Полиморфизм G1691A гена FV	Генотип	G/G	123	98,4	121	95,3	1,0	1,0	0,328 (0,065– 1,657)
		G/A	2	1,6	6	4,7			3,05 (0,604– 15,408)
		A/A	-	-	-	-			-
Полиморфизм G20210A гена FII	Генотип	G/G	124	99,2	122	96,1	1,0	1,0	0,197 (0,023– 1,709)
		G/A	1	0,8	5	3,9			5,082 (0,585– 44,136)
		A/A	-	-	-	-			-
Полиморфизм A8202G гена MMP9	Генотип	A/A	49	39,2	37	29,1	2,848	0,241	0,638 (0,377– 1,078)
		A/G	40	32	48	37,8			1,291 (0,768– 2,171)
		G/G	36	28,8	42	33,1			1,141 (0,652– 1,903)
Полиморфизм A1298C гена MTHFR	Генотип	A/A	52	41,6	66	52	6,692	0,036	1,519 (0,923– 2,498)
		A/C	58	46,4	39	30,7			<b>0,512</b> <b>(0,302–</b> <b>0,857)</b>
		C/C	15	12	22	17,3			1,537 (0,756– 3,121)

Полиморфизм С634G гена VEGFA	Генотип	G/G	76	60,8	79	62,2	1,904	0,386	1,061 (0,639– 1,763)
		G/C	39	31,2	43	33,9			1,129 (0,666– 1,763)
		C/C	10	8	5	3,9			0,471 (0,156– 1,421)

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, OR – отношение шансов, 95% CI – 95% доверительный интервал OR, p – уровень значимости между группами. Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

При анализе полученных данных нами установлено, что у женщин, страдающих синдромом диабетической стопы и неосложненным сахарным диабетом, не выявлено значимых отличий в частоте распределения полиморфизмов С786Т гена eNOS, Lys198Asn гена END1, T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3, G1691A гена FV, G20210A гена FII, A8202G гена MMP9 и С634G гена VEGFA.

По результатам нашего исследования, выявлены достоверно значимые отличия частоты встречаемости генотипов полиморфизма A1298C гена MTHFR в исследуемых группах. Генотип A/A указанного полиморфизма гена MTHFR встречался чаще у женщин с синдромом диабетической стопы в 1,2 раза. Частота встречаемости генотипа A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR у женщин с диабетической стопой была ниже в 1,5 раза, чем в группе с неосложненным течением сахарного диабета. Генотип C/C при синдроме диабетической стопы встречался чаще в 1,4 раза, чем при неосложненном течении заболевания.

При исследовании ассоциации вариантов генотипа полиморфизма A1298C гена MTHFR с развитием диабетической стопы нами установлено, что при наличии генотипа A/C у женщин риск развития синдрома диабетической стопы снижается на 50% (OR = 0,512 (CI 0,302–0,857)) [142].

### 5.3 Резюме

Выявлены различия встречаемости генотипов полиморфизмов С786Т гена eNOS, Lys198Asn гена END1 в контрольной группе и у пациентов с неосложненным сахарным диабетом, а также у больных с диабетической стопой. Частота генотипов полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 значительно отличалась при сахарном диабете без осложнений и при развитии синдрома диабетической стопы. Выявлена ассоциация генотипа T/C указанного полиморфизма гена с развитием диабетической стопы. Выявлены достоверные отличия в частоте встречаемости вариантов генотипа и аллелей полиморфизма С634G гена VEGFA, генотипов полиморфизма А8202G гена MMP9 среди здоровых лиц и у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета. Частота встречаемости генотипов полиморфизма С634G гена VEGFA также отличалась в контрольной группе и у больных с развитием диабетической стопы. Частота генотипов полиморфизма А1298С гена MTHFR отличалась у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и при развитии синдрома диабетической стопы, но ассоциации какого-либо варианта генотипа исследуемого полиморфизма гена MTHFR с развитием синдрома диабетической стопы не выявлено.

При исследовании частот изучаемых полиморфизмов генов в зависимости от пола при неосложненном сахарном диабете и при развитии диабетической стопы среди мужчин значительно отличалась частота встречаемости генотипов полиморфизма А8202G гена MMP9. Выявлена ассоциация генотипа G/G с развитием синдрома диабетической стопы у пациентов мужского пола. У женщин различалась частота встречаемости генотипов полиморфизма А1298С гена MTHFR при различных вариантах течения сахарного диабета. Наличие варианта генотипа А/С указанного полиморфизма гена на 50% снижает риск развития синдрома диабетической стопы среди пациенток женского пола.

**ГЛАВА 6. ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ РЕГУЛЯЦИИ  
СОСУДИСТОГО ТОНУСА, РЕЦЕПТОРОВ ТРОМБОЦИТОВ,  
РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ,  
ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ, СОСТОЯНИЯ  
МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА, МАРКЕРОВ ДИСФУНКЦИИ  
ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ С РАЗВИТИЕМ СИНДРОМА  
ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**

**6.1 Состояние микроциркуляторного русла при синдроме диабетической  
стопы в зависимости от носительства различных вариантов генотипов  
полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и полиморфизма A1298C гена  
MTHFR**

Из всех оцененных нами полиморфизмов генов статистически значимые отличия между частотой их встречаемости в группах обследованных больных выявлены для полиморфизмов T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и A1298C гена MTHFR. В связи с чем следующий этап исследования был посвящен анализу состояния показателей микроциркуляторного русла, достоверность отличий которых подтверждена ранее, в зависимости от носительства различных вариантов полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и полиморфизма A1298C гена MTHFR. Полученные результаты представлены в таблицах 37, 38, 39, 40.

Таблица 37

**Значения показателей микроциркуляции у пациентов в исследуемых  
группах в зависимости от носительства вариантов генотипа полиморфизма  
T1565C гена ITGB3**

Показатель	Группа	Генотип			Уровень p по критерию Манна-Уитни
		T/T	T/C	C/C	

					между генотипами
Точка на нижней трети предплечья					
ПМ, пф. ед.	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	4,95 (3,66–5,76)	4,54 (3,73– 5,18)	-	p <sub>1</sub> = 0,943
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	3,6 (2,99–5,24) p = 0,124	3,59 (2,6–4,9) p = 0,238	-	p <sub>1</sub> = 0,582
σ, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,99 (0,73–1,41)	1,17 (0,77– 1,31)	-	p <sub>1</sub> = 0,905
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,69 (0,62–0,79) <b>p = 0,016</b>	0,66 (0,43–0,8) <b>p = 0,021</b>	-	p <sub>1</sub> = 0,77
Ан, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,42 (0,28–0,67)	0,57 (0,41– 0,64)	-	p <sub>1</sub> = 0,83
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,33 (0,24– 0,41) p = 0,095	0,34 (0,19– 0,51) p = 0,152	-	p <sub>1</sub> = 0,942
Ам, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,35 (0,29–0,56)	0,44 (0,28– 0,56)	-	p <sub>1</sub> = 0,867
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,29 (0,25–0,43) p = 0,152	0,25 (0,19–0,4) p = 0,091	-	p <sub>1</sub> = 0,404
Ад, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,29 (0,2–0,39)	0,3 (0,16– 0,43)	-	p <sub>1</sub> = 0,943

	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,18 (0,15–0,26) <b>p = 0,042</b>	0,13 (0,11–0,28) p = 0,177	-	p <sub>1</sub> = 0,403
Ас, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,22 (0,18–0,27)	0,19 (0,13–0,33)	-	p <sub>1</sub> = 0,534
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,14 (0,13–0,25) p = 0,172	0,14 (0,11–0,18) p = 0,129	-	p <sub>1</sub> = 0,183
Точка на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке					
ПМ, пф. ед.	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	3,6 (2,36–4,28)	3,43 (2,89–3,85)	-	p <sub>1</sub> = 0,872
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	1,91 (1,44–2,63) <b>p = 0,009</b>	2,45 (1,85–2,97) p = 0,129	-	p <sub>1</sub> = 0,372
Кv, %	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	22,14 (16,06–32,34)	15,55 (11,18–35,32)	-	p <sub>1</sub> = 0,279
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	35,09 (23,25–68,02) p = 0,073	33 (28,46–44,28) p = 0,203	-	p <sub>1</sub> = 0,796
Точка на подошвенной поверхности 1 пальца стопы					
ПМ, пф. ед.	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	3,49 (2,79–4,91)	3,9 (3,1–4,45)	-	p <sub>1</sub> = 0,909
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	2,56 (2,21–3,8) p = 0,063	2,09 (1,773,04) <b>p = 0,016</b>	-	p <sub>1</sub> = 0,216



Kv, %	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	25,55 (19,43– 38,78)	20,65 (13,55– 37,82)	-	p <sub>1</sub> = 0,566
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	37,32 (26,42– 73,27) p = 0,055	44,75 (36,88– 52,56) <b>p = 0,033</b>	-	p <sub>1</sub> = 0,74

*Примечание:* p – значимость различий по критерию Манна-Уитни между группами больных; p<sub>1</sub> – значимость различий между генотипами T/T и T/C; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Установлено, что при синдроме диабетической стопы показатель  $\sigma$  в точке на предплечье при генотипах T/T и T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 ниже, чем при аналогичных генотипах полиморфизма T1565C данного гена у больных неосложненным сахарным диабетом в 1,4 и 1,8 раза соответственно (p = 0,016, p = 0,021). Статистически значимых различий между вариантами генотипа в группах больных не выявлено.

В точке на предплечье при синдроме диабетической стопы при генотипе T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 выявлено снижение значения Ад в 1,6 раза по сравнению с аналогичным вариантом генотипа при неосложненном сахарном диабете (p = 0,042).

При генотипе T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 в точке на тыле стопы при синдроме диабетической стопы значение ПМ ниже, чем при данном генотипе у пациентов с сахарным диабетом без осложнений в 1,9 раза (p = 0,009).

В точке на 1 пальце стопы при генотипе T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 при развитии синдрома диабетической стопы отмечалось снижение ПМ относительно результатов в группе с неосложненным сахарным диабетом в 1,9 раза (p = 0,016). Вместе с тем в указанной точке при аналогичном варианте генотипа у больных с диабетической стопой зарегистрировано повышение Kv в 2,2 раза (p = 0,033) [155].

**Значения показателей микроциркуляции у пациентов в исследуемых группах в зависимости от носительства вариантов генотипа полиморфизма A1298C гена MTHFR в точке на нижней трети предплечья**

Показатель	Группа	Генотип			Уровень p по критерию Манна-Уитни между генотипами
		A/A	A/C	C/C	
ПМ, пф. ед.	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	5,03 (3,93–5,76)	4,54 (3,54–5,78)	4,9 (4,45–5,15)	p <sub>1</sub> = 0,65 p <sub>2</sub> = 0,684 p <sub>3</sub> = 1,0
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	4,25 (3,075–5,64) p = 0,384	3,3 (2,98–4,21) p = 0,242	3,35 (2,64–4,76) p = 0,413	p <sub>1</sub> = 0,263 p <sub>2</sub> = 0,612 p <sub>3</sub> = 0,898
σ, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	1,25 (0,73–1,48)	0,89 (0,77–1,29)	0,98 (0,77–1,56)	p <sub>1</sub> = 0,769 p <sub>2</sub> = 1,0 p <sub>3</sub> = 0,684
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,62 (0,44–0,8) <b>p = 0,02</b>	0,78 (0,62–0,95) p = 0,031	0,68 (0,66–0,72) p = 0,343	p <sub>1</sub> = 0,196 p <sub>2</sub> = 0,521 p <sub>3</sub> = 0,527
Ан, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,59 (0,28 – 0,68)	0,49 (0,31–0,62)	0,37 (0,3–0,76)	p <sub>1</sub> = 0,611 p <sub>2</sub> = 0,785 p <sub>3</sub> = 0,77
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,28 (0,22–0,37) p = 0,087	0,44 (0,23–0,53) p = 0,1	0,34 (0,33–0,38) p = 1,0	p <sub>1</sub> = 0,292 p <sub>2</sub> = 0,35 p <sub>3</sub> = 0,71
Ам, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,36 (0,31–0,56)	0,41 (0,25–0,53)	0,54 (0,32–0,84)	p <sub>1</sub> = 0,574 p <sub>2</sub> = 0,703 p <sub>3</sub> = 0,379
	Пациенты с синдромом диабетической	0,25 (0,20–0,38) p = 0,176	0,39 (0,25–0,43)	0,27 (0,26–0,33)	p <sub>1</sub> = 0,829 p <sub>2</sub> = 0,645 p <sub>3</sub> = 0,414

	стопы n = 30		p = 0,128	p = 0,114	
Ад, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,25 (0,2–0,33)	0,3 (0,16–0,39)	0,42 (0,25–0,67)	p <sub>1</sub> = 0,936 p <sub>2</sub> = 0,477 p <sub>3</sub> = 0,316
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,18 (0,13–0,24) p = 0,118	0,18 (0,14–0,32) p = 0,166	0,17 (0,11–0,24) p = 0,2	p <sub>1</sub> = 0,439 p <sub>2</sub> = 0,442 p <sub>3</sub> = 0,825
Ас, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,24 (0,19–0,27)	0,19 (0,17–0,26)	0,3 (0,17–0,51)	p <sub>1</sub> = 0,362 p <sub>2</sub> = 0,956 p <sub>3</sub> = 0,703
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,14 (0,1–0,26) p = 0,16	0,14 (0,11–0,32) p = 0,123	0,15 (0,14–0,17) p = 0,286	p <sub>1</sub> = 0,829 p <sub>2</sub> = 0,893 p <sub>3</sub> = 0,898

*Примечание:* p – значимость различий по критерию Манна-Уитни между группами больных; p<sub>1</sub> – значимость различий между генотипами А/А и А/С; p<sub>2</sub> – значимость различий между генотипами А/А и С/С; p<sub>3</sub> – значимость различий между генотипами А/А и С/С; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Таблица 39

**Значения показателей микроциркуляции у пациентов в исследуемых группах в зависимости от носительства вариантов генотипа полиморфизма A1298C гена MTHFR в точке на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке**

Показатель	Группа	Генотип			Уровень p по критерию Манна-Уитни между генотипами
		A/A	A/C	C/C	
ПМ, пф. ед.	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	3,4 (2,29–4,32)	3,15 (2,12–4,03)	3,8 (3,61–4,02)	p <sub>1</sub> = 0,614 p <sub>2</sub> = 0,785 p <sub>3</sub> = 0,35

	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	2,61 (1,74–4,1) p = 0,323	1,58 (1,37–2,19) p = 0,298	1,92 (1,71–2,45) p = 0,016	p <sub>1</sub> = 0,084 p <sub>2</sub> = 0,349 p <sub>3</sub> = 0,518
Кv, %	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	18,89 (16,06–31,39)	18,56 (14,64–42,91)	32,89 (24,29–58,41)	p <sub>1</sub> = 0,579 p <sub>2</sub> = 0,296 p <sub>3</sub> = 0,439
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	29,21 (23,79–52,43) p = 0,11	59,52 (33,97–71,35) p = 0,249	34,62 (32,03–46,36) p = 1,0	p <sub>1</sub> = 0,393 p <sub>2</sub> = 0,849 p <sub>3</sub> = 0,438

*Примечание:* p – значимость различий по критерию Манна-Уитни между группами больных; p<sub>1</sub> – значимость различий между генотипами A/A и A/C; p<sub>2</sub> – значимость различий между генотипами A/A и C/C; p<sub>3</sub> – значимость различий между генотипами A/A и C/C.

Таблица 40

**Значения показателей микроциркуляции у пациентов в исследуемых группах в зависимости от носительства вариантов генотипа полиморфизма A1298C гена MTHFR в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы**

Показатель	Группа	Генотип			Уровень p по критерию Манна-Уитни между генотипами
		A/A	A/C	C/C	
ПМ, пф. ед.	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	2,9 (2,44–4,07)	4,23 (3,11–4,82)	4,46 (4,12–4,81)	p <sub>1</sub> = 0,139 p <sub>2</sub> = 0,102 p <sub>3</sub> = 0,412
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	2,51 (2,21–3,73) p = 0,548	1,89 (1,65–2,88) p = <b>0,022</b>	3,08 (2,0–3,58) p = 0,19	p <sub>1</sub> = 0,155 p <sub>2</sub> = 0,933 p <sub>3</sub> = 0,438
Кv, %	Пациенты с сахарным	20,96 (17,91–31,98)	27,04	37,96	p <sub>1</sub> = 0,531 p <sub>2</sub> = 1,0

	диабетом n = 30		(20,18– 34,67)	(15,69– 62,19)	p <sub>3</sub> = 0,753
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	41,36 (27,77–84,93) <b>p = 0,023</b>	49,12 (44,52– 52,4) <b>p = 0,019</b>	30,15 (16,94– 35,35) p = 1,0	p <sub>1</sub> = 0,877 p <sub>2</sub> = 0,298 p <sub>3</sub> = 0,147

*Примечание:* p – значимость различий по критерию Манна-Уитни между группами больных; p<sub>1</sub> – значимость различий между генотипами A/A и A/C; p<sub>2</sub> – значимость различий между генотипами A/A и C/C; p<sub>3</sub> – значимость различий между генотипами A/A и C/C; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Установлено, что при генотипах A/A и A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR при синдроме диабетической стопы в точке на предплечье показатель  $\sigma$  ниже, чем при неосложнённом сахарном диабете в 2 и 1,2 раза соответственно (p = 0,02, p = 0,031).

Значение ПМ в точке на тыле стопы при развитии синдрома диабетической стопы с носительством генотипа C/C полиморфизма A1298C гена MTHFR ниже, чем в группе больных с неосложнённым сахарным диабетом в 2 раза (p = 0,016).

В точке на 1 пальце стопы уровень ПМ при генотипе A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR ниже значения аналогичного показателя при неосложнённом сахарном диабете в 2,2 раза (p = 0,022). Отмечено повышение Kv в данной точке при носительстве генотипов A/A и A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR при синдроме диабетической стопы по сравнению с неосложнённым сахарным диабетом в 2 и 1,8 раза соответственно.

**6.2 Состояние амплитуды колебаний в эндотелиальном диапазоне в зависимости от носительства полиморфизма C786T гена eNOS и полиморфизма Lys198Asn гена END1 у пациентов с синдромом диабетической стопы**

Нами решено проанализировать состояние амплитуды колебаний в эндотелиальном диапазоне у пациентов с развитием синдрома диабетической стопы в зависимости от носительства вариантов генотипа полиморфизма C786T гена eNOS и полиморфизма Lys198Asn гена END1. Полученные данные представлены в таблицах 41, 42.

Таблица 41

**Значения амплитуды эндотелиальных колебаний у пациентов в исследуемых группах в зависимости от носительства варианта генотипа полиморфизма C786T гена eNOS**

Показатель	Группа	Генотип			Уровень p по критерию Манна-Уитни между генотипами
		C/C	C/T	T/T	
<b>Точка на нижней трети предплечья</b>					
Аэ, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,44 (0,38; 0,69)	0,57 (0,42; 0,93)	0,82 (0,44; 1,44)	p <sub>1</sub> = 0,382 p <sub>2</sub> = 0,396 p <sub>3</sub> = 0,395
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,35 (0,3; 0,59) p = 0,126	0,48 (0,35; 0,71) p = 0,399	0,29 (0,27; 0,41) p = 0,083	p <sub>1</sub> = 0,182 p <sub>2</sub> = 0,163 p <sub>3</sub> = 0,544
<b>Точка на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке</b>					
Аэ, пф. ед.	Пациенты с сахарным диабетом	0,4 (0,28; 0,52)	0,34 (0,31; 0,51)	0,34 (0,22; 0,6)	p <sub>1</sub> = 0,979 p <sub>2</sub> = 0,627 p <sub>3</sub> = 0,71

		n = 30				
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,36 (0,14; 0,47) p = 0,331	0,22 (0,19; 0,45) p = 0,129	0,4 (0,3; 0,85) p = 0,386		p <sub>1</sub> = 0,957 p <sub>2</sub> = 0,182 p <sub>3</sub> = 0,332
Точка на подошвенной поверхности 1 пальца стопы						
Аэ, пф. ед.	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	1,35 (1,17; 1,48)	1,06 (0,54; 1,47)	0,68 (0,39; 1,15)		p <sub>1</sub> = 0,173 p <sub>2</sub> = 0,544 p <sub>3</sub> = 0,137
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,46 (0,29; 0,61) <b>p &lt; 0,001</b>	0,46 (0,27; 0,62) <b>p = 0,01</b>	0,68 (0,5; 0,88) <b>p = 1,0</b>		p <sub>1</sub> = 1,0 p <sub>2</sub> = 0,163 p <sub>3</sub> = 0,163

*Примечания:* p – значимость различий по критерию Манна-Уитни между группами больных, p<sub>1</sub> – значимость различий между генотипами С/С и С/Т, p<sub>2</sub> – значимость различий между генотипами Т/С и Т/Т, p<sub>3</sub> – значимость отличий между генотипами С/С и Т/Т; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Установлено, что при варианте генотипа С/С полиморфизма С786Т гена eNOS при синдроме диабетической стопы показатель Аэ в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы ниже, чем у больных сахарным диабетом в 2,9 раза (p < 0,001).

В точке на предплечье при синдроме диабетической стопы при генотипе С/Т полиморфизма С786Т гена eNOS выявлено снижение значения Аэ в 2,3 раза по сравнению с аналогичным вариантом генотипа при сахарном диабете (p = 0,01).

Таблица 42

**Значения показателей микроциркуляции у пациентов в исследуемых группах в зависимости от носительства генотипов полиморфизма Lys198Asn гена END1**

Показатель	Группа	Генотип			Уровень p по критерию Манна-Уитни между генотипами
		Lys/Lys	Lys/Asn	Asn/Asn	
<b>Точка на нижней трети предплечья</b>					
Аэ, пф. ед	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,47 (0,38; 0,58)	0,41 (0,27; 0,5)	0,7 (0,42; 0,92)	p <sub>1</sub> = 0,187 p <sub>2</sub> = 0,667 p <sub>3</sub> = 0,067
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,29 (0,23; 0,49) <b>p = 0,023</b>	0,4 (0,16; 0,63) p = 0,812	0,45 (0,25; 0,63) <b>p = 0,037</b>	p <sub>1</sub> = 0,668 p <sub>2</sub> = 0,667 p <sub>3</sub> = 0,506
<b>Точка на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке</b>					
Аэ, пф. ед.	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	0,71 (0,4; 1,16)	0,39 (0,31; 0,62)	0,64 (0,4; 1,34)	p <sub>1</sub> = 0,886 p <sub>2</sub> = 0,197 p <sub>3</sub> = 0,059
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,36 (0,21; 0,78) p = 0,14	0,34 (0,17; 0,37) p = 0,141	0,72 (0,46; 0,99) p = 0,734	p <sub>1</sub> = 0,247 p <sub>2</sub> = 0,131 p <sub>3</sub> = 0,95
<b>Точка на подошвенной поверхности 1 пальца стопы</b>					
Аэ, пф. ед.	Пациенты с сахарным диабетом n = 30	1,09 (0,85; 1,33)	0,76 (0,71; 0,8)	0,56 (0,54; 0,58)	p <sub>1</sub> = 0,774 p <sub>2</sub> = 0,519 p <sub>3</sub> = 0,705
	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	0,41 (0,4; 0,42) p = 0,121	0,46 (0,43; 0,49) p = 0,121	0,9 (0,89; 0,92) p = 0,121	p <sub>1</sub> = 0,052 p <sub>2</sub> = 0,519 p <sub>3</sub> = 0,078

*Примечания:* p – значимость различий по критерию Манна-Уитни между группами больных, p<sub>1</sub> – значимость различий между генотипами Lys/Lys и Lys/Asn, p<sub>2</sub> – значимость различий между генотипами Lys/Asn и Asn/Asn, p<sub>3</sub> – значимость



отличий между генотипами Lys/Lys и Asn/Asn; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Установлено, что при вариантах генотипов Lys/Lys и Asn/Asn полиморфизма Lys198Asn гена END1 при диабетической стопе в точке на предплечье показатель Аэ ниже, чем при неосложненном сахарном диабете в 1,6 и 1,5 раза соответственно ( $p = 0,023$ ,  $p = 0,037$ ) [141].

**6.3 Взаимосвязь вариантов генотипов полиморфизма С634G гена VEGFA и полиморфизма А8202G гена MMP9 с показателями микроциркуляции при синдроме диабетической стопы**

В данном разделе оценена степень взаимосвязи полиморфизма С634G гена VEGFA и полиморфизма А8202G гена MMP9 с показателями микроциркуляции у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и при развитии синдрома диабетической стопы, исследованных в различных точках. Полученные данные представлены в таблицах 43, 44, 45, 46, 47, 48.

Таблица 43

**Взаимосвязь полиморфизма С634G гена VEGFA с показателями состояния микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы в точке на нижней трети предплечья**

Показатели	Гены			
	Полиморфизм С634G гена VEGFA			
	ρ	ρ	95% CI	Сила связи
ПМ, пф. ед.	0,034	0,795	0,022–0,045	Прямая слабая
σ, пф. ед.	- 0,020	0,888	0,008–0,032	Обратная слабая
Kv, %	- 0,019	0,889	0,013–0,026	Обратная слабая
ИЭМ	- 0,097	0,46	0,073–0,121	Обратная слабая
Аэ, пф. ед.	0,182	0,171	0,09–0,187	Прямая слабая
Ан, пф. ед.	0,075	0,582	0,02–0,068	Прямая слабая
Ам, пф. ед.	0,055	0,687	0,02–0,056	Прямая слабая
Ад, пф. ед.	- 0,013	0,922	0,005–0,015	Обратная слабая
Ас, пф. ед.	- 0,088	0,506	0,024–0,09	Обратная слабая
MT	0,12	0,365	0,085–0,154	Прямая слабая

НТ	- 0,048	0,713	0,035–0,061	Обратная слабая
ПШ	<b>0,322</b>	<b>0,013</b>	<b>0,236–0,408</b>	<b>Прямая умеренная</b>

*Примечание:*  $\rho$  – коэффициент корреляции Спирмена;  $p$  – уровень значимости различий между группами; 95% CI – 95% доверительный интервал  $p$ ; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Таблица 44

**Взаимосвязь полиморфизма A8202G гена MMP9 с показателями состояния микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы в точке на нижней трети предплечья**

Показатели	Гены			
	Полиморфизм A8202G гена MMP9			
	$\rho$	$p$	95% CI	Сила связи
ПМ, пф. ед.	- 0,251	0,055	0,251–0,064	Обратная слабая
$\sigma$ , пф. ед.	<b>- 0,277</b>	<b>0,045</b>	<b>0,108–0,446</b>	<b>Обратная слабая</b>
Kv, %	0,1	0,469	0,071–0,135	Прямая слабая
ИЭМ	<b>- 0,382</b>	<b>0,003</b>	<b>0,288–0,477</b>	<b>Обратная умеренная</b>
Аэ, пф. ед.	- 0,219	0,099	0,112–0,225	Обратная слабая
Ан, пф. ед.	<b>- 0,28</b>	<b>0,037</b>	<b>0,09–0,3</b>	<b>Обратная слабая</b>
Ам, пф. ед.	- 0,093	0,493	0,035–0,094	Обратная слабая
Ад, пф. ед.	0,117	0,388	0,045–0,139	Прямая слабая
Ас, пф. ед.	- 0,2	0,129	0,055–0,21	Обратная слабая
МТ	- 0,16	0,226	0,114–0,205	Обратная слабая
НТ	- 0,172	0,188	0,126–0,218	Обратная слабая
ПШ	- 0,132	0,32	0,097–0,167	Обратная слабая

*Примечание:*  $\rho$  – коэффициент корреляции Спирмена;  $p$  – уровень значимости различий между группами; 95% CI – 95% доверительный интервал  $p$ ; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

В результате оценки показателей кровообращения выявлена значимая слабая обратная степень согласованности между значением  $\sigma$  в точке на предплечье и

полиморфизмом А8202G гена MMP9 у обследуемых больных ( $\rho = -0,277$ ,  $p = 0,045$ , CI 95% 0,108–0,446). Вместе с тем обнаружена обратная умеренная достоверная степень согласованности между показателем ИЭМ в этой же точке и полиморфизма А8202G гена MMP9 у пациентов в клинических группах ( $\rho = -0,382$ ,  $p = 0,003$ , CI 95% 0,288–0,477). Нами установлена значимая обратная слабая степень взаимосвязи между показателем Ан и полиморфизмом А8202 G указанного гена у пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета ( $\rho = -0,28$ ,  $p = 0,037$ , CI 95% 0,09–0,3).

Выявлен значимый прямой параллелизм умеренной силы между значением ПШ в точке на предплечье и полиморфизмом С634G гена VEGFA ( $\rho = 0,322$ ,  $p = 0,013$ , CI 95% 0,236–0,408). При анализе степени согласованности остальных показателей микроциркуляции в указанной точке и полиморфизмов С634G гена VEGFA, А8202G гена MMP9 достоверных изменений выявлено не было.

Таблица 45

**Взаимосвязь полиморфизма С634G гена VEGFA с показателями состояния микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы в точке на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке**

Показатели	Гены			
	Полиморфизм С634G гена VEGFA			
	$\rho$	$p$	95% CI	Сила связи
ПМ, пф. ед	- 0,28	0,03	0,16–0,397	<b>Обратная слабая</b>
$\sigma$ , пф. ед.	- 0,071	0,595	0,041–0,1	Обратная слабая
Кv, %	0,244	0,068	0,146–0,342	Прямая слабая
Аэ, пф. ед	0,179	0,171	0,09–0,196	Прямая слабая
Ан, пф. ед	- 0,05	0,709	0,027–0,057	Обратная слабая
Ам, пф. ед	-0,12	0,374	0,05–0,138	Обратная слабая
Ад, пф. ед	-0,115	0,395	0,05–0,149	Обратная слабая

Ас, пф. ед	- 0,113	0,404	0,074–0,213	Обратная слабая
ИЭМ	0,253	0,053	0,184–0,322	Прямая слабая
МТ	0,178	0,177	0,127–0,23	Прямая слабая
НТ	0,097	0,461	0,069–0,125	Прямая слабая
ПШ	- 0,025	0,85	0,017–0,032	Обратная слабая

*Примечание:*  $\rho$  – коэффициент корреляции Спирмена;  $p$  – уровень значимости различий между группами; 95% CI – 95% доверительный интервал  $p$ ; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Таблица 46

**Взаимосвязь полиморфизма A8202G гена MMP9 с показателями состояния микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы в точке на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке**

Показатели	Гены			
	Полиморфизм A8202G гена MMP9			
	$\rho$	$p$	95% CI	Сила связи
ПМ, пф. ед	- 0,081	0,536	0,047–0,115	Обратная слабая
$\sigma$ , пф. ед.	- 0,049	0,715	0,029–0,069	Обратная слабая
Кv, %	0,068	0,615	0,041–0,095	Прямая слабая
Аэ, пф. ед	-0,042	0,753	0,02–0,046	Обратная слабая
Ан, пф. ед	- 0,172	0,194	0,092–0,195	Обратная слабая
Ам, пф. ед	- 0,068	0,614	0,03–0,078	Обратная слабая
Ад, пф. ед	- 0,1	0,458	0,04–0,13	Обратная слабая
Ас, пф. ед	- 0,118	0,382	0,077–0,22	Обратная слабая
ИЭМ	- 0,204	0,121	0,148–0,259	Обратная слабая
МТ	- 0,040	0,766	0,028–0,052	Обратная слабая
НТ	- 0,157	0,232	0,112–0,202	Обратная слабая
ПШ	0,046	0,731	0,033–0,059	Прямая слабая

*Примечание:*  $\rho$  – коэффициент корреляции Спирмена;  $p$  – уровень значимости различий между группами; 95% CI – 95% доверительный интервал  $\rho$ ; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Таблица 47

**Взаимосвязь полиморфизма C634G гена VEGFA с показателями состояния микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы**

Показатели	Гены			
	Полиморфизм C634G гена VEGFA			
	$\rho$	$p$	95% CI	Сила связи
ПМ, пф. ед	- 0,175	0,182	0,108–0,242	Обратная слабая
$\sigma$ , пф. ед.	0,249	0,058	0,164–0,334	Прямая слабая
Kv, %	0,222	0,098	0,155–0,266	Прямая слабая
ИЭМ	0,161	0,218	0,115–0,207	Прямая слабая
Аэ, пф. ед	0,022	0,870	0,013–0,024	Прямая слабая
Ан, пф. ед	0,022	0,869	0,006–0,028	Прямая слабая
Ам, пф. ед	0,09	0,497	0,036–0,097	Прямая слабая
Ад, пф. ед	0,077	0,564	0,017–0,087	Прямая слабая
Ас, пф. ед	0,078	0,569	0,027–0,096	Прямая слабая
МТ	0,127	0,338	0,094–0,159	Прямая слабая
НТ	<b>0,275</b>	<b>0,035</b>	<b>0,198–0,351</b>	<b>Прямая слабая</b>
ПШ	- 0,065	0,621	0,047–0,082	Обратная слабая

*Примечание:*  $\rho$  – коэффициент корреляции Спирмена;  $p$  – уровень значимости различий между группами; 95% CI – 95% доверительный интервал  $\rho$ ; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Таблица 48

**Взаимосвязь полиморфизма A8202G гена MMP9 с показателями состояния микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы**

Показатели	Гены			
	Полиморфизм A8202G гена MMP9			
	$\rho$	$p$	95% CI	Сила связи
ПМ, пф. ед	0,041	0,756	0,025–0,057	Прямая слабая
$\sigma$ , пф. ед.	- 0,026	0,058	0,017–0,035	Обратная слабая
Kv, %	0,04	0,098	0,028–0,048	Прямая слабая
ИЭМ	<b>- 0,308</b>	<b>0,017</b>	<b>0,220–0,396</b>	<b>Обратная умеренная</b>
Аэ, пф. ед	0,011	0,936	0,007–0,012	Прямая слабая
Ан, пф. ед	- 0,098	0,454	0,027–0, 11	Обратная слабая
Ам, пф. ед	- 0,066	0,62	0,027–0,076	Обратная слабая
Ад, пф. ед	- 0,061	0,649	0,013–0,074	Обратная слабая
Ас, пф. ед	- 0,085	0,534	0,03–0,1	Обратная слабая
МТ	- 0,222	0,091	0,165–0,278	Обратная слабая
НТ	- 0,017	0,896	0,012–0,022	Обратная слабая
ПШ	- 0,087	0,507	0,063–0,111	Обратная слабая

*Примечание:*  $\rho$  – коэффициент корреляции Спирмена;  $p$  – уровень значимости различий между группами; 95% CI – 95% доверительный интервал  $p$ ; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

При исследовании микрокровотока в точке на тыле стопы выявлена значимая обратная слабая синхронность изменений между значением ПМ и полиморфизма С634G гена VEGFA ( $\rho = - 0,28$ ,  $p = 0,03$ , CI 95% 0,16–0,397). Достоверной степени согласованности между другими показателями микроциркуляции в этой точке и полиморфными вариантами С634G гена VEGFA и A8202G гена MMP9 выявлено не было.

