

На правах рукописи



Троицкая Наталья Игоревна

**Механизмы развития нарушений микроциркуляции при синдроме
диабетической стопы**

**3.3.3. Патологическая физиология
(медицинские науки)**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Чита – 2024

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

Научный консультант:

Доктор медицинских наук,
профессор

Шаповалов Константин Геннадьевич

Официальные оппоненты:

Власов Тимур Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Шилов Сергей Николаевич – доктор медицинских наук, доцент.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Семинский Игорь Жанович – доктор медицинских наук, профессор.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Владивосток

Защита диссертации состоится «10» марта 2025 года на заседании диссертационного совета 21.2.077.01 при ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ (672000, г. Чита, ул. Горького, 39а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения РФ (672000, г. Чита, ул. Горького, 39а, <http://chitgma.ru>).

Автореферат разослан «___» _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
д.м.н., доцент

Мироманова

Мироманова Наталья Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Сахарный диабет является одной из серьезных медицинских и социальных проблем современного мира [А.С. Кайназаров и соавт., 2022; E. Navarro-Flores, 2020]. При данной патологии развивается большое количество осложнений, приводящих к инвалидизации и смерти больных. Среди них особое значение отводится синдрому диабетической стопы, связанному с высоким риском ампутации нижней конечности, повышением смертности и ухудшением качества жизни больных [Е.Е. Вручинский и соавт., 2020; Е.Г. Потатчик и соавт., 2021; A.Hazari et al., 2020; T.J. Woods et al., 2020].

Патогенез развития диабетической стопы сложен и многообразен. Одним из важнейших звеньев формирования синдрома диабетической стопы 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. Избыток сорбитола в сосудистой стенке приводит к ее утолщению и уплощению, что нарушает ток крови в сосудах микроциркуляторного русла с развитием ишемии ткани [С.Н. Чур и соавт., 2020; П.Ф. Литвицкий, 2020; С.С. Давлатов, 2022; S. Sharma et al., 2020].

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. Эндотелиоциты в ответ запускают повышенную продукцию факторов релаксации сосудов, развивается стойкая эндотелиальная дисфункция. Клетки базальной мембраны подвергаются структурной перестройке, что приводит к их утолщению [А.Г. Терехов и соавт., 2022; Ю.С. Винник и соавт., 2022; G. Balasubramanian et al., 2020].

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 сосудистых осложнений сахарного диабета [F. Taghavi et al., 2019].

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 [П.Ф. Литвицкий, 2014; Б.Б. Азизов, 2021; X. Li et al., 2021].

В настоящее время особую роль приобретает изучение генов-кандидатов, ассоциированных с развитием мультифакторных заболеваний. В последние десятилетия ведутся активные исследования, посвященные поиску генетических детерминант в качестве маркеров риска развития синдрома диабетической стопы [А.В. Русанов и соавт., 2019; V. D'Onofrio et al., 2020; R. Teena et al., 2020; Y. Wang et al., 2021; M. Jankovic et al., 2021].

Несмотря на существенные успехи в изучении патогенеза развития синдрома диабетической стопы, приходится отмечать, что некоторые патогенетические механизмы развития данного осложнения остаются невыясненными. В частности, в современных источниках отсутствуют комплексные исследования, посвященные индивидуальному генетическому прогнозированию риска развития синдрома диабетической стопы, в связи с чем данный аспект проблемы вызывает значительный научный интерес.

Известно, что отдельные генетические факторы зачастую имеют значение в развитии мультифакторных заболеваний [Н.Н. Белушкина и соавт., 2019]. Одним из важнейших звеньев патогенеза развития диабетической стопы являются нарушения состояния микроциркуляции. Вместе с тем на состояние сосудов микроциркуляторного русла активно влияет большое количество факторов, в том числе и концентрация различных биологически активных веществ, выработку которых кодируют разные гены. В связи с чем научный интерес представляет изучение механизмов реализации эффектов полиморфизмов генов при развитии синдрома диабетической стопы, их влияния на уровень факторов, регулирующих

состояние системы микроциркуляции и непосредственно расстройств микроциркуляторного русла.

Степень разработанности темы. В настоящее время для многих мультифакториальных заболеваний, в том числе для сахарного диабета и его осложнений, выявлено большое количество генов-кандидатов, способствующих их развитию [Ф.В. Валеева и соавт., 2023; С.А. Костюк и соавт., 2023; S. Diels et al., 2020]. 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 [С.А. Костюк, 2020]. 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 [P.M. Visscher et al., 2021; N. Brandes et al., 2022]. Наибольшую роль в развитии наследственной предрасположенности к сахарному диабету играют эпигенетические вариации, влияющие на характер экспрессии генов [Т.Д. Кожанова и соавт., 2021; R.A. Kowluru et al., 2022]. Указанные модификации существенно подвержены влиянию внешних неблагоприятных факторов и могут более значимо, чем структурные полиморфизмы генов, отражать влияние факторов внешней среды в патогенезе заболевания [Zhang J. et al., 2021; Kaimala S. et al. 2022].

При развитии синдрома диабетической стопы в литературе достаточно полно описана роль различных биологически активных веществ в патогенезе указанного осложнения сахарного диабета [Э.Б. Попыхова и соавт., 2020; П.В. Васильев и соавт., 2022; Т.Т. Камалов и соавт., 2022; S.S. Davlatov et al., 2021; S. Yang et al.; 2022]. 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 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 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 А1298С 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 T/C полиморфизма T1565C гена ITGB, A/A

полиморфизма A1298C гена MTHFR потенцирует риск развития диабетической стопы в 2,4 раза.

Теоретическая и практическая значимость работы

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 C786T генов eNOS, Lys198Asn гена END1, T1565C гена ITGB3, G1691A гена FV, G20210A гена FII, A8202G гена MMP9, C634G гена VEGFA, A1298C 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 позволяют 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

Настоящее исследование является одномоментным и включает в себя сопоставление результатов, полученных при обследовании параллельных групп пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета 2 типа. В основу методологии диссертационного исследования положены принципы доказательной медицины.

Основные 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 основных положений работы

Этапы научного исследования выполнены соискателем лично. Автором проанализированы отечественные и зарубежные научные источники информации по теме исследования. Диссертантом был организован и проведен сбор первичного материала. Автор участвовала в лабораторных исследованиях, анализировала полученные данные и подготовила публикации. Автором проведена статистическая обработка результатов исследования и аналитическая работа, в ходе которой были интерпретированы результаты исследования, сделаны выводы и сформулированы практические рекомендации. Достоверность и объективность результатов исследования подтверждены репрезентативной выборкой объектов, достаточным объемом наблюдений. Полученные данные обработаны с применением современных подходов к обработке информации.

Результаты исследования доложены на научно-практической конференции «Современные проблемы анестезиологии и реаниматологии» (Чита, 2016); межрегиональной научно-практической конференции «Хирурги Забайкалья в России-II» (Чита, 2017); IV и VIII съездах анестезиологов-реаниматологов Забайкалья (Чита, 2017, 2021); научно-практической межрегиональной конференции «Актуальные вопросы эндохирургии» (Чита, 2022); I и II ежегодных Научных сессиях ФГБОУ ВО ЧГМА (Чита, 2022, 2023); III научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии и лабораторной диагностики» (Чита, 2023); Межвузовском научном симпозиуме с международным участием, посвященном 110-летию со дня рождения члена-корреспондента НАН Беларуси Н.И. Аринчина (Гродно, Беларусь, 2024); Международной конференции «Scientific Research of the SCO countries: Synergy and Integration» (Пекин, Китай, 2024); VIII Межрегиональной научно-практической конференции «Современные вопросы эндокринологии. Опыт и инновации в клинических примерах» (Нижний Новгород, 2024); Российском форуме по тромбозу и гемостазу (Москва, 2024); II Международной научно-практической конференции, посвященной памяти Л.Г. Прокопенко (Курск, 2024); IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием

«Современная патология: опыт, проблемы, перспективы», посвященной памяти профессора Н. Шляпникова (Самара, 2024); XII съезде терапевтов Забайкальского края (Чита, 2024); Всероссийском терапевтическом конгрессе с международным участием «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 2024); XI Всероссийской школе-конференции по физиологии мышц и мышечной деятельности с международным участием, посвященной 70-летию открытия механизма мышечного сокращения (Москва, 2024); Научно-практической конференции с международным участием «Инновации в эндокринологии – 2024» (Санкт-Петербург, 2024).

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

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, заключения, выводов, списка литературы. Данные проиллюстрированы 61 таблицей, 13 рисунками, 3 схемами. Библиографический указатель включает 333 источника, из них 174 отечественных и 159 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование было включено 199 пациентов с сахарным диабетом 2 типа и нейроишемической формой синдрома диабетической стопы, 198 пациентов с сахарным диабетом 2 типа без синдрома диабетической стопы и 100 практически здоровых человек.

Пациенты находились на стационарном лечении на базе отделений ГУЗ «Городская клиническая больница № 1» (г. Чита, Забайкальский край).

В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964).

Протокол исследования одобрен на заседании Локального этического комитета при ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 74 от 06.11.2015 г.).

