На правах рукописи

**ЗАНОЗИНА ОЛЬГА ВЛАДИМИРОВНА**

**РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В РАЗВИТИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ ПОЗДНИХ ОСЛОЖНЕНИЙ**

**САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА.**

**ВОЗМОЖНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ.**

**14.01.04 - Внутренние болезни**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискании учёной степени**

**доктора медицинских наук**

**Нижний Новгород**

**2010**

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования « Нижегородская государственная медицинская академия»

Научные консультанты:

Доктор медицинских наук, профессор **Боровков Николай Николаевич**

****

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор **Стронгин Леонид Григорьевич**

Нижегородская государственная медицинская академия (г. Нижний Новгород)

Доктор медицинских наук **Недосугова Людмила Викторовна**

 ФППОВ ФГУ ВПО Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова

 (г. Москва)

Доктор медицинских наук, профессор **Тихазе Алла Карловна**

ФГУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс Росмедтехнологий» (Москва).

**Ведущая организация:** Московский государственный медико-стоматологический университет

Защита диссертации состоится « »\_\_\_\_\_\_\_\_\_2010г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.061.02 при Нижегородской государственной медицинской академии по адресу: 603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д.10 / 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Нижегородской государственной медицинской академии по адресу: 603146, г. Нижний Новгород, ул. Медицинская, д. 3а

Автореферат разослан « »\_\_\_\_\_\_\_\_2010г.

Учёный секретарь диссертационного совета

 кандидат медицинских наук Ю. А. Орлова

**ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

**Актуальность проблемы**

Сахарный диабет является (СД) одной из самых насущных проблем современности, учитывая прогрессирование распространённости патологии, тяжесть и полиорганность поражения, раннюю инвалидизацию и большую летальность вследствии прогрессирования макро и микроангиопатий (Дедов И. И., Шестакова М. В., 2010).

В настоящее время общепризнана роль хронической гипергликемии в развитии поздних осложнений СД. Гипергликемия натощак и в постпрандиальном периоде, а также острые колебания содержания глюкозы приводят к избыточному гликозилированию и активации окислительного стресса, что способствует развитию и прогрессированию осложнений сахарного диабета. (Аметов А.С. 2008,L.Monnier 2009, Zaccardi F. et al, 2009) Окислительному стрессу у больных сахарным диабетом 2 типа и его роли в генезе самого диабета и его поздних осложнений посвящены многочисленные исследования (Балаболкин М. И., 2000, 2004; Недосугова Л. В, 2006; Ланкин В. З., Тихазе А. К., Кумскова Е. М.., 2008,2009; Baynes J. W., 1991, 1996; RÖsen P. et al, .2001; Evans J. et al, 2002; Ceriello A., 1999,2000,2006,2008,2009;), тем не менее существует ряд нерешённых вопросов. Данные литературы об изменениях активности антиоксидантной системы и выраженности свободно-радикального окисления у больных СД 2 типа весьма противоречивы. До настоящего времени не существует единого мнения о терапевтической тактике ведения больных СД 2 типа с применением антиоксидантов с целью профилактики развития и прогрессирования диабетических осложнений и инсулиновой недостаточности. В то же время показана целесообразность использования антиоксидантов в лечении этих больных (Балаболкин М. И., Клебанова Е. М. 2004; Недосугова Л. В., 2006; Ланкин В. З., Тихазе А. К., Беленков Ю. Н. , 2006). Остаются не разработанными принципы дифференцированной антиоксидантной терапии в зависимости от выраженности осложнений, включая дозы препаратов и продолжительность курсов, не отслежено влияние антиоксидантной терапии на отдалённые результаты лечения больных.

Таким образом, вопрос о роли свободно-радикального окисления в развитии и прогрессировании поздних осложнений сахарного диабета остаётся принципиально важным для выработки тактики ведения пациентов, страдающим сахарным диабетом 2 типа. Решению данной проблемы посвящена настоящая работа.