В точке на 1 пальце стопы обнаружен значимый обратный умеренный параллелизм между значением ИЭМ и генотипами полиморфизма A8202G гена

MMP9 ( $\rho = -0,308$ ,  $p = 0,017$ , CI 95% 0,220–0,396). В указанной зоне выявлена достоверная прямая степень согласованности слабой силы между НТ и полиморфными вариантами С634G гена VEGFA ( $\rho = 0,275$ ,  $p = 0,035$ , CI 95% 0,198–0,351). Значимой синхронности изменений остальных исследованных показателей микроциркуляторного русла в точке на 1 пальце стопы и генотипами полиморфизмов С634G гена VEGFA, А8202G гена MMP9 установлено не было [151].



#### **6.4 Взаимосвязь генотипов полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1, A8202G гена MMP9, A1298C гена MTHFR с маркерами дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназой 9 и гомоцистеином при развитии синдрома диабетической стопы**

Одним из значимых факторов в патогенезе развития синдрома диабетической стопы является дисфункция эндотелия. При развитии эндотелиальной дисфункции происходит ряд процессов, таких как снижение выработки оксида азота, преобладание местных вазоактивных веществ, повышение выделения эндотелиальных факторов роста, матриксных металлопротеиназ, приводящих к ремоделированию сосудов, повреждению их структуры и, как следствие, к развитию и усугублению ангиопатий [130]. На степень активности биологически активных веществ существенное влияние оказывает уровень экспрессии генов, кодирующих их выработку.

В данном разделе оценена корреляция полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1, A8202G гена MMP9, A1298C гена MTHFR и содержанием в крови нитрита азота, нитрата азота, общего нитрата, эндотелина-1, матриксной металлопротеиназы 9, гомоцистеина. Полученные данные представлены в таблице 49.

Таблица 49

#### **Взаимосвязь полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1 с уровнем факторов регуляции сосудистого тонуса, A8202G гена MMP9 с уровнем матриксной металлопротеиназы 9, A1298C гена MTHFR с уровнем гомоцистеина**

Показатели	Полиморфизмы генов			
	$\rho$	$p$	95% CI	Сила связи
Полиморфизм C786T гена eNOS				

NO <sub>2</sub> , мкмоль/л	<b>0,346</b>	<b>0,007</b>	<b>0,257–0,444</b>	<b>Прямая умеренная</b>
NO <sub>3</sub> , мкмоль/л	0,021	0,876	0,015–0,027	Прямая слабая
NO <sub>2</sub> -/NO <sub>3</sub> - мкмоль/л	<b>0,315</b>	<b>0,015</b>	<b>0,227–0,391</b>	<b>Прямая умеренная</b>
Полиморфизм Lys198Asn гена eNOS				
Эндотелин -1, фмоль/л	- 0,086	0,528	0,046-0,125	Прямая слабая
Полиморфизм A820G гена MMP9				
MMP 9, нг/мл	<b>- 0,308</b>	<b>0,022</b>	<b>0,185– 0,502</b>	<b>Обратная умеренная</b>
Полиморфизм A1298C гена MTHFR				
Гомоцистеин, мкмоль/л	0,027	0,852	0,019–0,031	Прямая слабая

*Примечание:*  $\rho$  – коэффициент корреляции Спирмена;  $p$  – уровень значимости различий между группами; 95% CI – 95% доверительный интервал  $\rho$ ; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Установлена умеренная степень согласованности между значениями изменений концентрацией NO<sub>2</sub> и NO<sub>2</sub>-/NO<sub>3</sub>- и генотипами полиморфизма C786T гена eNOS у обследуемых пациентов ( $\rho = 0,346$ ,  $p = 0,007$ , CI 95% 0,257–0,444,  $\rho = 0,315$ ,  $p = 0,015$ , CI 95% 0,227–0,391). Вместе с тем синхронности изменений уровня NO<sub>3</sub> и полиморфизма C786T гена eNOS в исследуемых группах больных зарегистрировано не было.

У пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета не выявлено параллелизма между уровнем эндотелина-1 и генотипами полиморфизма Lys198Asn гена eNOS.

Нами выявлена значимая обратная умеренная степень согласованности между значением MMP9 и полиморфными вариантами A820G гена MMP9 ( $\rho = -0,308$ ,  $p = 0,022$ , CI 95% 0,185–0,502).

У больных с синдромом диабетической стопы и неосложненным течением сахарного диабета не выявлено взаимосвязи между уровнем гомоцистеина и вариантами генотипов полиморфизма A1298C гена MTHFR [144, 151].

## 6.5 Резюме

При оценке взаимосвязи полиморфизма T1565C гена ITGB3 и A1298C гена MTHFR с состоянием микроциркуляторного русла при различных вариантах течения сахарного диабета в точках на предплечье, стопе и 1 пальце стопы выявлены различные изменения.

При генотипах T/T и T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 у пациентов с синдромом диабетической стопы в точке на предплечье выявлено снижение среднего колебания перфузии. При носительстве генотипа T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 при диабетической стопе отмечено снижение амплитуды осцилляций дыхательного диапазона колебаний микрокровотока. В точке на тыле стопы при генотипе T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 отмечено снижение показателя микроциркуляции. При варианте генотипа T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 в точке на 1 пальце стопы при диабетической стопе выявлено снижение среднего значения показателя микроциркуляторного русла и повышение коэффициента вариации. Полученные данные представлены в таблице 50.

Таблица 50

**Достоверные изменения показателей микроциркуляции в зависимости от носительства варианта генотипа полиморфизма T1565C гена ITGB3 при развитии синдрома диабетической стопы**

Исследуемая точка	Генотипы		
	T/T	T/C	C/C
	1	2	3
Точка на нижней трети предплечья	σ, Ад	σ	-
Точка на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке	ПМ	-	-
Точка на подошвенной поверхности 1 пальца стопы	-	ПМ, Kv	-

У пациентов с диабетической стопой с генотипами А/А и А/С полиморфизма А1298С гена МТНFR в точке на предплечье отмечено снижение показателя, характеризующего среднее колебание перфузии. При развитии диабетической стопы в точке на тыле стопы при варианте генотипа С/С выявлено снижение общего показателя микроциркуляции. В точке на 1 пальце стопы при развитии диабетической стопы с генотипом А/С полиморфизма А1298С гена МТНFR отмечено снижение показателя общей микроциркуляции и повышение коэффициента вариации. Полученные данные представлены в таблице 51.

Таблица 51

**Достоверные изменения показателей микроциркуляции в зависимости от носительства варианта генотипа полиморфизма А1298С гена МТНFR при развитии синдрома диабетической стопы**

Исследуемая точка	Генотипы		
	А/А	А/С	С/С
Точка на нижней трети предплечья	σ	σ	-
Точка на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке	-	-	М
Точка на подошвенной поверхности 1 пальца стопы	Кv	ПМ, Кv	

У пациентов с синдромом диабетической стопы при варианте генотипа С/С полиморфизма С786Т гена eNOS в точке на 1 пальце стопы и варианте генотипа С/Т указанного полиморфизма гена в точке на предплечье зарегистрировано снижение показателя Аэ относительно больных с неосложненным течением сахарного диабета.

При анализе полученных данных установлено, что при вариантах генотипов Lys/Lys и Asn/Asn полиморфизма Lys198Asn гена END1 у пациентов с развитием

синдрома диабетической стопы в точке на предплечье регистрируется снижение показателя Аэ. Полученные данные представлены в таблице 52.

Таблица 52

**Достоверные изменения амплитуды эндотелиальных колебаний в зависимости от носительства варианта генотипа полиморфизма С786Т гена eNOS и Lys198Asn гена END1 при развитии синдрома диабетической стопы**

Исследуемая точка	Генотипы полиморфизма С786Т гена eNOS			Генотипы полиморфизма Lys198Asn гена END1		
	С/С	С/Т	Т/Т	Lys/Lys	Lys/Asn	Asn/Asn
Точка на нижней трети предплечья	-	-	-	Аэ	-	Аэ
Точка на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке	-	-	-	-	-	-
Точка на подошвенной поверхности 1 пальца стопы	Аэ	Аэ	-	-	-	-

Анализируя взаимосвязь вариантов генотипов полиморфизма С634G гена VEGFA и полиморфизма А8202G гена MMP9 с состоянием микроциркуляторного русла в точках на предплечье, стопе и 1 пальце стопы у пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета, выявлена корреляция указанных генетических полиморфизмов с некоторыми показателями состояния микроциркуляции.

Выявлена взаимосвязь полиморфизма С634G гена VEGFA с показателем шунтирования в точке на предплечье, показателем среднеарифметического значения микроциркуляции на стопе и нейрогенным тонусом на 1 пальце стопы. Установлена корреляция полиморфизма А8202G гена MMP9 со средним квадратичным отклонением колебаний кровотока, индексом эффективности микроциркуляции и амплитудой колебаний в нейрогенном диапазоне в точке на

предплечье. Обнаружена взаимосвязь указанного полиморфизма гена с индексом эффективности микроциркуляции в точке на 1 пальце стопы. Полученные результаты представлены в таблице 53.

Таблица 53

**Достоверная взаимосвязь показателей микроциркуляции в зависимости от носительства варианта генотипа полиморфизма С634G гена VEGFA, А8202G гена MMP9 при развитии синдрома диабетической стопы**

Исследуемая точка	Показатели микроциркуляции	
	Полиморфизм С634G гена VEGFA	Полиморфизм А8202G гена MMP9
Точка на нижней трети предплечья	ПШ	-
Точка на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке	σ, ИЭМ, Ан	НТ
Точка на подошвенной поверхности 1 пальца стопы	ПМ	ИЭМ

Оценивая корреляцию полиморфизмов С786Т гена eNOS, Lys198Asn гена END1, А8202G гена MMP9 с концентрацией соответствующих веществ при неосложненном течении сахарного диабета и при развитии синдрома диабетической стопы, нами выявлены определенные закономерности. Установлена взаимосвязь полиморфизма С786Т гена eNOS с уровнем нитрита и общего нитрата, полиморфизма А8202G гена MMP9 с содержанием матриксной металлопротеиназы 9. Полученные результаты представлены в таблице 54.

Таблица 54

**Достоверная взаимосвязь уровня маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9 в зависимости от носительства варианта генотипа полиморфизма С786Т гена eNOS и А8202G гена MMP9 при развитии синдрома диабетической стопы**

Полиморфизм гена	Показатели
Полиморфизм С786Т гена eNOS	NO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> -/NO <sub>3</sub> -
Полиморфизм А8202G гена MMP9	MMP9

## **ГЛАВА 7. СОЧЕТАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ИССЛЕДОВАННЫХ ГЕНОВ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ПРИ СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**

### **7.1 Сочетание полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1, T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3, G1691A гена FV, G20210A гена FII, A8202G гена MMP9, C634G гена VEGFA, A1298C гена MTHFR при развитии синдрома диабетической стопы**

Выявление значения сочетания исследованных полиморфизмов C786T генов eNOS, Lys198Asn гена END1, T1565C(Leu33Pro) гена ITGB3, G1691A гена FV, G20210A гена FII, A8202G гена MMP9, C634G гена VEGFA, A1298C гена MTHFR, ассоциированных с развитием синдрома диабетической стопы, проводили с помощью метода бинарного логистического регрессионного анализа. Установлено, что наиболее значимый вклад в развитие синдрома диабетической стопы вносит комбинация полиморфизмов T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и A1298C гена MTHFR.

Далее нами проанализированы варианты сочетания генотипов полиморфизмов данных генов у обследованных пациентов в зависимости от развития синдрома диабетической стопы, полученные данные представлены в таблице 55.

Таблица 55

**Частота встречаемости сочетаний вариантов генотипов полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и A1298C гена MTHFR при различных вариантах течения сахарного диабета**



Сочетание вариантов генотипов полиморфизмов генов	Пациенты с сахарным диабетом n = 198		Пациенты с диабетической стопой n = 199		$\chi^2$	p	OR (95% CI)
	n	%	n	%			
ITGB3 1565TT, MTHFR 1298AA	62	31,3	62	31,1	0,001	0,974	0,993 (0,649–1,518)
ITGB3 1565TT, MTHFR 1298AC	63	31,8	30	15,1	<b>15,51</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,38 (0,233–0,621)
ITGB3 1565TT, MTHFR 1298CC	15	7,6	25	12,6	2,724	0,099	1,753 (0,894–3,434)
ITGB3 1565TC, MTHFR 1298AA	19	9,6	41	20,6	<b>9,373</b>	<b>0,003</b>	<b>2,445 (1,363 – 4,386)</b>
ITGB3 1565TC, MTHFR 1298AC	26	13,1	25	12,6	0,029	0,866	0,95 (0,528–1,711)
ITGB3 1565TC, MTHFR 1298CC	11	5,6	12	6	0,052	0,821	1,091 (0,47–2,534)
ITGB3 1565CC, MTHFR 1298AA	1	0,5	1	0,5	0	0,998	0,995 (0,062–16,019)
ITGB3 1565CC, MTHFR 1298AC	1	0,5	2	1	0,331	0,566	0,497 (0,045–5,531)
ITGB3 1565CC, MTHFR 1298CC	-	-	1	0,5	-	-	-

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, OR – отношение шансов, 95% CI – 95% доверительный интервал OR, p – уровень значимости между группами; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

В ходе исследования установлено, что сочетание генотипов T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 и A/A полиморфизма A1298C гена MTHFR в

обследованных группах достоверно не отличается и выявлено у 31,3% пациентов с синдромом диабетической стопы и у 31,3% больных сахарным диабетом.

Комбинация генотипов Т/Т полиморфизма Т1565С гена ITGB3, А/С полиморфизма А1298С гена MTHFR при синдроме диабетической стопы встречалась в 2 раза реже, чем при неосложненном сахарном диабете, и составила 15,1% и 31,8% соответственно ( $\chi^2 = 15,51$ ,  $p < 0,001$ ). Вместе с тем нами не выявлено ассоциации данного сочетания генетических полиморфизмов с риском развития синдрома диабетической стопы.

Распространенность сочетания генотипов Т/Т полиморфизма Т1565С гена ITGB3, С/С полиморфизма А1298С гена MTHFR в группах обследованных больных существенно не отличалась и составила 12,6% и 7,6% соответственно.

По полученным нами данным, при синдроме диабетической стопы комбинация генотипов Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 и А/А полиморфизма А1298С гена MTHFR встречалась в 2,1 раза чаще, чем при неосложненном течении сахарного диабета, и составила 20,6% и 9,6% соответственно ( $\chi^2 = 9,373$ ,  $p = 0,003$ ). Нами выявлено, что риск развития синдрома диабетической стопы при данном сочетании полиморфизмов генов в 2,4 раза выше, чем при других вариантах комбинации генотипов полиморфизма Т1565С гена ITGB3 и А1298С гена MTHFR (OR=2,445, 95% CI 1,363–4,386).

Сочетание генотипов Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 и А/С А1298С гена MTHFR при диабетической стопе отмечалось в 12,6% случаев, при неосложнённом течении сахарного диабета - в 13,1%. Статистически значимых отличий частоты встречаемости указанной комбинации полиморфизмов между группами выявлено не было.

Распространенность сочетания генотипов Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 и С/С полиморфизма А1298С гена MTHFR существенно не отличалась в группах обследованных больных и составила 6% и 5,6% соответственно.

Редко встречающимися вариантами комбинации генотипов С/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 и А/А полиморфизма А1298С гена MTHFR, а

также генотипов С/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 и А/С полиморфизма А1298С гена MTHFR. При развитии диабетической стопы данные варианты сочетания генотипов встречались в 0,5% и 1,0% соответственно, при неосложненном течении сахарного диабета - в 0,5% случаев.

Вариант комбинации генотипов С/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 и С/С полиморфизма А1298С гена MTHFR у пациентов с синдромом диабетической стопы отмечался в 0,5% случаев, в группе больных сахарным диабетом нами выявлен не был [142].

**7.2. Модель индивидуального прогноза риска развития синдрома  
диабетической стопы на основе полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена  
ITGB3 и показателей микроциркуляторного русла**

В ходе предыдущих этапов исследования нами выявлена ассоциация генотипа T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 с риском развития синдрома диабетической стопы.

Далее нами проанализирована связь между показателями состояния микроциркуляторного русла в различных точках и развитием синдрома диабетической стопы. Полученные данные представлены в таблицах 56, 57, 58.

Таблица 56

**Взаимосвязь между развитием синдрома диабетической стопы и  
показателями состояния микроциркуляторного русла в точке на нижней  
трети предплечья**

Показатель	$\chi^2$	p	V Крамера	Сила связи
ПМ, пф. ед.	<b>3,807</b>	<b>0,05</b>	<b>0,254</b>	<b>средняя</b>
$\sigma$ , пф. ед.	<b>8,287</b>	<b>0,004</b>	<b>0,395</b>	<b>средняя</b>
Кv, %	0,162	0,688	0,054	слабая
ИЭМ	0,067	0,795	0,034	слабая
Аэ, пф. ед.	0,244	0,621	0,065	слабая
Ан, пф. ед.	3,725	0,054	0,258	средняя
Ам, пф. ед.	0,922	0,337	0,127	слабая
Ад, пф. ед.	<b>4,026</b>	<b>0,045</b>	<b>0,266</b>	<b>средняя</b>
Ас, пф. ед.	<b>9,247</b>	<b>0,02</b>	<b>0,396</b>	<b>средняя</b>
МТ	0,416	0,519	0,084	слабая
ПШ	0,814	0,367	0,117	слабая

НТ	1,071	0,301	0,134	слабая
----	-------	-------	-------	--------

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, p – уровень значимости между группами, OR – отношение шансов, 95% CI – 95% доверительный интервал OR; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Таблица 57

**Взаимосвязь между развитием синдрома диабетической стопы и показателями состояния микроциркуляторного русла в точке на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке**

Показатель	$\chi^2$	p	V Крамера	Сила связи
ПМ, пф. ед.	<b>6,669</b>	<b>0,01</b>	<b>0,334</b>	<b>средняя</b>
$\sigma$ , пф. ед.	1,137	0,286	0,140	слабая
Kv, %	<b>4,026</b>	<b>0,045</b>	<b>0,266</b>	<b>средняя</b>
ИЭМ	0,158	0,691	0,052	слабая
Аэ, пф. ед.	0,271	0,602	0,067	слабая
Ан, пф. ед.	0,004	0,948	0,009	слабая
Ам, пф. ед.	0,148	0,701	0,051	слабая
Ад, пф. ед.	0,009	0,922	0,013	слабая
Ас, пф. ед.	0,008	0,928	0,012	слабая
МТ	0,015	0,902	0,016	слабая
ПШ	0,138	0,711	0,048	слабая
НТ	0,268	0,605	0,067	слабая

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, p – уровень значимости между группами, OR – отношение шансов, 95% CI – 95% доверительный интервал OR; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Таблица 58

**Взаимосвязь между развитием синдрома диабетической стопы и показателями состояния микроциркуляторного русла в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы**

Показатель	$\chi^2$	p	V Крамера	Сила связи
ПМ, пф. ед.	<b>5,934</b>	<b>0,015</b>	<b>0,314</b>	<b>средняя</b>
$\sigma$ , пф. ед.	0,871	0,351	0,122	слабая
Kv, %	<b>5,224</b>	<b>0,022</b>	<b>0,303</b>	<b>средняя</b>
ИЭМ	0,067	0,796	0,033	слабая
Аэ, пф. ед.	0,230	0,632	0,062	слабая
Ан, пф. ед.	0,069	0,793	0,034	слабая
Ам, пф. ед.	0,158	0,691	0,052	слабая
Ад, пф. ед.	0,608	0,436	0,102	слабая
Ас, пф. ед.	0,144	0,422	0,107	слабая
МТ	0,845	0,358	0,120	слабая
ПШ	0,271	0,602	0,067	слабая
НТ	1,379	0,240	0,153	слабая

*Примечание:* n – количество обследованных,  $\chi^2$  – хи-квадрат, p – уровень значимости между группами, OR – отношение шансов, 95% CI – 95% доверительный интервал OR; жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Установлена значимая ассоциативная связь между показателями микроциркуляции ПМ,  $\sigma$ , Ад, Ас в точке на нижней трети предплечья и развитием синдрома диабетической стопы средней силы ( $\chi^2 = 3,807$ , p = 0,05, V-Крамера = 0,256,  $\chi^2 = 8,287$ , p = 0,004, V-Крамера 0,395,  $\chi^2 = 4,026$ , p = 0,045,  $\chi^2 = 9,247$ , p = 0,02, V-Крамера = 0,266, V-Крамера = 0,396). Вместе с тем в данной точке не выявлено достоверной связи между уровнем Ан, Ам и развитием синдрома диабетической стопы. В точках на тыле и 1 пальце стопы показатели ПМ и Kv достоверно ассоциировались с риском развития диабетической стопы, сила связи оценена как средняя ( $\chi^2 = 6,669$ , p = 0,01, V-Крамера = 0,334,  $\chi^2 = 4,026$ , p = 0,045, V-Крамера = 0,266,  $\chi^2 = 5,934$ , p = 0,015, V-Крамера = 0,314,  $\chi^2 = 5,224$ , p = 0,022, V-Крамера =

0,303). Для остальных показателей микроциркуляторного русла ассоциативной связи с развитием синдрома диабетической стопы нами не было выявлено.

На основе значимо ассоциированных с синдромом диабетической стопы показателей микроциркуляции с помощью метода нелинейного регрессионного анализа нами получена модель, позволяющая определить средний относительный риск развития синдрома диабетической стопы. Для его расчета у конкретного пациента, являющегося носителем Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3, необходимо рассчитать средний относительный риск по формуле:

$$OR = 0,1 \times (0,846 \times ПМz + 1,655 \times \sigma z + 0,912 \times Адz + 0,9965 \times Асz + 1,055 \times ПМs + 0,912 \times Кvs + 1,25 \times ПМр + 0,863 \times Квр),$$

где Мz – показатель микроциркуляции в точке на предплечье,  $\sigma z$  – среднее квадратичное отклонение от среднего арифметического значения ПМ в точке на предплечье, Адz – показатель максимальной амплитуды дыхательного диапазона в точке на предплечье, Асz – показатель максимальной амплитуды сосудистого диапазона в точке на предплечье, ПМs – показатель микроциркуляции в точке на тыле стопы, Кvs – коэффициент вариации в точке на тыле стопы, ПМр – показатель микроциркуляции в точке на 1 пальце стопы, Квр – коэффициент вариации в точке на 1 пальце стопы. Для использования в формуле значения параметров микроциркуляторного русла необходимо перевести в баллы (таблица 59).

Таблица 59

#### Балльная шкала кодировки параметров, использованных в формуле

Показатель	0 баллов	1 балл
ПМz, пф. ед.	Ниже 4,28	Выше и равно 4,28
$\sigma z$ , пф. ед.	Ниже 0,9	Выше и равно 0,9
Адz, пф. ед.	Ниже 0,24	Выше и равно 0,24
Асz, пф. ед.	Ниже 0,16	Выше и равно 0,16
ПМs, пф. ед.	Ниже 2,89	Выше и равно 2,89
Кvs, пф. ед.	Ниже 27,81	Выше и равно 27,81
ПМр, пф. ед.	Ниже 3,58	Выше и равно 3,58
Квр, %	Ниже 35,83	Выше и равно 35,83

На основании полученного результата оценивается средний относительный риск развития данного осложнения у конкретного пациента относительно среднего риска в популяции.

На основе полученной модели построена ROC-кривая, площадь под которой составила 80,1%, что свидетельствует о ее высокой чувствительности и специфичности (рисунок 2).

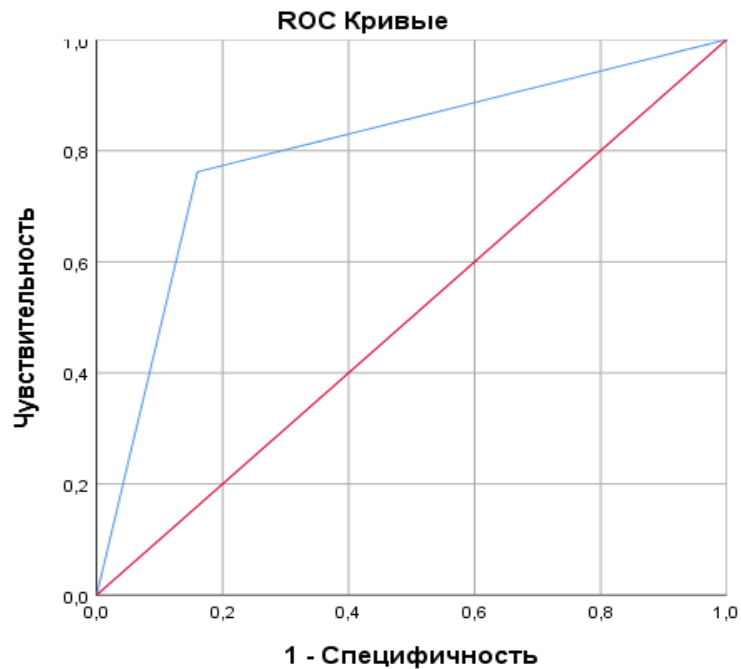


Рисунок 2. Площадь под ROC-кривой для прогностической модели

На основании полученных результатов нами разработана программа для ЭВМ для прогнозирования риска развития синдрома диабетической стопы. Программа разработана как приложение для смартфонов на базе операционной системы Android. Набор действий создается в специальном режиме пользовательского окна, в котором пользователь получает доступ к вводу значений полиморфизма генов пациента, определенного с помощью полимеразной цепной реакции, значению концентрации общего нитрита, определенного с помощью твердофазного иммуноферментного анализа, а также параметров микроциркуляции, определенных с помощью метода лазерной доплеровской флоуметрии в точках на ладонной поверхности нижней трети предплечья,



расположенной по срединной линии на 4 см выше основания шиловидных отростков локтевой и лучевой костей, в первом межплюсневом промежутке тыла стопы и на подошвенной поверхности первого пальца стопы (рисунки 3, 4, 5) [127, 148].

Программа позволяет оценивать степень риска развития синдрома диабетической стопы в % относительно среднего риска в популяции.

Вероятность диабетической стопы

Введите показатели

ITGB3 1565T>C

MTHFR 1298A>C

Mz =

Ms =

bz =

Mp =

Адз =

Kvs =

Acz =

Kvp =

NOx =

Рассчитать

%

Закреть

Рисунок 3. Программа для прогнозирования риска развития синдрома диабетической стопы

Вероятность диабетической стопы

Введите показатели

ITGB3 1565T>C TGB 1565T

MTHFR 1298A>C MTHFR 129

Mz = более / = ↕ Ms = более / = ↕

бz = более / = ↕ Mp = более / = ↕

Адz = более / = ↕ Kvs = более / = ↕

Acz = более / = ↕ Kvp = более / = ↕

NOx = более / = ↕

Низкая

22,37899363%

Рассчитать

Закреть




Рисунок 4. Программа для прогнозирования риска развития синдрома диабетической стопы

Вероятность диабетической стопы

Введите показатели

ITGB3 1565T>C TGB 1565T

MTHFR 1298A>C MTHFR 129

Mz = менее 4,2 ↕ Ms = менее 2,8 ↕

бz = менее 0,9 ↕ Mp = менее 3,5 ↕

Адz = менее 0,24 ↕ Kvs = менее 27, ↕

Acz = менее 0,16 ↕ Kvp = менее 35, ↕

NOx = менее 19, ↕

Высокая

159,0724680%

Рассчитать

Закреть




Рисунок 5. Программа для прогнозирования риска развития синдрома диабетической стопы

### 7.3 Модели индивидуального прогноза развития синдрома диабетической стопы на основе показателей состояния микроциркуляторного русла

Выбор критериев вероятности развития синдрома диабетической стопы у больных сахарным диабетом проведен по значимости признаков в возникновении этого патологического состояния по данным построения математической модели, основанной на методах регрессионного анализа.

С помощью математической модели нами отобраны показатели микроциркуляторного русла ПМ и  $K_v$  в точке на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке,  $A_э$ ,  $A_n$ ,  $A_m$  в точке на нижней трети предплечья и в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы, имеющие наибольший коэффициент корреляции, что отражает вклад данных признаков в развитие синдрома диабетической стопы.

На основании полученных результатов нами предложено 2 способа прогнозирования развития диабетической стопы, разработанных на основании уравнения линейной регрессии.

Первый способ основан на определении значения показателя микроциркуляции (ПМ) и коэффициента вариации ( $K_v$ ) в точке на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке и позволяет рассчитывать прогностический коэффициент DS по формуле:

$$DS = 1,2 - 0,38 \times M + 0,02 \times K_v - 0,125,$$

где ПМ – показатель микроциркуляции, отражающий количество эритроцитов в заданном времени через единицу объема ткани (пф. ед.),  $K_v$  – коэффициент вариации, отражающий соотношение между прохождением крови через ткань и объемом ее изменчивости ее изменчивости (%). Параметры прогностического коэффициента трактуются следующим образом: при

коэффициенте диабетической стопы DS более 1,0 прогнозируют развитие синдрома диабетической стопы [97].

Для определения статистической значимости разработанной модели определялась площадь под ROC-кривой, которая составляет 0,735 (CI 95% 0,621–0,848) (рисунок 6). Чувствительность модели 60 %, специфичность 79 %.