Критерии исключения из исследования: возраст моложе 40 лет и старше 75 лет, отсутствие нарушений углеводного обмена, наличие других осложнений сахарного диабета, сердечно-сосудистая патология IIб – III ст., дыхательная недостаточность III ст., органическое поражение центральной нервной системы, острое нарушение мозгового кровообращения и инфаркт миокарда в первые 6 месяцев после развития, тяжелое нарушение функции печени, хроническая болезнь почек IV – V ст., злокачественные новообразования, ожирение III ст., хронические заболевания в стадии обострения.

Структура исследования состояла из трех этапов:

- 1) оценка состояния микроциркуляторного русла;
- 2) определение уровня биологически активных веществ, влияющих на состояние микроциркуляции;
- 3) выявление частоты носительства полиморфизмов генов регуляции сосудистого тонуса, рецепторов тромбоцитов, ремоделирования сосудистой стенки и протромботических факторов.

На первом этапе исследования нами были 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 дистанционно. Для кровотока вне зоны повреждения была выбрана точка на предплечье.

Вторым этапом исследования в отобранных группах для исследования микроциркуляторного русла 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 и группе контроля определялась частота носительства исследуемых полиморфизмов генов.

Исследовательская работа выполнена на базе НИИ «Молекулярной медицины» (лаборатории молекулярной генетики и экспериментальной и клинической биохимии и иммунологии) ФГБОУ ВО «Читинская государственная академия» Минздрава России, отделений на базе ГУЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Читы.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

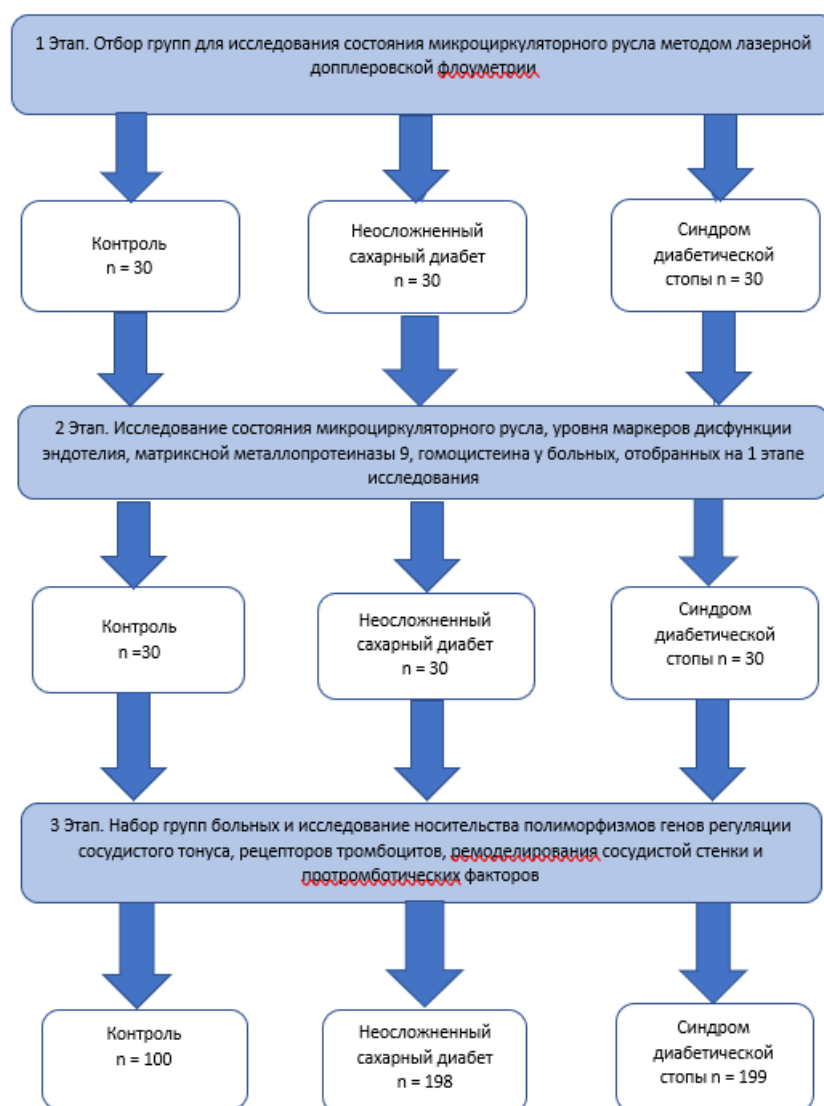


Рисунок 1 - Дизайн исследования

Молекулярно-генетические исследования проводилось с помощью метода полимеразной цепной реакции с применением Амплификатора «ДТ-96», произведенного ЗАО «НПФ ДНК-Технология», г. Москва и набора реагентов (ООО Научно-производственная фирма «Литех», г.Москва). Материалом для исследования служили образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов периферической венозной крови.

Исследование микроциркуляции проводилось методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с использованием лазерного анализатора микроциркуляции ЛАКК-02 (ООО научно-производственное предприятие «Лазма», № о21524:29/03020703/5555-03). Базовыми параметрами являлись: показатель микроциркуляции (ПМ), среднеквадратичное отклонение колебаний

кровотока (σ); коэффициент вариации (Kv), индекс эффективности микроциркуляции (ИЭМ), 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).

Содержание эндотелина-1, матричной металлопротеиназы 9 в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА-ридер «Expert 96», ACSY, Великобритания).

Исследование содержания нитрата, нитрита, общего нитрата, гомоцистеина в сыворотке крови проводили биохимическим методом с применением реактивов фирмы «RnD Systems» (США), реагентов «ACSY» (Великобритания).

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью программы «IBM SPSS Statistics Version 25.0». Использовали статистические критерии: хи-квадрат Пирсона, критерии Шапиро-Уилка, критерий Манна-Уитни с применением поправки Бонферрони. Полученные данные представлены в виде медианы и интерквартильного интервала. Рассчитывали статистический показатель отношения шансов (OR). Применяли статистические методы: корреляционный анализ, бинарный логистический регрессионный анализ, нелинейная регрессия, нейросетевой анализ.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Исследование состояния микроциркуляторного русла у больных с развитием синдрома диабетической стопы

Состояние микроциркуляторного русла оценивалось у 30 здоровых лиц, 30 пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и 30 больных с развитием синдрома диабетической стопы в точке на предплечье (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели микроциркуляции у здоровых лиц и при различных вариантах течения сахарного диабета в точке на предплечье (Me (25-й; 75-й))

Показатели	Контроль n = 30	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n = 30	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	Критерии Манна- Уитни
М, пф. ед.	4,96 (4,39; 5,89)	4,9 (3,69; 5,77)	3,59 (2,88; 5,01)	p ₁ = 0,003 p ₂ = 0,031
σ, пф. ед	1,14 (0,81; 1,4)	1,13 (0,74; 1,47)	0,73 (0,61; 0,97)	p ₁ = 0,003 p ₂ = 0,001
ИЭМ	1,44 (1,25; 1,7)	1,24 (1,04; 1,58)	1,43 (1,2; 1,7)	p = 0,025
Аэ, пф. ед	0,49 (0,39; 0,88)	0,36 (0,3; 0,6)	0,34 (0,21; 0,61)	p ₁ = 0,03
Ан, пф. ед	0,51 (0,38; 0,72)	0,54 (0,29; 0,68)	0,35 (0,23; 0,52)	p ₁ = 0,002 p ₂ = 0,028
Ам, пф. ед	0,48 (0,37; 0,65)	0,39 (0,29; 0,62)	0,29 (0,21; 0,43)	p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,026
Ад, пф. ед	0,29 (0,23; 0,39)	0,28 (0,19; 0,42)	0,18 (0,13; 0,26)	p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,013
Ас, пф. ед	0,18 (0,14; 0,25)	0,21 (0,17; 0,29)	0,15 (0,11; 0,25)	p ₂ = 0,014
МТ	2,32 (1,97; 2,64)	2,44 (2,03; 3,27)	2,57 (2,12; 3,01)	p ₁ = 0,041

Примечания:

p – значимые отличия между контролем и больными с неосложненным сахарным диабетом;

p₁ – значимые отличия между контролем и больными диабетической стопой;

p₂ – значимые отличия между больными неосложненным сахарным диабетом и диабетической стопой.

У больных с неосложненным течением сахарного диабета и синдромом диабетической стопы вне зоны поражения отмечается более выраженное обеднение микроциркуляторного кровотока и его низкая модуляция относительно здоровых лиц, усиливающаяся при развитии осложнений заболевания.

При неосложненном сахарном диабете относительно здоровых вне стопы регистрировалось более выраженное снижение поступления кислорода в ткани за счет нарушения активных и пассивных механизмов регуляции кровотока, чего не отмечается при синдроме диабетической стопы.

При развитии синдрома диабетической стопы вне зоны поражения относительно неосложненного течения заболевания регистрировалось уменьшение воздействия нейрогенного, миогенного, дыхательного и пульсового компонентов регуляции кровотока, но не было выявлено изменений показателей

эндотелиальных колебаний. Полученные данные являются определяющими, что на уровне микроциркуляции вне стопы механизмы регуляции сосудистого тонуса не имеет существенного значения, а ведущая роль в обеспечении кровотока принадлежит более крупным сосудам.