**Цель исследования:**

Оценить роль окислительного стресса в развитии и прогрессировании поздних осложнений сахарного диабета 2 типа и уточнить возможности медикаментозной антиоксидантной терапии в коррекции этих осложнений.

**Задачи исследования:**

1. Комплексно оценить параметры окислительного стресса у больных сахарным диабетом 2 типа в зависимости от компенсации углеводного обмена, длительности заболевания, уточнить их взаимосвязь.
2. Изучить состояние липидного обмена и взаимосвязь его параметров с основными показателями свободно-радикального окисления у больных СД 2 типа.
3. Уточнить взаимосвязь окислительного стресса с тромбоцитарно-сосудистым и плазменным гемостазом, дисфункцией эндотелия у больных СД 2 типа.
4. Проанализировать взаимосвязь параметров окислительного стресса с морфо-функциональными и структурными характеристиками хронических осложнений у больных СД 2 типа (микро-и макроангиопатий, полиневропатии, жировым гепатозом).

5. Оценить возможности дифференцированной антиоксидантной терапии (альфа - липоевая кислота, мексидол, их комбинация, дибикор) в коррекции окислительного стресса у больных СД 2 типа.

6. Исследовать влияние различных антиоксидантов (альфа - липоевая кислота, мексидол и их комбинация) на функциональные возможности инсулярного аппарата, вариабельность гликемии в течение суток, выраженность инсулинорезистентности, дислипидемию, дисфункцию эндотелия и на коагуляционный (тромбоцитарно - сосудистый и плазменный) гемостаз непосредственно в ходе комплексного лечения больных СД 2 типа.

7. Оценить динамику состояния больных СД 2 типа и лабораторно – инструментальных показателей через 1 год и 5 лет с использованием антиоксидантов (альфа – липоевая кислота, мексидол, комбинация этих препаратов)

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Сахарный диабет тип 2 характеризуется резкой интенсификацией процессов свободнорадикального окисления, коррелирующей со степенью компенсации углеводного обмена, длительностью заболевания.
2. Достижение компенсации углеводного обмена у больных СД 2 типа сопровождается снижением активности окислительного стресса, однако только достижения компенсации углеводного обмена недостаточно для нормализации свободно-радикального окисления, тромбоцитарно-сосудистого и плазменного гемостаза, липидного спектра, функции эндотелия, предотвращения прогрессирования поздних осложнений СД 2 типа.
3. Окислительная модификация белков при СД 2 типа является связующим звеном между перекисным окислением липидов и эндотелиальной дисфункцией.
4. Подключение к базисной терапии больных СД 2 типа антиоксидантов приводит к статистически значимому ограничению свободно – радикального окисления и повышению антиоксидантной активности у больных СД 2 типа.
5. Добавление к базисной сахароснижающей терапии антиоксидантов способствует улучшению гликемического контроля, сохранению секреторных возможностей инсулярного аппарата, снижению инсулинорезистентности, уменьшению вариабельности гликемических колебаний в течении суток, уменьшению степени и скорости агрегации тромбоцитов, улучшению показателей, характеризующих плазменный гемостаз, липидный спектр, функцию эндотелия, вегетативную регуляцию сердца, электронейромиографических показателей у больных СД 2 типа, позволяет замедлить прогрессирование полиневропатии.

**Научная новизна исследования:**

Проведена комплексная оценка выраженности окислительного стресса у больных сахарным диабетом 2 типа в зависимости от длительности заболевания, компенсации углеводного обмена.

 Уточнена взаимосвязь составляющих окислительного стресса (молекулярных продуктов перекисного окисления липидов и ферментативной антиоксидантной защиты, спонтанной и индуцированной окислительной модификации белков, неферментативной антиоксидантной защиты).

Определена взаимосвязь отдельных составляющих СРО, ферментативной антиоксидантной защиты с уровнем метаболитов оксида азота в плазме крови, характеризующими эндотелиальную дисфункцию.