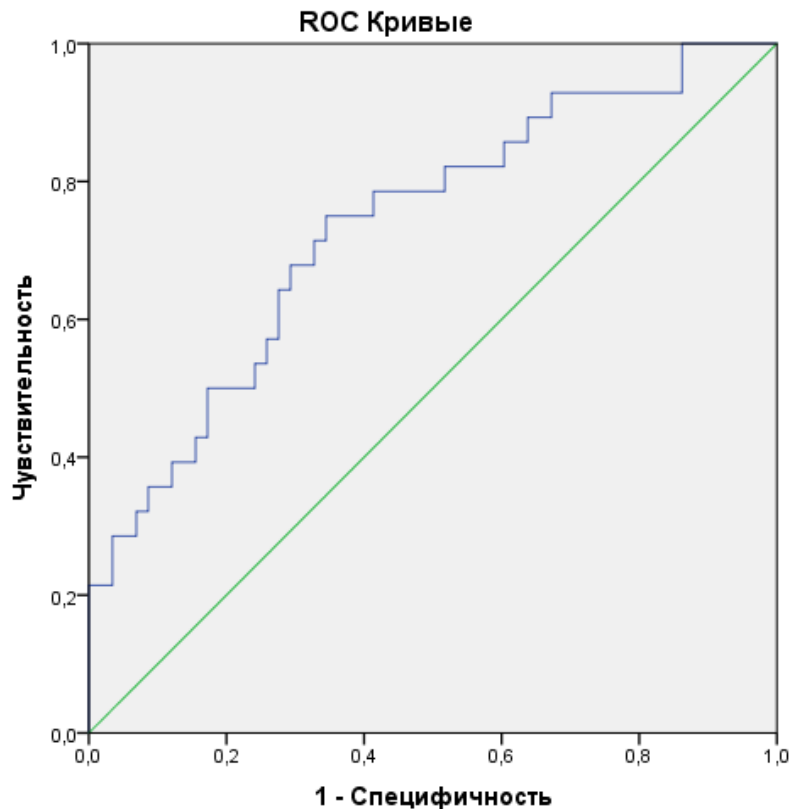


Рисунок 6. Площадь под ROC-кривой для прогностической модели 1

Второй способ прогнозирования развития диабетической стопы заключается в определении значения показателей амплитуды осцилляций в эндотелиальном, нейрогенном, миогенном диапазонах (Аэ, Ан, Ам) в точке на нижней трети предплечья и в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы, далее рассчитывают прогностический коэффициент DS по формуле:

$$DS = 1,7 \times \frac{A_{\text{э}1}}{A_{\text{э}2}} - 2,5 \times \frac{A_{\text{н}1}}{A_{\text{н}2}} + 0,24 \times \frac{A_{\text{м}1}}{A_{\text{м}2}},$$

где Аэ1 – показатель амплитуды осцилляций в эндотелиальном диапазоне в точке на предплечье (пф. ед.), Аэ2 – показатель амплитуды осцилляций в эндотелиальном диапазоне в точке на 1 пальце стопы (пф. ед.), Ан1 – показатель

амплитуды осцилляций в нейрогенном диапазоне в точке на предплечье (пф. ед.),  $A_{H2}$  – показатель амплитуды осцилляций в нейрогенном диапазоне в точке на 1 пальце стопы (пф. ед.),  $A_{M1}$  – показатель амплитуды осцилляций в миогенном диапазоне в точке на предплечье (пф. ед.),  $A_{M2}$  – показатель амплитуды осцилляций в миогенном диапазоне в точке на 1 пальце стопы (пф. ед.), 1,7; 2,5; 0,24 – коэффициенты уравнения линейной регрессии. При значении прогностического коэффициента диабетической стопы DS больше 0 прогнозируют развитие синдрома диабетической стопы [102].

Для определения статистической значимости разработанной модели определялась площадь под ROC-кривой, которая составляет 73% (CI 95% 0,564–0,813). Чувствительность метода составляет 70%, специфичность метода 80% (рисунок 7).

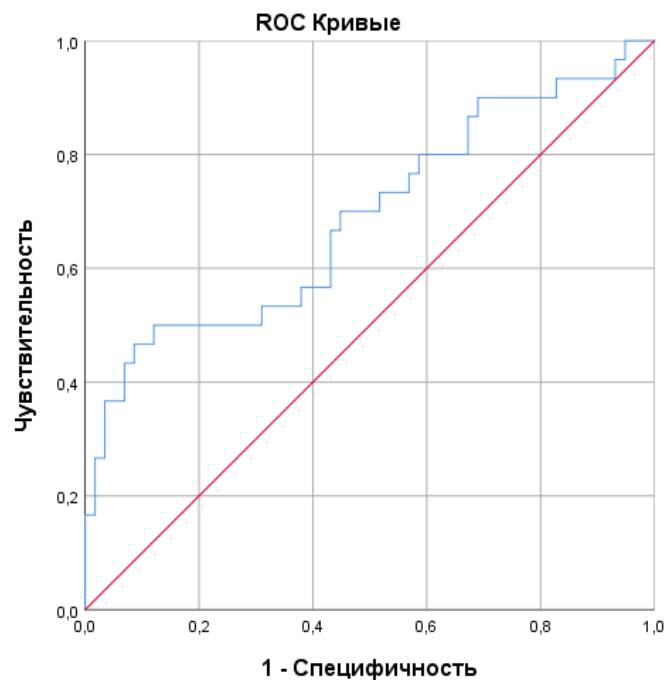
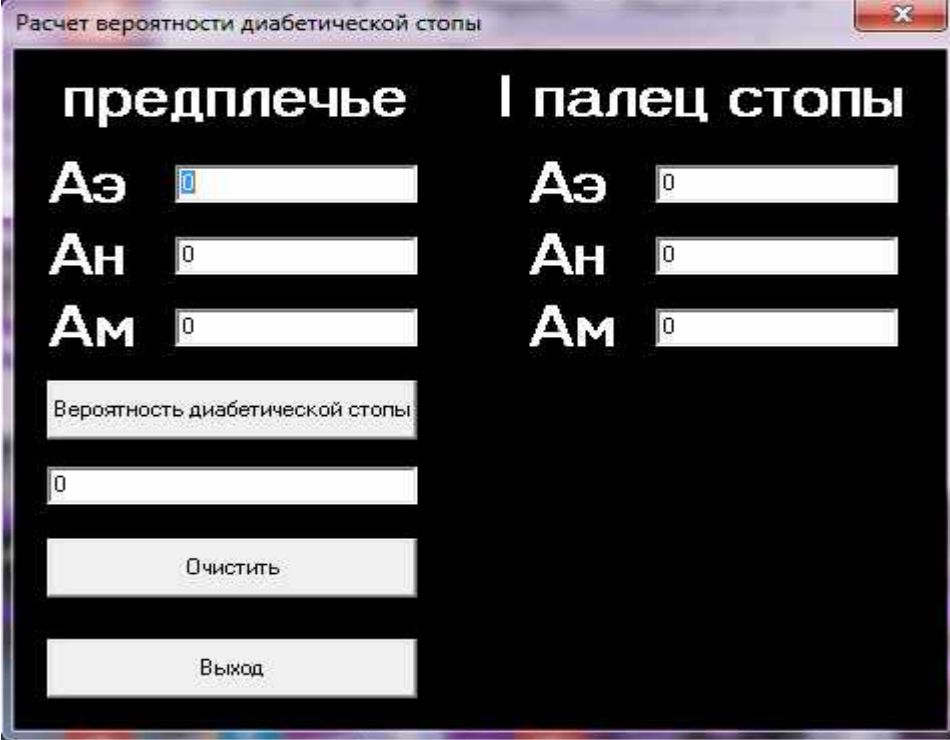


Рисунок 7. Площадь под ROC-кривой для прогностической модели 2

На основании полученных результатов нами разработана программа для ЭВМ, предназначенная для расчета вероятности развития синдрома диабетической стопы у больных сахарным диабетом. Набор действий создается в специальном режиме работы пользовательского окна, в котором пользователь получает доступ к вводу данных о состоянии микроциркуляторного русла: амплитуды осцилляций в

эндотелиальном, нейрогенном, миогенном диапазонах (Аэ, Ан, Ам), полученных в точках на нижней трети предплечья и на подошвенной поверхности первого пальца стопы с помощью метода лазерной доплеровской флоуметрии, а также выводу результата – вероятности диабетической стопы [126] (Рисунок 8).



Расчет вероятности диабетической стопы

предплечье	I палец стопы
Аэ <input type="text"/>	Аэ <input type="text"/>
Ан <input type="text"/>	Ан <input type="text"/>
Ам <input type="text"/>	Ам <input type="text"/>

Вероятность диабетической стопы

Очистить

Выход

Рисунок 8. Программа для расчета вероятности развития синдрома диабетической стопы

Программа обеспечивает возможность определения прогноза развития диабетической стопы у больных сахарным диабетом и позволяет оптимизировать тактику ведения данных пациентов.

## 7.4 Примеры использования моделей прогнозирования

Пример № 1. Больной К., 63 года, находился на лечении в отделении терапии с диагнозом: Сахарный диабет, 2 тип, целевой уровень HbA<sub>1c</sub> менее 7,5%. У больного отмечалась гиперемия кожи на подошвенной поверхности стопы. При поступлении в стационар больному выполнено исследование состояния микроциркуляторного русла аппаратом «ЛАКК», определены: показатель Аэ1, равный 0,54 пф. ед., показатель Аэ2, равный 0,15 пф. ед., показатель Ан1, равный 0,53 пф. ед., показатель Ан2, равный 0,25 пф. ед., показатель Ам1, равный 0,46 пф. ед., показатель Ам2, равный 0,33 пф. ед., рассчитан коэффициент диабетической стопы по формуле:

$$DS = 1,7 \times \frac{0,54}{0,15} - 2,5 \times \frac{0,53}{0,25} + 0,24 \times \frac{0,46}{0,33} = 1,1536$$

Заключение: прогнозируют развитие диабетической стопы. Назначена консервативная терапия (препараты группы инсулинов, местное лечение), на фоне проводимого лечения через 3 дня от момента госпитализации у пациента появилась мокнущая мозоль на стопе, в дальнейшем на месте мозоли появилась трофическая язва, развился синдром диабетической стопы. Больной переведен в отделение хирургической инфекции, где на фоне консервативной терапии (препараты группы инсулинов, антибактериальная терапия, перевязки) через 10 дней с момента начала лечения размеры трофической язвы уменьшились, нормализовался уровень гликемии. С положительной динамикой выписан из отделения под наблюдение хирурга поликлиники по месту жительства. На фоне проводимого консервативного лечения через 20 дней - заживление трофической язвы.

Пример 2. Больная Б., 53 года находилась на лечении в отделении терапии с диагнозом: Хроническая обструктивная болезнь легких, среднетяжелое течение, обострение. Сахарный диабет, 2 тип, целевой уровень HbA<sub>1c</sub> менее 7,5%. Диабетическая полинейропатия. При поступлении в стационар больной выполнено

исследование состояния микроциркуляторного русла аппаратом «ЛАКК», определены: показатель Аэ1, равный 0,43 пф. ед., показатель Аэ2, равный 0,18 пф. ед., показатель Ан1, равный 0,63 пф. ед., показатель Ан2, равный 0,16 пф. ед., показатель Ам1, равный 0,53 пф. ед., показатель Ам2, равный 0,23 пф. ед., рассчитан коэффициент диабетической стопы по формуле:

$$DS = 1,7 \times \frac{0,43}{0,18} - 2,5 \times \frac{0,63}{0,16} + 0,24 \times \frac{0,53}{0,23} = -5,135$$

Заключение: синдром диабетической стопы не прогнозируют. Через 10 дней больная в удовлетворительном состоянии выписана из стационара. В течение 1 года больная наблюдалась, синдром диабетической стопы не развился.

Пример 3. Больной В., 60 лет, находился на лечении в отделении хирургии с диагнозом: Невправимая послеоперационная вентральная грыжа. Сахарный диабет, 2 тип, целевой уровень HbA1c менее 7%. Диабетическая полинейропатия. При поступлении в стационар больному выполнено исследование состояния микроциркуляторного русла аппаратом «ЛАКК», определены: показатель Аэ1, равный 0,64 пф. ед., показатель Аэ2, равный 0,52 пф. ед., показатель Ан1, равный 0,44 пф. ед., показатель Ан2, равный 0,64 пф. ед., показатель Ам1, равный 0,39 пф. ед., показатель Ам2, равный 0,59 пф. ед., рассчитан коэффициент диабетической стопы по формуле:

$$DS = 1,7 \times \frac{0,64}{0,52} - 2,5 \times \frac{0,44}{0,64} + 0,24 \times \frac{0,39}{0,59} = 0,5244$$

Заключение: прогнозируют синдром диабетической стопы. Через 10 дней больной в удовлетворительном состоянии выписан из стационара. Рекомендовано: динамическое наблюдение. Через 6 месяцев после проведения обследования у больного появилась трофическая язва на левой стопе, был осмотрен хирургом и госпитализирован в отделение хирургической инфекции с диагнозом: Сахарный диабет, 2 тип, целевой уровень HbA1c менее 7,5%. Синдром диабетической стопы слева, смешанная форма. Трофическая язва левой стопы. В течение 10 дней получал консервативное лечение (препараты группы инсулинов, антибактериальная терапия, местное лечение). На фоне проводимой терапии



отмечалась положительная динамика: уменьшение трофической язвы в размерах в 2 раза, нормализация уровня гликемии. В удовлетворительном состоянии выписан на амбулаторное долечивание.

Пример 4. Больная Н., 65 лет, находилась на лечении в терапевтическом отделении с диагнозом: Сахарный диабет, 2 тип, целевой уровень HbA1c менее 7,5%. У пациентки на стопе отмечался участок гиперемии кожи на подошвенной поверхности 1 пальца стопы. При поступлении в стационар больной выполнено исследование состояния микроциркуляторного русла аппаратом «ЛАКК», определены: ПМ, равный 1,91 пф. ед., коэффициент вариации, равный 70,62 %, рассчитан коэффициент диабетической стопы по формуле:

$$DS = 1,2 - 0,38 \times \text{ПМ} + 0,02 \times K_v - 0,125 = 1,2 - 0,38 \times 1,91 + 0,02 \times 70,62 - 0,125 = 1,76$$

Заключение: прогнозируют развитие диабетической стопы. Назначено консервативное лечение (препараты группы инсулинов, местное лечение), на фоне которого через 4 дня от момента госпитализации у пациентки локально появилась мокнущая рана на 1 пальце стопы, в дальнейшем на ее месте развилась трофическая язва. Больная переведена в отделение хирургической инфекции, где на фоне интенсивной консервативной терапии (препараты группы инсулинов, антибактериальная терапия, перевязки) через 14 дней с момента начала лечения размеры трофической язвы значительно уменьшились, уровень гликемии стабилизировался. С положительной динамикой выписана из отделения, под наблюдением хирурга поликлиники по месту жительства. На фоне проводимого консервативного лечения через 1 месяц отмечено полное заживление трофической язвы.

Пример 5. Больной М., 55 лет, находился на лечении в отделении терапии с диагнозом: Сахарный диабет, 2 тип, целевой уровень HbA1c менее 7,5%. Диабетическая полинейропатия. При поступлении в стационар пациенту выполнено исследование состояния микроциркуляторного русла аппаратом

«ЛАКК», определены: ПМ, равный 3,62 пф. ед., коэффициент вариации, равный 32,89%, рассчитан коэффициент диабетической стопы по формуле:

$$DS = 1,2 - 0,38 \times \text{ПМ} + 0,02 \times Kv - 0,125 \times \text{Diabet} = 1,2 - 0,38 \times 3,62 + 0,02 \times 32,89 - 0,125 = 0,36$$

Заключение: синдром диабетической стопы не прогнозируют. Через 12 дней больной в удовлетворительном состоянии выписан из стационара. В течение 1 года больной находился под наблюдением, синдром диабетической стопы не развился.

Пример 6. Больной В., 60 лет, находился на лечении в отделении хирургии с диагнозом: Желчекаменная болезнь. Хронический калькулезный холецистит, ремиссия. Сахарный диабет, 2 тип, целевой уровень HbA1c менее 7%. Диабетическая полинейропатия.

При поступлении в стационар больному выполнено исследование состояния микроциркуляторного русла аппаратом «ЛАКК», определены: ПМ, равный 4,15 пф. ед., коэффициент вариации, равный 83,94%, рассчитан коэффициент диабетической стопы по формуле:

$$DS = 1,2 - 0,38 \times \text{ПМ} + 0,02 \times Kv - 0,125 = 1,2 - 0,38 \times 4,15 + 0,02 \times 83,94 - 0,125 = 1,18$$

Заключение: прогнозируют синдром диабетической стопы.

Через 10 дней больной в удовлетворительном состоянии выписан из стационара. Рекомендовано: динамическое наблюдение. Через 4 месяца после проведения обследования у больного появилась трофическая язва на левой стопе, был осмотрен хирургом и госпитализирован в отделение хирургической инфекции для проведения лечения с диагнозом: Сахарный диабет, 2 тип, целевой уровень HbA1c менее 7,5%. Синдром диабетической стопы слева, смешанная форма. Трофическая язва левой стопы.

В течении 14 дней получал консервативное лечение (препараты группы инсулинов, антибактериальная терапия, местное лечение). На фоне проводимого лечения отмечалась положительная динамика: уменьшение трофической язвы в

размерах в 2 раза, нормализация уровня гликемии. В удовлетворительном состоянии выписан на амбулаторное долечивание.

## 7.5 Резюме

При обобщении полученных в ходе исследования данных, установлено, что сочетание 1565TC полиморфных вариантов гена ITGB и 1298AA гена MTHFR в 2,1 раза чаще встречается при развитии синдрома диабетической стопы, чем при неосложненном течении сахарного диабета. Наличие данной комбинации генотипов сопряжено с риском развития диабетической стопы. При наличии сочетания генотипов T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 и A/A полиморфизма A1298C гена MTHFR риск развития выше указанного осложнения сахарного диабета возрастает в 2,4 раза, чем при наличии других комбинации генотипов исследованных полиморфизмов генов ITGB3 и MTHFR. Вместе с тем комбинация генотипов T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 и A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR в 2 раза чаще встречается при неосложнённом течении сахарного диабета.

С помощью метода нелинейного регрессионного анализа на основе значимых показателей нами созданы прогностические модели для определения риска развития синдрома диабетической стопы у конкретного пациента, позволяющие выделить группу больных, имеющих повышенный риск развития данного осложнения и нуждающихся в регулярном наблюдении. По средствам ROC-анализа выявлено хорошее качество разработанных моделей.

## ГЛАВА 8. КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ФАКТОРОВ РИСКА СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

### 8.1 Возможности многослойного персептрона в комплексировании факторов риска синдрома диабетической стопы

Начало XXI века ознаменовалось активным развитием геномных, постгеномных, нано- и биотехнологий, что привело к созданию принципиально нового подхода к здравоохранению – медицине 4 «П» [78]. Данный подход основан на принципах персонализированного подхода к здоровью человека. Медицина 4 «П» включает в себя понятия персонализации (индивидуальный подход к каждому больному), предикции (создание вероятностного прогноза здоровья), превентивности (предотвращение появления заболеваний), партисипативности (мотивированное участие пациента) [97].

Учитывая данный подход, на первый план выходит предиктивный подход исследования различных заболеваний. Известно, что сахарный диабет и его осложнения являются мультифакториальными заболеваниями, в патогенезе которых одновременно участвует большое количество различных веществ, реализуется множество механизмов [54]. Одним из современных методов, позволяющим оценить вклад конкретных факторов комплексированно, является нейросетевой анализ [247]. Данный подход позволяет не только прогнозировать развитие патологического состояния, но и оценить вклад конкретных факторов в его развитие.

С помощью нейросетевого анализа нами изучен вклад полиморфизмов генов факторов регуляции сосудистого тонуса, рецепторов тромбоцитов, ремоделирования сосудистой стенки и протромботических факторов, маркеров дисфункции эндотелия, пола, возраста в развитие синдрома диабетической стопы.

В структуре исходного многослойного персептрона наибольшей нормализованной важностью обладали такие показатели, как: полиморфизм С786Т гена eNOS, полиморфизм Lys198Ash гена END1, полиморфизм T1565C гена ITGB3, полиморфизм С634G гена VEGFA, полиморфизм А8202G гена MMP9, полиморфизм G20210А гена F2, полиморфизм А1298С гена MTHFR, пол, возраст, NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>-/NO<sub>3</sub>, MMP9 (таблица 60).

Таблица 60

### Нормализованная важность исследуемых показателей

Показатель	Нормализованная важность (%)
Полиморфизм С786Т гена eNOS	70,8%
Полиморфизм Lys198Ash гена END1	65,3%
Полиморфизм T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3	78,2%
Полиморфизм С634G гена VEGFA	66,8%
Полиморфизм А8202G гена MMP9	61,6%
Полиморфизм G1691А гена F5	11,6%
Полиморфизм G20210А гена F2	63,6%
Полиморфизм А1298С гена MTHFR	100,0%
Пол	42,5%
Возраст	66,0%
Эндотелин (1-21), фмоль/л	15,4%
NO <sub>2</sub> , мкмоль/л	1,1%
NO <sub>3</sub> , мкмоль/л	24,6%
NO <sub>2</sub> -/NO <sub>3</sub> -мкмоль/л	21,2%
MMP 9, нг/мл	63,2%

Наименьший вклад в структуре нейронной сети имели следующие показатели: полиморфизм G1691А гена FV, эндотелин-1, NO<sub>2</sub>, гомоцистин. Учитывая низкую нормализованную значимость, эти показатели были исключены,

в результате чего структура обучаемой нейронной сети включала только 25 входных нейронов, один скрытый слой, содержащий 2 единицы, и 3 выходных нейрона (рисунок 9).

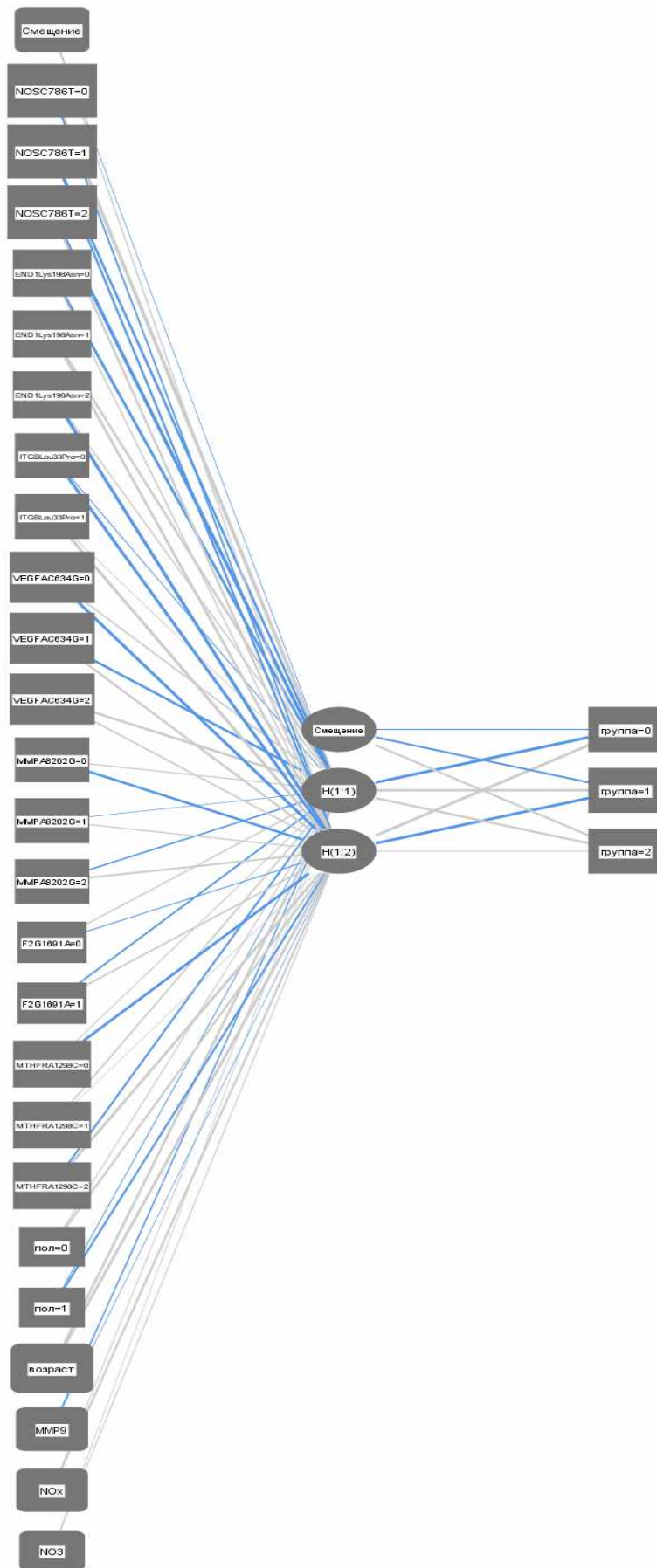


Рисунок 9. Конфигурация многослойного персептрона



В качестве функции активации в скрытом слое выступал гиперболический тангенс, в выходном слое – Softmax, в качестве функции ошибки – перекрестная энтропия. Исходя из значений предсказанной псевдовероятности, нейросеть практически не испытывает трудностей в прогнозировании синдрома диабетической стопы (рисунок 10).

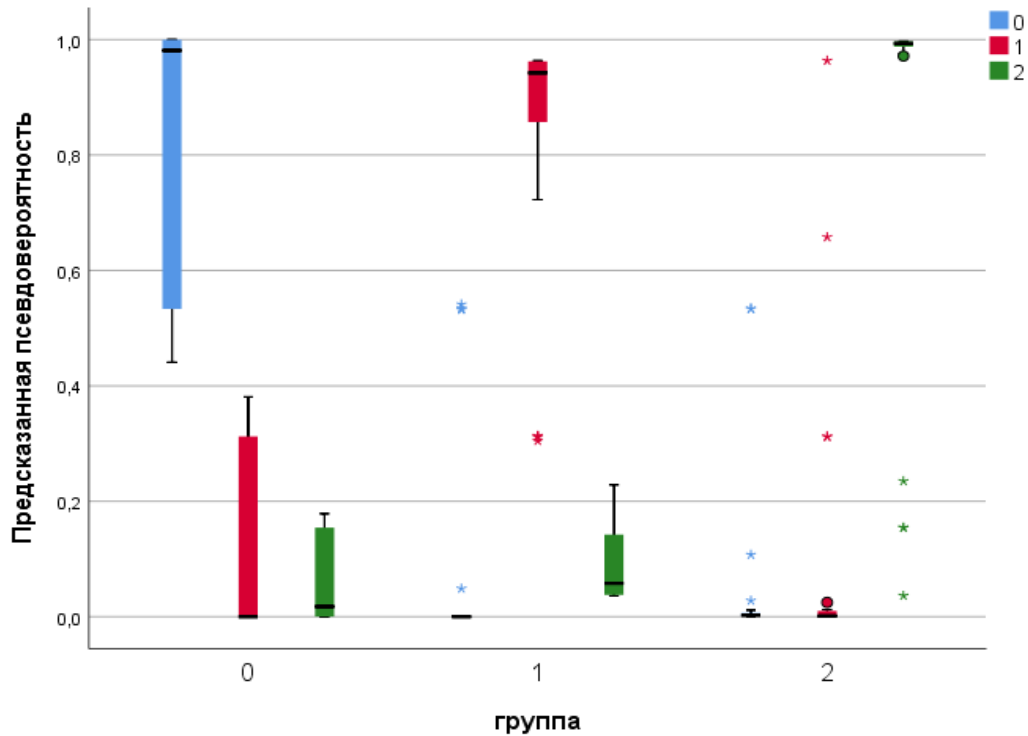


Рисунок 10. Оценка предсказанной псевдовероятности развития синдрома диабетической стопы в исследуемых группах

Процент неверных предсказаний в процессе обучения конечного многослойного персептрона составил 11,1%. Применение многослойного персептрона позволило комплексировать такие факторы риска синдрома диабетической стопы, как полиморфизм генов факторов регуляции сосудистого тонуса, рецепторов тромбоцитов, ремоделирования сосудистой стенки и протромботических факторов, маркеров дисфункции эндотелия, мужского пола и возраста старше 66 лет.

Структура важности указанных факторов риска в определении исхода развития синдрома диабетической стопы представлена на рисунке 11.

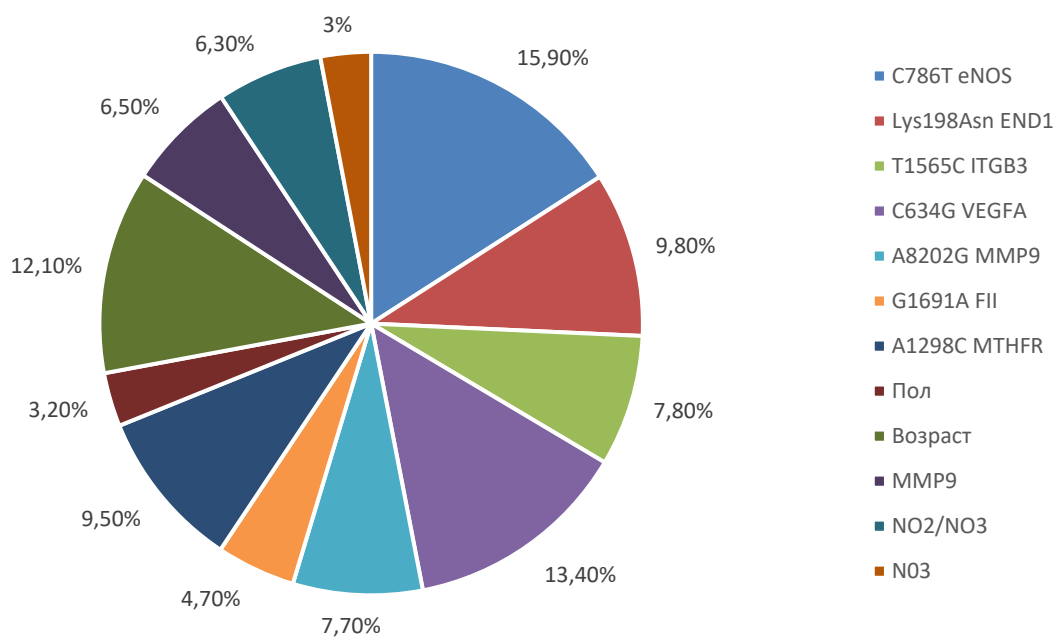


Рисунок 11. Структура важности изучаемых факторов в определении исхода.

Также с помощью нейронной сети нами рассчитана структура важности изучаемых факторов в развитии сахарного диабета 2 типа. Полученные данные представлены на рисунке. В структуру нейронной сети наименьший вклад вносили: полиморфизм G1691A гена FV, MMP9, гомоцистеин (рисунок 12).

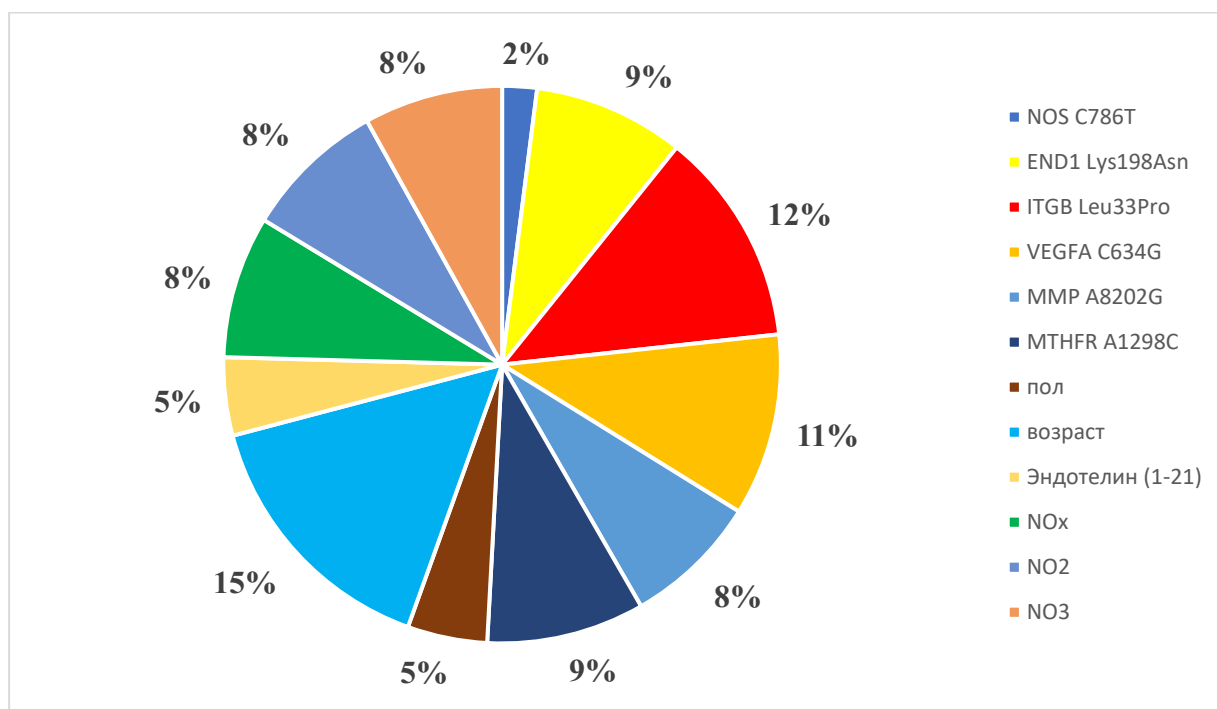


Рисунок 12. Структура важности изучаемых факторов в развитии сахарного диабета

Полученная нейронная сеть обладает высокой ценностью для прогноза развития синдрома диабетической стопы, что подтверждается ее высокой чувствительностью и специфичностью (таблица 61).