Изучено состояние микроциркуляции у 30 лиц контрольной группы, 30 больных с сахарным диабетом без осложнений и 30 больных с развитием синдрома диабетической стопы в точке на тыле стопы (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели микроциркуляции у здоровых лиц и при различных вариантах течения сахарного диабета в точке на стопе (Ме (25-й; 75-й))

Показатели	Контроль N =30	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n = 30	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	Критерии Манна-Уитни
М, пф. ед.	3,83 (3,17; 4,62)	3,52 (2,36; 4,23)	1,94 (1,45; 2,88)	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,003$
σ , пф. ед	1,0 (0,68; 1,21)	0,72 (0,45; 1,16)	0,85 (0,41; 1,12)	$p_1 < 0,001$
K_v , %	21,5 (16,97; 30,62)	20,51 (15,69; 32,75)	34,3 (23,61; 62,82)	$p_2 = 0,020$
Аэ, пф. ед	0,35 (0,28; 0,52)	0,27 (0,18; 0,46)	0,34 (0,19; 0,48)	$p = 0,004$ $p_1 = 0,001$
Ан, пф. ед	0,42 (0,3; 0,62)	0,3 (0,2; 0,52)	0,38 (0,17; 0,56)	$p_1 < 0,001$
Ам, пф. ед	0,4 (0,27; 0,57)	0,3 (0,21; 0,5)	0,34 (0,15; 0,47)	$p_1 < 0,001$
Ад, пф. ед	0,27 (0,19; 0,42)	0,21 (0,15; 0,4)	0,24 (0,13; 0,43)	$p_1 = 0,001$
Ас, пф. ед	0,18 (0,13; 0,27)	0,51 (0,11; 0,23)	0,16 (0,11; 0,27)	$p_1 = 0,004$
НТ	2,15 (1,94; 2,46)	2,27 (1,88; 2,53)	2,21 (1,8; 2,63)	$p_1 = 0,043$

Примечания:

p – значимые отличия между контролем и больными с неосложненным сахарным диабетом;

p_1 – значимые отличия между контролем и больными диабетической стопой;

p_2 – значимые отличия между больными неосложненным сахарным диабетом и диабетической стопой.

При исследовании состояния микроциркуляторного русла на тыле стопы у больных синдромом диабетической стопы отмечается выраженное обеднение

микроциркуляторного кровотока и снижение его модуляции относительно больных с неосложненным течением сахарного диабета. При развитии диабетической стопы регистрируется повышение вазомоторной активности сосудов и снижения влияния активных и пассивных механизмов регуляции микрокровоотока относительно неосложненного сахарного диабета.

Оценено состояние микроциркуляторного русла у 30 здоровых лиц, 30 пациентов с неосложненным течением сахарного диабета и 30 больных с развитием синдрома диабетической стопы на подошвенной поверхности 1 пальца стопы (таблица 3).

Таблица 3 – Показатели микроциркуляции у здоровых лиц и при различных вариантах течения сахарного диабета в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы (Me (25-й; 75-й))

Показатели	Контроль n = 30	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n = 30	Пациенты с синдромом диабетической стопы n = 30	Критерии Манна-Уитни
М, пф. ед.	4,73 (3,31; 5,56)	3,66 (2,79; 4,57)	2,46 (1,94; 3,4)	$p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,004$
Кv, %	29,13 (20,61; 39,04)	26,62 (16,77; 54,42)	41,36 (26,58; 54,53)	$p_2 = 0,007$
Ам, пф. ед	0,55 (0,37; 0,81)	0,49 (0,25; 0,79)	0,51 (0,28; 0,8)	$p_1 = 0,021$
Ас, пф. ед	0,23 (0,16; 0,31)	0,23 (0,18; 0,35)	0,2 (0,16; 0,29)	$p_1 = 0,05$

Примечания:

p – значимые отличия между контролем и больными с неосложненным сахарным диабетом;

p₁ – значимые отличия между контролем и больными диабетической стопой;

p₂ – значимые отличия между больными неосложненным сахарным диабетом и диабетической стопой.

При изучении состояния микроциркуляторного русла на тыле стопы у больных синдромом диабетической стопы выявлено более глубокое угнетение микрокровоотока, повышение вазомоторной активности сосудов, снижение влияния миогенного и сосудистого компонентов регуляции кровотока.

Исследование уровня маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9 и гомоцистеина у больных с развитием синдрома диабетической стопы

В ходе проведения исследования нами сопоставлялись уровни эндотелина-1, нитрита азота, нитрата азота и общего нитрата, матриксной металлопротеиназы 9, гомоцистеина у пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета и в контрольной группе (рисунок 2). Выявлены значимые отличия уровня эндотелина-1, NO_3 , $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 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_3 в группе пациентов было ниже в 3,5 раза ($p = 0,039$) относительно здоровых лиц. Уровень $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ при различных вариантах течения сахарного диабета был ниже, чем среди здоровых лиц, в 1,2 раза ($p = 0,046$).

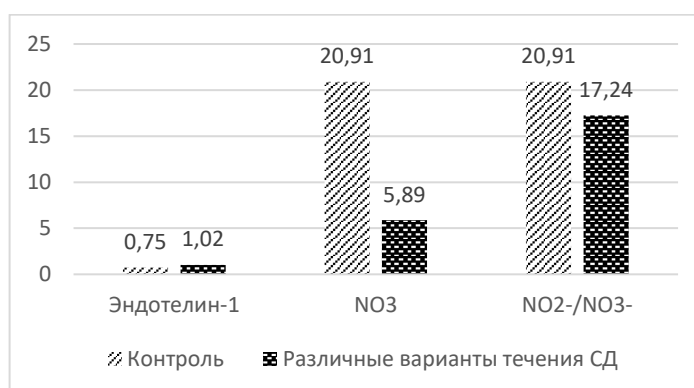


Рисунок 2 – Уровень маркеров дисфункции эндотелия в исследуемых группах, имеющих достоверные отличия

Далее при сопоставлении уровня исследуемых маркеров среди больных с различными вариантами течения сахарного диабета значимых отличий нами выявлено не было (таблица 4).

Таблица 4 – Показатели маркеров дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназы 9 и гомоцистеина при различных вариантах течения сахарного диабета (Ме (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 ₂ , мкмоль/л	11,9 (9,1; 14,25)	11,23 (9,99; 13,3)	p = 0,617
NO ₃ , мкмоль/л	5,89 (4,31; 9,2)	6,33 (4,08; 10,83)	p = 0,367
NO ₂ -/NO ₃ - 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.

Анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфизмов C786T гена eNOS, Lys198Asn гена EDN1, 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

Полиморфные варианты исследованных генов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга.

При сравнении частоты встречаемости генотипов полиморфизмов генов факторов регуляции сосудистого тонуса (C786T гена eNOS, Lys198Asn гена EDN1), рецепторов тромбоцитов (T1565C (Leu33Pro) гена ITGB); ремоделирования сосудистой стенки (C634G гена VEGFA, A8202G гена MMP9); протромботических факторов (G1691A гена FV, G20210A гена FII, A1298C гена MTHFR) в трех исследуемых группах значимые различия получены для полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и A1298C гена MTHFR, что позволило в дальнейшем сравнивать их попарно.

Частота встречаемости генотипов полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 в контрольной группе и у больных с неосложненным течением сахарного диабета и развитием синдрома диабетической стопы представлена в таблице 5.

Таблица 5 – Частота встречаемости генотипов полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 в группе контроля и у пациентов с различными вариантами течения сахарного диабета

Генотипы	Контроль n = 100	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n = 198	Пациенты с диабетической стопой n = 199	χ^2	p	OR (95% CI)		
Генотип T/T	70% (70/100)	71,2% (141/198)	60,3% (120/199)	$\chi^2_1 =$ 8,205	$p_1 =$ 0,017	0,614 (0,404–0,933)		
Генотип T/C	29% (29/100)	28,3% (56/198)	37,7% (75/199)			$\chi^2_2 =$ 6,243	$p_2 =$ 0,045	1,534 (1,006–2,338)
Генотип C/C	1% (1/100)	0,5% (1/198)	2% (4/199)					4,041 (0,448–36,48)

Примечание:

n – количество обследованных;

χ^2 – хи-квадрат; χ^2_1 - хи-квадрат для трех сравниваемых групп;

χ^2_2 – хи-квадрат между группами больных разными вариантами течения сахарного диабета;

OR – отношение шансов;

95% CI – 95% доверительный интервал;

p – уровень значимости между группами;

p_1 – уровень значимости для трех сравниваемых групп;

p_2 – уровень значимости между группами больных различными вариантами течения сахарного диабета. Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Выявлены значимые различия частоты встречаемости генотипов полиморфизма T1565C гена ITGB3 у пациентов с сахарным диабетом и развитием синдрома диабетической стопы. При развитии диабетической стопы распространенность нормального гомозиготного генотипа T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 была ниже, чем при неосложненном течении сахарного диабета в 1,2 раза. В то же время, при сахарном диабете с диабетической стопой чаще, чем при заболевании без осложнений встречался гетерозиготный генотип T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 в 1,3 раза.

Риск развития диабетической стопы при генотипе Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 в 1,5 раза выше, чем при других генотипах. Носительство данного генотипа полиморфизма гена в гетерозиготном состоянии может предрасполагать к развитию данного осложнения сахарного диабета (схема 1).