.Показана взаимосвязь окислительного стресса, антиоксидантной защиты с тромбоцитарно-сосудистым и плазменным гемостазом, выявлена статистически достоверная корреляционная взаимосвязь компонентов плазменного гемостаза и активности антиоксидантных ферментов.

Оценена взаимосвязь окислительного стресса с морфо-функциональными и структурными характеристиками микро - и макроангиопатий у больных СД 2 типа. Оценены возможности комплексной терапии больных СД 2 типа с подключением дифференцированной антиоксидантной терапии (альфа - липоевая кислота, мексидол, их комбинация, дибикор) в коррекции окислительного стресса.

Проведёна комплексная оценка динамики лабораторно – инструментальных показателей в процессе курса терапии, а также отдалённых результатов через 1 год и в через 5 лет лечения пациентов СД 2 типа с использованием антиоксидантов (альфа – липоевая кислота, мексидол, комбинация этих препаратов)

**Практическая значимость работы:**

Результаты исследования обосновывают целесообразность назначения антиоксидантных препаратов (альфа - липоевой кислоты, мексидола, комбинация альф-липоевой кислоты и мексидола) в качестве патогенетической терапии как самого сахарного диабета 2 типа целью сохранения секреторной активности бета-клетки, снижения инсулинорезистентности, уменьшения вариабельности гликемических колебаний, так и для профилактики и лечения хронических осложнений диабета.

С помощью двойного – слепого исследования обоснована эффективная доза мексидола и длительность курса его применения.

Для оценки выраженности свободно-радикального окисления у больных сахарным диабетом, комплексной диагностики декомпенсации сахарного диабета типа 2 предложено использовать метод клиновидной дегидратации (уведомление о поступлении и регистрации заявки от 08.06.2009 № 2009121919/ 15 (030335).

 Предложен метод диагностики ИБС у больных СД 2типа с помощью метода клиновидной дигидратации (уведомление о поступлении и регистрации заявки от 04.05.2009 № 2009116989/15 (023353).

Показан новый способ диагностики сахарного диабета (Заявка № 200910618/15 (008305). Решение о выдаче патента на изобретение от 09.06.2010.

Предложены лабораторные критерии, позволяющие в обычной клинической практике оценить интенсивность и направленность свободно-радикального окисления у больных СД 2типа в процессе лечения (отношение гаптоглобина к церулоплазмину, АЛАТ, Г Т, значение гематокрита)

Издано пособие для врачей « Окислительный стресс в развитии диабетической полинейропатии. Роль альфа-липоевой кислоты в коррекции нарушений», Н. Новгород, 2002г

Созданы методические рекомендации для врачей «Терапия метаболических нарушений у больных сахарным диабетом 2 типа пожилого возраста», Н. Новгород, 2004.

 Издано учебно- методическое пособие « Диабетическая нейропатия. Вопросы патогенеза и патогенетической терапии. Н. Новгород, 2006г.

**Реализации результатов исследования:**

Результаты исследования внедрены в практику работы нейроэндокринологического и хозрасчётного отделений Нижегородской областной клинической больницы им. Н. А. Семашко, эндокринологического отделения МЛПУ « Городская больница № 4» г. Нижнего Новгорода, терапевтического отделения МЛПУ « Городская больница № 3» г. Нижнего Новгорода, в учебный процесс кафедры госпитальной терапии им. В. Г. Вогралика Нижегородской государственной медицинской академии, в обучающий процесс терапевтов, эндокринологов, неврологов г. Нижнего Новгорода и области по системе телемедицина, создание программы « Виртуальный кабинет эндокринолога»