Таблица 61

**Информативность разработанной технологии прогнозирования синдрома диабетической стопы**

Группа	AUC	Статистическая значимость	Чувствительность	Специфичность
Контроль	0,97	$p < 0,001$	1,0	0,89
Неосложненный сахарный диабет	0,95	$p < 0,001$	0,85	0,98
Синдром диабетической стопы	0,96	$p < 0,001$	0,89	0,98

В нормированном пространстве площадь под ROC-кривой эквивалентна вероятности, что нейронная сеть присвоит больший вес случайно выбранной положительной сущности, чем случайно выбранной отрицательной, поэтому наглядная оценка площади под соответствующими ROC-кривыми также представляет практический интерес (рисунок 13) [145].

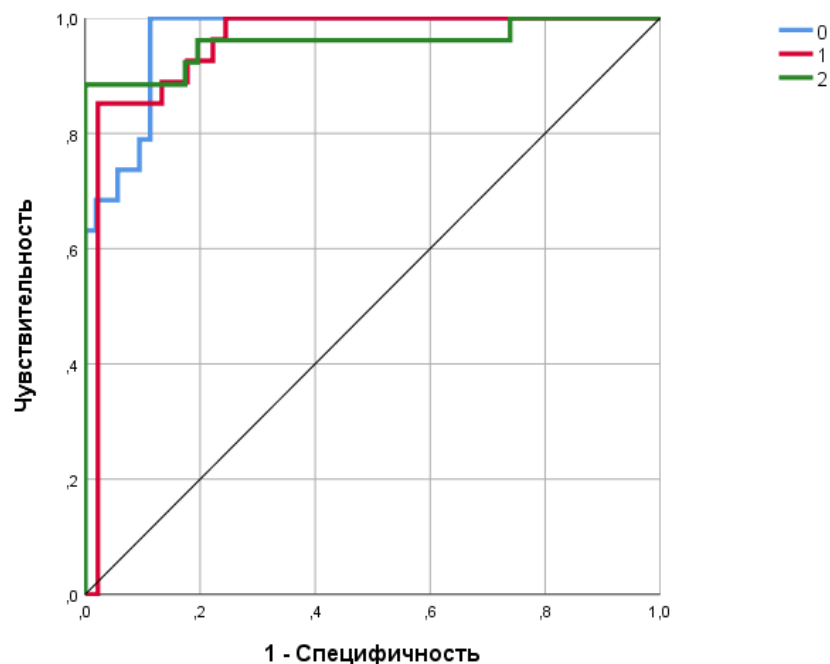


Рисунок 13. Площадь под ROC-кривыми

## 8.2 Резюме

Комплексирование изменений маркеров дисфункции эндотелия с изучаемыми полиморфизмами генов сопровождается достижением высокой информативности. Высокая точность нейросетевого анализа обусловлена мультифакторной природой синдрома диабетической стопы. Несмотря на отсутствие статистической значимости значений маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9, подтверждена их роль в патогенезе развития синдрома диабетической стопы.

## ГЛАВА 9. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Одним из важнейших факторов развития синдрома диабетической стопы при сахарном диабете является поражение сосудистого русла на уровне микро- и макрососудов [119]. В связи с чем исследование состояния микроциркуляторного русла представляет существенный научный интерес. Одним из широко применяемых методов исследования состояния микроциркуляторного русла при различных патологических состояниях является ЛДФ [30, 72].

Одними из рекомендуемых мест регистрации ЛДФ-сигнала являются подошвенная поверхность 1 пальца стопы и тыльная поверхность области 1 межпальцевого промежутка стопы. В работе В.И. Козлова, 2012 г., показания микроциркуляции в указанной точке расцениваются как отражение состояния локальной микроциркуляции [67]. Также для данного исследования используют зону в области нижней трети предплечья, расположенной по срединной линии на 4 см выше основания шиловидных отростков локтевой и лучевой кости. Указанная точка является обобщающей для оценки состояния микроциркуляторного русла, поэтому всегда рекомендуется для исследования. Выбор этой зоны обусловлен тем, что она бедна артерио-веноулярными анастомозами, поэтому в большей степени отражает кровоток в нутритивном русле, является зоной Захарьина-Геда сердца, и кровоток в этой области меньше подвержен внешним воздействиям, по сравнению с областями, богатыми артерио-веноулярными анастомозами [138]. В работе В.И. Козлова, 2012 г., показания микроциркуляции в указанной точке расцениваются как отражение состояния системной микроциркуляции [67].

В доступной литературе нами найдены работы, посвященные изучению состояния микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы методом ЛДФ. Так, в работе Шаповала С.Д. и соавторов, 2013 г., исследовано состояние микроциркуляции при нейропатической, ишемической и смешанной формах диабетической стопы. При нейропатическом варианте зарегистрировано увеличение постоянной составляющей кровотока, уменьшение показателя  $K_v$ ,

снижение нейрогенных и эндотелиальных колебаний, повышение нейрогенного и миогенного тонуса и увеличение амплитуды пульсовой волны. У больных с ишемической формой диабетической стопы выявлено увеличение показателей ПМ и  $\sigma$ , снижение  $K_v$ , повышение амплитуд активных и пассивных факторов регуляции. При смешанной форме диабетической стопы было выявлено повышение ПМ и  $\sigma$ , снижение  $K_v$ , повышение амплитуды нейрогенных и дыхательных колебаний, увеличение нейрогенного и миогенного тонуса [164].

В исследованиях Герасимчука П.А. и соавторов, 2014 г., при синдроме диабетической стопы описано значительное нарушение эндотелий-зависимого механизма регуляции микроциркуляции с перераспределением тока крови в сторону нутритивного кровообращения, уменьшение резерва капиллярного русла в ответ на окклюзионную пробу и восстановление кровотока в период реактивной гиперемии [107].

Васильевым П.В. и соавторами, 2015 г., выявлены прогрессирующие изменения микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Отмечено, что по мере усиления проявлений микроангиопатии отрицательное влияние венозного застоя начинает превалировать над явлениями ишемии [90].

Обращает на себя внимание тот факт, что в доступной литературе исследование состояния микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы проводилось локально, на стопах. Нами не найдено данных о изучении состояния микроциркуляции при данной патологии в более отдаленных от органа-мишени точках, что, на наш взгляд, представляет значительный научный интерес.

У здоровых резидентов, пациентов с развитием синдрома диабетической стопы и больных с неосложненным течением сахарного диабета 2 типа нами изучено состояние микроциркуляторного русла в точках на 1 пальце стопы, в 1 межпальцевом промежутке на тыле стопы и на предплечье.

При анализе полученных данных выявлено повышение показателя ИЭМ в точках на предплечье и на тыле стопы в группе клинического сравнения

относительно показателей больных неосложненным сахарным диабетом 2 типа. При сопоставлении результатов исследования установлено, что у пациентов с развитием синдрома диабетической стопы в точке на предплечье значение, характеризующих общее состояние микроциркуляции Аэ, Ан, Ам, Ад и МТ было ниже относительно уровня аналогичных показателей у здоровых лиц. В точке на тыле стопы в группе больных синдромом диабетической стопы было отмечено снижение показателей общего состояния микроциркуляции и Аэ, Ан, Ам, Ад, Ас и НТ относительно контрольной группы. В точке на 1 пальце стопы также регистрировалось снижение ПМ, Аэ, Ас в группе пациентов с развитием синдрома диабетической стопы относительно контрольной группы. Полученные данные подтверждают значимую роль изменений состояния микроциркуляторного русла в патогенезе развития синдрома диабетической стопы.

По полученным данным, значение показателя общей микроциркуляции ПМ при развитии диабетической стопы ниже, чем при неосложненном сахарном диабете, во всех исследованных точках. При осложненном течении сахарного диабета в точке на предплечье выявлено снижение показателя временной изменчивости перфузии. При развитии синдрома диабетической стопы отмечено увеличение показателя К<sub>v</sub>, характеризующего выраженность вазомоторной активности микрососудов, в точках на стопе и 1 пальце стопы.

При развитии синдрома диабетической стопы, по сравнению с неосложненным сахарным диабетом, было выявлено снижение перфузии на уровнях вне стопы и локальной микроциркуляции. Вместе с тем при оценке микрокровотока вне стопы у пациентов с диабетической стопой отмечается уменьшение временной изменчивости перфузии, при исследовании локальной микроциркуляции – ухудшение общего состояния микроциркуляции. Полученные данные подтверждают наличие более глубоких нарушений состояния микроциркуляторного русла при развитии у пациентов синдрома диабетической стопы.

В точке на предплечье при синдроме диабетической стопы относительно неосложненного течения сахарного диабета выявлено значимое снижение уровня Ан, Ам, Ад, Ас. Вместе с тем изменения Аэ нами отмечено не было. Полученные данные являются определяющими, что на уровне микроциркуляции вне стопы механизмы регуляции сосудистого тонуса не имеют существенного значения, а ведущая роль в обеспечении кровотока принадлежит более крупным сосудам.

По степени расстройств микроциркуляторного русла по классификации В.И. Козлова, 2006 г., выделяют 4 степени недостаточности микрокровотока [21]. У пациентов с развитием синдрома диабетической стопы в точке на предплечье в 46,7% случаев выявлена легкая степень нарушений микроциркуляции, характеризующаяся снижением тканевого кровотока менее чем на 10% и обратимыми изменениями. У 40% пациентов зарегистрирована среднетяжелая степень нарушений со снижением тканевого микрокровотока на 10-25% и стойкими изменениями параметров гемодинамики и структуры сосудов. В 13,3% случаев определялась тяжелая степень недостаточности микроциркуляции, характеризующаяся уменьшением тканевого кровотока на 25-40% и выраженными структурными и гемодинамическими расстройствами со структурными сдвигами.

В точке на тыле стопы и 1 пальце стопы у пациентов с синдромом диабетической стопы в 26,7% случаев отмечалась легкая степень недостаточности микрокровотока, среднетяжелая степень выявлялась в 43,3%, и тяжелая степень нарушений регистрировалась в 30% случаев.

В целом, нарушения микроциркуляторного русла на всех уровнях носили признаки спастической формы, характеризующейся снижением поступления крови в сосуды микроциркуляторного русла, выраженным спазмом артериол, снижением количества функционирующих капилляров, замедлением кровотока и повышением агрегации тромбоцитов и стазической формы, проявляющейся резким снижением кровотока на уровне капилляров с повышенной агрегацией тромбоцитов, реологическими нарушениями и изменением барьерной функции микрососудов.



Учитывая важность вклада в развитие синдрома диабетической стопы маркеров дисфункции эндотелия, MMP 9 и гомоцистеина, исследование содержания данных веществ в сыворотке крови носит значительный научный интерес.

В изученной литературе нами найден ряд научных работ, посвященных изучению содержания NO, эндотелина-1, MMP9 при синдроме диабетической стопы. В исследовании Павлова Ю.И. и соавторов, 2006 г., изучен уровень конечных метаболитов оксида азота при различных формах синдрома диабетической стопы. В исследовании отмечается повышенный уровень терминальных метаболитов оксида азота при развитии указанного осложнения сахарного диабета по сравнению с контрольной группой. Максимальный подъем нитратов и конечных продуктов метаболизма выявлен у больных с ишемической формой диабетической стопы. Самый высокий уровень нитрита азота и суммарных продуктов зарегистрирован при развитии гангрены [158].

В работе Герасимчука П.А. и соавторов, 2014 г., исследован уровень оксида азота и эндотелина-1 у пациентов с синдромом диабетической стопы. Согласно полученным данным, у больных с развитием данного осложнения сахарного диабета по мере прогрессирования патологического процесса усиливается эндотелиальная дисфункция, проявляясь снижением содержания оксида азота и повышением эндотелина-1 [107].

В научных исследованиях Токмаковой Ю.А. и соавторов, 2018 г., описано изучение уровня матриксной металлопротеиназы 9 у больных с синдромом диабетической стопы с помощью иммуногистохимического метода. Выявлено повышение уровня MMP9 при развитии вышеуказанного осложнения сахарного диабета по сравнению с группой контроля и положительная корреляция ее с бактериальной обсемененностью раны [64].

В работе T. Dinh и соавторов, 2012 г., описано повышение уровня матриксной металлопротеиназы 9 при выполнении иммуногистохимического исследования у пациентов с плохим заживлением раневых дефектов при синдроме диабетической

стопы по сравнению с группой контроля и группой с хорошим эффектом от консервативного лечения данного осложнения [262].

В исследованиях I.Y. Simsir и соавторов, 2021 г., оценена взаимосвязь уровня гомоцистеина и частотой выполнения ампутаций при сахарном диабете 2 типа с развитием синдрома диабетической стопы. Авторами установлено, что уровень гомоцистеина является фактором риска выполнения ампутации при возникновении указанного осложнения [321]. Вместе с тем в работе Q. Zhou и соавторов, 2021 г., уровень гомоцистеина является независимым фактором риска развития синдрома диабетической стопы [175].

В ходе нашего исследования у здоровых лиц, пациентов с развитием синдрома диабетической стопы и больных с неосложнённым течением сахарного диабета нами изучен уровень NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>-/NO<sub>3</sub>-, эндотелина-1, MMP9 и гомоцистеина. В связи с тем, что молекула NO крайне нестабильна и быстро метаболизируется, превращаясь в относительно стабильные ионы нитрита (NO<sub>2</sub>-) и нитрата (NO<sub>3</sub>-), исследуют содержание данных веществ, а также их суммарную концентрацию для оценки уровня его продукции [77]. При анализе полученных данных нами выявлено повышение уровня эндотелина-1 и снижение содержания NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>-/NO<sub>3</sub>- у больных с различными вариантами течения сахарного диабета относительно группы контроля. При анализе полученных данных нами не выявлено достоверных различий содержания указанных веществ в группах обследованных больных с различными вариантами течения заболевания. На наш взгляд, полученные результаты являются определяющими в понимании вклада эндотелиальной дисфункции в патогенез сахарного диабета и ее второстепенной роли в патогенезе развития синдрома диабетической стопы.

Принцип индивидуального подхода к лечению больного был сформирован еще в начале XIX века величайшим отечественным ученым М.Я. Мудровым и служил основным направлением развития медицины в России [97]. По мере развития науки и накопления новых знаний углублялись представления об

уникальности комбинации наследственных и приобретенных факторов, проявляющихся в определенных условиях жизни каждого пациента [25].

Расшифровка генома человека, развитие нанотехнологий, создание эффективных методов анализа генома на рубеже XX–XXI веков привели к быстрому внедрению генетики в медицину [19]. На сегодняшний день современной концепцией медицины является персонализированный подход, основанный на новейших достижениях науки и направленный на выявление предрасположенности к развитию патологии, предотвращение риска развития заболевания, лечения с учетом биологических особенностей больного, активное участие пациента в профилактике возможных заболеваний и их лечении [23]. Реализация указанного подхода тесно связана с молекулярной медициной, геномикой и предусматривает выбор лечения заболеваний, основанный на учете индивидуальных особенностей пациента, таких как генетика, пол, возраст [25].

В связи с чем исследование генетического аспекта мультифакториальных заболеваний, к которым относится сахарный диабет 2 типа и его осложнения, является необходимым для реализации основных принципов персонализированной медицины, с целью выявления многочисленных генетических полиморфизмов, которые следует учитывать в сочетании с негенетическими факторами [1]. В настоящее время известно, что с развитием указанного заболевания ассоциированы мутации не менее, чем в 100 генах или вариантах генов [247]. Однако указанные генетические причины не объясняют весь механизм развития сахарного диабета 2 типа и его осложнений, что свидетельствует о вкладе дополнительных факторов, к которым относятся эпигенетические изменения, управляющие формированием фенотипа человека, включая патогенез развития патологии [125].

Нами проведен анализ носительства 8 полиморфизмов генов, связанных с этиологией или патогенезом развития нарушений микроциркуляции при синдроме диабетической стопы при сахарном диабете 2 типа.

В доступной литературе нами не найдено сведений об изучении ассоциации полиморфизма T786C гена eNOS и полиморфизма Lys198Ash гена END1 и их

аллельных вариантов с развитием синдрома диабетической стопы. При анализе результатов исследования не выявлены значимые отличия частоты встречаемости полиморфизма T786C гена eNOS и полиморфизма Lys198Ash гена END1 среди исследуемых групп. Полученные нами результаты исследования свидетельствуют об отсутствии вклада полиморфизма T786C гена eNOS и полиморфизма Lys198Ash гена END1 в патогенез развития синдрома диабетической стопы.

В литературе нами не найдено данных о изучении ассоциации полиморфизмов гена ITGB3 с сахарным диабетом и его осложнениями. По полученным данным, нами не обнаружено значимых различий в частоте встречаемости генотипов полиморфизма T1565C гена ITGB3 и его аллельных вариантов среди практически здоровых лиц и больных с неосложненным течением сахарного диабета и развитием синдрома диабетической стопы. Частота встречаемости генотипов полиморфизма T1565C гена ITGB3 значительно отличалась в группах больных. По результатам исследования, гетерозиготный генотип T/C указанного полиморфизма гена ITGB3 при развитии диабетической стопы встречался чаще в 1,3 раза, чем при неосложненном течении заболевания. Нами выявлена взаимосвязь носительства данного варианта генотипа с риском развития диабетической стопы. При наличии гетерозиготного генотипа T/C полиморфизма T1565 гена ITGB3 относительный риск развития данного осложнения сахарного диабета возрастает в 1,5 раза. Полученные данные являются определяющими в понимании роли носительства указанного варианта генотипа в патогенезе развития синдрома диабетической стопы.

На наш взгляд, механизм действия указанного полиморфизма гена ITGB3 при развитии синдрома диабетической стопы реализуется следующим образом. Наличие генотипа T/C полиморфизма T1565 исследуемого гена приводит к нарушению функциональных особенностей тромбоцитов, таких как повышенная активация клеток, усиление адгезии к сосудистой стенке и агрегации друг к другу, что приводит к повышенному риску образования тромбов (схема 1) [119]. Развитие тромбоза на уровне микроциркуляторного русла при синдроме диабетической

стопы приводит к усугублению ишемии ткани, что способствует замедлению репаративных процессов, повышенной чувствительности кожи стоп к повреждениям и, как следствие, предрасполагает к развитию язв [317].

В доступной литературе нами не найдено работ, посвященных исследованию полиморфизмов G1691A гена FV, G20210A гена FII, C634G гена VEGFA, A8202G гена MMR9 у пациентов с синдромом диабетической стопы. По полученным нами данным, среди здоровых лиц и у пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета не обнаружено различий в частоте встречаемости генотипов и аллелей исследованных полиморфизмов генов. На основании полученных данных, установлено, что указанные полиморфизмы генов не принимают участие в развитии указанного осложнения сахарного диабета.

В доступной литературе нами не найдено сведений об изучении полиморфизма A1298C гена MTHFR при развитии синдрома диабетической стопы. При анализе полученных данных нами не выявлено значимых различий частоты встречаемости указанного полиморфизма гена MTHFR среди здоровых лиц и у пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и развитием синдрома диабетической стопы. По полученным нами данным, при неосложнённом течении сахарного диабета в 1,6 раза чаще, чем при развитии синдрома диабетической стопы, выявляется гетерозиготный генотип A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR. Полученные результаты являются определяющими в понимании ассоциации указанного полиморфизма гена с протективным эффектом относительно развития синдрома диабетической стопы.

На наш взгляд, защитный эффект носительства варианта генотипа A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR реализуется следующим образом. Указанный полиморфизм данного гена связан с изменением активности фермента, отвечающего за уровень гомоцистеина, наибольшее снижение которой отмечается у носителей генотипа C/C, но биохимические характеристики самого белка при этом не меняются [75]. Регуляция ферментов MTHFR является сложным процессом и зависит от многих факторов, в частности, диеты, состояния генома и

эпигенетической среды [236]. Известно, что сахарный диабет 2 типа относится к группе алиментарно-зависимых заболеваний, и соблюдение диеты наряду с медикаментозным лечением способствует контролируемому течению заболевания [94]. Учитывая, что протективный эффект носительства генотипа A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR выявлен в группе больных с неосложненным течением сахарного диабета, мы связали это с тем, что именно эти пациенты больше комплаентны к соблюдению диеты, направленной на коррекцию углеводного обмена, что также способствует и нормальному уровню гомоцистеина.

С точки зрения нарушений метаболизма, прогрессирование сахарного диабета 2 типа определяется многообразной комбинацией модифицируемых и немодифицируемых факторов риска. К основным неуправляемым факторам относятся возраст, пол, генетическая предрасположенность [60].

Нами проанализировано распределение изучаемых полиморфизмов исследованных генов при неосложненном течении сахарного диабета и при развитии синдрома диабетической стопы в зависимости от пола. Согласно данным нашего исследования, у мужчин с неосложненным течением сахарного диабета и синдромом диабетической стопы выявлены значимые различия между частотой встречаемости вариантов полиморфизма A8202G гена MMP9. Нами установлено, что при носительстве варианта генотипа G/G указанного полиморфизма гена MMP9 у мужчин риск развития синдрома диабетической стопы возрастает в 2 раза.

Вместе с тем у женщин выявлены достоверно значимые отличия частоты встречаемости генотипов полиморфизма A1298C гена MTHFR в исследуемых группах. При исследовании ассоциации вариантов генотипа указанного полиморфизма гена MTHFR с развитием диабетической стопы нами установлено, что при наличии генотипа A/C у женщин риск развития синдрома диабетической стопы снижается на 50%.

Доказано, что нарушения углеводного обмена имеют четкую взаимосвязь с полом и чаще встречаются у женщин, характеризуясь более агрессивным течением [9]. Особую роль в этом играют специфичные для пола компоненты

патогенетических изменений углеводного обмена, обусловленные действием половых гормонов [60]. Дефицит тестостерона у мужчин является патогенетическим фактором висцерального ожирения и гипергликемии, инсулинорезистентности и развития сахарного диабета 2 типа и его осложнений [206]. В связи с этим сочетание определенных генетических особенностей с недостаточностью тестостерона у мужчин, на наш взгляд, также вносит вклад и в развитие осложнений заболевания (схема 2).

Вместе с тем известно, что эстрогены обладают выраженным протективным действием к ткани поджелудочной железы, снижая уровень глюкозы за счет уменьшения выработки глюкагона [60]. В период менопаузы, на фоне эстрогенной недостаточности, женщины становятся более предрасположенными к развитию нарушений углеводного обмена.

В литературе описаны различные механизмы развития инсулинорезистентности в зависимости от половой принадлежности. У женщин эстрогены вызывают вазодилатацию и снижают уровень артериального давления путем увеличения активации передачи сигналов эндотелиальной NO-синтазы и оксида азота. Эндогенные эстрогены увеличивают синтез ангиотензиногена и экспрессию защитных ангиотензиновых рецепторов 2-го типа, что подавляет экспрессию рецепторов ангиотензина 1-го типа. Андрогены увеличивают экспрессию ангиотензиногена, тем самым повышая активность ренина, приводящего к увеличению концентрации ангиотензина II. Кроме того, андрогены активируют окислительный стресс [292].

На основании вышеизложенного, мы предполагаем, что протективный эффект эстрогенов в фертильном возрасте в сочетании с определенными генетическими особенностями у женщин при развитии сахарного диабета 2 типа даже в период менопаузы снижает риск развития тяжелых осложнений заболевания.

Вместе с тем известно, что андрогены принимают непосредственное участие в регуляции генов, участвующих в процессах ремоделирования сосудистого русла

и воспаления, влияя на такие процессы, как пролиферация эндотелиальных клеток, миграция и ремоделирование внеклеточного матрикса [318]. Носительство мутантного варианта генотипа G/G полиморфизма A8202G гена MMP9 увеличивает транскрипционную активность и уровень MMP9, что, в свою очередь, на фоне стойкой, длительной гипергликемии и гликозилирования белков приводит к повышенному разрушению белков эндоплазматического ретикулума и усилению процессов патологического ремоделирования микрососудистого русла при синдроме диабетической стопы [175]. На наш взгляд, таким образом происходит механизм реализации ассоциации генотипа G/G полиморфизма A8202G гена MMP9 с развитием синдрома диабетической стопы у мужчин.

Одной из важных задач патофизиологических исследований является поиск взаимосвязей между параметрами, характеризующими функциональное состояние организма на различных уровнях [137]. Поэтому на следующем этапе научной работы нами проведен анализ показателей микроциркуляции в группах больных с неосложнённым течением сахарного диабета и с развитием синдрома диабетической стопы в зависимости от носительства частоты генотипов полиморфизмов T1565C гена ITGB3 и A1298C гена MTHFR, ассоциированных, по данным наших исследований, с риском развития синдрома диабетической стопы. Указанные полиморфизмы генов выбраны нами в связи с их косвенным влиянием на состояние микроциркуляторного русла.

В доступной литературе нами не найдено исследований, посвященных оценке состояния микроциркуляторного русла в зависимости от вариантов полиморфизма генов. Существует небольшое количество исследований, посвященных изучению взаимосвязи полиморфных вариантов генов с различными показателями, влияющими на развитие патологии. В работе Чурилина М.И. и соавторов, 2020 г., исследуется связь полиморфных вариантов генов внутриклеточных транспортеров холестерина с уровнем липидов крови и толщиной интима-медиа при ишемической болезни сердца. Авторами установлена связь полиморфных вариантов генов rs1883025 ABCA1, rs217406 NPC1L1 и



rs881844 STARD3 G > C с толщиной интима-медиа сонных артерий. Выявлены ассоциативные связи rs1883025 гена ABCA1 и rs881844 гена STARD3 с пониженным риском развития ишемической болезни сердца [59].

В работе Попа А.В. и соавторов, 2015 г., исследовано влияние генетической тромбофилии на тяжесть течения гемолитико-уремического синдрома у детей. Установлено, что у пациентов с «протромбогенным генотипом» гена FGB чаще выявляются более длительная анемия, анурия, гиперазотемия, диализная терапия. Наличие гетеро- и гомозиготных генотипов гена PAI-1 4G(675)5G и ITGB3 C176T связано с длительностью анурии, диализной поддержки и периода восстановления почечных функций [33]. Вместе с тем нами не найдено аналогичных работ, посвященных изучению взаимосвязи полиморфизмов генов и показателей биологически активных веществ при синдроме диабетической стопы.

По полученным нами данным, при генотипах T/T и T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 при синдроме диабетической стопы в точке на предплечье выявлено снижение среднего колебания перфузии, что свидетельствует о снижении variability микроциркуляции. При генотипе T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 при диабетической стопе отмечено снижение амплитуды колебаний в дыхательном диапазоне. На наш взгляд, такие проявления микроциркуляторных нарушений при носительстве генотипа T/C полиморфизма T1565C исследуемого гена связаны с повышенным риском тромбообразования, проводящим к ухудшению микрокровотока по типу спастической формы. Выявленные изменения микроциркуляции при варианте генотипа T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 могут быть проявлением сниженного оттока крови из венул и развитием нарушений по типу застойной формы.

В точке на тыле стопы при генотипе T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 отмечено снижение показателя микроциркуляции, что в свою очередь подтверждает еще большее снижение variability микроциркуляторного русла. При варианте генотипа T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 в точке на 1 пальце стопы при диабетической стопе выявлено снижение среднего значения показателя

микроциркуляторного русла и повышение коэффициента вариации, что свидетельствует об ухудшении оттока из венул и развитии нарушений по типу застойной формы нарушения микроциркуляции (схема 3).

У пациентов с диабетической стопой с генотипами А/А и А/С полиморфизма А1298С гена МТНFR в точке на предплечье отмечено снижение показателя, характеризующего среднее колебание перфузии. При развитии диабетической стопы в точке на тыле стопы при варианте генотипа С/С зарегистрировано снижение общего показателя микроциркуляции. Выявленные изменения микроциркуляторного русла при носительстве указанных вариантов генотипа полиморфизма А1298С исследуемого гена свидетельствуют о снижении variability микрокровотока и общем обеднении микроциркуляторного русла. В точке на 1 пальце стопы при развитии диабетической стопы с генотипом А/С полиморфизма А1298С гена МТНFR отмечено снижение показателя общей микроциркуляции и повышение коэффициента вариации, что свидетельствует об снижении венозного оттока из микроциркуляторного русла и развитии нарушений по типу застойной формы.

Полученные данные позволяют предположить наличие генетически детерминированных изменений состояния микроциркуляторного русла на уровне вне стопы и локальной микроциркуляции при синдроме диабетической стопы. Кроме того, при различных вариантах генотипов полиморфизма Т1565С гена ITGB3 и полиморфизма А1298С гена МТНFR можно предположить наличие разных путей реализации механизмов нарушения состояния микроциркуляторного русла, что может являться существенным компонентом патогенеза указанного осложнения сахарного диабета.

Нами проанализирована взаимосвязь полиморфизма генов с уровнем максимальной амплитуды колебаний кровотока в эндотелиальном диапазоне (Аэ) у пациентов с развитием синдрома диабетической стопы в зависимости от носительства вариантов генотипа полиморфизма С786Т гена eNOS и полиморфизма Lys198Asn гена END1. Показатель Аэ обусловлен секреторной

функцией клеток эндотелия, в том числе выделением NO, участвующего в физиологической регуляции мышечного тонуса, регуляции давления и распределения потока крови. Данный показатель микроциркуляции был выбран нами в связи с возможностью косвенно оценить по его уровню функции эндотелия [70].

Установлено, что у больных синдромом диабетической стопы, являющихся носителями варианта генотипа С/С полиморфизма С786Т гена eNOS в точке на 1 пальце стопы и варианта генотипа С/Т указанного полиморфизма гена в точке на предплечье, зарегистрировано снижение показателя Аэ относительно больных с неосложненным течением сахарного диабета. Полученные данные можно объяснить следующим образом. При носительстве дикого варианта генотипа С/С полиморфизма С786Т гена eNOS функция кодируемого белка не меняется, в связи с чем можно предположить, что на уровне микроциркуляции вне стопы дисфункция эндотелия не играет ведущей роли, что также было описано нами ранее. Вместе с тем, изменения, выявленные в точке на 1 пальце стопы, указывают на значимый вклад эндотелиальной дисфункции на локальном уровне. Вместе с тем, носительство мутантного генотипа С/Т указанного полиморфизма гена eNOS ассоциировано со снижением каталитической активности eNOS, что, в свою очередь, приводит к недостаточной выработке оксида азота и развитию эндотелиальной дисфункции [285]. Выявление изменений Аэ при носительстве генотипа С/Т может свидетельствовать о более глубоких функциональных нарушениях эндотелия, проявляющихся на уровне вне стопы (схема 3).

На следующем этапе исследования нами оценена степень взаимосвязи между полиморфизмами С634G гена VEGFA и А8202G гена MMP9 и показателями, отражающими состояние микроциркуляторного русла при развитии синдрома диабетической стопы. Выявлена взаимосвязь носительства полиморфизма С634G гена VEGFA с показателем шунтирования (ПШ) в точке на предплечье. Указанный показатель косвенно свидетельствует о преобладании эндотелиального диапазона на уровне микроциркуляции вне стопы, что подтверждалось нами ранее.

Носительство полиморфизма С634G гена VEGFA ведет к снижению выработки соответствующего белка, что приводит к ухудшению функции эндотелиоцитов, снижению в тканях терминальных артериол и капилляров, проявляющихся на уровне микроциркуляции вне стопы. При развитии эндотелиальной дисфункции происходит истощение и нарушение дилатирующей функции эндотелия с преобладанием вазоконстрикции и пролиферации, что сопровождается ремоделированием сосудистой стенки и нарушением процессов ангиогенеза (схема 3) [212].

При носительстве полиморфизма С634G гена VEGFA выявлена взаимосвязь с показателями  $\sigma$ , индекса эффективности микроциркуляции (ИЭМ), амплитуды колебаний в нейрогенном диапазоне ( $A_n$ ) в точке на тыле стопы и общим показателем микроциркуляции в точке на 1 пальце стопы. Указанные изменения свидетельствуют о снижении вариабельности микроциркуляции, увеличении сопротивления артериол и развитии спастической формы микроциркуляторных нарушений на локальном уровне (схема 3).