Частота встречаемости генотипов полиморфизма А1298С гена МТНFR в контрольной группе и у больных с неосложненным течением сахарного диабета и развитием синдрома диабетической стопы представлена в таблице 6.

Таблица 6 – Частота генотипов полиморфизма А1298С гена МТНFR в группе контроля и у пациентов с различным течением сахарного диабета

Генотипы	Контроль n = 100	Пациенты с неосложненным сахарным диабетом n = 198	Пациенты с диабетической стопой n = 199	χ^2	p	OR (95 % CI)
Генотип А/А	47% (47/100)	41,4% (82/198)	52,8% (103/199)	$\chi^2_1 =$ 15,85 $\chi^2_2 =$ 11,55	p₁ = 0,001 p₂ = 0,004	1,439 (0,966– 2,145)
Генотип А/С	36% (36/100)	45,4% (90/198)	29,1% (58/199)			0,494 (0,326– 0,747)
Генотип С/С	17% (17/100)	13,1 % (26/198)	19,9% (38/199)			1,561 (0,907– 2,688)

Примечание:

n – количество обследованных;

χ^2 – хи-квадрат;

χ^2_1 – хи-квадрат для трех сравниваемых групп;

χ^2_2 – хи-квадрат между группами больных разными вариантами течения сахарного диабета;

OR – отношение шансов;

95% CI – 95% доверительный интервал;

p – уровень значимости между группами;

p₁ – уровень значимости для трех сравниваемых групп;

p₂ – уровень значимости между группами больных различными вариантами течения сахарного диабета. Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Генотип А/А полиморфизма А1298С гена МТНFR чаще в 1,2 раза регистрировался при синдроме диабетической стопы относительно неосложненного течения сахарного диабета. Вариант А/С изучаемого полиморфизма гена МТНFR в группе с осложненным течением заболевания

встречался реже в 1,5 раза относительно группы с неосложненным течением заболевания. Генотип С/С полиморфизма А1298С гена МТНFR в 1,5 раза чаще отмечался у пациентов с диабетической стопой. Ассоциации носительства вариантов генотипов изучаемого полиморфизма гена МТНFR с развитием синдрома диабетической стопы выявлено не было.

Ассоциация 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 МТНFR у больных с развитием синдрома диабетической стопы в зависимости от пола

У мужчин с неосложненным сахарным диабетом и синдромом диабетической стопы выявлены значимые различия между частотой встречаемости вариантов полиморфизма А8202G гена MMP9 ($\chi^2 = 6,767$, $p = 0,034$). Частота встречаемости генотипа А/А указанного полиморфизма гена MMP9 в группах сравнения не отличалась (28,8% и 30,6% соответственно). Генотип А/Г полиморфизма А8202G исследованного гена встречался чаще в 1,8 раза при сахарном диабете без осложнений. Частота встречаемости генотипа G/G при синдроме диабетической стопы была выше, чем при неосложненном течении заболевания в 1,6 раза. Установлено, что при указанном варианте генотипа полиморфизма А8202G гена MMP9 у мужчин риск развития синдрома диабетической стопы возрастает в 2 раза (OR = 2,055, 95% CI 1,033 – 4,088).

Выявлены достоверно значимые отличия частоты встречаемости генотипов полиморфизма А1298С гена МТНFR в исследуемых группах у женщин. Генотип А/А указанного полиморфизма гена МТНFR встречался чаще в 1,2 раза у женщин с диабетической стопой. Частота встречаемости генотипа А/С полиморфизма А1298С гена МТНFR у женщин с неосложненным сахарным диабетом выше в 1,5 раза, чем в группе с диабетической стопой. Генотип С/С при синдроме диабетической стопы встречался чаще в 1,4 раза, чем при неосложненном течении заболевания. Установлено, что при наличии генотипа А/С полиморфизма А1298С гена МТНFR у женщин риск развития синдрома диабетической стопы снижается на 50% (OR = 0,512, 95% CI 0,302 – 0,857) (схема 2).

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

Установлено, что при синдроме диабетической стопы при носительстве генотипов T/T и T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 в точке вне зоны поражения изменчивость микрокровотока ниже, чем при аналогичных генотипах полиморфизма T1565C данного гена у больных сахарным диабетом в 1,4 и 1,8 раза соответственно ($p = 0,016$, $p = 0,021$).

В точке на предплечье при синдроме диабетической стопы у носителей генотипа T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 более выраженные изменения амплитуд колебаний в дыхательном диапазоне по сравнению с аналогичным вариантом генотипа при сахарном диабете ($p = 0,042$), что свидетельствует о застойных изменениях в венозном русле.

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.

При генотипе T/T полиморфизма T1565C гена ITGB3 в точке на тыле стопы при синдроме диабетической стопы отмечается более выраженное обеднение микрокровотока относительно пациентов с неосложненным сахарным диабетом (рисунок 3).

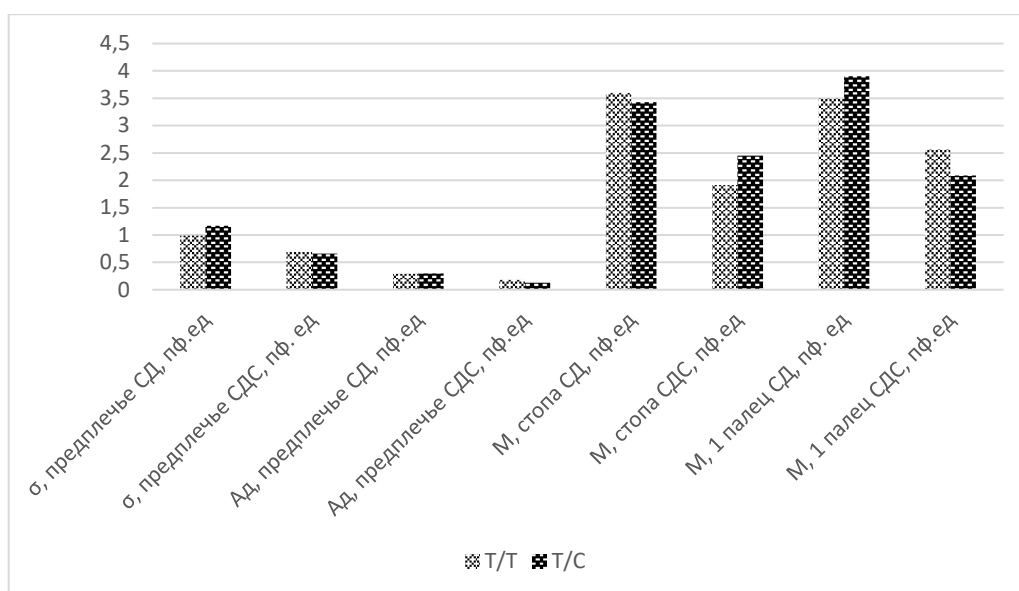


Рисунок 3 – Значения показателей микроциркуляции у пациентов в исследуемых группах в зависимости от носительства вариантов полиморфизма T1565C гена ITGB3

В точке на 1 пальце стопы при генотипе T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 при развитии синдрома диабетической стопы отмечалось выраженное снижение микроциркуляции относительно группы с неосложненным сахарным диабетом. Вместе с тем в указанной точке при аналогичном варианте генотипа у больных с диабетической стопой зарегистрировано повышение вазомоторной активности сосудов, что свидетельствует об ухудшении оттока из венул и развитии нарушений микроциркуляции по типу застойной формы.

Установлено, что при генотипах A/A и A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR при диабетической стопе в точке вне зоны поражения определяется более выраженное снижение модуляции кровотока, чем у носителей указанных вариантов генотипов с неосложненным сахарным диабетом.

В точке на тыле стопы при развитии синдрома диабетической стопы с носительством генотипа C/C полиморфизма A1298C гена MTHFR отмечалось снижение микрокровотока по сравнению с группой больных с неосложненным сахарным диабетом.

В точке на 1 пальце стопы при генотипе A/C полиморфизма A1298C гена MTHFR регистрировалось более выраженное обеднение микроциркуляторного русла, чем при неосложненном сахарном диабете. Отмечено повышение

вазомоторной активности сосудов в данной точке при носительстве генотипов А/А и А/С полиморфизма А1298С гена МТНFR при синдроме диабетической стопы по сравнению с неосложненным сахарным диабетом (рисунок 4).