**Апробация работы:** Материалы и основные положения диссертации доложены на международной конференции в Эссене (1999); конференции молодых учёных Поволжья и Северного Кавказа (Н. Новгород, 2000), IV Всероссийском конгрессе эндокринологов (Санкт - Петерберг, 2001г), 3-ем и 4-ом Всероссийских диабетологических конгрессах (Москва 2004 , 2006 соответственно), конференции « Достижения и трудности современной кардиологии», посвящённой памяти профессора В. П. Померанцева и 35-летию кафедры госпитальной терапии № 1 лечебного факультета Московского государственного медико- стоматологического университета» (Москва, 2005), днях диабета в Приволжском федеральном округе (Н. Новгород, 2005, 2008, 2009),конференции « Артериальная гипертензия в практике врача терапевта, кардиолога, эндокринолога» (г. Москва, 2006г., 3-е место в конкурсе); очередном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2006, диплом II степени в номинации « Лучшая научно-исследовательская работа года); областной конференции, посвящённой проблемам изучения артериальной гипертензии (Н. Новгород, 2007), Всероссийской конференции с международным участием « Тромбозы, кровоточивость, ДВС-синдром: современные подходы к диагностике и лечению» (Москва, 2008, 2009г), Российской конференции « Артериальная гипертония: спорные и нерешённые вопросы»: посвящена 65 – летию Ярославской государственной медицинской академии и 110 – летию со дня рождения А. Л. Мясникова (Ярославль, 2009), совместном заседании проблемной комиссии « Внутренние болезни ….» и сотрудников кафедры госпитальной терапии им. В. Г. Вогралика (г. Нижний Новгород, 2009), Всероссийском конгрессе « Современные технологии в эндокринологии» (Москва, 2009), V Всероссийском диабетологическом конгрессе ( Москва, 2010), областной конференции врачей ( г.Нижний Новгород, 26-27 июня 2010).

**Публикации**

По теме диссертации опубликовано 64 печатных работ, в том числе 8 статей в журналах, включённых ВАК Минобрнауки России в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёных степеней доктора и кандидата медицинских наук».

Изданы 1 методические рекомендации для врачей , 2 пособия для врачей, оформлено 2 заявки на изобретение, получено 2 патента на изобретение.

**Структура и объём диссертации**

Диссертация изложена на 300 страницах машинописного текста. Она состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, девяти глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографии. Указатель литературы содержит 270 источников отечественных авторов и 333 - иностранных. Работа иллюстрирована 67 таблицами, 35 рисунками, 4 схемами.

**Личный вклад исследователя:** Исследователемлично проведено клиническое обследование и лечение пациентов, включённых в исследование, составление базы данных, статистическая обработка полученного материала.

**СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ:**

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.**

Работа выполнена на базе кафедры госпитальной терапии Нижегородской государственной медицинской академии, нейроэндокринологического отделения, отделения функциональной диагностики, отделения лабораторной диагностики Нижегородской областной клинической больницы им. Н. А. Семашко (гл. врач – к.м.н. Р.М.Зайцев). Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Нижегородской государственной медицинской академии (протокол № 4 от 09.04.2004 г.)

Исследование процессов свободно-радикального окисления проводилось на базе кафедры биологии Нижегородской государственной медицинской академии (зав. кафедрой – д.б.н., профессор Щербатюк Т. Г.)

Инфракрасный спектроскопический анализ выполнялся на кафедре общей химии Нижегородской государственной медицинской академии (зав. кафедрой – д.х.н., профессор Гордецов А.С.)

 Настоящее исследование основано на результатах наблюдений 276 пациентов, страдающих сахарным диабетом 2 типа (СД 2)

Диагноз СД 2 и степень компенсации углеводного обмена устанавливалась согласно рекомендациям ВОЗ (1999) и « Национальным стандартам оказания медицинской помощи больным сахарным диабетом » (2002).

В работе использована классификация степеней тяжести сахарного диабета СД 2 типа и поздних осложнений сахарного диабета, согласно «Национальным стандартам оказания медицинской помощи больным сахарным диабетом » (2002).