Нами установлена взаимосвязь носительства полиморфизма А8202G гена MMP9 и нейрогенного тонуса в точке на тыле стопы. Полученные данные могут свидетельствовать о повышении тонуса сосудов сосудистой стенки, связанного с ремоделированием внеклеточного матрикса. Выявлена взаимосвязь носительства полиморфизма А8202G гена MMP9 и индекса эффективности микроциркуляции в точке на 1 пальце стопы. Полученные результаты позволяют сделать вывод о развитии патологического ремоделирования микрососудистого русла, проявляющегося снижением вариабельности микрокровотока (схема 3).

Согласно полученным данным, указанные полиморфизмы генов VEGFA и MMP9 принимают участие в нарушениях микроциркуляторного русла при различных вариантах течения сахарного диабета, что подтверждает наличие связи с показателями состояния микроциркуляции. Можно предположить, что выявленные взаимосвязи могут отражать вклад сочетания различных факторов в развитие синдрома диабетической стопы, подтверждать мультифакторную

природу указанного осложнения сахарного диабета 2 типа, а также оценивать вклад отдельных факторов.

В ходе проведения исследования нами оценена взаимосвязь полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Ash гена END1, A8202G гена MMP9, A1298C гена MTHFR с уровнем соответствующих маркеров при синдроме диабетической стопы.

Исходя из полученных данных, нами выявлена прямая связь умеренной силы между частотой встречаемости генотипов полиморфизма C786T гена eNOS и уровнем показателей NO<sub>2</sub> и NO<sub>2</sub>-/NO<sub>3</sub>- при развитии диабетической стопы, что, на наш взгляд, подтверждает влияние указанного полиморфизма гена eNOS на экспрессию NO при синдроме диабетической стопы. Вместе с тем нами не выявлено взаимосвязи различных вариантов генотипа полиморфизма Lys198Ash гена END1 на уровень продукции эндотелина-1 у пациентов с различным течением сахарного диабета. Нами отмечена умеренная обратная взаимосвязь изменений концентрации матриксной MMP9 с полиморфизмом A8202G гена MMP9 у обследованных больных с неосложненным и осложненным течением сахарного диабета, что также, на наш взгляд, подтверждает действие указанного полиморфизма гена MMP9 на экспрессию указанного вещества при развитии синдрома диабетической стопы и позволяет предположить наличие глубокого ремоделирования сосудистого русла в данной группе пациентов.

Полученные данные можно объяснить следующим образом. Известно, что язвенные дефекты при синдроме диабетической стопы локализуются преимущественно на подошвенной поверхности стоп. Особенностью строения микроциркуляторного русла подошвенной поверхности стопы является большое количество поверхностно-расположенных артерио-венулярных анастомозов, обеспечивающих процессы терморегуляции [229]. Кровоснабжение кожи акральных зон регулируется исключительно норадреналинэргическими симпатическими механизмами: увеличение симпатического тонуса вызывает вазоконстрикцию, снижение – вазодилатацию, в которой дополнительно участвуют холинэргические симпатические волокна [70]. Одним из механизмов

холинэргической вазодилатации является ацетилхолиновая стимуляция эндотелия с образованием оксида азота [70]. При наличии полиморфизма C786T гена eNOS происходит снижение функциональной активности eNOS, что приводит к недостаточной выработке оксида азота, являющейся основным компонентом эндотелиальной дисфункции и приводящей к стойкому вазоспазму, развитию ишемии по гуморальному механизму, гипоксии и некрозу мягких тканей подошвенной поверхности стопы с формированием в дальнейшем язвы. В механизме эндотелиальной дисфункции также значимую роль играют провоспалительные цитокины и ангиотензин II, запускающие процессы ремоделирования сосудистого русла и стимулирующие образование активных форм металлопротеиназ, активно участвующих в разрушении сосудистого внеклеточного матрикса [91]. Носительство полиморфизма A8202G гена MMP9 увеличивает активность MMP9, что способствует усугублению процессов патологического ремоделирования микрососудистого русла.

В связи с мультифакторной природой синдрома диабетической стопы исследование сочетаний вариантов генотипов исследованных генов представляет несомненный научный интерес. В ходе исследования нами не было выявлено достоверной взаимосвязи между частотой встречаемости вариантов генотипов полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена END1, G1691A гена FV, G20210A гена FII, A8202G гена MMP9, C634G гена VEGFA и развитием синдрома диабетической стопы, в связи с чем можно предположить, что указанные полиморфизмы исследованных генов не вносят существенный вклад в развитие синдрома диабетической стопы. С развитием вышеуказанного осложнения сахарного диабета, по нашим данным, были ассоциированы полиморфизмы T1565C гена ITGB3 и A1298C гена MTHFR.

В связи с вышеизложенным нами были проанализированы различные варианты сочетания указанных полиморфизмов исследованных генов. Установлено, что наиболее значимый вклад в развитие синдрома диабетической

стопы вносит комбинация полиморфизмов T1565C гена ITGB3 и A1298C гена MTHFR.

Далее нами проанализированы варианты сочетания генотипов указанных полиморфизмов данных генов у обследованных пациентов в зависимости от развития синдрома диабетической стопы. Установлено, что при наличии сочетания генотипов T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 и генотипа A/A полиморфизма A1298C гена MTHFR риск развития синдрома диабетической стопы возрастает в 2,4 раза по сравнению с другими комбинациями вариантов генотипов указанных полиморфизмов генов ITGB3 и MTHFR. Механизм повышения риска развития синдрома диабетической стопы при носительстве указанного сочетания вариантов генотипов полиморфизмов исследуемых генов можно объяснить следующим образом. Известно, что при хронических заболеваниях, к которым относится сахарный диабет и его осложнения, существует взаимосвязь между иммунной реакцией и метаболизмом, что приводит к стойкому воспалению при отсутствии инфекции, так называемому стерильному метаболическому воспалению [198]. Носительство мутантного генотипа T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 существенно влияет на повышение активности тромбоцитов, проводящее не только повышенной склонности к тромбообразованию, но и к активации иммунных процессов за счет выработки множества цитокинов, в облегчении прикрепления иммунных клеток, таких как нейтрофилы, и участия в образовании внеклеточных ловушек нейтрофильных клеток. При метаболическом воспалении также выражена эндотелиальная дисфункция [229]. При этом, носительство генотипа A/A полиморфизма A1298C гена MTHFR связано с нормальной функцией фермента MTHFR, не влияющего на уровень гомоцистеина. Таким образом, на наш взгляд, происходит реализация нескольких механизмов, лежащих в основе развития синдрома диабетической стопы.

Вместе с тем комбинация генотипа T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 и генотипа A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR в 2 раза чаще встречалась при неосложнённом течении сахарного диабета, что позволило сделать предположение

о ее протективном действии при развитии синдрома диабетической стопы. На наш взгляд такой эффект при указанном сочетании вариантов генотипов связан с тем, что генотип Т/Т полиморфизма Т1565С гена ITGB3 значимо не влияет на функцию тромбоцитов, что дает в полной мере реализоваться защитному механизму носительства генотипа А/С полиморфизма А1298С гена MTHFR, описанному нами ранее.

С середины XX века в самых различных областях человеческой деятельности, в том числе и в медицине, активно используются математические методы моделирования [112]. Необходимость использования указанных методов определяется тем, что довольно часто возникают ситуации, когда исследовать непосредственно объекты или практически невозможно, или данный этап исследования требует значительных временных и финансовых затрат. Использование в такой ситуации математического подхода упрощает точное количественное описание определённой задачи путём построения той или иной подходящей модели и даёт средство к решению поставленной задачи [162].

В доступной литературе нами найдено описание различных способов определения риска развития синдрома диабетической стопы. Каракуловой Ю.В. и соавторами, 2019 г., разработан способ прогнозирования тяжелого течения полинейропатии и развития синдрома диабетической стопы, основанный на определении гликированного гемоглобина (HbA1c), сывороточного уровня тропомиозинового рецептора киназы типа В (TrkB) у пациентов с сахарным диабетом. Полученные значения используются в регрессионной модели, представленной формулой  $K = 0,3 \times \text{HbA1C} + 0,4 \times \text{TrkB}$ , где  $K$  – коэффициент регрессионной модели, 0,3 – константа регрессии, HbA1C – уровень гликированного гемоглобина, 0,4 – константа регрессии, TrkB – сывороточный уровень тропомиозинового рецептора киназы типа В. Коэффициент регрессионной модели  $K = 5$  и выше свидетельствует о тяжелом течении диабетической полинейропатии и высоком риске развития синдрома диабетической стопы [103].



Куликовой А.Б. и соавторами, 2013 г., разработан способ прогнозирования диабетической остеоартропатии с помощью многоплоскостного исследования эхо-структуры костной ткани и последующим определением коэффициента прогнозирования развития диабетической остеоартропатии. Указанный коэффициент описан как соотношение показателей скорости прохождения ультразвуковой волны по нижней трети большеберцовой кости к скорости прохождения ультразвуковой волны по нижней трети лучевой кости. При значении показателя меньше 0,98 у. е. прогнозируют развитие диабетической остеоартропатии [100].

Описан способ оценки риска синдрома диабетической стопы, разработанный Шнайдер Н.А. и соавторами, 2011 г., основанный на измерении температуры на тыле стопы в точке наибольшей микротравматизации и выявлении термоасимметрии в точках на правой и левой стопах. По наличию определенного значения термоасимметрии определяют группу риска развития у пациента синдрома диабетической стопы [99].

На основе полученных результатов нами были созданы модели прогнозирования риска развития синдрома диабетической стопы. В ходе исследования нами установлено, что генотип Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 ассоциирован с риском развития синдрома диабетической стопы. Для оценки риска развития синдрома диабетической стопы у конкретного пациента, являющегося носителем указанного генотипа полиморфизма Т1565С гена ITGB3, нами предложена формула, разработанная на основании уравнения нелинейной регрессии, основанная на определении показателей микроциркуляторного русла, ассоциированных с риском развития синдрома диабетической стопы, позволяющая вычислять риск развития указанного осложнения сахарного диабета относительно среднепопуляционного.

Также нами на основании уравнения линейной регрессии разработано 2 способа прогнозирования синдрома диабетической стопы, в основе которых лежит определение показателей микроциркуляторного русла с помощью метода лазерной

доплеровской флоуметрии с последующим расчетом по формулам прогностического коэффициента [97, 102].

Для упрощения расчетов риска развития синдрома диабетической стопы нами разработана программа для ЭВМ, автоматически рассчитывающая вышеуказанный риск после внесения в неё значений показателей микроциркуляторного русла [126, 127].

Таким образом, разработанные способы оценки риска развития синдрома диабетической стопы, на наш взгляд, могут использоваться для выявления пациентов, имеющих повышенный риск развития указанного осложнения сахарного диабета. Своевременное проведение профилактики развития диабетической стопы для пациентов повышенного риска позволят сохранить здоровье пациента, требуя на осуществление меньше материальных и временных затрат, по сравнению с лечением самого осложнения.

Для комплексного анализа конкретного вклада каждого изучаемого фактора в развитие синдрома диабетической стопы нами использован метод нейросетевого анализа, основанный на алгоритмах работы биологических нейронных сетей. В искусственные нейроны поступают сигналы, которые суммируются, преобразуются и выдают необходимый результат. Нейронные сети возможно обучать, указав обобщающие параметры для выборки, это необходимо для корректности получаемых результатов. В зависимости от количества нейронов они бывают однослойные, настроенные на выполнение простейших команд, и многослойные, обладающие большей вычислительной способностью [128, 307, 313].

При анализе полученных данных установлено, что полиморфизм G1691A гена FV, эндотелин-1, NO2 имели крайне низкое значение при развитии синдрома диабетической стопы, и поэтому указанные показатели исходно не были включены в нейронную сеть. По результатам исследования нами установлено, что наибольший вклад в развитие синдрома диабетической стопы имели: полиморфизм C786T гена eNOS – 15,9%, полиморфизм C634G гена VEGFA – 13,5% и возраст

старше 66 лет – 12,1%. Наименьший вклад в развитие синдрома диабетической стопы вносили: NO3 – 3%, пол – 3,2% и полиморфизм G1619A гена FII.

На наш взгляд, полученные в ходе исследования данные позволяют дополнить сведения о патогенезе развития синдрома диабетической стопы и индивидуализировать раннее прогнозирование этого серьезного осложнения сахарного диабета (схема 1, 2, 3).

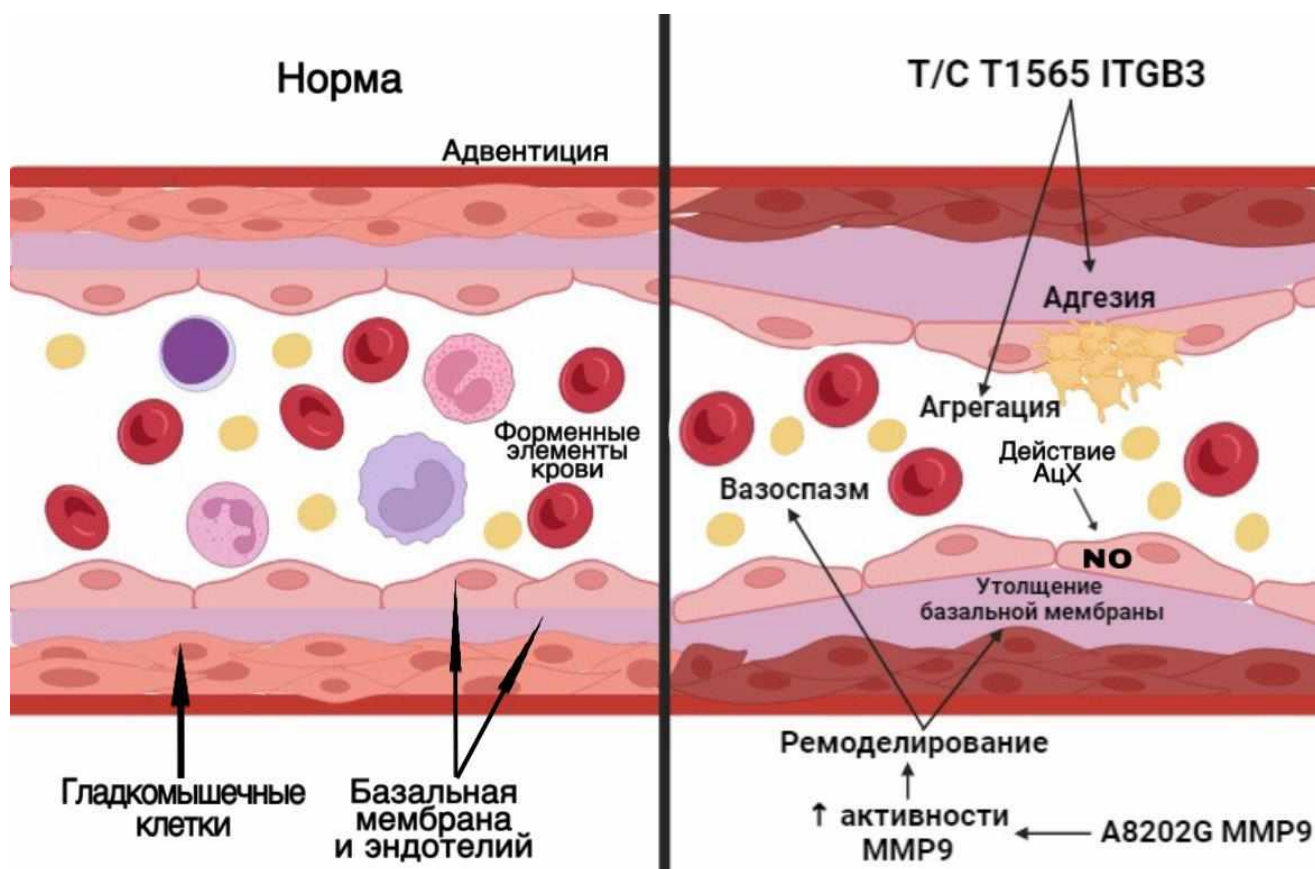


Схема 1. Механизм нарушения микроциркуляции при носительстве генотипа T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3

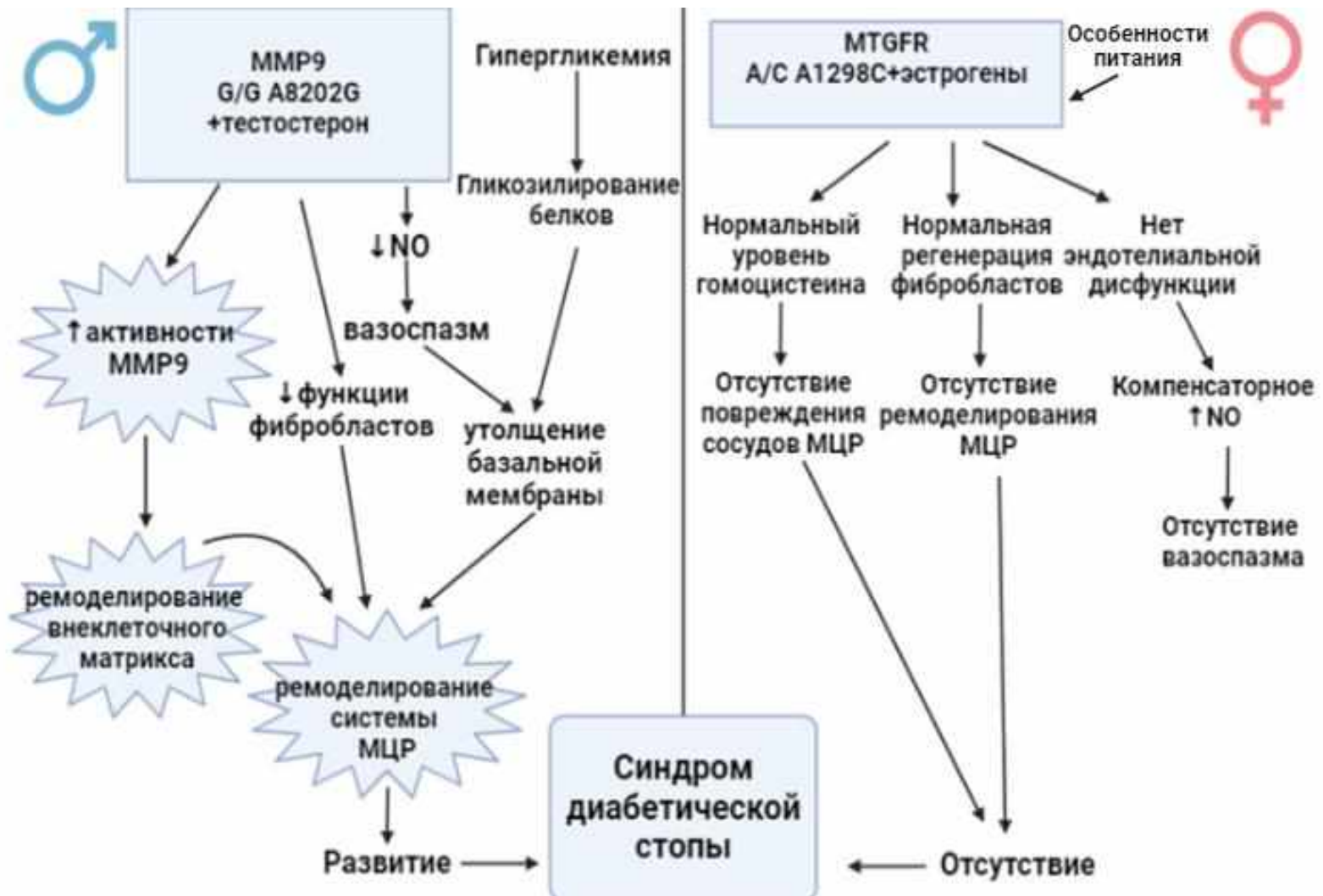


Схема 2. Влияние изучаемых полиморфизмов генов на патогенез нарушений микроциркуляции в зависимости от половой принадлежности

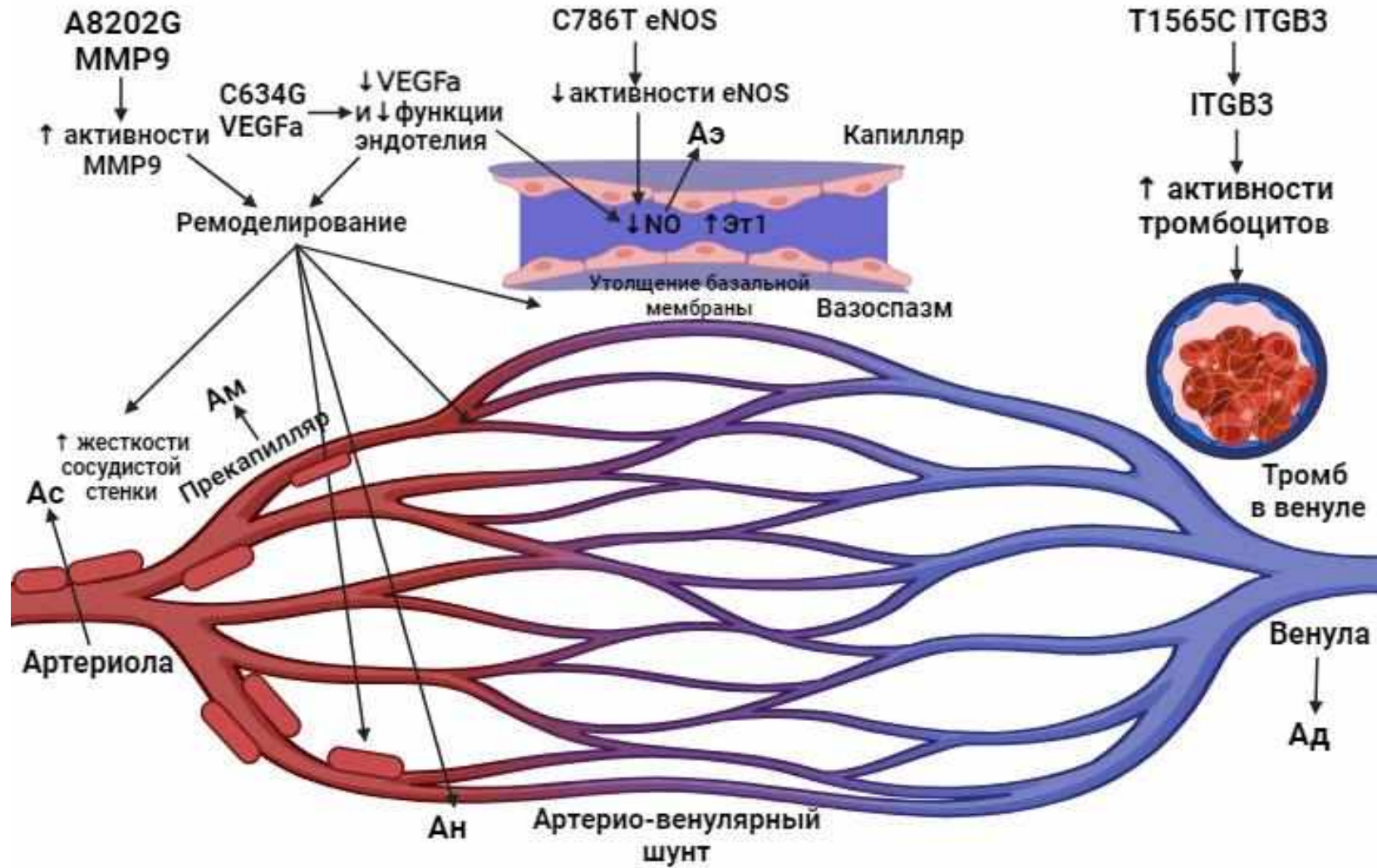


Схема 3. Влияние изучаемых полиморфизмов генов на патогенез нарушений микроциркуляции

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сахарный диабет 2 типа в настоящее время является одной из самых распространённых неинфекционных патологий в мире с постоянно возрастающей заболеваемостью. Развитие синдрома диабетической стопы является одной из причин снижения качества жизни пациентов, инвалидизации и смертности, а также существенных экономических потерь. Учитывая мультифакторную природу указанного осложнения сахарного диабета, роль генетического участия является весьма значимой.

Патогенетические особенности синдрома диабетической стопы раскрыты в результате комплексного обследования 397 пациентов с разными вариантами течения сахарного диабета. Сравнение изучаемых параметров проводилось путем сопоставления с данными 100 практически здоровых резидентов.

Впервые нами проведена комплексная оценка состояния микроциркуляторного русла у пациентов с развитием синдрома диабетической стопы на разных уровнях. Состояние микроциркуляторного русла было одновременно оценено не только местно, на 1 пальце и тыле стопы, но и в отдаленной точке на предплечье. Описаны ранее нигде не представленные механизмы регуляции данных процессов.

В своей работе мы изучили патофизиологическое влияние 8 изучаемых полиморфизмов генов, условно собранных нами в комбинации по механизму действия и связанных с нарушениями микроциркуляции при развитии синдрома диабетической стопы.

Результатом комплексного молекулярно-генетического исследования явилось установление ассоциативной связи полиморфного варианта T1565C гена ITGB3 с риском развития синдрома диабетической стопы и выявление протективного эффекта полиморфизма A1298C гена MTHFR относительно развития вышеуказанного осложнения сахарного диабета. При разделении по

половой принадлежности выявлена связь полиморфного варианта A8202G гена MMP9 у мужчин с развитием синдрома диабетической стопы и протективный эффект полиморфизма A1298C гена MTHFR у женщин относительно развития вышеуказанного осложнения сахарного диабета. Установлено сочетание полиморфизмов исследованных генов и сочетание их вариантов, имеющих наибольшую ассоциацию с риском развития синдрома диабетической стопы.

Исследовано влияние полиморфизмов C634G гена VEGFA, A8202G гена MMP9, C786T гена eNOS на состояние микроциркуляторного русла посредством кодируемых веществ. Выявлено неблагоприятное влияние указанных полиморфизмов гена VEGFA и гена MMP9 на состояние микроциркуляторного русла при различных вариантах течения сахарного диабета 2 типа, выражающееся в снижении показателя шунтирования в точке на нижней трети предплечья, уменьшении значений  $\sigma$ , индекса эффективности микроциркуляции, амплитуды колебаний в нейрогенном диапазоне, нейрогенного тонуса в точке на тыле стопы, понижении общего показателя микроциркуляции и индекса эффективности микроциркуляции в точке на 1 пальце стопы.

Исследована взаимосвязь C786T гена eNOS, Lys198Ash гена END1, A8202G гена MMP9 и уровня кодируемых данными генами веществ у пациентов с различным течением сахарного диабета. Выявлена ассоциация между полиморфизмом C786T гена eNOS и уровнем показателей NO2 и NO2-/NO3-, а также между полиморфизмом A8202G гена MMP9 и показателем MMP 9 у больных с синдромом диабетической стопы.

Впервые выполнена комплексная оценка исследованных факторов с изучением индивидуального вклада каждого компонента в развитие синдрома диабетической стопы. Наиболее значимый вклад в структуру нейронной сети вносили такие показатели, как полиморфизмы C786T гена eNOS, Lys198Ash гена END1, T1565C гена ITGB3, C634G гена VEGFA, A8202G гена MMP9, G20210A гена F2, A1298C гена MTHFR, пол, возраст, NO3, NO2-/NO3, MMP9. Наименьший

вклад в структуре нейронной сети имели: полиморфизм G1691A гена FV, эндотелин-1, NO<sub>2</sub>, гомоцистеин.

На основе полученных данных разработаны прогностические модели, позволяющие выделить группы повышенного риска развития синдрома диабетической стопы и требующие проведения профилактических мероприятий.

В результате проведенного исследования установлены новые закономерности патогенетических механизмов изменений микроциркуляции при развитии синдрома диабетической стопы. Раскрыт вклад исследованных генетических полиморфизмов в развитие нарушения микроциркуляторного русла при данной патологии, и описаны ранее нигде не представленные механизмы их действия.



**ВЫВОДЫ:**

1. При развитии синдрома диабетической стопы по сравнению с неосложненным сахарным диабетом 2 типа отмечается более значимое снижение интенсивности микрокровотока локально и вне зоны поражения. На уровне микроциркуляторного русла вне стопы отмечается уменьшение амплитуд колебаний кровотока в нейрогенном, миогенном, дыхательном и пульсовом диапазонах.
2. Эндотелий-зависимая регуляция сосудистого тонуса вносит вклад в нарушения микроциркуляции при сахарном диабете 2 типа, но не является определяющей при развитии синдрома диабетической стопы. В группах больных различными вариантами течения сахарного диабета 2 типа относительно здоровых лиц выявлено повышение содержания эндотелина-1 в 1,4 раза и снижение уровня NO<sub>3</sub> и NO<sub>2</sub>-/NO<sub>3</sub>- в 3,5 и 1,2 раза соответственно. При синдроме диабетической стопы не выявлено отличий указанных веществ относительно больных с неосложненным течением заболевания.
3. Носительство генотипа Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 ассоциировано с развитием синдрома диабетической стопы. У мужчин при синдроме диабетической стопы в 1,6 раза чаще встречался генотип G/G полиморфизма A8202G гена MMP9, у женщин носительство варианта генотипа А/С полиморфизма A1298C гена MTHFR в 1,5 раза чаще отмечалось при неосложненном сахарном диабете.
4. Носительство генотипов Т/Т и Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 при синдроме диабетической стопы ассоциировано со снижением изменчивости микрокровотока на предплечье и на стопе. При генотипах А/А и А/С полиморфизма A1298C гена MTHFR отмечено более выраженное снижение модуляции микрокровотока на предплечье и повышение вазомоторной активности сосудов на стопе. У носителей генотипа С/С полиморфизма С786Т гена eNOS и генотипов

Lys/Lys и Asn/Asn полиморфизма Lys198Asn гена END1 на предплечье выявлено снижение активности эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса. Наличие полиморфизмов C634G гена VEGFA и A8202G гена MMP9 у пациентов с синдромом диабетической стопы сопряжено с развитием спастической формы микроциркуляторных нарушений на локальном уровне.

5. При синдроме диабетической стопы выявлена прямая взаимосвязь уровня метаболитов оксида азота в кровотоке с носительством полиморфизма C786T гена eNOS, а также обратная взаимосвязь уровня MMP9 с полиморфизмом A8202G гена MMP9.

6. Носительство сочетания вариантов генотипов T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 и A/A полиморфизма A1298C гена MTHFR ассоциировано с повышенным риском развития синдрома диабетической стопы.

7. Разработанные прогностические модели для определения риска развития синдрома диабетической стопы, основанные на изучении показателей и генетического полиморфизма факторов регуляции состояния микроциркуляторного русла, имеют высокую чувствительность и специфичность. Определяющий вклад в развитие синдрома диабетической стопы при комплексной оценке вносили: полиморфизм C786T гена eNOS, полиморфизм C634G гена VEGFA и возраст старше 66 лет.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При сахарном диабете рекомендуется использовать модели расчета риска развития синдрома диабетической стопы, в основе которых лежит определение варианта генотипа полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB, A1298C гена MTHFR, ПМ, σ, Ад, Ас в точке на предплечье, ПМ и Kv в точке на тыле стопы и на 1 пальце стопы, определение уровня NO<sub>2</sub>-/NO<sub>3</sub>, отношения показателей Аэ, Ан, Ам в точке на предплечье с аналогичными показателями на 1 пальце стопы и созданные на их основе программы ЭВМ [101, 102, 126, 127].