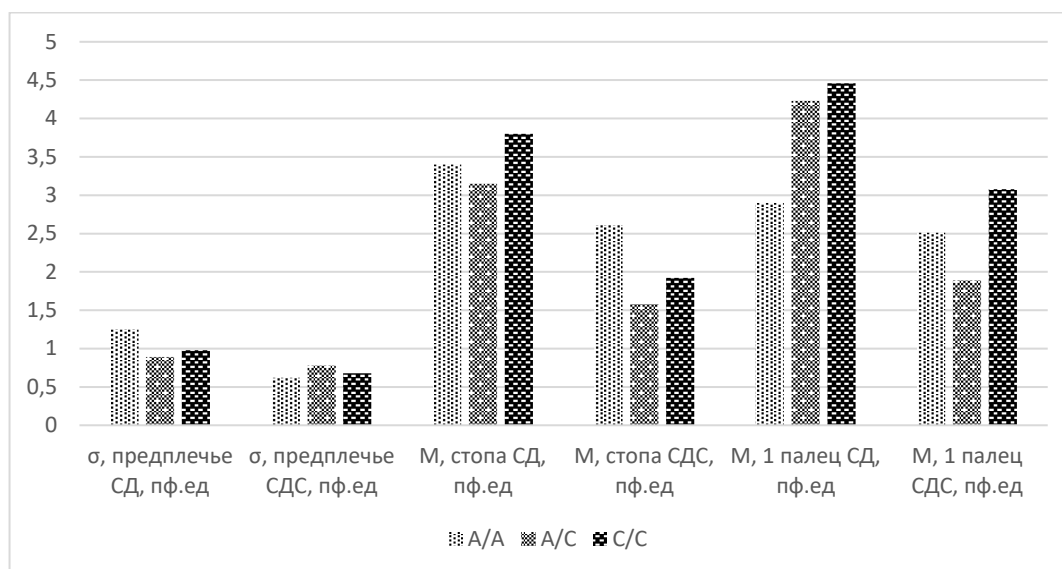


Рисунок 4 – Значения показателей микроциркуляции у пациентов в исследуемых группах в зависимости от носительства вариантов полиморфизма А1298С гена МТНFR

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

Состояние амплитуды колебаний в эндотелиальном диапазоне в зависимости от носительства полиморфизма С786Т гена eNOS и полиморфизма Lys198Asn гена END1 у пациентов с синдромом диабетической стопы

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 и эндотелина-1, участвующих 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 вазорегуляторную функцию эндотелия.

Установлено, что при варианте генотипа C/C полиморфизма C786T 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 соответственно ($p < 0,001$). Установлено, что при варианте генотипа C/C полиморфизма C786T гена eNOS при синдроме диабетической стопы в точке на подошвенной поверхности 1 пальца стопы регистрируются более глубокие изменения эндотелиальной регуляции тонуса сосудов относительно больных неосложненным сахарным диабетом.

В точке вне зоны поражения при синдроме диабетической стопы при генотипе C/T полиморфизма C786T гена eNOS выявлено снижение максимальных амплитуд колебаний кровотока в эндотелиальном диапазоне в 2,3 раза по сравнению с аналогичным вариантом генотипа при сахарном диабете ($p = 0,01$), что указывает на вазорегуляторную дисфункцию эндотелия (рисунок 5).

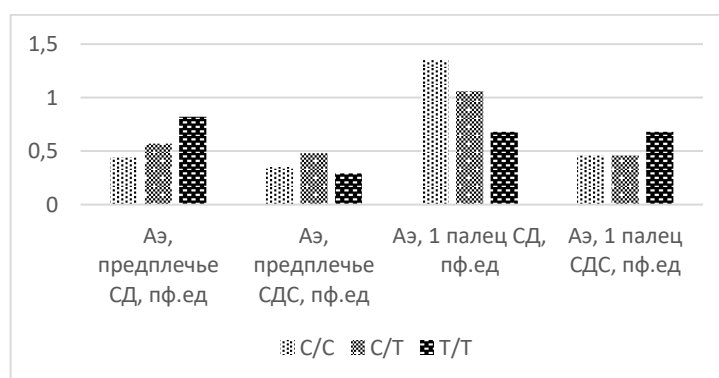


Рисунок 5 - Значения показателей микроциркуляции у пациентов в исследуемых группах в зависимости от носительства генотипов полиморфизма C786T гена eNOS

Установлено, что при вариантах генотипов Lys/Lys и Asn/Asn полиморфизма Lys198Asn гена END1 при диабетической стопе в точке вне зоны поражения максимальные амплитуды колебаний кровотока в эндотелиальном диапазоне меньше, чем при неосложнённом сахарном диабете в 1,6 и 1,5 раза соответственно

($p = 0,023$, $p = 0,037$), что свидетельствует о нарушениях участия нитрооксида азота в регуляции сосудистого тонуса (рисунок 6).

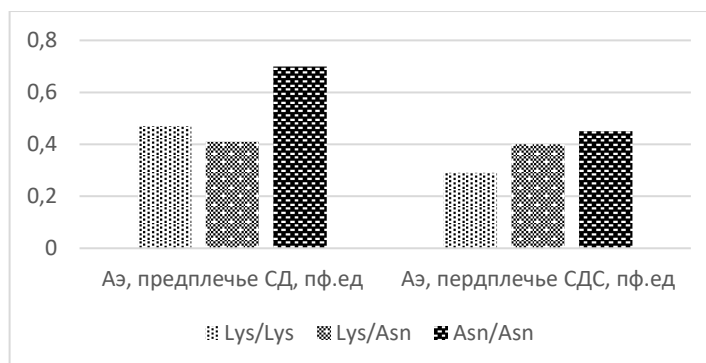


Рисунок 6 - Значения показателей микроциркуляции у пациентов в исследуемых группах в зависимости от носительства генотипов полиморфизма Lys198Asn гена END1

При носительстве дикого варианта генотипа С/С полиморфизма С786Т гена eNOS функция кодируемой молекулы не меняется, в связи с чем можно предположить, что вне стопы нитроксид азота не вносит существенного вклада в развитие дисфункция эндотелия при сахарном диабете. Вместе с тем, изменения выявленные в точке на 1 пальце стопы, указывают на значимый вклад нитрооксида азота в развитие эндотелиальной дисфункции на локальном уровне. 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. Выявление изменений Аэ при носительстве генотипа С/Т может свидетельствовать о более глубоких функциональных нарушениях эндотелия, проявляющихся на уровне вне стопы.

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

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 полиморфизмами

С634G гена VEGFA с показателем шунтирования (ПШ) в точке на предплечье. Указанный показатель косвенно свидетельствует о возрастании шунтового микрокровотока на уровне микроциркуляции вне стопы, что подтверждалось нами ранее. Носительство полиморфизма С634G гена VEGFA приводит к снижению выработки соответствующего белка, что сопровождается ухудшением функции эндотелиоцитов, снижением в тканях количества 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).

При носительстве полиморфизма С634G гена VEGFA выявлена взаимосвязь между показателями σ , индекса эффективности микроциркуляции (ИЭМ), амплитуды колебаний в нейрогенном диапазоне (Ан) в точке на тыле стопы и общим показателем микроциркуляции в точке на 1 пальце стопы. Указанные изменения свидетельствуют о снижении variability колебаний 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 (таблица 7). Полученные результаты позволяют сделать вывод о развитии патологического ремоделирования микрососудистого русла, проявляющегося снижением variability микрокровотока (схема 3).

Таблица 7 – Корреляция полиморфизмов С634G гена VEGFA и А8202G гена MMP9 с показателями состояния микроциркуляторного русла

Показатели	ρ	p	95% CI	Сила связи
Точка на предплечье				
Полиморфизм С634G гена VEGFA				

ПШ	0,322	0,013	0,236–0,408	Прямая умеренная
Полиморфизм А8202G гена MMP9				
σ, пф. ед.	- 0,277	0,045	0,108–0,446	Обратная слабая
ИЭМ	- 0,382	0,003	0,288–0,477	Обратная умеренная
Ан, пф. ед	-0,28	0,037	0,09–0,3	Обратная слабая
Точка на стопе				
Полиморфизм С634G гена VEGFA				
ПМ, пф. ед	- 0,28	0,03	0,16–0,397	Обратная слабая
Точка на 1 пальце стопы				
Полиморфизм С634G гена VEGFA				
НТ	0,275	0,035	0,198–0,351	Прямая слабая
Полиморфизм А8202G гена MMP9				
ИЭМ	- 0,308*	0,017	0,220–0,396	Обратная умеренная

Примечание:

ρ – коэффициент корреляции Спирмена;

p – уровень значимости различий между группами;

95% CI – 95% доверительный интервал ρ. Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

Взаимосвязь генотипов полиморфизмов С786Т гена eNOS, Lys198Asn гена END1, А8202G гена MMP9, А1298С гена MTHFR с маркерами дисфункции эндотелия, матриксной металлопротеиназой 9 при развитии синдрома диабетической стопы

В ходе проведения исследования нами оценена взаимосвязь полиморфизмов С786Т гена eNOS, Lys198Ash гена END1, А8202G гена MMP9, А1298С гена MTHFR с уровнем соответствующих маркеров при синдроме диабетической стопы. Полученные результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Взаимосвязь полиморфизмов С786Т гена eNOS, Lys198Asn гена END1 с уровнем факторов регуляции сосудистого тонуса, А8202G гена MMP9 с уровнем матриксной металлопротеиназы 9, А1298С гена MTHFR с уровнем гомоцистеина

Показатели	Полиморфизмы генов			
	ρ	p	95% CI	Сила связи
Полиморфизм С786Т гена eNOS				
NO ₂ , мкмоль/л	0,346	0,007	0,257–0,444	Прямая умеренная
NO ₃ , мкмоль/л	0,021	0,876	0,015–0,027	Прямая слабая
NO ₂ -/NO ₃ - мкмоль/л	0,315	0,015	0,227–0,391	Прямая умеренная

Полиморфизм Lys198Ash гена END1				
Эндотелин-1, фмоль/л	- 0,086	0,528	0,046-0,125	Прямая слабая
Полиморфизм A8202G гена MMP9				
MMP 9, нг/мл	- 0,308	0,022	0, 185– 0, 502	Обратная умеренная
Полиморфизм A1298C гена MTHFR				
Гомоцистеин, мкмоль/л	0,027	0,852	0,019–0,031	Прямая слабая

Примечание:

ρ – коэффициент корреляции Спирмена;

p – уровень значимости различий между группами;

95% CI – 95% доверительный интервал ρ . Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

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-веноулярных анастомозов, обеспечивающих процессы терморегуляции. Кровоснабжение кожи акральных зон регулируется исключительно норадреналинергическими симпатическими механизмами: увеличение симпатического тонуса вызывает вазоконстрикцию, снижение – вазодилатацию, в которой дополнительно участвуют холинэргические симпатические волокна. Одним из механизмов холинэргической вазодилатации является ацетилхолиновая стимуляция эндотелия с образованием оксида азота. При наличии полиморфизма гена 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, участвующих в разрушении

сосудистого внеклеточного матрикса. Носительство полиморфизма A8202G гена MMP9 увеличивает активность MMP9, что способствует усугублению процессов патологического ремоделирования микрососудистого русла.