Для реализации поставленных задач работа осуществлялась в 4 этапа:

**I-этап**. Составление полной клинико-лабораторно - инструментальной характеристики больных СД типа 2 . Пациенты были разделены на 4 группы по степени компенсации углеводного обмена, длительности сахарного диабета 2 типа:

1 группа (n=64) – Компенсированный сахарный диабет, длительность заболевания менее 5 лет,

2 группа (n=48) – Компенсированный сахарный диабет, длительность заболевания более 5 лет,

3 группа(n=74) - Декомпенсированный сахарный диабет, длительность заболевания менее 5 лет

4 группа (n=90) - Декомпенсированный сахарный диабет, длительность заболевания более 5 лет

**II - этап.** Дополнительно к базисной терапии больным после 5- 7 дней нахождения в стационаре вводились антиоксидантные препараты:

А.альфа-липоевая кислота (n= 55)

Б. мексидол (n=84)

В. альфа-липоевая кислота и мексидол одновременно (n= 24)

Г. дибикор (n=20)

 Д. мексидол в дозе 100 мг (n=12)

 Е. плацебо ( n=10)

До и после лечения проводился клинико- лабораторно- инструментальный контроль.

**III этап.** Оценка отдалённых результатов лечения через 1 год у пациентов, получавших антиоксидантную терапию препаратами альфа-липоевой кислоты, мексидолом, комбинацией этих препаратов.

**IV этап**. Пятилетняя оценка отдалённых результатов в группах пациентов, получавших терапию препаратами альфа-липоевой кислоты, мексидолом, комбинацией этих двух препаратов.

Группу сравнения составили 20 пациентов, которые не получали указанной антиоксидантной терапии. Для получения параметров нормы группу контроля составили 22 пациента, не имеющие сахарного диабета, не отличающиеся от групп наблюдения по возрасту и полу.

Методика применения препаратов в условиях стационара проводилась следующим образом. Препарат альфа-липоевой кислоты [(Тиоктацид ( Щварц Фарма, Германия), Берлитион ( Берлин Хеми), Тиогамма ( Вёрваг Фарма )] вводился ежедневно в дозе 600 мг в вену капельно на 200 мл физиологического раствора натрия хлорида в течениe 2-х недель. В дальнейшем пациентам было рекомендовано принимать препарат в таблетированной форме по 600 мг в сутки в течение 2 месяцев, 2 курса в год.

Препарат мексидол (Фармасофт, Россия) вводился ежедневно в дозе 200 мг в вену капельно на 200 мл физиологического раствора натрия хлорида в течение 2-х недель. При выписке пациентам было рекомендовано принимать препарат в таблетированной форме в дозе по 0,125 мг в сутки 3 раза в день в течение 2 месяцев. Курсы – 2 раза в год. Кроме того, 12-ти больным препарат мексидол вводился ежедневно в дозе 100 мг в вену капельно на 200 мл физиологического раствора натрия хлорида в течение 2-х недель.

Препарат альфа-липоевой кислоты (Тиоктацид, Берлитион,Тиогамма) вводился ежедневно в дозе 600 мг в вену капельно на 200 мл физиологического раствора натрия хлорида в течении 2-х недель одновременно с препаратом мексидол в дозе 200 мг в вену капельно на 200 мл физиологического раствора натрия хлорида. В дальнейшем пациентам было рекомендовано принимать препарат альфа - липоевой кислоты в таблетированной форме по 600 мг в сутки и мексидол по 0,125 3 раза день в течение 2 месяцев, 2 курса к год.

 Десяти пациентам, вошедшим в группу плацебо, в течение 2-недель вводили 200 мл физиологического раствора натрия хлорида внутривенно капельно.

Дибикор ( Пик Фарма, Россия) применялся по 1 г в сутки ( 0,250 мг по 2 таблетки 2 раза в сутки) в течении 2,5 месяцев. В дальнейшем пациентам было рекомендовано принимать препарат по 1,0 г в сутки в течение 2-х месяцев, 2 курса в год.