2. При выявлении у пациента с сахарным диабетом полиморфизмов T1565C (Leu33Pro) гена ITGB, A8202G гена MMP9 рекомендуется включение в группу риска по развитию синдрома диабетической стопы с углубленным диспансерным наблюдением.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Дальнейшее изучение генетически-опосредованных механизмов нарушения состояния микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы позволит экстраполировать полученные данные и на другие осложнения сахарного диабета 2 типа. Данное направление является перспективным для последующей разработки темы исследования с целью формирования патогенетического обоснования персонализированной тактики профилактики развития изучаемой патологии, что будет способствовать значительному снижению частоты неблагоприятных исходов заболевания, в том числе летальности и инвалидизации, повышению качества жизни и активному долголетию.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

Ад	Максимальная амплитуда колебаний кровотока дыхательного диапазона
Ам	Максимальная амплитуда колебаний кровотока миогенного диапазона
Ан	Максимальная амплитуда колебаний кровотока нейрогенного диапазона
Ас	Максимальная амплитуда колебаний кровотока пульсового диапазона
Аэ	Максимальные амплитуды колебаний кровотока эндотелиального диапазона
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ИЭМ	Индекс эффективности микроциркуляции
ЛДФ	Лазерная доплеровская флоуметрия
МТ	Миогенный тонус
НТ	Нейрогенный тонус
ПМ	Показатель микроциркуляции
пф.ед	Перфузионные единицы
ПШ	Показатель шунтирования
АВСС8	Рецептор к сульфонилмочевине
ADIPOQ	Адипонектин
CAPN10	Кальцийзависимые цистеиновые протеазы
CDKN2A/2B	Белки, регулирующие клеточный цикл
CI	Доверительный интервал
df	степень свободы
EDN 1	Эндотелин-1
eNOS	Эндотелиальная синтаза оксида азота
FII	Фактор свертывания крови II
FV	Фактор свертывания крови V

HbAc	Гликированный гемоглобин
HHEX	Транскрипционный фактор, участвующий в эмбриональном развитии
HSP	Белки теплового шока
IDE	Инсулиназа
IDF	Международная Федерация Диабета
IL 6	Интерлейкин 6
ICAM1	Молекула межклеточной адгезии
IGF2BP2	Белок 2, связывающий мРНК инсулиноподобного фактора роста 2
ITGB3	Интегрин бета-3
GFER	Белок, кодирующий FAD-зависимую сульфгидрилоксидазу
KCNJ11	Белок, входящий в состав АТФ-зависимых кальциевых каналов панкреатических $\beta$ белков
KCNQ1	Каналы для потенциал-зависимых ионов калия
Kv	Коэффициент вариации
MCP	Моноцитарный хемотаксический белок
MMP	Матриксная металлопротеиназа
MTHFR	Метилентетрагидрофолатредуктаза
MTNR1B	Рецептор к мелатонину
NO	Оксид азота
NO2	Нитрит азота
NO3	Нитрат азота
NO2-/NO3	Общий нитрат
Nrf2	Белковый транскрипционный фактор
OR	Отношение шансов
SDF-1	Фактор стромально-клеточного происхождения
SLC30A8	Трансмембранный белок, транспортирующий ионы цинка типа 8
SNP	Точечные нуклеотидные полиморфизмы
TCF7L2	Ядерный рецептор $\beta$ -катенина

TNF- $\alpha$	Фактор некроза опухолей $\alpha$
UCP2	Разобщающий белок
VEGF	Эндотелиальный фактор роста
WSF1	Вольфрамин
$\sigma$	Среднеквадратичное отклонение колебаний кровотока
$\chi^2$	Хи-квадрат

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Азимов А. Термография лица у здоровых / А. Азимов, М. Азимов. – DOI:10.26739.2181-0966-2020-2-15 // Журнал стоматологии и краниофациальных исследований. – 2020. – Т. 1, № 2. – С. 72–74.
2. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, А.Ю. Майоров [и др.]. - DOI: 10.14341/DM20171S8 // Сахарный диабет. – 2017. – № 1S. – С. 1–121.
3. Аметов А.С. Роль и место нарушенного окислительно-восстановительного баланса в развитии диабетической невропатии и антиоксидантные эффекты альфа-липоевой кислоты / А.С. Аметов, А.А. Косян. - DOI: 10.33029/2304-9529-2020-9-2-70-79 // Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение. – 2020. – № 2 (31). – С. 70–79.
4. Анализ ассоциации полиморфных маркеров гена CDKAL1 и локуса HNF1B/IDE с сахарным диабетом типа 2 / Д.С. Ходырев, А.Г. Никитин, А.Н. Бровкин [и др.]. - DOI: 10.7868/S0016675816110060 // Генетика. – 2016. – Т. 52, № 11. – С. 1318–1326.
5. Анализ связи С936Т полиморфного сайта гена VEGFA с развитием синдрома диабетической стопы в украинской популяции / А.В. Русанов, Я.Д. Чумаченко, Е.И. Дубовик [и др.]. - DOI: 10.7868/S0016675816110060 // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2019. – № 2. – С. 34–42.
6. Анализ уровня эндотелина-1 и полиморфизма Lys198Asn гена эндотелина-1 у пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2-го типа / Э.В. Давыдчик, В.А. Снежицкий, Т.Л. Степура, В.Р. Шулика // Кардиология в Беларуси. – 2019. – Т. 11, № 1. – С. 6–16.



7. Аншелес А.А. Позитронная эмиссионная томография в кардиологической практике / А.А. Аншелес, В.Б. Сергиенко. - DOI: 10.26442/00403660.2023.07.202278 // Терапевтический архив. – 2023. – Т. 95, № 7. – С. 531–536.

8. Артикова Д.М. Эпидемиология, этиологии и патогенез синдрома диабетической стопы / Д.М. Артикова, А.Ф. Артиков // Academic research in educational sciences. – 2023. – № 1. – С. 248–254.

9. Ассоциации половых гормонов с компонентами инсулин-глюкозного гомеостаза / О.В. Цыганкова, А.Р. Бадин, З.Г. Бондарева [и др.]. – DOI 10.14341/omet9482 // Ожирение и метаболизм. – 2018. – Т. 15, № 2. – С. 3–10.

10. Ассоциация высокой скорости гликолиза и активности разобщения окисления и фосфорилирования в клетках крови больных на поздней стадии остеоартрита коленного сустава с развитием послеоперационной боли / Е.В. Четина, Г.А. Маркова, К.Е. Глемба, М.А. Макаров. - DOI: 10.14412/1996-7012-2024-1-21-27 // Современная ревматология. – 2024. – Т. 18, № 1. – С. 21–27.

11. Ассоциация полиморфизмов генов SLC30A8 и MC4R с прогнозом развития сахарного диабета 2-го типа / Е.С. Мельникова, С.В. Мустафина, О.Д. Рымар [и др.]. – DOI: 10.14341/DM12767 // Сахарный диабет. – 2022. – Т. 25, № 3. – С. 215–225.

12. Ассоциация полиморфизмов генов TCF7L2, FABP2, KCNQ1, ADIPOQ с прогнозом развития сахарного диабета 2-го типа / Е.С. Мельникова, О.Д. Рымар, А.А. Иванова [и др.]. - DOI: 10.26442/00403660.2020.10.000393 // Терапевтический архив. – 2020. – Т. 92, № 10. – С. 40–47.

13. Ассоциация полиморфных локусов предрасположенности к сахарному диабету 2 типа в различных этнических группах Российской Федерации / Д.Ш. Авзалетдинова, Т.В. Моругова, Л.Ф. Шарипова, О.В. Кочетова. – DOI: 10.14341/DM12531 // Сахарный диабет. – 2021. – Т. 24, № 3. – С. 262–272.

14. Ассоциация полиморфных маркеров гена TCF7L2 с сахарным диабетом типа 2 / А.Г. Никитин, В.А. Потапов, А.Н. Бровкин [и др.] // Клиническая практика. – 2014. – № 1 (17). – С. 4–11.
15. Ассоциация полиморфных маркеров генов FTO, KCNJ11, SLC30A8 и CDKN2B с сахарным диабетом типа 2 / А.Г. Никитин, В.А. Потапов, А.Н. Бровкин [и др.]. - DOI: 10.7868/S0026898415010115 // Молекулярная биология. – 2015. – Т. 49, № 1. – С. 119–119.
16. Ахмедов С.П. Особенности лазерной доплеровской флоуметрии полости рта при лейкозах. - DOI: 10.57231/j.idmfs.2022.1.2.027 // Integrative dentistry and maxillofacial surgery. – 2022. – Т. 1, № 2. – С. 168–173.
17. Базылев В.В. Роль матричных металлопротеиназ в ремоделировании миокарда / В.В. Базылев, Т.В. Канаева. - DOI: 10.26442/22217185.2020.3.200374 // CardioСоматика. – 2020. – Т. 11, № 3. – С. 22–28.
18. Бактериальная этиология воспалительных заболеваний, сопровождающих синдром диабетической стопы / С.Н. Стяжкина, И.И. Фазлыева, А.Д. Пустовалова, Г.А. Мухьярова // Modern Science. – 2022. – № 5-4. – С. 144–146.
19. Баранов В.С. Геномика на пути к предиктивной медицине // Acta Nature. – 2009. – № 3. – С. 77–88.
20. Бардюгов П.С. Деформации стоп у пациентов с синдромом диабетической стопы (обзор литературы) / П.С. Бардюгов, М.В. Паршиков. – DOI: 10.18019/1028-4427-2022-28-3-452-458 // Гений ортопедии. – 2022. – Т. 28, № 3. – С. 452–458.
21. Бархатов И.В. Применение лазерной доплеровской флоуметрии для оценки нарушений системы микроциркуляции крови человека // Казанский медицинский журнал. – 2014. – Т. 95, № 1. – С. 63–69.
22. Белецкая И.С. Роль матричных металлопротеиназ в патогенезе глаукомы / И.С. Белецкая, С.Ю. Астахов // Офтальмологические ведомости. – 2015. – № 3. – С. 28–43.

23. Белушкина Н.Н. Генетические исследования мультифакториальных заболеваний в концепции персонализированной медицины / Н.Н. Белушкина, А.С. Чемезов, М.А. Пальцев. – DOI: 10.17116/profmed20192203126 // Профилактическая медицина. – 2019. – № 3. – С. 26–30.

24. Белушкина Н.Н. Персонализированная медицина: от идеи до внедрения в практическое здравоохранение / Н.Н. Белушкина, А.С. Чемезов, М.А. Пальцев // Молекулярная медицина. – 2018. – Т. 16, № 3. – С. 9–15.

25. Берг Л.Н. Персонализированная медицина: правовые и организационные основы медицины будущего // Lex Genetica. – 2023. – Т. 2, № 1. – С. 7–23. - DOI:10.17803/lexgen-2023-2-1-7-23.

26. Берстнева С.В. Гены, кодирующие компоненты ренин-ангиотензиновой системы и факторы эндотелия, в развитии диабетической нефропатии при сахарном диабете 2 типа / С.В. Берстнева, А.В. Шаханов, С.В. Янкина. – DOI:10.23888/HMJ201863420-428 // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2018. – Т. 6, № 3. – С. 420–428.

27. Бирюкова Е.В. Диабетическая полинейропатия: чего мы достигли в понимании проблемы? / Е.В. Бирюкова, Е.С. Ганненкова, И.В. Соловьева // РМЖ. – 2020. – Т. 28, № 1. – С. 14–19.

28. Бирюкова Е.В. Диабетические микроангиопатии: механизмы развития, подходы к терапии / Е.В. Бирюкова, М.В. Шинкин. - DOI: 10.21689/2311-7729-2018-18-2-91-96 // РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2018. – Т. 18, № 2. – С. 91–96.

29. Буряковская А.А. Сахарный диабет: роль генетических факторов в развитии заболевания / А.А. Буряковская, А.С. Исаева. - DOI: 10.22141/2224-0721.13.1.2017.96763 // Международный эндокринологический журнал. – 2017. – Т. 13, № 1. – С. 85–94.

30. Васильев П.В. Лазерная доплеровская флоуметрия в исследовании микролимфодинамики / П.В. Васильев, Н.Б. Маргарянц, Н.П. Ерофеев. - DOI:

10.17691/stm2019.11.2.13 // Современные технологии в медицине. – 2019. – Т. 11, № 2. – С. 92–97.

31. Вербовой А.Ф. Диабетическая макроангиопатия / А.Ф. Вербовой, А.В. Пашенцева. - DOI: 10.26442/00403660.2019.10.000109 // Терапевтический архив. – 2019. – Т. 91, № 10. – С. 139–143.

32. Вклад полиморфизма rs11927381 гена IGF2BP2 в патогенез сахарного диабета 2 типа / Ю.Э. Азарова, Е.Ю. Клёсова, С.Ю. Сакали, А.П. Ковалев. - DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-2 // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2020. – Т. 6, № 1. – С. 9–19.

33. Влияние генетической тромбофилии на тяжесть течения гемолитико-уремического синдрома у детей / А.В. Попа, Х.М. Эмирова, Н.Л. Козловская [и др.] // Клиническая нефрология. – 2015. – № 2-3. – С. 33–40.

34. Влияние пищевого нагрузочного теста на показатели микроциркуляции в печени крыс различного пола и возраста / И.В. Андреева, А.А. Виноградов, В.Д. Телия, Р.Ю. Симаков - DOI: 10.24884/1682-6655-2022-21-1-71-77 // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2022. – Т. 21, № 1. – С. 71–77.

35. Возрастные особенности организации микроциркуляторного русла бульбарной конъюнктивы / В.М. Черток, В.А. Невзорова, А.К. Савченко [и др.]. - DOI: 10.34215/1609-1175-2020-3-57-61 // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2020. – № 3 (81). – С. 57–61.

36. Вручинский Е.Е. Диабетическая стопа, актуальность в XXI веке (обзор литературы) / Е.Е. Вручинский, Е.М. Тургунов // Интернаука. – 2020. – № 15-1. – С. 39–46.

37. Встречаемость полиморфизма Leu33Pro гена ITGB3 в выборках из популяций Алжира, Сирии и Центральной России / А.А. Аит, М.М. Азова, О.О. Гигани [и др.] // Auditorium. – 2016. – № 2 (10). – С. 20–23.

38. Геморрагические и тромботические заболевания и синдромы у детей и подростков: патогенез, клиника, диагностика, терапия и профилактика / Б.И. Кузник, В.Г. Стуров, Н.Ю. Левшин [и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – Новосибирск : Наука, 2018. – 524 с. – ISBN 978-5-02-038708-9.

39. Гендерные особенности микроциркуляторного русла кожи у здоровых лиц трудоспособного возраста / К.В. Омеляненко, А.Ю. Горшков, А.А. Федорович [и др.]. - DOI: 10.15829/1728-8800-2021-3111 // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2021. – Т. 20, № 8. – С. 48–55.

40. Генетический полиморфизм у пациентов с впервые выявленным сахарным диабетом 2 типа / Ю.А. Сорокина, Л.В. Ловцова, А.П. Ураков, О.В. Занозина. - DOI: 10.17691/stm2019.11.2.08 // Современные технологии в медицине. – 2019. – Т.11, № 2. – С. 57–62.

41. Гипергомоцистеинемия и диабетическая нефропатия: влияние генетических факторов, клиничко-патогенетические взаимосвязи с воспалением и анемией / И.Ю. Пчелин, Р.А. Гапешин, Н.В. Худякова, В.К. Байрашева // *Juvenis scientia*. – 2016. – № 6. – С. 12–16.

42. Головачева В.А. Лечение диабетической и алкогольной полинейропатий: возможности и перспективы фармакотерапии / В.А. Головачева, И.А. Строков // *Русский медицинский журнал*. – 2014. – № 16. – С. 1193–1197.

43. Григоркевич О.С. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы / О.С. Григоркевич, Г.В. Мокров, Л.Ю. Косова. - DOI: 10.24411/2587-7836-2019-10040 // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2019. – № 2. – С. 3–16.

44. Губарева Е.Ю. Фактор роста эндотелия сосудов в качестве потенциального маркера субклинического поражения органов, опосредованного артериальной гипертонией / Е.Ю. Губарева, И.В. Губарева. - DOI: 10.29001/2073-8552-2019-34-3-40-44 // *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. – 2019. – Т. 34, № 3. – С. 40–44.

45. Гудзь А.С. Влияние полиморфизмов rs2010963 и rs699947 гена VEGFA на клинические и лабораторные показатели при диабетической ретинопатии у больных сахарным диабетом 2 типа / А.С. Гудзь, С.В. Зяблицев, Г.Е. Захаревич. - DOI: 10.22141/2224-0721.13.7.2017.115745 // Международный эндокринологический журнал. – 2017. – Т. 13, № 7. – С. 471–477.
46. Де Сильва М.Н. Маркеры дисфункции эндотелия у больных бронхиальной астмой / М.Н. Де Сильва, В.И. Немцов, В.И. Трофимов // Российский аллергологический журнал. – 2015. – № 2. – С. 15–18.
47. Демидова Т.Ю. Возможные направления клинического применения знаний о генетике сахарного диабета 2-го типа / Т.Ю. Демидова, В.М. Плахотняя. - DOI:10.21518/2079-701X-2022-16-10-46-56 // Медицинский совет. – 2022. – Т. 16, № 10. – С. 46–56.
48. Демидова Т.Ю. Молекулярно-генетические особенности развития сахарного диабета и возможности персонализации терапии / Т.Ю. Демидова, С.Г. Зенина. - DOI: 10.14341/DM12486 // Сахарный диабет. – 2020. – Т. 23, № 5. – С. 467–474.
49. Дзм Н. Перфузионная сцинтиграфия миокарда // Актуальные вопросы медицинской практики. – 2018. – № 4. – С. 45.
50. Диабетическая нефропатия: анализ факторов риска, влияющих на развитие хронической болезни почек при сахарном диабете / В.М. Селиханова, Х.Т. Исаева, К.М. Аршидинова [и др.] // Медицина и экология. – 2021. – № 2 (99). – С. 75–79.
51. Диабетическая нефропатия: распространенность и факторы риска / И.Т. Муркамилов, К.А. Айтбаев, В.В. Фомин [и др.]. – DOI 10.19163/1994-9480-2021-1(77)-3-11 // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2021. – № 1 (77). – С. 3–11.

52. Ерошин С.Н. Этапы комплексного лечения пациентов с гнойно-некротическими формами синдрома диабетической стопы // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2014. – Т. 7, № 1. – С. 32–38.

53. Ибрагимов Е. О роли моноцитарного хемотаксического белка-1 при диабетической нефропатии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и хронической болезнью почек / Е. Ибрагимов, М.М. Батюшин, И.В. Сарвилина. – DOI: 10.26787/nydha-2686-6838-2020-22-7-73-81 // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2020. – Т. 22, № 7. – С. 73–81.

54. Иванов Н.В. Нейронные сети в медицине // Сложные системы. – 2018. – № 4. – С. 46–70.

55. Изучение комплексного воздействия С677Т и А1298С полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) на развитие ишемического атеротромботического инсульта / О.И. Матлай, Е.И. Дубовик, В.Ю. Гарбузова [и др.] // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2015. – № 1. – С. 7–14.

56. Изучение молекулярных механизмов эндотелиальной дисфункции *in vitro* / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, Н.В. Короткова, Н.Д. Мжаванадзе. - DOI: 10.23868/201903003 // Гены и клетки. – 2019. – Т. 14, № 1. – С. 22–32.

57. Иорданишвили А.К. Вакуумная проба Кулаженко-архаизм или метод объективизации функционального состояния тканей пародонта (патофизиологический аспект проблемы) / А.К. Иорданишвили, П.В. Мороз, И.И. Бобынцев. - DOI: 10.21626/vestnik/2021-4/06 // Человек и его здоровье. – 2021. – № 4. – С. 44–51.

58. Исабаева Д.И. Диабетическая нефропатия и роль полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы в ее возникновении // Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. – 2019. – № 1. – С. 54–57. - DOI: 10.26104/NNTIK.2019.45.557.

59. Исследование ассоциации полиморфного варианта RS6065906 гена белка-переносчика фосфолипидов (PLTP) с риском развития ишемической болезни

сердца / М.И. Чурилин, Ю.Э. Азарова, Е.Ю. Клёсова [и др.]. - ISBN 978-5-9500265-4-6 // *Фундаментальные научные исследования: теоретические и практические аспекты* : сборник материалов VIII Международной научно-практической конференции, 15 февраля 2019 г., г. Кемерово. – Кемерово : ЗапСибНЦ, 2019. – С. 54–55.

60. Камынина Л.Л. Управление сахарным диабетом 2 типа: влияние урбанизации / Л.Л. Камынина, Н.П. Чернусь. – DOI: 10.47619/2713-2617.zm.2020.v1i2;76-88 // *Здоровье мегаполиса*. – 2020. – № 2. – С. 76–88.

61. Капилляроскопия как скрининговое обследование сосудов при сахарном диабете. Обзор литературы / Д.А. Гойдин, С.В. Шутова, О.Л. Фабрикантов [и др.]. - DOI:10.25276/2686-6986-2021-1-17-25 // *Отражение*. – 2021. – № 1. – С. 66–73.

62. Карпович О. А. Клиническое значение полиморфных маркеров гена рецепторов мелатонина второго типа при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни / О.А. Карпович, В.А. Снежицкий, В.И. Шишко. - DOI: 10.25298/2221-8785-2020-18-3-243-247 // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2020. – Т. 18, № 3. – С. 243–247.

63. Климонтов В.В. Влияние вариабельности гликемии на риск развития сердечно-сосудистых осложнений при сахарном диабете // *Кардиология*. – 2018. – Т. 58, № 10. – С. 80–87. - DOI:10.18087/cardio.2018.10.10152.

64. Клинико-морфологическое исследование тканевой репарации при синдроме диабетической стопы / А.Ю. Токмакова, Е.Л. Зайцева, И.А. Воронкова, М.В. Шестакова. – DOI 10.14341/DM9823 // *Сахарный диабет*. – 2018. – Т. 21, № 6. – С. 490–496.

65. Ковалева М.А. Обзор прямых методов изучения микроциркуляции и оценки полученных данных / М.А. Ковалева, К.В. Жмеренецкий. - DOI: 10.17238/issn2542-1298.2020.8.1.79 // *Журнал медико-биологических исследований*. – 2020. – Т. 8, № 1. – С. 79–88.



66. Козлов В.И. Капилляроскопия в клинической практике / В.И. Козлов. – Москва : Практическая медицина, 2015. – 232 с. – ISBN 978-5-98811-342-3.
67. Козлов В.И. Развитие системы микроциркуляции / В.И. Козлов. – Москва : Российский университет дружбы народов, 2012. – 313 с. – ISBN 978-5-209-04233-4.
68. Колосков А.В. Клиническое значение полиморфизма генов фактора V и протромбина / А.В. Колосков, Е.В. Чернова. - DOI: 10.25837/НАТ.2019.63.13.004 // Гематология и трансфузиология. – 2018. – № 3. – С. 250–257.
69. Костюк С.А. Гены предрасположенности к мультифакторным заболеваниям и генетический полиморфизм: что это такое? // Медицинские новости. – 2020. – № 7 (310). – С. 42–46.
70. Крупаткин А.И. Клинико-физиологические особенности симпатической иннервации верхних конечностей // Физиология человека. – 2019. – Т. 45, № 4. – С. 106–116. - DOI: 10.1134/S0131164619040076.
71. Крупаткин А.И. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем. Колебания. Информация. Нелинейность : руководство для врачей / А.И. Крупаткин, В.В. Сидоров. – Москва : Ленанд, 2016. – 496 с. – ISBN 978-5-9710-3329-5.
72. Ладожская-Гапеенко Е.Е. Возможности лазерной доплеровской флоуметрии с использованием ортостатической пробы в оценке функционального состояния микроциркуляции / Е.Е. Ладожская-Гапеенко, К.Н. Храпов. - 10.24884/1682-6655-2020-19-3-39-45 // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2020. – Т. 19, № 3. – С. 39–45.
73. Лебедев Д.Д. Термография в медицине / Д.Д. Лебедев. - ISBN 978-5-6042088-7-8 // Физика и медицина: создавая будущее : сборник материалов, г. Самара, 7 декабря 2018 г. / под редакцией Г.П. Котельникова [и др.]. – Самара : НИЦ LJournal, 2018. – С. 68-71.

74. Левкович Т.В. Вклад трансформирующего фактора роста  $\beta 1$ , эндотелина-1, коллагена IV типа и полиморфизмов их генов в ремоделирование артерий / Т.В. Левкович, Т.П. Пронько. - DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2021.13.3.012> // Кардиология в Беларуси. – 2021. – Т. 13, № 3. – С. 478–485.

75. Лукша А.В. Ассоциация полиморфизмов A1298C и C677T гена MTHFR и уровень гомоцистеина у детей с артериальной гипертензией // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2023. – Т. 22, № 1. – С. 67–75. - DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2023.1.67>.

76. Максимович Н.Е. Белки теплового шока. Свойства. Роль в адаптации. Методические подходы к определению / Н.Е. Максимович, Е.И. Бонь. – DOI: [10.33647/2074-5982-16-2-60-67](https://doi.org/10.33647/2074-5982-16-2-60-67) // Биомедицина. – 2020. – Т. 16, № 2. – С. 60–67.

77. Маркеры эндотелиальной дисфункции: патогенетическая роль и диагностическое значение (обзор литературы) / Т.В. Степанова, А.Н. Иванов, Н.Е. Терешкина [и др.]. - DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-34-41> // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т. 64, № 1. – С. 34–41.

78. Медицина 4 «П» как основа новой системы здравоохранения / Э.М. Османов, Р.Р. Маньяков, Р.Э. Османов [и др.]. - DOI: [10.20310/1810-0198-2017-22-6-1680-1685](https://doi.org/10.20310/1810-0198-2017-22-6-1680-1685) // Вестник ТГУ. – 2017. – Т. 22, вып. 6. – С. 1680–1685.

79. Медицинская термография: возможности и перспективы / А.М. Морозов, Е.М. Мохов, В.А. Кадыков [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2018. – Т. 99, № 2. – С. 264–270.

80. Метод лазерной доплеровской флоуметрии в оценке нарушений кожной микроциркуляции у пациентов с диабетической полинейропатией. Часть 2 / Д.А. Куликов, К.А. Красулина, П.А. Глазкова [и др.]. - DOI: [10.25881/20728255\\_2021\\_16\\_3\\_77](https://doi.org/10.25881/20728255_2021_16_3_77) // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2021. – Т. 16, № 3. – С. 77–83.

81. Минаков О.Е. Синдром диабетической стопы / О.Е. Минаков, А.А. Андреев, А.П. Остроушко // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2017. – Т. X, № 2. – С. 165–172.
82. Мороз В.В. Острая кровопотеря: регионарный кровоток и микроциркуляция (обзор, часть II) / В.В. Мороз, И.А. Рыжков. - DOI:10.15360/1813-9779-2016-5-65-94 // Общая реаниматология. – 2016. – Т. 12, № 5. – С. 65–94.
83. Москаленко М.И. Ассоциации комбинаций полиморфизмов матриксных металлопротеиназ с развитием эссенциальной гипертензии / М.И. Москаленко. – DOI: 10.12737/article\_5922bb446cd2b0.14691350 // Вестник новых медицинских технологий : электронное издание. – 2017. – № 2. – С. 212–216. – URL: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_29749391\\_15078103.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_29749391_15078103.pdf) (дата обращения: 21.03.2022).
84. Мочула А.В. Современные скintiграфические методы оценки миокардиального кровотока и резерва / А.В. Мочула, А.Н. Мальцева, К.В. Завадовский. - DOI: 10.20538/1682-0363-2021-1-178-189 // Бюллетень сибирской медицины. – 2021. – Т. 20, № 1. – С. 178–189.
85. Муслимова Э.Ф. Ассоциация полиморфизмов генов NOS3 и ITGB3 с риском развития ишемической болезни сердца // Сибирский медицинский журнал. – 2016. – № 2. – С. 22–25.
86. Мустафаева А.Г.К. Взаимосвязь эндотелиальной дисфункции и развития осложнений метаболического синдрома // Казанский медицинский журнал. – 2018. – Т. 99, № 5. – С. 784–791. - DOI: 10.17816/KMJ2018-784.
87. Нарушение антитромботических свойств эндотелия при сахарном диабете и их коррекция пептидными препаратами / А.А. Елагина, Ю.Д. Ляшев, Е.Б. Артюшкова, А.Ю. Ляшев // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2020. – № 1 (73). – С. 156–159.

88. Нарушение целостности стопы у пациентов с сахарным диабетом (обзор литературы) / У.Ю. Эргашев, А.Т. Моминов, Н.М. Маликов [и др.] // Journal of new century innovations. – 2022. – Т. 17, № 1. – С. 7–18.

89. Наследственный дефицит фактора свертывания крови V: клинические наблюдения / Е.В. Яковлева, Н.И. Коняшина, Л.А. Горгидзе [и др.]. - DOI: 10.35754/0234-5730-2019-64-4-489-503 // Гематология и трансфузиология. – 2019. – № 4. – С. 489–503.

90. Неинвазивная оценка микроциркуляции у пациентов с поздними осложнениями сахарного диабета 2-го типа / П.В. Васильев, А.Н. Шишкин, Н.П. Ерофеев [и др.]. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2015. – Т. 14, № 14 (56). – С. 28–33.

91. Новаковская С.А. Ультраструктурные основы ремоделирования сосудов микроциркуляторного русла миокарда при гипертрофической кардиомиопатии / С.А. Новаковская, С.М. Комиссарова, Л.И. Арчакова // Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования. – Витебск : Витебский государственный медицинский университет, 2018. – С. 91–94.

92. Обзор медицинской термометрии: от создания до современного применения / И.В. Борисов, В.А. Бондарь, Д.А. Кудинов [и др.]. - DOI: 10.29234/2308-9113-2021-9-3-75-90 // Медицина. – 2021. – Т. 3. – С. 75.

93. Овчинникова О.А. Использование дыхательной пробы при анализе микроциркуляции и механизмов ее регуляции методом ЛДФ в норме и при гипоксии // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2021. – № 3 (79). – С. 108–111. – DOI: 10.19163/1994-9480-2021-3(79)-108-111.

94. Орлова С.В. Оптимизация питания и роль БАД к пище в коррекции рациона современного человека / С.В. Орлова, Е.А. Никитина. - DOI: 10.33667/2078-5631-2022-16-8-12 // Медицинский алфавит. – 2022. – № 16. – С. 8–12.

95. Особенности костного метаболизма у пациентов с диабетической нейроостеоартропатией / Е.Л. Зайцева, А.Ю. Токмакова, В.М. Жилиев [и др.]. – DOI: 10.14341/DM11272 // Сахарный диабет. – 2020. – Т. 23, № 1. – С. 12–18.

96. Оценка вовлеченности полиморфизма rs1801282 гена PPAR $\gamma$ 2 в патогенез бронхиальной астмы с ожирением у детей / Р.С. Телепнева, Г.П. Евсеева, Е.Б. Наговицына [и др.]. - DOI: 10.36604/1998-5029-2022-85-56-64 // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2022. – № 85. – С. 56–64.

97. Пальцев М.А. 4П-медицина как новая модель здравоохранения в Российской Федерации / М.А. Пальцев, Н.Н. Белушкина, Е.А. Чабан // ОРГЗДРАВ: новости, мнения, обучение. – 2015. – Т. 2, № 2. – Р. 48–54.

98. Паршиков М.В. Ортопедические аспекты классификаций синдрома диабетической стопы / М.В. Паршиков, П.С. Бардюгов, Н.В. Ярыгин. - DOI 10.18019/1028-4427-2020-26-2-173-178 // Гений ортопедии. – 2020. – Т. 26, № 2. – С. 173–178.

99. Патент № 2433783С Российская Федерация, МПКА61В5/01. Способ оценки риска синдрома диабетической стопы : № 2009145584/14 : заявл. 08.12.2009 : опубл. 20.06.2011 / Шнайдер Н.А., Петрова М.М., Курумчина О.Б. [и др.] ; заявитель Красноярский государственный медицинский университет. – 11 с.

100. Патент № 2496422С1 Российская Федерация, МПК А61В8/00. Способ прогнозирования развития диабетической остеоартропатии : № 2012120977/14 : заявл. 22.05.2012 : опубл. 27.10.13 / Куликова А.Б., Кочетова Л.В., Пахомова Р.А. ; заявитель Красноярский государственный медицинский университет. – 5 с.

101. Патент № 2683564 Российская Федерация, МПК А61В5/0265. Способ прогнозирования развития синдрома диабетической стопы : № 2018125112 : заявл. 09.07.2018 : опубл. 19.02.2019 / Троицкая Н.И., Шаповалов К.Г., Мудров В. А., Голятин Ю. А. ; заявитель Читинская государственная медицинская академия. – 8 с.

102. Патент № 2686951 Российская Федерация, МПК А61В5/0265. Способ прогнозирования развития диабетической стопы : № 2018111554/14 : заявл. 30.03.2018 : опубл. 21.03.2019 / Троицкая Н.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А., Голятин Ю.А. ; заявитель Читинская государственная медицинская академия. – 7 с.

103. Патент № 2687978С1 Российская Федерация, МПК G01N33/48. Способ прогнозирования тяжелого течения диабетической полинейропатии и развития синдрома диабетической стопы : № 2018135934 : заявл. 10.10.2018 : опубл. 17.05.19 / Каракулова Ю.В., Филимонова Т.А., Каракулов А.О. ; заявитель Пермский государственный медицинский университет. – 8 с.

104. Патоген-специфическая молекулярная визуализация и методы молекулярного тестирования в прогнозе осложненного течения синдрома диабетической стопы, риска ампутаций и выживаемости пациентов / М.А. Зоркальцев, В.Д. Завадовская, Т.В. Саприна [и др.]. – DOI: 10.20538/1682-0363-2022-3-166-180 // Бюллетень сибирской медицины. – 2022. – Т. 21, № 3. – С. 166–180.