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

В связи с мультифакторной природой синдрома диабетической стопы исследование сочетаний вариантов генотипов исследованных генов представляет несомненный научный интерес. Установлено, что наиболее значимый вклад в развитие синдрома диабетической стопы вносит комбинация полиморфизмов T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и A1298C гена MTHFR.

Нами проанализированы варианты сочетания генотипов полиморфизмов T1565C гена ITGB3 и A1298C гена MTHFR у обследованных пациентов в зависимости от развития синдрома диабетической стопы. Полученные результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Распространенность сочетаний вариантов полиморфизма T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3 и A1298C гена MTHFR при различных вариантах течения сахарного диабета

Сочетание полиморфизмов генов	Пациенты с сахарным диабетом n = 198		Пациенты с диабетической стопой n = 199		χ^2	p	OR (95 % CI)
	n/N	%	n/N	%			
T/T T1565C ITGB3, A/C A1298C MTHFR	63/198	31,8	30/199	15,1	15,51	<0,001	0,38 (0,233–0,621)
T/C T1565C ITGB3, A/A A1298C MTHFR	19/198	9,6	41/199	20,6	9,373	0,003	2,445 (1,363–4,386)

Примечание:

n – количество обследованных,

χ^2 – хи-квадрат,

OR – отношение шансов,

95% CI – 95% доверительный интервал OR,

p – уровень значимости между группами. Жирным шрифтом выделены значимые результаты.

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. Носительство мутантного генотипа T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3 существенно влияет на повышение активности тромбоцитов, приводящее не только к повышенной склонности к тромбообразованию, но и к активации иммунных процессов за счет выработки цитокинов, облегчению прикрепления иммунных клеток, таких как нейтрофилы, и к участию в образовании внеклеточных ловушек нейтрофильных клеток (схема 1). При метаболическом воспалении также выражена эндотелиальная дисфункция. 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 эффекте при развитии синдрома диабетической стопы. На наш,

взгляд, в связи с тем, что генотип Т/Т полиморфизма Т1565С гена ITGB3 значимо не влияет на функцию тромбоцитов, это дает в полной мере реализоваться защитному механизму носительства генотипа А/С полиморфизма А1298С гена MTHFR, описанному нами ранее.

Модель индивидуального прогноза риска развития синдрома диабетической стопы на основе полиморфизма Т1565С(Leu33Pro) гена ITGB3 и показателей микроциркуляторного русла

В ходе предыдущих этапов исследования нами выявлена ассоциация генотипа Т/С полиморфизма Т1565С 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.

Установлена значимая ассоциативная связь между показателями ПМ, σ , 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). 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).

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

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

где ПМz – показатель микроциркуляции в точке на предплечье, σz – 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, Кvr – коэффициент вариации в точке на 1 пальце стопы. Для использования в формуле значения параметров микроциркуляторного русла необходимо перевести в баллы (таблица 10).

Таблица 10 – Балльная шкала кодировки параметров, использованных в формуле

Показатель	0 баллов	1 балл
ПМz, пф. ед.	Ниже 4,28	Выше и равно 4,28
σz , 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
Кvr, %	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 7).

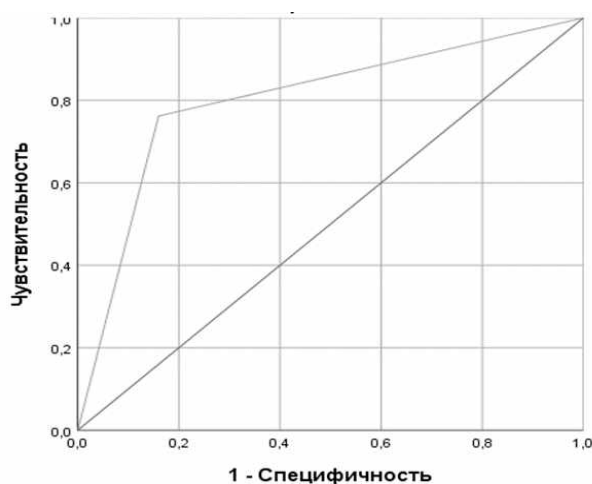


Рисунок 7 - Площадь под ROC-кривой для прогностической модели риска развития синдрома диабетической стопы для носителей генотипа T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3, основанной на изучении показателей ПМ, σ , Ад, Ас на предплечье, ПМ и Kv на тыле стопы и 1 пальце стопы

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, значению концентрации общего нитрита, а также параметров микроциркуляции, определенных с помощью метода ЛДФ 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.

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

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

На основании данных математической модели нами отобраны показатели микроциркуляторного русла ПМ и Kv в точке на тыле стопы в 1 межплюсневом

промежутке, Аэ, Ан, Ам 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 ПМ и Kv в точке на тыле стопы в 1 межплюсневом промежутке и позволяющий рассчитывать прогностический коэффициент DS по формуле:

$$DS = 1,2 - 0,38 \times \text{ПМ} + 0,02 \times \text{Kv} - 0,125,$$

Параметры прогностического коэффициента трактуются следующим образом: при коэффициенте диабетической стопы DS более 1,0 прогнозируют развитие синдрома диабетической стопы.

Площадь под ROC-кривой составила 0,735 (CI 95% 0,621–0,848). Чувствительность модели 60%, специфичность 79% (Рисунок 8).

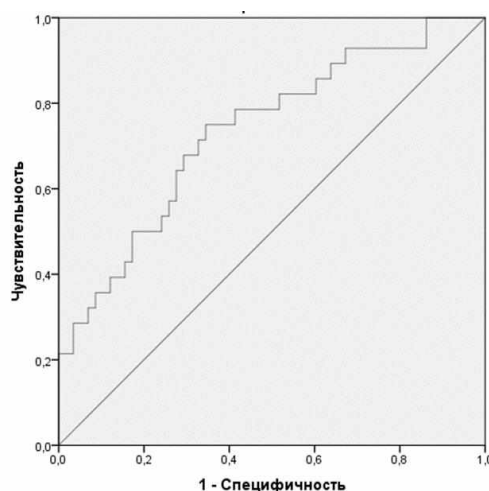


Рисунок 8 - Площадь под ROC-кривой для прогностической модели, основанной на изучении показателя ПМ и Kv в точке на тыле стопы

Второй способ прогнозирования развития диабетической стопы заключается в определении значения показателей 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:

$$DS = 1,7 \times A_{\text{э1}}/A_{\text{э2}} - 2,5 \times A_{\text{н1}}/A_{\text{н2}} + 0,24 \times A_{\text{м1}}/A_{\text{м2}},$$

где $A_{\text{э1}}$ – показатель амплитуды осцилляций в эндотелиальном диапазоне в точке на предплечье (пф. ед.), $A_{\text{э2}}$ – показатель амплитуды осцилляций в эндотелиальном диапазоне в точке на 1 пальце стопы (пф. ед.), $A_{\text{н1}}$ – показатель амплитуды осцилляций в нейрогенном диапазоне в точке на предплечье (пф. ед.), $A_{\text{н2}}$ – показатель амплитуды осцилляций в нейрогенном диапазоне в точке на 1 пальце стопы (пф. ед.), $A_{\text{м1}}$ – показатель амплитуды осцилляций в миогенном диапазоне в точке на предплечье (пф. ед.), $A_{\text{м2}}$ – 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.

Площадь под ROC-кривой составила 73% (CI 95% 0,564–0,813). Чувствительность метода составляет 70%, специфичность метода – 80% (рисунок 9).