Всем пациентам проводилось стандартное клиническое, лабораторное и инструментальное обследование. Клиническое обследование включало сбор жалоб, анамнеза заболевания, проведение объективного осмотра. Всем пациентам выполнены общий анализ крови, мочи, ЭКГ в 12 изменениях, проведён осмотр окулистом с для определения степени диабетической ретинопатии, неврологом для уточнения наличия диабетической полиневропатии и её выраженности.

 **У больных сахарным диабетом определяли:**

- показатели углеводного и липидного обмена

 - функциональные возможности инсулярного аппарата и чувствительность к инсулину

- выраженность окислительного стересса (молекулярные продукты перекисного окисления липидов, антиоксидантные ферменты и неферментативные антиоксиданты, окислительно-модифицированные белки)

- состояние тромбоцитарно-сосудистого и плазменного звеньев гемостаза,

- функциональное состояние эндотелия по уровню косвенных маркёров содержания оксида азота (NO) - нитритов и нитратов в сыворотке крови, наличию фактора фон Виллебранда, пробе с реактивной гиперемией

- маркёры воспаления (острофазовые белки), продукты переаминирования

( печёночные ферменты).

**Кроме того, с помощью электрофизиологических методов исследования**  **оценивали:**

Выраженность дистальной периферической полиневропатии, нарушения вегетативной регуляции сердца, цереброваскулярной недостаточности, состояние периферического кровотока в нижних конечностях, структурно-функциональное состояние сердечной мышцы.

 Уровень глюкозы определялся в капиллярной крови глюкозооксидазным методом на анализаторе « Биосен 5030», на глюкометрах « Акучек Актив», « Элите» натощак, через 2 часа после еды и выражался в ммоль/л.

Суточный мониторинг глюкозы выполнялся c помощью CGMS (Continuous Glucose Monitoring System)- системы, производимой компанией « Medtronic MiniMed( США)».

Гликозилированный гемоглобин HbA1c определялся на жидкостном хроматографе Bio-Rad со стандартными наборами (France).

Базальный уровень С- пептида и инсулина измерялся в плазме венозной крови, взятой утром натощак в иммуноферментной лаборатории НОКБ им. Н. А. Семашко на люминометре-фотометре LM01A (Чехословакия). Уровень С-пептида оценивали с помощью диагностических иммуноферментных тест-систем « Mercodia C-peptide ELISA specific».

Уровень инсулина определялся с помощью иммуноферментного анализа с использованием ИФА набора « INSULIN» (Diagnostic System Laboratories).

Функциональную активность β -клеток ( ФАБ) оценивали по формуле D.R.Matthews и соавт., 1985, где ФАБ= [ 20 х ИРИ ( мкЕД/мл) ] / [ гликемия натощак ( ммоль/л)-3,5]- (Matthews D.R., 1985).

Индекс инсулинорезистентности оценивали по Matthews D.., и соавт

[гликемия натощак( ммоль/л) х ИРИ ( мкЕД/ мл)]/ 22,5 (Matthews D.M., 1985).

Исследовался спектр жирных кислот в сыворотке крови с помощью газовой хроматографии. Общий анализ крови проводился на автоматическом анализаторе « ADVIA 60». Исследование липидного профиля, уровней аспартатаминотрасферазы (АСАТ), аланинаминотрансферазы (АЛАТ), мочевой кислоты, щелочной фосфатазы(ЩФ), глютатионтранспептидазы (ГТП) , фибриногена , церулоплазмина, гаптоглобина, С-реактивного белка оценивали проводили с помощью анализатора CONELAB 20 ( Finland)

Уровень микроальбуминурии определяли в суточной моче турбометрическим методом на автоматическом анализаторе « Chem Well» с использованием диагностического набора « Microalbumin», США. Норма- ниже 30 мг в сут.