105. Пахомя Н.С. Роль полиморфизмов некоторых генов в реализации артериальной гипертензии / Н.С. Пахомя, О.М. Урясьев, А.В. Шаханов // Земский врач. – 2014. – № 3-4 (24). – С. 21–24.

106. Перешеин А.В. Дефицит кобаламина и патогенез неврологических нарушений / А.В. Перешеин, С.В. Кузнецова, Т.Е. Потемина. - DOI: 10.20340/vmi-rvz.2021.6.PHYS.1 // Вестник медицинского института «Реавиз»: реабилитация, врач и здоровье. – 2021. – № 6 (54). – С. 21–32.

107. Показатели эндотелиальной дисфункции у больных с синдромом диабетической стопы / П.А. Герасимчук, П.В. Кисиль, В.Г. Власенко, А.В. Павлышин // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2014. – № 5-6. – С. 107–110.

108. Полиморфизм G894T гена эндотелиальной синтазы оксида азота у пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа / Э.В. Давыдчик, В.А. Снежицкий, Т.Л. Степура, Л.В. Никонова. – DOI 10.25298/2221-8785-2018-16-6-673-678 // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 16, № 6. – С. 673–678.

109. Полиморфизм rs1046495 гена GFER–новый генетический маркер предрасположенности к сахарному диабету 2-го типа / Е.Ю. Клесова, Е.А. Шкурат, Ю.Э. Азарова, А.В. Полоников. – DOI 10.47056/0365-9615-2021-172-11-627-631 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 172, № 11. – С. 627–631.

110. Полиморфизм генов фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и матриксных металлопротеиназ (ММР) при первичной лимфедеме конечностей / А.В. Шевченко, В.Ф. Прокофьев, В.И. Коненков [и др.]. – DOI 10.15789/1563-0625-POV-1913 // Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22, № 3. – С. 497–506.

111. Полиморфизмы генов ITGB3 и протромбина среди пациентов с дислипидемиями, страдающих гипертонической болезнью и ишемической болезнью сердца / Г.И. Мяндина, Т.Ю. Зотова, Л.А. Вареха, Е.Н. Касапова // Здоровье и образование в XXI веке. – 2014. – Т. 16, № 4. – С. 56–59.

112. Применение инфракрасной термографии в современной медицине (обзор литературы) / И.С. Кожевникова, М.Н. Панков, А.В. Грибанов [и др.] // Экология человека. – 2017. – № 2. – С. 39–46.

113. Применение математических моделей в практике / О.Е. Карякина, Л.К. Добродеева, Н.А. Мартынова // Экология человека. – 2012. – № 7. – С. 55–64.

114. Проблема изучения процессов микроциркуляции и реологии крови в клинике внутренних болезней / Н.С. Попельнюк, И.Л. Давыдкин, О.С. Козлова [и др.]. – DOI 10.25694/URMJ.2019.08.22 // Уральский медицинский журнал. – 2019. – № 8 (176). – С. 25–29.

115. Проничкина М.М. Капилляроскопия ногтевого ложа при микрососудистых осложнениях сахарного диабета (обзор литературы) // Вестник российских университетов. Математика. – 2017. – Т. 22, № 4. – С. 714–719.

116. Радайкина О.Г. Роль эндотелиальной дисфункции в патологии сердечно-сосудистой системы / О.Г. Радайкина, А.П. Власов, Н.А. Мышкина. – DOI: 10.23648/UMBJ.2018.32.22685 // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2018. – № 4. – С. 8–17.

117. Регионарное кровообращение DOI:и микроциркуляция / Е.Н. Чуян, И. Миронюк, М. Раваева [и др.]. - DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-4-75-86 // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20, № 4. – С. 75–86.

118. Роль «белков старости» и маркеров дисфункции эндотелия в развитии синдрома диабетической стопы / Р.И. Дамдинов, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров, Н.И. Троицкая. - DOI: 10.29413/ABS. 2021–6.3.8 // Acta biomedica scientifica. – 2021. – Т. 6, № 3. – С. 77–85.

119. Роль оксида азота в развитии диабетической ретинопатии у пациентов с синдромом диабетической стопы / О.А. Беляева, С.А. Рыков, И.В. Шаргородская [и др.]. – DOI 10.34883/PI.2021.11.3.025 // Офтальмология. Восточная Европа. – 2021. – Т. 11, № 3. – С. 261–272.

120. Роль полиморфизма гена T1565C, кодирующего интегрин бета-3 в развитии тромботических событий и его влияние на эффективность антитромбоцитарной терапии / Н.В. Изможерова, А.А. Попов, И.П. Антропова [и др.]. – DOI: 10.25557/0031-2991.2023.02.94-105 // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2023. – Т. 67, № 2. – С. 94–105.

121. Роль сахарного диабета в возникновении и развитии эндотелиальной дисфункции / Э.Б. Попыхова, Т.В. Степанова, Д.Д. Лагутина [и др.]. – DOI: 10.14341/probl12212 // Проблемы эндокринологии. – 2020. – Т. 66, № 1. – С. 47–55.

122. Рундо А.И. Современные аспекты этиологии и патогенеза синдрома диабетической стопы // Новости хирургии. – 2015. – № 1. – С. 97–104.



123. Рюткина Л.А. «Болевые» точки диабетических ангиопатий: фокус на гипертриглицеридемию и возможности фенофибрата / Л.А. Рюткина, С.А. Землянухина, Д.С. Рюткин // Фарматека для практикующих врачей. – 2016. – № 5. – С. 14–21.

124. Сагынбаева Г.А. Полиморфизм гена eNOS: распространенность и связь с заболеваниями почек / Г.А. Сагынбаева, Р.Р. Калиев // Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. – 2018. – № 9. – С. 46–50.

125. Сахарный диабет 2 типа: роль эпигенетических модификаций в патофизиологии и перспективы использования эпигенетической терапии / К.А. Айтбаев, С.К. Мамутова, И.Т. Муркамилов [и др.]. – DOI: 10.33619/2414-2948/66 // Бюллетень науки и практики. – 2021. – № 5. – С. 184–203.

126. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2018660247 Российская Федерация. Программа для расчета вероятности развития диабетической стопы у больных сахарным диабетом / Троицкая Н.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А. ; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации № 2018617957 ; дата поступления 26.07.2018 ; дата государственной регистрации в реестре программ для ЭВМ 21.08.2018. – 1 с.

127. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2020664748 Российская Федерация. Программа для прогнозирования риска развития синдрома диабетической стопы / Троицкая Н.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А. ; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации № 2020664748 ; дата поступления 10.11.2020 ; дата государственной регистрации в реестре программы для ЭВМ 18.11.2020. – 1 с.

128. Сергеев Ю.А. Применение нейросетей в медицине. Сравнение методов нейросетевого и группового анализа / Ю.А. Сергеев, Е.А. Стерлёва, Д.А. Ниязян // StudNet. – 2021. – Т. 4, № 9. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/primenenieneurosetey-v-meditsine-sravnenie-metodov-neurosetevogo-i-grupпового-analiza-patologii/viewer> (дата обращения: 23.04.2022).

129. Сергиенко В.Б. Роль позитронно-эмиссионной томографии миокарда в диагностике ишемии при гемодинамически незначимом коронарном атеросклерозе / В.Б. Сергиенко, Ф.Н. Чанахчян. - DOI: 10.26269/b9m3-r038 // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2020. – № 1. – С. 98–106.

130. Серебренников Р.В. Ремоделирование сосудистой стенки и эндотелиальная функция у пациентов с артериальной гипертензией и дефицитом массы тела / Р.В. Серебренников, И.Ф. Гришина, А.Г. Лягаева. - // Уральский медицинский журнал. – 2016. – № 11 (144). – С. 67–73.

131. Силина Е.В. Роль коллагена в механизмах заживления хронических ран при синдроме диабетической стопы / Е.В. Силина, В.А. Ступин, Р.Б. Габитов. – DOI: 10.18821/0023-2149-2018-96-2-106-115 // Клиническая медицина. – 2018. – Т. 96, № 2. – С. 106–115.

132. Системные изменения микроциркуляции при синдроме диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, Ю.А. Голятин, Р.И. Дамдинов. - DOI: 10.20333/2500136-2020-3-92-96 // Сибирское медицинское обозрение. – 2020. – № 3. – С. 92–97.

133. Совершенствование медицинской помощи пациентам сахарным диабетом на уровне ПМСП (обзор литературы) / А.С. Кайназаров, Л.К. Абдикулова, Ж.С. Сейдахмет [и др.]. – DOI: 10.53065/kaznmu.2022.97.66.080 // Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2022. – № 1. – С. 530–533.

134. Современные аспекты патоморфологии тканей стопы при синдроме диабетической нейроостеоартропатии, в том числе осложненной остеомиелитом

(обзор литературы и результаты собственных исследований) / Т.А. Ступина, И.Н. Мезенцев, М.М. Щудло [и др.]. – DOI: 10.18019/1028-4427-2022-28-2-282-288 // Гений ортопедии. – 2022. – Т. 28, № 2. – С. 282–288.

135. Современные методы исследования ангиогенеза в клинической практике / М.О. Мавликеев, А.А. Титова, Д.О. Гудз, Р.В. Деев. – DOI 10.23888/HMJ20171110-123 // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2017. – Т. 5, № 1. – С. 110–123.

136. Сорокина Ю.А. Полиморфизм гена эндотелиальной синтазы оксида азота и сахарный диабет (литературный обзор) / Ю.А. Сорокина, Л.В. Ловцова // Архив внутренней медицины. – 2014. – Т. 20, № 6. – С. 34–37.

137. Структура взаимосвязей показателей аэробной работоспособности, центральной гемодинамики, микроциркуляции и реологии крови / П.В. Михайлов, А.В. Муравьев, А.И. Осетров [и др.]. – DOI: 10.24884/1682-6655-2021-20-1-84-90 // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 1, № 20. – С. 84–90.

138. Тканевая микрогемодинамика: влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона : монография / Е.Н. Чужан, Н.С. Трибрат, М.Ю. Раваева, М.Н. Ананченко. – Симферополь : АРИАЛ, 2017. – 422 с. – ISBN 978-5-906877-74-1.

139. Токмакова А.Ю. Поражения нижних конечностей при сахарном диабете / А.Ю. Токмакова, Д.Н. Егорова, Л.П. Доронина. - DOI: 10.14341/ОМЕТ2017141-47 // Ожирение и метаболизм. – 2017. – Т. 1, № 14. – С. 41–47.

140. Транскутанная оксиметрия в динамическом наблюдении за пациентами с сахарным диабетом и критической ишемией нижних конечностей / О.Н. Бондаренко, Н.Л. Аюбова, Г.Р. Галстян [и др.] // Сахарный диабет. – 2013. – № 1. – С. 33–42.

141. Троицкая Н.И. Амплитуда эндотелиальных колебаний микрокровотока при синдроме диабетической стопы у носителей разных полиморфных маркеров

C786T гена eNOS и Lys198Asn гена END1 / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. - DOI:10.25557/2310-0435.2022.02.38-44 // Патогенез. – 2022. – Т. 20, № 2. – С. 38–44.

142. Троицкая Н.И. Анализ ассоциации полиморфизмов генов маркеров функции эндотелия и сосудисто-тромбоцитарного гемостаза с развитием синдрома диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. - DOI: 10.29413/ABS.2021-6.4.2 // Acta biomedica scientifica. – 2021. – Т. 6, № 4. – С. 18–26.

143. Троицкая Н.И. Анализ взаимосвязи полиморфизмов генов ITGB3, FV и FII с развитием синдрома диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов. – DOI: 10.29296/24999490-2023-04-08 // Молекулярная медицина. – 2023. – № 4. – С. 60–64.

144. Троицкая Н.И. Взаимосвязь полиморфизма генов синтазы оксида азота и эндотелина-1 с факторами регуляции сосудистого тонуса при синдроме диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. - DOI:10.35177/1994-5191-2021-2-28-32 // Дальневосточный медицинский журнал. – 2021. – № 2. – С. 28–32.

145. Троицкая Н.И. Возможности многослойного персептрона в комплексировании факторов риска синдрома диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. - DOI 10.47056/0365-9615-2022-173-4-422-425 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – № 4. – С. 422–425.

146. Троицкая Н.И. Генетические предикторы развития синдрома диабетической стопы у мужчин и женщин / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. – DOI 10.52485/19986173\_2021\_3\_1 // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2021. – № 3. – С. 1–7. – URL: <http://zabmedvestnik.ru/arhiv-nomerov/nomer-3-za-2021-god/geneticheskie-prediktory-razvitiya-sindroma-diabeticheskoy-stopu-u-muzhchin-i-u-zhenshhin> (дата обращения: 24.03.2024).

147. Троицкая Н.И. Изменения состояния микроциркуляции при синдроме диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов // Сибирский медицинский журнал. – 2016. – № 7. – С. 5–8.

148. Троицкая Н.И. Комплексный подход к прогнозированию развития синдрома диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. - DOI: 33029/2308-1198-2022-10-2-46-53 // Клиническая и экспериментальная хирургия. – 2022. – Т. 10, № 2. – С. 46–53.

149. Троицкая Н.И. Методы исследования состояния макро- и микрокровотока при синдроме диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов // Забайкальский медицинский вестник : электронное научное издание. – 2017. – № 4. – С. 223–230. – URL: <http://zabmedvestnik.ru/arhiv-nomerov/nomer-4-za-2017-god/metody-issledovaniya-sostojaniya-makro-i-mikrokrovotoka-pri-sindrome-diabeticheskoy-stopu> (дата обращения: 28.03.2022).

150. Троицкая Н.И. Молекулярно-генетические полиморфизмы гена C786T eNOS и Lys198Asn гена END1 / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. – DOI: 10.18705/2311-4495-2022-9-4-13-19 // Трансляционная медицина. – 2022. – Т. 9, № 4. – С. 13–19.

151. Троицкая Н.И. О взаимосвязи полиморфизмов генов VEGFA 634C>G и MMP9 8202A>G с маркерами дисфункции эндотелия и состоянием микроциркуляторного русла при сахарном диабете / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. - DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-4-29-38 // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2020. – Т. 4, № 19. – С. 29–38.

152. Троицкая Н.И. Полиморфизм C634G гена фактора роста эндотелия сосудов А у больных с диабетической стопой в Забайкальском крае / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов. - DOI: 10.24412/2687-0053-2023-3-62-65 // Медицина в Кузбассе. – 2023. – № 3. – С. 62–65.

153. Троицкая Н.И. Полиморфный локус A8202G гена матричной металлопротеиназы 9 при развитии диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г.

Шаповалов. - DOI: 10.25557/2310-0435.2023.03.28-32 // Патогенез. – 2023. – Т. 21, № 3. – С. 28–32.

154. Троицкая Н.И. Распространённость полиморфизмов генов факторов регуляции сосудистого тонуса, рецепторов тромбоцитов, ремоделирования сосудистой стенки и протромботических факторов при синдроме диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. - DOI: 10.18484/2305-0047.2021.5.549 // Новости хирургии. – 2021. – Т. 29, № 5. – С. 549–557.

155. Троицкая Н.И. Состояние микроциркуляторного русла при синдроме диабетической стопы с носительством различных вариантов генотипов полиморфизма T1565C гена ITGB3 / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. - DOI: 10.24412/2687-0053-2022-4-35-40 // Медицина в Кузбассе. – 2022. – № 4. – С. 35–40.

156. Удовиченко О.В. Диабетическая стопа / О.В. Удовиченко, Н.М. Грекова. – Москва : Практическая медицина, 2010. – 272 с. – ISBN 978-5-98811-162-7.

157. Удовиченко О.В. Роль препаратов мочевины для местного применения в профилактике поражений нижних конечностей у больных сахарным диабетом. Эффективная фармакотерапия // Эндокринология. – 2014. – № 4. – С. 4–9.

158. Уровень конечных метаболитов оксида азота у пожилых больных с гнойно-некротическими осложнениями синдрома диабетической стопы / Ю.И. Павлов, И.А. Светлакова, Е.В. Давыдова, Е.А. Чухарева // Клиническая геронтология. – 2006. – № 8. – С. 65–67.

159. Участие биохимических систем в патогенезе эндотелиальной дисфункции / С.Г. Дзугкоев, Ф.С. Дзугкоева, О.И. Маргиева [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 2. – С. 143–143.

160. Фёдорова А.П. KIR6. 2 Субъединица АТФ-чувствительного калиевого канала: физиологическое значение, генетические мутации / А.П. Фёдорова, Д.Н. Зайцев, О.В. Серебрякова. – DOI 10.52485/19986173\_2021\_3\_93 // Забайкальский

медицинский вестник : электронное научное издание. – 2021. – № 3. – С. 93–100. – URL: <http://zabmedvestnik.ru/arhiv-nomerov/nomer-3-za-2021-god/kir6-2-subedinica-atf-chuvstvitel'nogo-kalievogo-kanala-fiziologicheskoe-znachenie-geneticheskie-mutacii> (дата обращения: 28.03.2024 г.).

161. Фолатдефицитные состояния в акушерской практике и проблема их коррекции / В.О. Бицадзе, Н.В. Самбунова, Н.А. Макацария, А.Л. Мищенко. - DOI: 10.17749/2313-7347.2015.10.1.038-048 // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2016. – № 1. – С. 38–48.

162. Формализация и моделирование / С.А. Бешенков, В.Ю. Лыскова, Н.В. Матвеева [и др.] // Информатика и образование. – 1999. – № 5. – С. 11–14.

163. Хамдамов Б.З. Усовершенствованный способ улучшения показателей микроциркуляции на нижних конечностях у больных с диабетической ангиопатией / Б.З. Хамдамов, С.С. Давлатов // Журнал гуманитарных и естественных наук. – 2023. – Т. 2, № 4. – С. 154–159.

164. Характеристика микроциркуляции нижних конечностей у пациентов с осложненным синдромом диабетической стопы / С.Д. Шаповал, И.Л. Савон, Д.А. Смирнова, М.М. Софилканыч // Новости хирургии. – 2013. – Т. 21, № 3. – С. 54–60.

165. Чуян Е.Н. Биофизические методы исследования процессов микроциркуляции. Глава 3 / Е.Н. Чуян, М.Н. Ананченко, Н.С. Трибрат // Тканевая микрогемодинамика: влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона. – Симферополь : Ариал, 2017. – С. 74–134.

166. Чуянова А.А. Ассоциация полиморфизмов генов селективных и эндотелина-1 с развитием тромбоэмболии легочной артерии / А.А. Чуянова, А.В. Понасенко. - DOI: 10.20333/2500136-2018-4-5-12 // Сибирское медицинское обозрение. – 2018. – № 4. – С. 5–12.

167. Шарофова М.У. Сахарный диабет: современное состояние вопроса (часть 1) / М.У. Шарофова, Ш.С. Сагдиева, С.Д. Юсуфи. - DOI: 10.25005/2074-0581-2019-21-3-502-512 // Вестник Авиценны. – 2019. – Т. 21, № 3. – С. 502–512.

168. Шевченко Ю.Л. Стимуляция ангиогенеза эндогенными факторами роста / Ю.Л. Шевченко, Г.Г. Борщев. – DOI 10.25881/BPNMSC.2018.73.55.022 // Вестник национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2018. – Т. 13, № 3. – С. 96–102.

169. Ширинкина А.С. Генетические факторы предрасположенности к сахарному диабету 2-го типа / А.С. Ширинкина, А.Ю. Максимов. - DOI: 10.7242/2658-705X/2020.2.7 // Вестник Пермского федерального исследовательского центра. – 2020. – № 2. – С. 66–74.

170. Ширинский И.В. Плейотропные свойства PPAR- $\alpha$ : от экспериментов к клинике / И.В. Ширинский, В.С. Ширинский. - DOI: 10.15789/1563-0625-PEO-2222 // Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23, № 3. – С. 439–454.

171. Шлапакова Т.И. Активные формы кислорода: участие в клеточных процессах и развитии патологии / Т.И. Шлапакова, Р.К. Костин, Е.Е. Тягунова. - DOI: 10.31857/S013234232005022X // Биоорганическая химия. – 2020. – Т. 46, № 5. – С. 466–485.

172. Шумаков Д.В. Роль матриксной металлопротеиназы 9 в ремоделировании миокарда левого желудочка / Д.В. Шумаков, Д.И. Зыбин, М.А. Попов // Российский медицинский журнал. – 2020. – Т. 28, № 10. – С. 17–19.

173. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным регистра сахарного диабета на 01.01. 2021 / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, О.К. Викулова [и др.] // Сахарный диабет. – 2021. – Т. 24, № 3. – С. 204–221.

174. Юлдашева Г.Б. Макроангиопатия при сахарном диабете // Экономика и социум. – 2021. – Т.81, № 2-2. – С. 379–383.

175. A comprehensive overview of coagulation factor V and congenital factor V deficiency / S. Tabibian, Y. Shiravand, M. Shams [et al.]. – DOI: 10.1055/s-0039-1687906 // Seminars in thrombosis and hemostasis. – 2019. – Vol. 45, № 5. – P. 523–543.



176. A functional single nucleotide polymorphism -1562C>T in the matrix metalloproteinase-9 promoter is associated with type 2 diabetes and diabetic foot ulcers / K. Singh, N.K. Agrawal, S.K. Gupta, K. Singh. – DOI: 10.1177/1534734613493289 // Int. J. Low. Extrem. Wounds. – 2013. – Vol. 12, № 3. – P. 199–204.

177. A retrospective study assessing the risk factors of type 2 diabetes mellitus linked to diabetic foot ulcer incidence in Jiaying, China / Q. Zhou, M. Mao, Y. Shao [et al.]. – DOI: 10.21203/rs.3.rs-924121/v1. – URL: <https://www.researchsquare.com/article/rs-924121/v1> (date of the application: 28.02.2024).

178. A study of the effect of gene polymorphism of xenobiotic biotransformation system, matrix metalloproteinases and interleukins on the development and course of distal neuropathy and diabetic foot syndrome in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus / A.S. Denisiukova, L.A. Ivanova, I.I. Pavlyuchenko, V.I. Popov. - DOI: 10.55531/2072-2354.2023.23.1.57-64 // Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya. – 2023. – Vol. 23, № 1. – P. 57–64.

179. Activation of the sigma-1 receptor chaperone alleviates symptoms of Wolfram syndrome in preclinical models / L. Crouzier, A. Danese, Y. Yasui [et al.]. - DOI: 10.1126/scitranslmed.abh3763 // Science translational medicine. – 2022. – Vol. 14, № 631. – P. eabh3763.

180. Adaptation to intermittent hypoxia: influence on the state of endothelial function / V.P. Katuntsev, M.V. Baranov, S.Y. Zakharov [et al.] // Human Physiology. – 2021. – Vol. 47, № 3. – P. 306–312.

181. Advanced glycation end products in the skin: Molecular mechanisms, methods of measurement, and inhibitory pathways / C.Y. Chen, J.Q. Zhang, L. Li [et al.]. – DOI: 10.3389/fmed.2022.837222 // Frontiers in Medicine. – 2022. – Vol. 9. – P. 837222.

182. Ahluwalia B. Positron emission tomography imaging systems and applications // Tomographic Methods in Nuclear Medicine. – CRC Press, 2020. – P. 105–122. – DOI: 10.1201/9781003068488.

183. Aldose reductase: a cause and a potential target for the treatment of diabetic complications / S. Thakur, S.K. Gupta, V. Ali [et al.] // Archives of Pharmacal Research. – 2021. – Vol. 44. – P. 655–667.

184. Antonova N. Hemorheological and microvascular disturbances in patients with type 2 diabetes mellitus / N. Antonova, I. Velcheva, V. Paskova. - DOI: 10.3233/CH-221393 // Clinical Hemorheology and Microcirculation. – 2022. – Vol. 81, № 4. – P. 325–341.

185. Association between CDKAL1, HHEX, CDKN2A/2B and IGF2BP2 gene polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes in Uttarakhand, India / A.K. Verma, Y. Goyal, D. Bhatt [et al.]. – DOI: 10.2147/DMSO.S284998 // Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity. – 2021. – Vol. 14. – P. 23–36.

186. Association between single nucleotide polymorphisms in CDKAL1 and HHEX and type 2 diabetes in Chinese population / C. Li, K. Shen, M. Yang [et al.]. - DOI: 10.2147/DMSO.S288587 // Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity. – 2021. – Vol. 13. – P. 5113–5123.

187. Association of CDKN2A/B gene polymorphisms (rs10811661 and rs2383208) with type 2 diabetes mellitus in a sample of Iraqi population / H.K. Fadheel, A.N. Kaftan, F.H. Naser [et al.] // Egyptian Journal of Medical Human Genetics. – 2022. – Vol. 23, № 1. – P. 64.

188. Association of ELMO1 gene polymorphism and diabetic nephropathy among Egyptian patients with type 2 diabetes mellitus / N.M. Bayoumy, M.M. El-Shabrawi, O.F. Leheta [et al.]. - DOI: 10.1002/dmrr.3299 // Diabetes/metabolism research and reviews. – 2020. – Vol. 36, № 5. – e3299.

189. Association of glycemic indices (hyperglycemia, glucose variability, and hypoglycemia) with oxidative stress and diabetic complications / E. Papachristoforou, V.

Lambadiari, E. Maratou, K. Makrilakis. – DOI: 10.1155/2020/74897952020 // Journal of diabetes research. – 2020. – Vol. 2020. – P. 7489795.

190. Association of MCP-1 rs1024611 polymorphism with diabetic foot ulcers / N. Su, N. Zhao, G. Wang [et al.]. – DOI: 10.1097/MD.00000000000011232 // Medicine. – 2018. – Vol. 97, № 28. – e11232.

191. Associations between triglyceride-glucose index and micro- and macro-angiopathies in type 2 diabetes mellitus / H. Chiu, H. Tsai, J. Huang [et al.]. – DOI: 10.3390/nu12020328 // Nutrients. – 2020. – Vol. 12, № 2. – P. 1–12.

192. Bansod H. A Review on Relationship Between Charcot Neuroarthropathy and Diabetic Patients / H. Bansod, A. Wanjari, O. Dumbhare. - DOI: 10.7759/cureus.50988 // Cureus. – 2023. – Vol. 15, № 12. – P. 1–11.

193. Bereda G. Diabetic foot ulcer: an overview, risk factors, pathophysiology, and treatment // Curr Res Diabetes Obes J. – 2022. – Vol. 15, № 4. – P. 192– 99. - DOI:10.19080/CRDOJ.2022.15.555920.

194. Bernardi L. Measurement of skin blood flow by laser-Doppler flowmetry / L. Bernardi, E. Berardesca. - DOI:10.1201/9781003068969-3 // Bioengineering of the Skin. – CRC Press, 2020. – P. 13–28.

195. Cao H.H. Association between intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1) polymorphisms and susceptibility to diabetic foot: a case–control study / H.H. Cao, J.K. Yang, L. Wang. – DOI: 10.1097/MD.00000000000018052 // Medicine. – 2020. – Vol. 99 (11). – e18052.

196. Chang M. Strategy for treatment of infected diabetic foot ulcers / M. Chang, T.T. Nguyen. - DOI: 10.1021/acs.accounts.0c00864 // Accounts of chemical research. – 2021. – Vol. 54, № 5. – P. 1080–1093.

197. Chinnaraj M. Structure of coagulation factor II: molecular mechanism of thrombin generation and development of next-generation anticoagulants / M. Chinnaraj, W. Planer, N. Pozzi. – DOI: 10.3389/fmed.2018.00281 // Frontiers in Medicine. – 2018. – Vol. 5. – P. 281.

198. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span / D. Furman, J. Campisi, E. Verdin [et al.]. – DOI: 10.1038/s41591-019-0675-0 // *Nature Medicine*. – 2019. – Vol. 25. – P. 1822–1832.
199. Cole J.B. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications / J.B. Cole, J.C. Florez. - DOI: 10.1038/s41581-020-0278-5 // *Nature reviews nephrology*. – 2020. – Vol. 16, № 7. – P. 377–390.
200. Comparison of transcutaneous oximetry with symptoms and arteriography in thoracic outlet syndrome / P. Abraham, J. Hersant, P. Ramondou [et al.]. - DOI: 10.3233/CH-190751 // *Clinical hemorheology and microcirculation*. – 2020. – Vol. 75, № 1. – P. 107–119.
201. Comparison of transtibial amputations in diabetic patients with and without end-stage renal disease / D.K. Wukich, J. Ahn, K.M. Raspovic [et al.]. – DOI: 10.1177/1071100716688073 // *Foot Ankle Int*. – 2017. – Vol. 38, № 4. – P. 388–396.
202. Current molecular aspects in the development and treatment of diabetes / S. Álvarez-Almazán, J.G. Filisola-Villaseñor, D. Alemán-González-Duhart [et al.]. - DOI: 10.1007/s13105-019-00717-0 // *Journal of physiology and biochemistry*. – 2020. – Vol. 76, № 1. – P. 13–35.
203. Cutolo M. How to perform and interpret capillaroscopy / M. Cutolo, A. Sulli, V. Smith. – DOI: 10.1016/j.berh.2013.03.001 // *Best practice & research clinical rheumatology*. – 2013. – Vol. 27, № 2. – P. 237–248.
204. Dadabaev O.T. Prognostic significance of VEGFA and IL6 gene polymorphism in diabetic foot syndrome / O.T. Dadabaev, V.A. Aleinik, E.A. Vasilevsky. – DOI: 10.17605/OSF.IO/Z3RH5 // *Open Access Repository*. – 2022. – Vol. 8, № 11. – P. 279–285.
205. Deficiency of electron transport chain in human skeletal muscle mitochondria in type 2 diabetes mellitus and obesity / V.B. Ritov, E.V. Menshikova, K. Azuma [et al.]. – DOI: 10.1152/ajpendo.00317.2009 // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. – 2010. – Vol. 298, № 1. – P. E49–E58.

206. Delayed diagnosis of Charcot foot: a systematic review / G.S. Korst, H.T. Ratliff, J. Torian [et al.] // *The Journal of Foot and Ankle Surgery*. – 2022. – Vol. 61, № 5. – P. 1109–1113.
207. Determinants of testosterone levels in human male obesity / M. Bekaert, Y. Van Nieuwenhove, P. Calders [et al.]. – DOI: 10.1007/s12020-015-0563-4 // *Endocrine*. – 2015. – Vol. 50, № 1. – P. 202–211.
208. Determination of transcutaneous oxygen tension for evaluating the degree of ischemia in patients with diabetic foot syndrome / I.Y. Dzubanovskyi, R.Y. Antoschuk, S.S. Kurach, V.A. Tanovetskyi. - DOI:10.12775/JEHS.2020.10.08.066 // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2020. – Vol. 10, № 8. – P. 542–548.
209. Di Meo S. Evolution of the knowledge of free radicals and other oxidants / S. Di Meo, P. Venditti. – DOI: 10.1155/2020/9829176 // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 9829176.
210. Diabetes Mellitus: insights from epidemiology, biochemistry, risk factors, diagnosis, complications and comprehensive management / S. Alam, M.K. Hasan, S. Neaz [et al.]. - DOI:10.3390/diabetology2020004 // *Diabetology*. – 2021. – Vol. 2, № 2. – P. 36–50.
211. Diabetic foot ulcers: Classification, risk factors and management / X. Wang, C. X. Yuan, B. Xu, Z. Yu. - DOI: 10.4239/wjd.v13.i12.1049 // *World Journal of Diabetes*. – 2022. – Vol. 13, № 12. – P. 1049.
212. Diabetic retinopathy and vascular endothelial growth factor gene insertion/deletion polymorphism / S.Z. Khan, N. Ajmal, R. Shaikh. - DOI: 10.1016/j.jcjd.2019.08.005// *Canadian Journal of Diabetes*. – 2020. – Vol. 44, № 3. – P. 287–291.
213. Educating patients of diabetes mellitus for diabetic foot care / S. Singh, S. Jajoo, S. Shukla, S. Acharya. - DOI: 10.4103/jfmpe.jfmpe\_861\_19 // *Journal of family medicine and primary care*. – 2020. – Vol. 9, № 1. – P. 367–373.