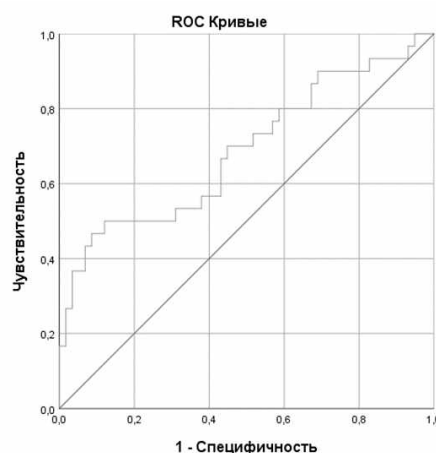


Рисунок 9 – Площадь под ROC-кривой для прогностической модели, основанной исследовании значений $A_{\text{э}}$, $A_{\text{н}}$, $A_{\text{м}}$ на предплечье и на 1 пальце стопы

На основании полученных результатов нами разработана программа для ЭВМ, предназначенная для расчета вероятности развития синдрома диабетической стопы. Набор действий создается в специальном режиме работы пользовательского окна, в котором пользователь получает доступ к вводу данных о состоянии микроциркуляторного русла: $A_{\text{э}}$, $A_{\text{н}}$, $A_{\text{м}}$, полученных в точках на нижней трети

предплечья и на подошвенной поверхности первого пальца стопы с помощью метода ЛДФ, а также выводу результата – вероятности диабетической стопы.

Возможности многослойного персептрона в комплексировании факторов риска синдрома диабетической стопы

С помощью нейросетевого анализа изучен вклад полиморфизмов изучаемых генов, маркеров дисфункции эндотелия, пола, возраста в развитии синдрома диабетической стопы.

В структуре исходного многослойного персептрона наибольшей нормализованной важностью обладали такие показатели, как полиморфизм C786T гена eNOS, полиморфизм Lys198Ash гена END1, полиморфизм T1565C гена ITGB3, полиморфизм C634G гена VEGFA, полиморфизм A8202G гена MMP9, полиморфизм G20210A гена FII, полиморфизм A1298C гена MTHFR, пол, возраст, NO₂, NO₂-/NO₃, MMP9 (таблица 11).

Таблица 11- Нормализованная важность исследуемых показателей в развитии синдрома диабетической стопы

Показатель	Нормализованная важность (%)
Полиморфизм C786T гена eNOS	70,8
Полиморфизм Lys198Ash гена END1	65,3
Полиморфизм T1565C (Leu33Pro) гена ITGB3	78,2
Полиморфизм C634G гена VEGFA	66,8
Полиморфизм A8202G гена MMP9	61,6
Полиморфизм G1691A гена F5	11,6
Полиморфизм G20210A гена F2	63,6
Полиморфизм A1298C гена MTHFR	100,0
Пол	42,5
Возраст	66,0
Эндотелин (1-21), фмоль/л	15,4
NO ₂ , мкмоль/л	1,1
NO ₃ , мкмоль/л	24,6
NO ₂ -/NO ₃ -мкмоль/л	21,2
MMP 9, нг/мл	63,2

Наименьший вклад в структуре нейронной сети имели следующие показатели: полиморфизм G1691A гена FV, эндотелин-1, NO₂. 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.

Процент неверных предсказаний в процессе обучения конечного многослойного персептрона составил 11,1 %. Применение многослойного персептрона позволило оценить комплексный вклад таких факторов 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.

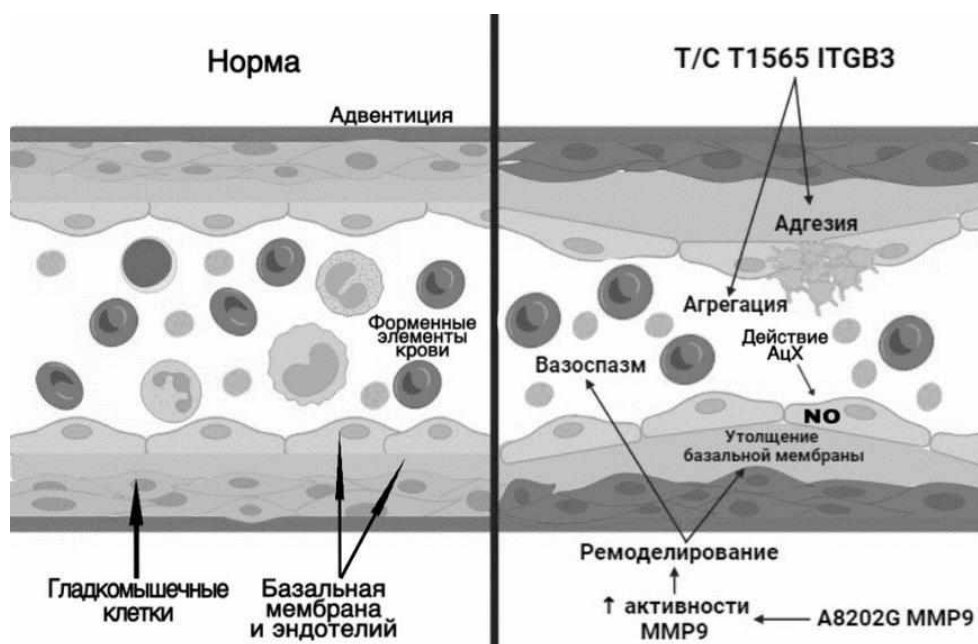


Схема 1. Механизм нарушения микроциркуляции при носительстве генотипа T/C полиморфизма T1565C гена ITGB3

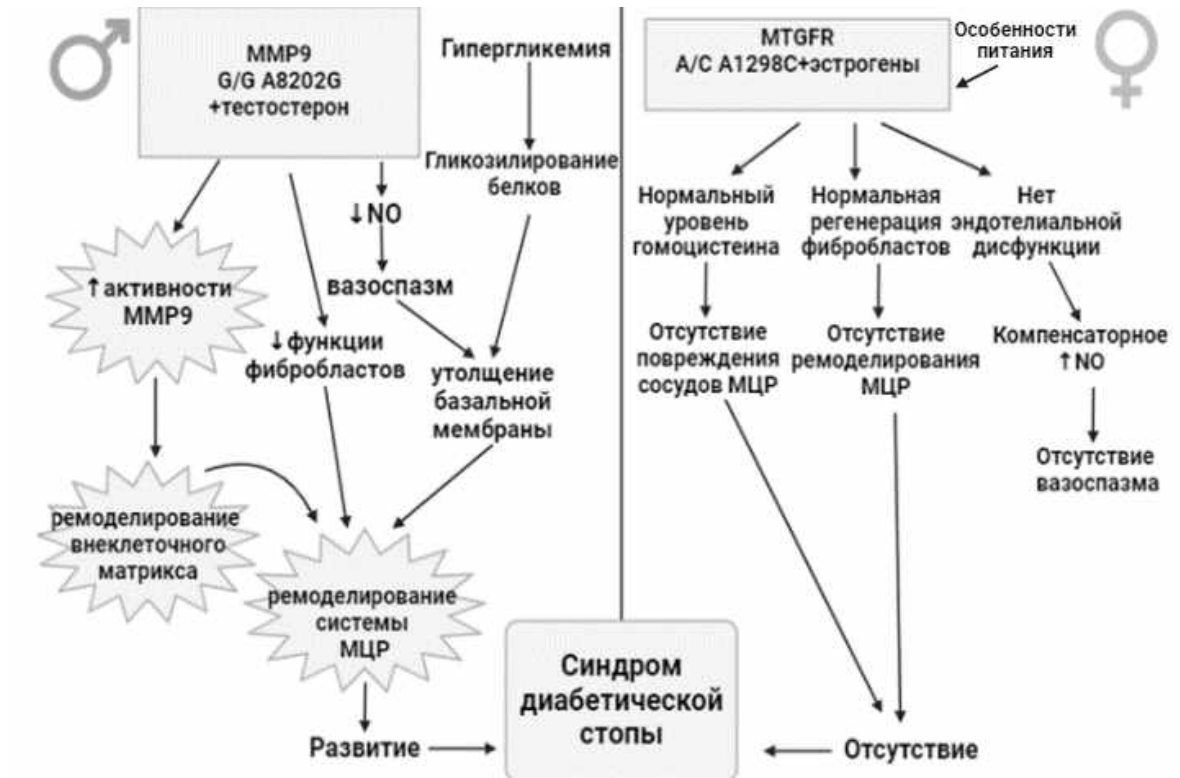


Схема 2. Влияние изучаемых полиморфизмов генов на патогенез нарушений микроциркуляции в зависимости от пола