 Исследование спонтанной агрегации тромбоцитов со статистической оценкой флуктуации светопропускания обогащённой тромбоцитами плазмы проводили по методике З. А. Габбасова и соавт., исследование индуцированной агрегации тромбоцитов проводили турбометрическим методом G. V.R.Born в модификации J.R.O' Brien на двухканальном лазерном анализаторе агрегации ( 230 LA, НПФ « Биола», РФ) с использованием в качестве индукторов динатриевой соли АДФ ( ООО « Технология-стандарт», РФ) в конечных концентрациях 0,5 х10-6 М, 2 х10-6 М, 5 х10-6 М. .Определялось содержание фактора фон Виллебранда на формалинизированных тромбоцитах. Проводилась комплексная оценка коагулограммы.

. Интенсивность (Imax), светосумма (S) и ОАА определялись методом индуцированной хемилюминесценции. Imax– максимальная интенсивность свечения, свидетельствуюшая о свободнорадикальноий активности, измеряемая в mV.,  S- светосумма в относительной степени отражает содержание радикалов, соответствующих обрыву цепи свободнорадикального окисления. Эта величина обратно пропорциональна антиоксидантной активности пробы. ОАА измерялась в относ.ед Молекулярные продукты ПОЛ плазмы крови (диеновые конъюгаты (ДК), триеновые конъюгаты (ТК), малоновый диальдегид ( МДА) определялись на аппарате Helios (Thermo Spectronic, USA). Измерялись в ед. опт.пл/ г ткани. Для определения окислительной модификации белков (ОМБ) был использован метод, предложенный Levine (1990) в модификации метода Е.Е. Дубининой (1995). Оценивали ОМБ по уровню карбонильных производных, выявляемых в реакции с 2,4 – динитрофенилгидразином: альдегид-динитрофенилгидразоны (АДФГ) и кетон-динитрофенилгидразоны (КДФГ) Спонтанную и металл-зависимуюиндуцированную (индуцированную) окислительную модификацию белков анализировали одновременно. Оптическая плотность образовавшихся соединений регистрировалась при длинах волн 270 и 363 нм, измерение проводилось в относ ед. Для расчёта применялся коэффициент молярной экстинкции 22х 10 -3 М-1 см-1.

Для определения активности супероксиддисмутазы (СОД) использовался метод, разработан Nishicimi (1972), в адаптации Дубининой Е. Е. и др. (1988). Для определения активности каталазы (КАТ) использовался метод, разработанный Aebi (1970), в адаптации Королюк и др. (1988), Чевари и др. (1991). Определение активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы проводили по методике А.Г. Гаврилова (1986). Активность выражали в ед. активности на мг гемоглобина в минуту (ед. акт./мг Hb мин)

Для определения оксида азота в плазме крови нами использована методика определения NO по восстановление нитрата до нитрита по реакции Грисса (Green L. S et al., 1982). Концентрация NO выражалась в мкг/мл.

В данной работе для оценки выраженности окислительного стресса был использован метод клиновидной дегидратации (Шабалин В. Н., Шатохина С. Н. 1996,1999) позволяющий оценить структурные изменения сыворотки крови и сделать выводы о процессах, протекающих во всём организме: Под микроскопом изучались микроструктуры (фации) высушенной в течение 24 часов сыворотки крови больных СД. Оценивали наличие патологических структур, характеризующих острые и хронические воспалительные процессы (языковые микроструктуры), процессы склерозирования (листовидные структуры), напряжённости адаптационных механизмов гомеостаза (трещины « закрутки»), а также морщины, конкреции, прозрачность и подложку (Шабалин В. Н., Шатохина С. Н., 1999, 2000,2001). Для характеристики выраженности патологических процессов использовалась бальная оценка от 1 до 3-х (Щербатюк Т.Г, 2008). Проводилось фотографирование фаций с помощью микроскопа Leica DMLS и CCD- камеры Digital KOCOM, соединённой с компьютером Pentium III .Использовали увеличения в 25 раз.