214. Effects of hyperglycemia and diabetes mellitus on coagulation and hemostasis / X. Li, N.C. Weber, D.M. Cohn [et al.]. - DOI: 10.3390/jcm10112419 // *Journal of clinical medicine*. – 2021. – Vol. 10, № 11. – P. 2419.
215. Elevated myocardial fructose and sorbitol levels are associated with diastolic dysfunction in diabetic patients, and cardiomyocyte lipid inclusions in vitro Daniels, / L.J. Annandale, M. Koutsifeli, P. Li [et al.]. - DOI: 10.1038/s41387-021-00150-7 // *Nutrition & Diabetes*. – 2021. – Vol. 11, № 1. – P. 8.
216. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: new insights / M. Dubsky, J. Veleba, D. Sojakova [et al.]. - DOI: 10.3390/ijms241310705 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, № 13. – P. 10705.
217. Endothelial dysfunction, inflammation and coronary artery disease: potential biomarkers and promising therapeutical approaches / D.J. Medina-Leyte, O. Zepeda-García, M. Domínguez-Pérez [et al.]. - DOI: 10.3390/ijms22083850 // *International journal of molecular sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 8. – P. 3850.
218. Etiology, epidemiology, and disparities in the burden of diabetic foot ulcers / K. McDermott, M. Fang, A.J. Boulton [et al.]. - DOI: 10.2337/dci22-0043 // *Diabetes Care*. – 2023. – Vol. 46, № 1. – P. 209–221.
219. Expression of monocyte chemotactic protein 2 and tumor necrosis factor alpha in human normal endometrium and endometriotic tissues / T. Aksak, D. Gümürdülü, M. T. Çetin, S. Polat. - DOI: 10.1016/j.jogoh.2020.101971 // *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*. – 2021. – Vol. 50, № 5. – P. 101971.
220. Faraz A. Foot pressure abnormalities, radiographic, and Charcot changes in the diabetic foot / A. Faraz, H. Ashraf, S. Khalid, R. Fatima // *Diabetic Foot Ulcer: An Update* / eds. M. Zubair [et al.]. – Springer, Singapore, 2021. – P. 121–134.
221. Ferozepurwalla Z. *Molecular and Cellular Mechanisms of Angiogenesis* / Z. Ferozepurwalla, J. Merzah, L. Thielemans [et al.]. – DOI: 10.1007/978-3-030-24219-0\_18 // *Heart of the Matter*. – Springer, Cham, 2019. – P. 219–226.

222. Forouhi N.G. Epidemiology of diabetes / N.G. Forouhi, N.J. Wareham // *Medicine*. – 2022. – Vol. 50, № 10. – P. 638–643.
223. Genetic polymorphism c.1562C>T of the MMP-9 is associated with macroangiopathy in type 2 diabetes mellitus / Y. Wang, Y. Su, Y. Xu [et al.]. – DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.11.012 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – Vol. 391, № 1. – P. 113–117.
224. Genetic polymorphism of the Nrf2 promoter region (rs35652124) is associated with the risk of diabetic foot ulcers / R. Teena, U. Dhamodharan, D. Ali [et al.]. – DOI: 10.1155/2020/9825028 // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 9825028.
225. Genetic polymorphisms and the risk of diabetic foot: a systematic review and meta-analyses / J. Zhao, L.X. Zhang, Y.T. Wang [et al.]. - DOI: 10.1177/1534734620977599 // *The International Journal of Lower Extremity Wounds*. – 2022. – Vol. 21, № 4. – P. 574–587.
226. Genetic risk score (GRS) constructed from polymorphisms in the PON1, IL-6, ITGB3, and ALDH2 genes is associated with the risk of coronary artery disease in Pakistani subjects / N.A. Shabana, S. Ashiq, A. Ijaz [et al.]. – DOI: 10.1186/s12944-018-0874-6 // *Lipids. Health. Dis.* – 2018. – Vol. 17, № 1. – P. 224.
227. Glanzmann thrombasthenia in Pakistani patients: identification of 7 novel pathogenic variants in the fibrinogen receptor  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 / M.Y.J. Siddiqi, D. Boeckelmann, A. Naz [et al.]. - DOI: 10.3390/cells12020213 // *Cells*. – 2023. – Vol. 12, № 2. – P. 213.
228. Gluba-Brzózka A. Dyslipidemia and diabetes / A. Gluba-Brzózka, J. Rysz, B. Franczyk, M. Banach // *Diabetes and Kidney Disease*. – Springer, Cham, 2022. – P. 341–360.
229. Grandl G. Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic syndrome / G. Grandl, C. Wolfrum. – DOI: 10.1007/s00281-017-0666-5 // *Semin Immunopathol.* – 2018. – Vol. 40, № 2. – P. 215–224.

230. Grodzinsky E. Thermoregulation of the human body / E. Grodzinsky, M. Sund Levander // *Understanding Fever and Body Temperature: A Cross-disciplinary Approach to Clinical Practice*. – 2020. – P. 49–65.

231. Hashem A.M. Effect of endothelin-1, Vimentin and some biochemical variables on men with type 2 diabetes mellitus, diabetic patients with hypertension, and diabetic patients with renal impairment / A.M. Hashem, A.M.H. Majeed, O.R. Hameed // *Samarra Journal of Pure and Applied Science*. – 2022. – Vol. 4, № 3. – P. 61–78.

232. Hazari A. Pathomechanics of Diabetic Foot Syndrome / A. Hazari, G.A. Maiya // *Clinical Biomechanics and its Implications on Diabetic Foot*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 23–31.

233. Hazari A. Epidemiology and current status of diabetes mellitus and diabetic foot syndrome / Hazari A., G. A. Maiya. – DOI: 10.1007/978-981-15-3681-6\_2 // *Clinical Biomechanics and its Implications on Diabetic Foot*. – 2020. – P. 13–22.

234. He F. NRF2, a transcription factor for stress response and beyond / F. He, X. Ru, T. Wen. - DOI: 10.3390/ijms21134777 // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21, № 13. – P. 4777.

235. Hirase T. Endothelial dysfunction as a cellular mechanism for vascular failure / T. Hirase, K. Node. - DOI: 10.1152/ajpheart.00325.2011 // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2012. – Vol. 302, № 3. – P. H499-H505.

236. Homocysteine and diabetes: Role in macrovascular and microvascular complications / E. Muzurović, I. Kraljević, M. Solak [et al.]. – DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2020.107834 // *Journal of Diabetes and its Complications*. – 2021. – Vol. 35, № 3. – P. 107834.

237. Hu S. Photoacoustic imaging and characterization of the microvasculature / S. Hu, L.V. Wang // *Journal of biomedical optics*. – 2010. – Vol. 15, № 1. – P. 011101.

238. Hu Y.J. Single nucleotide variations in the development of diabetic foot ulcer: A narrative review / Y.J. Hu, C.S. Song, N. Jiang. - DOI:



10.4239/wjd.v13.i12.1140 // World Journal of Diabetes. – 2022. – Vol. 13, № 12. – P. 1140.

239. Hyperhomocysteinemia: its impact on cardiovascular disease and atherosclerosis / I.A. Jalal, A. Elkhoely, S.K. Mohamed, A.A. Ahmed // Bulletin of Pharmaceutical Sciences Assiut University. – 2023. – Vol. 46, № 2. – P. 1407–1427.

240. Hyperuricemia-induced endothelial insulin resistance: the nitric oxide connection / Z. Bahadoran, P. Mirmiran, K. Kashfi, A. Ghasemi // Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. – 2022. – Vol. 474, № 1. – P. 83–98.

241. Igari K. Quantitative evaluation of microvascular dysfunction in peripheral neuropathy with diabetes by indocyanine green angiography / K. Igari, T. Kudo, H. Uchiyama [et al.]. – DOI 10.1016/j.diabres.2014.01.022 // Diabetes research and clinical practice. – 2014. – Vol. 104, № 1. – P.121–125.

242. Ighodaro O.M. Vascular complications in diabetes mellitus / O.M. Ighodaro, A.M. Adeosun. – DOI 10.31031/GJEM.2017.01.000506 // Glob. J. Endocrinol. Metab. – 2017. – Vol. 1, № 2. – P. 1–3.

243. Increased endothelin-1 levels in coronary artery disease with diabetes mellitus in an Indonesian population / M.P. Inggriani, A. Musthafa, I. Puspitawati [et al.]. – DOI: 10.1139/cjpp-2022-0011 // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. – 2022. – Vol. 100, № 12. – P. 1097–1105.

244. Inflammatory mechanisms contributing to endothelial dysfunction / P. Theofilis, M. Sagris, E. Oikonomou [et al.]. – DOI 10.3390/biomedicines9070781 // Biomedicines. – 2021. – Vol. 9, № 7. – P. 781.

245. Influence of Lys198Asn polymorphism of endothelin-1 gene on ischemic atherothrombotic stroke characteristics / T.B. Oleshko, I.S. Chaika, T.M. Oleshko, V.Y. Harbuzova // Wiadomości Lekarskie. – 2020. – Vol. LXXIII (4). – P. 657–661.

246. Inhibition of insulin degrading enzyme to control diabetes mellitus and its applications on some other chronic disease: a critical review / M.S. Azam, M.

Wahiduzzaman, M. Reyad-ul-Ferdous [et al.]. - DOI: 10.1007/s11095-022-03237-7 // Pharmaceutical research. – 2022. – Vol. 39, № 4. – P. 611–629.

247. Insights into the multifactorial causation of obesity by integrated genetic and epigenetic analysis / S. Diels, W. Vanden Berghe, W. Van Hul. – DOI 10.1111/obr.13019 // Obesity Reviews. – 2020. – Vol. 21, № 7. – e13019.

248. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas 10th Edition. 2021. – URL: <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/> (date of the application: 13.02.2024).

249. Joshua A.M. Peripheral Nerve Disorders / A.M. Joshua, Z. Misri // Physiotherapy for Adult Neurological Conditions. – Singapore : Springer Nature Singapore, 2022. – P. 621–729.

250. Karamitri A. Melatonin in type 2 diabetes mellitus and obesity / A. Karamitri, R. Jockers // Nature Reviews Endocrinology. – 2019. – Vol. 15, № 2. – P. 105–125.

251. Karunakaran V. Monogenic diabetes due to ABCC8/KCNJ11 mutation: case study and review of literature / V. Karunakaran, C. Wei, G. Bano. - DOI: 10.37191/Mapsci-2582-7960-1(1)-006 // Journal of Endocrinology and Metabolism Research. – 2020. – Vol. 1, № 1. – P. 1–16.

252. Khalid M. Advanced glycation end products and diabetes mellitus: Mechanisms and perspectives / M. Khalid, G. Petroianu, A. Adem. - DOI:10.3390/biom12040542 // Biomolecules. – 2022. – Vol. 12, № 4. – P. 542.

253. Kim J. The pathophysiology of diabetic foot: a narrative review // Journal of Yeungnam Medical Science. – 2023. – Vol. 40, № 4. – P. 328. - DOI: 10.12701/jyms.2023.00731.

254. Krentz N.A.J. Insights into pancreatic islet cell dysfunction from type 2 diabetes mellitus genetics / N.A.J. Krentz, A.L. Gloyn. - DOI: 10.1038/s41574-020-0325-0 // Nature Reviews Endocrinology. – 2020. – Vol. 16, № 4. – P. 202–212.

255. Kumar M. Hydrogen sulfide in physiological and pathological mechanisms in brain / M. Kumar, R. Sandhir. - DOI: 10.2174/1871527317666180605072018 // CNS

& Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders). – 2018. – Vol. 17, № 9. – P. 654–670.

256. Laronha H. Structure and function of human matrix metalloproteinases / H. Laronha, J. Caldeira. - DOI: 10.3390/cells9051076 // Cells. – 2020. – Vol. 9, № 5. – P. 1076.

257. Leclech C. The basement membrane as a structured surface–role in vascular health and disease / C. Leclech, C. F. Natale, A. I. Barakat. - DOI: 10.1242/jcs.239889 // Journal of cell science. – 2020. – Vol. 133, № 18. – P. jcs239889.

258. Li X. Association between VEGF genetic variants and diabetic foot ulcer in Chinese Han population / X. Li, Y. Lu, P. Wei. – DOI 10.1097/MD.00000000000010672 // Medicine (Baltimore). – 2018. – Vol. 97, № 20. – e10672.

259. Li X. The association between MCP-1, VEGF polymorphisms and their serum levels in patients with diabetic foot ulcer / X. Li. – DOI 10.1097 / MD.00000000000010959 // Medicine (Baltimore). – 2018. – Vol. 97, № 24. – e10959.

260. Lichota A. Factors affecting the formation and treatment of thrombosis by natural and synthetic compounds / A. Lichota, E. M. Szewczyk, K. Gwozdziński. - DOI: 10.3390/ijms21217975 // International journal of molecular sciences. – 2020. – Vol. 21, № 21. – P. 7975.

261. Magnussen A.L. Vascular normalisation as the stepping stone into tumour microenvironment transformation / A.L. Magnussen, I.G. Mills. - DOI: 10.1038/s41416-021-01330-z // British journal of cancer. – 2021. – Vol. 125, № 3. – P. 324–336.

262. Maranta F. Glycaemic control and vascular complications in diabetes mellitus type 2 / F. Maranta, L. Cianfanelli, D. Cianflone. - DOI: 10.1007/5584\_2020\_514 // Diabetes: from Research to Clinical Practice. – 2021. – Vol. 4. – P. 129–152.

263. Maruhashi T. Pathophysiological association between diabetes mellitus and endothelial dysfunction / T. Maruhashi, Y. Higashi. - DOI: 10.3390/antiox10081306 // Antioxidants. – 2021. – Vol. 10, № 8. – P. 1306.

264. Matrix metalloproteinase 9 (MMP9) in wound healing of diabetic foot ulcer: Molecular target and structure-based drug design / M. Hariono, S.H. Yuliani, E.P. Istyastono [et al.]. - DOI:10.1016/j.wndm.2018.05.003 // Wound Medicine. – 2019. – Vol. 22. – P. 1–13.

265. Mechanisms involved in the development and healing of diabetic foot ulceration / T. Dinh, F. Tecilazich, A. Kafanas [et al.]. – DOI 10.2337/db12-0227 // Diabetes. – 2012. – Vol. 61, № 11. – C. 2937–2947.

266. Mechanisms of diabetic foot ulceration: a review / H. Deng, B. Li, Q. Shen [et al.]. - DOI: 10.1111/1753-0407.13372 // Journal of Diabetes. – 2023. – Vol. 15, № 4. – P. 299–312.

267. Metabolic dysregulation and neurovascular dysfunction in diabetic retinopathy / T. Yumnamcha, M. Guerra, L.P. Singh, A.S. Ibrahim. - DOI: 10.3390/antiox9121244 // Antioxidants. – 2020. – Vol. 9, № 12. – P. 1244.

268. Miranda-Vilela A.L. Role of polymorphisms in factor V (FV Leiden), prothrombin, plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1), methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and cystathionine-synthase (CBS) genes as risk factors for thrombophilias // Mini Rev. Med. Chem. – 2012. – Vol. 12. – P. 997–1006. - DOI: 10.2174/138955712802762338.

269. Mohammed S.I. Genetic polymorphisms associated with diabetic foot ulcer: A review article / S.I. Mohammed, A.L. Jasim. - DOI: [https://doi.org/10.56499/jppres23.1790\\_12.2.348](https://doi.org/10.56499/jppres23.1790_12.2.348) // Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2020. – Vol. 6, № 4. – P. 298–305.

270. Molecular basis of rare congenital bleeding disorders / A. Dorgalaleh, M. Bahraini, M. Shams [et al.]. - DOI: 10.1016/j.blre.2022.101029 // Blood reviews. – 2023. – Vol. 59. – P. 101029.

271. Molecular pharmacology of VEGF-A isoforms: binding and signalling at VEGFR2 / C.J. Peach, V.W. Mignone, M.A. Arruda [et al.]. – DOI 10.3390/ijms19041264 // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – Vol. 19, № 4. – P. 1264.

272. Molecular pharmacology of VEGF-A isoforms: binding and signalling at VEGFR2 / C.J. Peach, V.W. Mignone, M.A. Arruda [et al.]. – DOI 10.3390/ijms19041264 // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, № 4. – P. 1264.

273. Moll S. Homocysteine and MTHFR Mutations / S. Moll, E.A. Varga. - DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013311 // *Circulation.* – 2015. – Vol. 132. – P. 6–9.

274. Muinovna K.F. Nonspecific and specific factors of bronchopulmonary tissue in inflammatory pathology / K.F. Muinovna, I.J. Mardonovich // *Journal of Biomedicine and Practice.* – 2023. – Vol. 8, № 2. – P. 143 – 153.

275. Mukhtar Y. A modern overview on diabetes mellitus: a chronic endocrine disorder / Y. Mukhtar, A. Galalain, U. Yunusa. - DOI: <https://doi.org/10.47672/ejb.409> // *European Journal of Biology.* – 2020. – Vol. 5, № 2. – P. 1–14.

276. Mukwaya A. Relapse of pathological angiogenesis: functional role of the basement membrane and potential treatment strategies / A. Mukwaya, L. Jensen, N. Lagali. - DOI: 10.1038/s12276-021-00566-2 // *Experimental & Molecular Medicine.* – 2021. – Vol. 53, № 2. – P. 189–201.

277. New insights into profibrotic myofibroblast formation in systemic sclerosis: when the vascular wall becomes the enemy / E. Romano, I. Rosa, B.S. Fioretto [et al.]. - DOI: 10.3390/life11070610 // *Life.* – 2021. – Vol. 11, № 7. – P. 610.

278. New methods to study the microcirculation / D. Rizzoni, C. Agabiti Rosei, De C. Ciuceis [et al.]. - DOI: 10.1093/ajh/hpx211 // *American Journal of Hypertension.* – 2018. – Vol. 31, № 3. – P. 265–273.

279. Nikolaev G. Membrane melatonin receptors activated cell signaling in physiology and disease / G. Nikolaev, R. Robeva, R. Konakchieva. - DOI: 10.3390/ijms23010471 // *International journal of molecular sciences.* – 2021. – Vol. 23, № 1. – P. 471.

280. Nitric oxide and endothelial dysfunction / A.R. Cyr, L.V. Huckaby, S.S. Shiva, B.S. Zuckerbraun. - DOI: 10.1016/j.ccc.2019.12.009 // *Critical care clinics.* – 2020. – Vol. 36, № 2. – P. 307–321.

281. Non-invasive optical methods to assess tissue perfusion in patients with peripheral arterial disease and diabetes mellitus-a scoping review and discussion / M. Ahmad, K. Patel, A.H. Davies, J. Shalhoub. – DOI: 10.1016/j.jvsvi.2023.100034 // *JVS-Vascular Insights*. – 2023. – Vol. 2. – P. 100034.

282. Obesity and obesity-related diseases as a new clinical features in 3q27.3 microdeletion syndrome involving adipoq gene: A case study / B.D. De, R. Novizio, E. Scarano [et al.]. – DOI: 10.1530/endoabs.81.p313 // *Endocrine Abstracts*. – *Bioscientifica*. – 2023. – Vol. 90. – P. 323 – 334.

283. Oh J. Clinical spectrum and diagnosis of diabetic neuropathies // *The Korean Journal of Internal Medicine*. – 2020. – Vol. 35, № 5. – P. 1059. - DOI: 10.3904/kjim.2020.202.

284. Oxidative stress and antioxidants in diabetes mellitus / M. Ghasemi-Dehnoo, H. Amini-Khoei, Z. Lorigooini, M. Rafieian-Kopaei. - DOI:10.4103/1995-7645.291036 // *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. – 2020. – Vol. 13, № 10. – P. 431–438.

285. Pathogenesis of distal symmetrical polyneuropathy in diabetes / S. Smith, P. Normahani, T. Lane [et al.]. - DOI: 10.3390/life12071074 // *Life*. – 2022. – Vol. 12, № 7. – P. 1074.

286. Pathophysiology of Angiogenesis and Its Role in Vascular Disease / N.K.P. Wong, E.L. Solly, C.A. Bursill [et al.] // *Mechanisms of Vascular Disease: A Textbook for Vascular Specialists*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 89–116.

287. Paul S. Molecular complexities underlying the vascular complications of diabetes mellitus–A comprehensive review / S. Paul, A. Ali, R. Katare. - DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2020.107613 // *Journal of Diabetes and its Complications*. – 2020. – Vol. 34, № 8. – P. 107613.

288. Podluzhnyi S.G. Effect of polymorphism T786C of NOS3 gene on levels of nitric oxide metabolites among patients with paroxysmal atrial fibrillation on the background of coronary heart disease combined with hypertension // 1000 kopii. – 2020. – P. 11.

289. Possibilities of automated image processing at optical capillaroscopy / A. Kovalova, N. Shushliapina, O. Avrunin [et al.]. - DOI:10.1117/12.2569772 // *Optical Fibers and Their Applications*. – 2020. – Vol. 11456. – P. 82–87.
290. Pradeepa R. Epidemiology of type 2 diabetes in India / R. Pradeepa, V. Mohan. - DOI: 10.4103/ijo.IJO\_1627\_21 // *Indian journal of ophthalmology*. – 2021. – Vol. 69, № 11. – P. 2932–2938.
291. Recent advances in blood rheology: A review / A.N. Beris, J.S. Horner, S. Jariwala [et al.]. - DOI: 10.1039/d1sm01212f // *Soft Matter*. – 2021. – Vol. 17, № 47. – P. 10591–10613.
292. Reckelhoff J. Sex Differences in regulation of blood pressure. Sex-specific analysis of cardiovascular function / J. Reckelhoff. – DOI 10.1007/978-3-319-77 932-4\_9 // *Adv Exp Med Biol*. – 2018. – Vol. 1065. – P. 139–151.
293. Regufe V.M.G. Metabolic syndrome in type 2 diabetic patients: A review of current evidence / V.M.G. Regufe, C.M.C.B. Pinto, P.M. Perez. - DOI: 10.1097/j.pbj.000000000000101 // *Porto biomedical journal*. – 2020. – Vol. 5, № 6. – P. e101.
294. Remnants of the triglyceride-rich lipoproteins, diabetes, and cardiovascular disease / A. Chait, H.N. Ginsberg, T. Vaisar [et al.]. - DOI: 10.2337/dbi19-0007 // *Diabetes*. – 2020. – Vol. 69 (4). – P. 508–516.
295. Role of endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the link between inflammation and hydrogen sulfide / H.J. Sun, Z.Y. Wu, X.W. Nie, J.S. Bian. - DOI: 10.3389/fphar.2019.01568 // *Frontiers in pharmacology*. – 2020. – Vol. 10. – P. 1568.
296. Rossboth S. Risk factors for diabetic foot complications in type 2 diabetes – A systematic review / S. Rossboth, M. Lechleitner, W. Oberaigner. - DOI: 10.1002/edm2.175 // *Endocrinology, Diabetes & Metabolism*. – 2021. – Vol. 4, № 1. – P. e00175.
297. Roszinski S. Transcutaneous pO<sub>2</sub> and pCO<sub>2</sub> measurements // *Bioengineering of the Skin*. – CRC Press, 2020. – P. 95–103. - ISBN 9781003068969.

298. Roy S. Retinal capillary basement membrane thickening: Role in the pathogenesis of diabetic retinopathy / S. Roy, D. Kim. - DOI: 10.1016/j.preteyeres.2020.100903 // Progress in Retinal and Eye Research. – 2021. – Vol. 82. – P. 100903.

299. Ruan H. Adiponectin signaling and function in insulin target tissues / H. Ruan, L. Q. Dong. – DOI: 10.1093/jmcb/mjw014 // J. Mol. Cell. Biol. – 2016. – Vol. 8, № 2. – P. 101–109.

300. Samsu N. Diabetic nephropathy: challenges in pathogenesis, diagnosis, and treatment / N. Samsu. – DOI: 10.1155/2021/1497449 // BioMed research international. – 2021. – Vol. 2021. – P. 1497449.

301. Schneider D.J. Diabetes and thrombosis // Diabetes and cardiovascular disease. – Cham : Springer International Publishing, 2023. – P. 99–127. – DOI: 10.1007/978-3-031-13177-6.

302. Several type 2 diabetes-associated variants in genes annotated to WNT signaling interact with dietary fiber in relation to incidence of type 2 diabetes / G. Hindy, I.G. Mollet, G. Rukh [et al.]. – DOI 10.1186/s12263-016-05 // Genes. Nutr. – 2016. – Vol. 11. – P. 6.

303. Shadmanov A.K. Morphological characteristics of a new experimental model of chronic renal failure in the background of diabetic nephropathy / A.K. Shadmanov, A.O. Okhunov, F.M. Abdurakhmanov // Journal of education and scientific medicine. – 2022. – Vol. 2, № 3. – P. 68–76.

304. Shahid N. Applications of artificial neural networks in health care organizational decision-making: A scoping review / N. Shahid, T. Rappon, W. Berta. – DOI: 10.1371/journal.pone.0212356 // PloS one. – 2019. – Vol. 14, № 2. – P. e0212356.

305. Shaker N.Q. Obesity-Related Type 2 Diabetes Mellitus and HHEX Gene rs1111875 C/T Polymorphisms in Iraqi Population / N.Q. Shaker, S.K. Ali. - DOI: 10.36329/jkcm/2023/v3.i1.12068 // Journal of Kufa for Chemical Sciences. – 2023. – Vol. 3, № 1. – P. 274–287.



306. Sharma S. Microangiopathy: Is it relevant to wound healing in diabetic foot disease? / S. Sharma, N. Schaper, G. Rayman. - DOI: 10.1002/dmrr.3244 // Diabetes/Metabolism Research and Reviews. – 2020. – Vol. 36. – P. e3244.

307. Shin A. Protein glycation in diabetes mellitus / A. Shin, S. Connolly, K. Kabytaev. - DOI: 10.1016/bs.acc.2022.11.003 // Advances in Clinical Chemistry. – 2023. – Vol. 113. – P. 101–156.

308. Siddhartha R. Molecular and clinical insights of matrix metalloproteinases into cancer spread and potential therapeutic interventions / R. Siddhartha, M. Garg. - DOI: 10.1016/j.taap.2021.115593 // Toxicology and Applied Pharmacology. – 2021. – Vol. 426. – P. 115593.

309. Simões G. Matrix metalloproteinases in vascular pathology / G. Simões, T. Pereira, A. Caseiro. - DOI: 10.1016/j.mvr.2022.104398 // Microvascular Research. – 2022. – Vol. 143. – P. 104398.

310. Singh I. Coagulation and bleeding disorders / I. Singh, R. I. Singh. - DOI:10.1016/B978-0-12-809356-6.00019-8 // Clinical Molecular Medicine. – Academic Press, 2020. – P. 341–352.

311. Single nucleotide polymorphisms in cytokine/chemokine genes are associated with severe infection, ulcer grade and amputation in diabetic foot ulcer / V. Viswanathan, U. Dhamodharan, V. Srinivasan [et al.]. – DOI 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.083 // International journal of biological macromolecules. – 2018. – Vol. 118. – P. 1995–2000.

312. Sloan G. Pathogenesis, diagnosis and clinical management of diabetic sensorimotor peripheral neuropathy / G. Sloan, D. Selvarajah, S. Tesfaye. - DOI: 10.1038/s41574-021-00496-z // Nature Reviews Endocrinology. – 2021. – Vol. 17, № 7. – P. 400–420.

313. State-of-the-art in artificial neural network applications: A survey / O.I. Abiodun, A. Jantan, A.E. Omolara [et al.]. - DOI: 10.1016/j.heliyon.2018.e00938 // Heliyon. – 2018. – Vol. 4, №11. – P. 00938.

314. Suresh V. Dysregulation of nitric oxide synthases during early and late pathophysiological conditions of diabetes mellitus leads to amassing of microvascular impediment / V. Suresh, A. Reddy // *Journal of diabetes & metabolic disorders*. – 2021. – Vol. 20. – P. 989–1002.

315. Svoboda S.A. Cutaneous manifestations of nutritional excess: Pathophysiologic effects of hyperglycemia and hyperinsulinemia on the skin / S.A. Svoboda, B.E. Shields. - DOI: 10.12788/cutis.0173 // *Cutis*. – 2021. – Vol. 107, № 2. – P. 74–78.

316. The association of endothelin-1 with early and long-term mortality in COVID-19 / L. Turgunova, I. Mekhantseva, Y. Laryushina [et al.]. - DOI:10.3390/jpm13111558 // *Journal of Personalized Medicine*. – 2023. – Vol. 13, № 11. – P.1558.

317. The clinically relevant diabetic foot syndrome morphology / V. Polyovyy, B. Khorshani, R. Sydoruk [et al.]. - DOI: 10.12775/34833 // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2021. – Vol. 11, № 5. – P. 262–274.

318. The impact of menopause on cardiovascular aging: a comprehensive review of androgen influences / A. Raj, S. Chakole, S. Agrawal [et al.]. – DOI 10.7759/cureus.43569 // *Cureus*. – 2023. – Vol. 15, № 8. – e43569.

319. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019 / A. Buniello, J.A.L. MacArthur, M. Cerezo [et al.]. – DOI 10.1093/nar/gky1120 // *Nucleic acids research*. – 2018. – Vol. 47, № D1. – D1005-D1012.

320. The problem of wound healing in diabetes – from molecular pathways to the design of an animal model / M. Mieczkowski, B. Mrozkiewicz-Rakowska, M. Kowara [et al.]. - DOI: 10.3390/ijms23147930 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, № 14. – P. 7930.

321. The relationship between blood hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , fetuin-A, fibrinogen, homocysteine, and amputation level / I.Y. Simsir, N.S. Sengoz Coskun, Y.Y.

Akçay, S. Cetinkalp. – DOI 10.1177/1534734620948342 // *Int. J. Low Extrem. Wounds*. – 2022. – Vol. 21, № 4. – P. 405–413.

322. The relationship of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and vascular endothelial growth factor (VEGF) gene polymorphism in Turkish type 2 diabetic patients with and without diabetic foot ulcers / M. Erdogan, M. Kulaksizoglu, A. Tetik [et al.]. - DOI: 10.1016/j.foot.2018.06.006 // *The Foot*. – 2018. – Vol. 37. – P. 5–10.

323. The role of matrix metalloproteinases (MMP-8, MMP-9, MMP-13) in periodontal and peri-implant pathological processes / I. Luchian, A. Goriuc, D. Sandu, M. Covasa. - DOI: 10.3390/ijms23031806 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, № 3. – P. 1806.

324. The role of the PPAR $\gamma$  (Pro12Ala) common genetic variant on type 2 diabetes mellitus risk / L. Hashemian, N. Sarhangi, M. Afshari [et al.]. - DOI: 10.1007/s40200-021-00872-6 // *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. – 2021. – Vol. 20, № 2. – P. 1385–1390.

325. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases / G.A. Cabral-Pacheco, I. Garza-Veloz, C. Castruita-De la Rosa [et al.]. – DOI: 10.3390/ijms21249739 // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21, № 24. – P. 9739.

326. The roles of MTRR and MTHFR gene polymorphisms in colorectal cancer survival / Y. Wang, M. Du, J. Vallis [et al.]. - DOI:10.3390/nu14214594 // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 14, № 21. – P. 4594.

327. The vascular endothelium and coagulation: homeostasis, disease, and treatment, with a focus on the von willebrand factor and factors VIII and V Pablo / J.A.D. Moreno, L.J. Serrano, L. Revuelta [et al.]. - DOI:10.3390/ijms23158283 // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, № 15. – P. 8283.

328. Type 2 diabetes as a protein misfolding disease / A. Mukherjee, D. Morales-Scheihing, P.C. Butler, C. Soto. – DOI: 10.1016/j.molmed.2015.04.005 // *Trends Mol. Med*. – 2015. – Vol. 21, № 7. – P. 439–449.

329. UCP2–866G/A polymorphism is associated with prediabetes and type 2 diabetes / G. Hou, Y. Jin, M. Liu [et al.]. - DOI: 10.1016/j.arcmed.2020.06.001 // Archives of medical research. – 2020. – Vol. 51, № 6. – P. 556–563.

330. Validation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as a novel target for treatment of diabetic foot ulcers in humans and discovery of a potent and selective small-molecule MMP-9 inhibitor that accelerates healing / T.T. Nguyen, D. Ding, W.R. Wolter [et al.]. - DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01005 // Journal of medicinal chemistry. – 2018. – Vol. 61, № 19. – P. 8825–8837.

331. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and risk of neovascular age-related macular degeneration in a Chinese cohort / Y. Qu, H. Dai, F. Zhou [et al.]. – DOI: 10.1159/000319543 // Ophthalmic Res. – 2011. – Vol. 45, № 3. – P. 142–148.

332. Veves A. The diabetic foot: medical and surgical management / A. Veves, M. John, R.J. Giurini. – Towota : Humana Press, 2018. – 512 p. – ISBN 978-1-61737-253-7.

333. Zubair M. Heat shock protein 70 gene single nucleotide polymorphism and diabetic foot ulcer. Is there any relationship? / M. Zubair, J. Ahmad. – DOI: 10.3390/jcm7080187 // Journal of clinical medicine. – 2018. – Vol. 7, № 8. – P. 187.