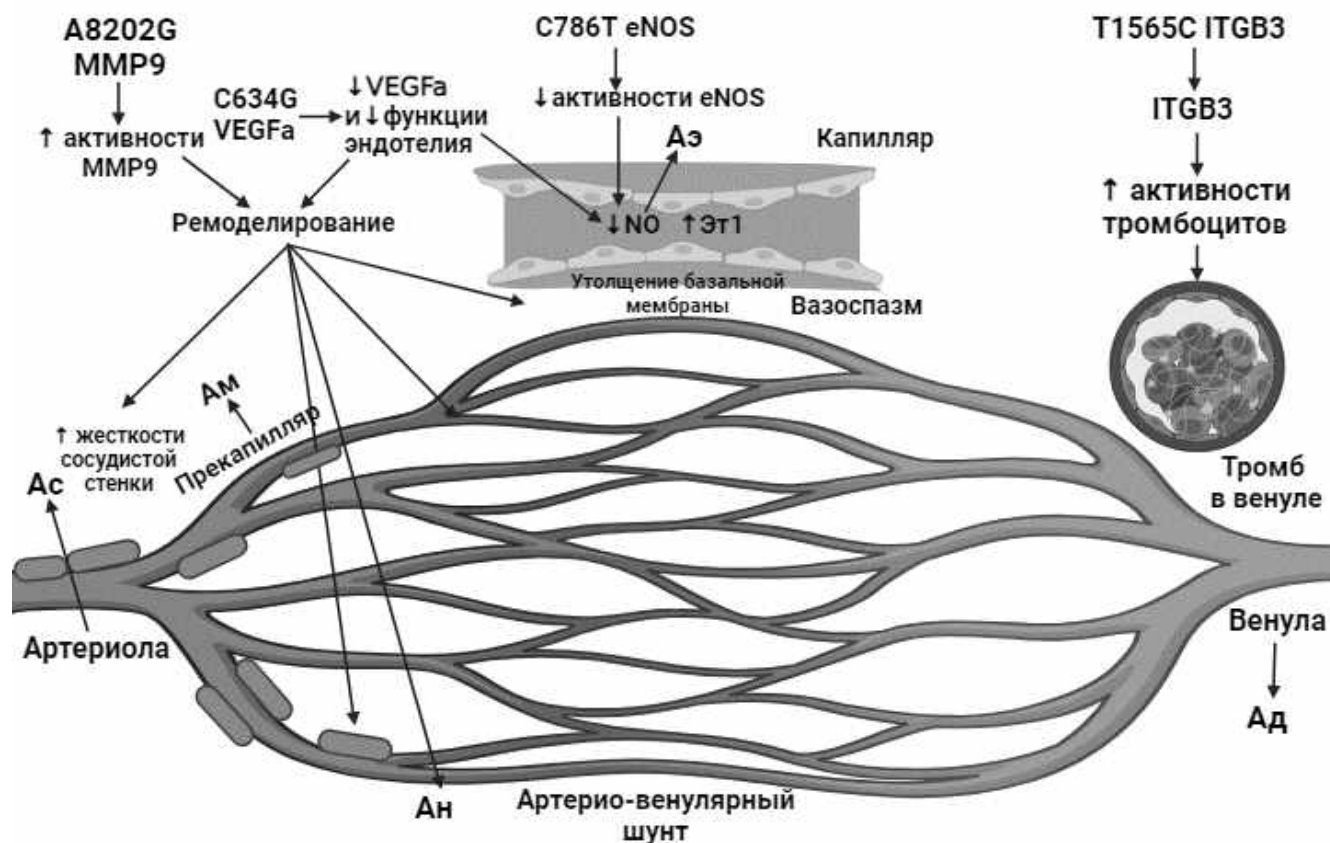


Схема 3. Влияние изучаемых полиморфизмов генов на патогенез нарушений микроциркуляции

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_3 и $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ 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 А8202G гена MMP9, у женщин носительство варианта генотипа А/С полиморфизма А1298С 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 А1298С 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 С634G гена VEGFA и А8202G 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 С786Т гена eNOS, а также обратная взаимосвязь уровня MMP9 с полиморфизмом А8202G гена MMP9.

6. Носительство сочетания вариантов генотипов Т/С полиморфизма Т1565С гена ITGB3 и А/А полиморфизма А1298С 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 С786Т гена eNOS, полиморфизм С634G гена VEGFA и возраст старше 66 лет.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ
Статьи, опубликованные в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК
Минобрнауки России

1. Дамдинов Р.И. Роль «белков старости» и маркеров дисфункции эндотелия в развитии синдрома диабетической стопы / Р.И. Дамдинов, К.Г. Шаповалов, Н.И. Троицкая. – DOI 10.29413/ABS.2021-6.3.8 // Acta biomedica scientifica. – 2021. – Т. 6, № 3. – С. 77–85. (Scopus)
2. 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. (Scopus)
3. Троицкая Н.И. Изменения состояния микроциркуляции при синдроме диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов // Сибирский медицинский журнал. – Иркутск. – 2016. – № 7. – С. 5–8. (Обзорная статья)
4. 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: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_32269214_25865304.pdf (дата обращения: 12.03.2024).
5. 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. 19, № 4. – С. 29–38.
6. Троицкая Н.И. Взаимосвязь полиморфизма генов синтазы 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.

7. Троицкая Н.И. Генетические предикторы развития синдрома диабетической стопы у мужчин и у 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: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_46661282_45470406.pdf (дата обращения: 12.03.2024 г.).

8. Троицкая Н.И. Амплитуда эндотелиальных колебаний микрокровотока при синдроме диабетической стопы у носителей разных полиморфных маркеров С786Т 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.

9. Троицкая Н.И. Молекулярно-генетические полиморфизмы С786Т гена eNOS и LYS198ASN гена END1 при синдроме диабетической стопы / 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.

10. 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. – DOI 10.24412/2687-0053-2022-4-35-40 // Медицина в Кузбассе. – 2022. – Т. 21, № 4. – С. 35–40.

11. 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. – Т. 21, № 4. – С. 60–64.

12. Троицкая Н.И. Полиморфизм С634G 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. – Т. 22, № 3. – С. 62–65.

13. 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.

Работы, опубликованные в других изданиях

14. 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. (Scopus)

15. 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. – Т. 173, № 4. – С. 422–425. (Scopus)

16. 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. 92–96. (Scopus)

17. Троицкая Н.И. Комплексный подход к прогнозированию развития синдрома диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. – DOI 10.33029/2308-1198-2022-10-2-46-53 // Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского. – 2022. – Т. 10, № 2. – С. 46–53. (Scopus)

18. Троицкая Н.И. Особенности изменений гемоциркуляции при развитии синдрома диабетической стопы / Н.И. Троицкая, Ю.А. Голятин, Ч.С. Шойхонов // Актуальные вопросы интенсивной терапии. – 2016. – № 33. – С. 58–59. (XIII

Всероссийский Байкальский Конгресс «Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии»).

19. Прогнозирование синдрома диабетической стопы / Н.И. Троицкая, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров, Ю.А. Голятин // Современные проблемы анестезиологии и реаниматологии. Всероссийская конференция : сборник научных трудов, г. Чита, 28-29 апреля 2021 г. / под общей редакцией К.Г. Шаповалова. – Чита : РИЦ ЧГМА, 2021. – С. 78–83. – 1 CD-ROM. – Загл. с титул. экрана. – ISBN 978-5-904934-33-0.

20. Троицкая Н.И. Корреляция полиморфизма A8202G гена MMP9 с уровнем матриксной металлопротеиназы 9 при различных вариантах течения сахарного диабета // Забайкальский медицинский журнал. – 2023. – № 1. – С. 9–11.

21. Троицкая Н.И. Взаимосвязь изменений микроциркуляции и полиморфизма T1565C гена-кандидата ITGB3 при синдроме диабетической стопы / Н.И. Троицкая // Межвузовский научный симпозиум с международным участием, посвященный 110-летию со дня рождения члена-корреспондента НАН Беларуси Н.И. Аринчина : сборник материалов, г. Гродно 28 февраля 2024 г. / редакционная коллегия: И.Г. Жук, С.Б. Вольф, В.В. Зинчук ; под редакцией В.В. Зинчука. – Гродно : ГрГМУ, 2024. – С. 291–294. – 1 CD-ROM. – Загл. с титул. экрана. – ISBN 978-985-595-872-8.

22. Troitskaya N. Relationship of gene polymorphisms markers of endothelial dysfunction with the level of the substances they encoded during the development of diabetic foot syndrome / N. Troitskaya. – DOI 10.34660/INF.2024.63.82.164 // Scientific research of the SCO countries: synergy and integration : proceedings of the International Conference : Reports in English, February 14, Beijing, PRC, 2024. – Beijing ; China, 2024. – P. 132–135.

Патенты на изобретения и полезные модели

23. Патент № 2683564 Российская Федерация, МПК А61В 5/0265 (2006.01). Способ прогнозирования развития синдрома диабетической стопы : № 2018125112 : заявл. 09.07.2018 : опубл. 28.03.2019 / Троицкая Н.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А., Голятин Ю.А. ; патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская

государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 8 с.

24. Патент № 2686951 Российская Федерация, МПК А61В 5/0265(2018.08). Способ прогнозирования развития диабетической стопы : № 2018111554 : заявл. 30.03.2018 : опубл. 06.05.2019 / Троицкая Н.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А., Голятин Ю.А. ; патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 7 с.

25. 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.

26. 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. – № 2020663970 ; дата поступления: 10.11.2020 ; дата государственной регистрации в реестре программ для ЭВМ 18.11.2020. – 1 с.

Список сокращений

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

ИЭМ – индекс эффективности микроциркуляции

ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия

МТ – миогенный тонус

НТ – нейрогенный тонус

ПМ – показатель микроциркуляции

пф.ед – перфузионные единицы

ПШ – показатель шунтирования

СІ – 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

ITGB3 – интегрин бета-3

Kv – коэффициент вариации

MMP – матриксная металлопротеиназа

MTHFR – метилентетрагидрофолатредуктаза

NO – оксид азота

NO₂ – нитрит азота

NO₃ – нитрат азота

NO₂/NO₃ – общий нитрат

NOS – синтаза оксида азота

SNP – точечные нуклеотидные полиморфизмы

σ – среднеквадратичное отклонение колебаний кровотока