С целью разработки новых методов диагностики сахарного диабета и окислительного стресса нами был использован метод инфракрасной спектроскопии, разработанный проф. А. С. Гордецовым (Нижегородская медицинская академия). Метод официально рекомендован Минздравом ЗФ (04/2001) для дифференциальной диагностики различных заболеваний. Изучалась суспензия высушенной в течение 24 часов и размельчённой сыворотки больного. Исследования выполнялись на инфракрасных - спектрометрах «Specord 75 IR»(Carl Ceiss Jena) с фотометрической погрешностью 0,2%. Инфракрасный спектроскопический анализ выполнялся в области 1200-1000 см -1. Результаты обрабатывались с помощью уникальных авторских программ. Определялись высоты пиков поглощения на наиболее информативных частотах, которые впоследствии преобразовывались в координаты трёхмерного пространства. При проекции этих точек на переднюю зрительную поверхность получалась фигура в виде многогранника, которую называют «компьютерным образом болезни».

Компьютерный анализ вариабельности ритма сердца осуществлялся при помощи прибора и программы « Полиспектр» (« Нейрософт», РФ). Осуществлялась оценка статистических показателей временного анализа, рекомендованных Европейским обществом кардиологии и Североамериканского общества стимуляции и электрофизиологии (Heart rate variability.). Проводилось суточное ЭКГ – мониторирование с определением суточной вариабельности сердечного ритма (ВСР) с использованием системы холтеровского мониторирования « Астрокард» (Россия). Показатели ВСР оценивались во временных (SDNN- стандартное отклонение величин интервалов NN за весь рассматриваемый период, SDANN- стандартное отклонение величин усреднённых интервалов NN, полученных на все 5-ти минутные участки регистрации,SDNNi – среднее значение стандартных отклонений по всем 5-минутным участкам периода наблюдения, pNN50 – количество пар последовательных интервалов NN, различающееся более, чем на 50 миллисекунд, полученное за весь период записи ) – и частотных областях (TotP – полный спектр частот,ULF – ультранизкие частоты<0,003 Гц,VLF – очень низкие частоты от 0,15 до 0,04 Гц, LF – низкие частоты от 0,04 до 0,150 Гц, HF – высокие частоты от 0,150 до 0,400 Гц, L/H – коэффициент вагосимпатического баланса)

Исследование анатомических характеристик, контрактильной и насосной функции ЛЖ сердца оценивали с помощью эходопплерокардиографии (ЭХО-КГ) на аппарате « ALOKA SSD-4000 - ProSound» (Япония) ультразвуковым датчиком 3,5 МГц в М-модальном и двухмерном режимах в стандартных ЭхоКГ позициях. Систолическая функция левого желудочка оценивалась по фракции выброса (ФВ), фракционной сократимости (ФС). Для изучения диастолической дисфункции измерялись следующие скоростные и временные показатели:E- максимальная скорость раннего диастолического наполнения левого желудочка (м/с), А- максимальная скорость позднего диастолического наполнения ( м/c), Их отношение – E/А. Норма составляет 1,0 – 1,2. Оценивали DTe – время замедления раннего диастолического наполнения (мсек) и IVRT - время изоволюметрического расслабления (мсек)

 Изучали гемодинамику в магистральных артериях головы, экстра – и интракраниальных отделах методом ультразвуковой допплерографии с помощью аппаратов « Ангиодин» и « Премьер» (фирма БИОСС, Москва, Россия)в волновом допплеровским режиме датчиком 4 МГц с использованием переднее – шейного доступа. Исследование проводилось после 5 – минутной адаптации обследуемого. Качественную оценку допплерограмм кровотока осуществляли визуально по характеру огибающей кривой и концентрации частот вблизи максимума. Количественный анализ спектра допплеровского сдвига часто проводили путём компьютерной обработки на экране ультразвуковой системы и с помощью расчёта характеристик сосудистого допплеровского исследования . ( Куликов В. П., 1997). К последним относились следующие параметры линейной скорости кровотока, определённые по огибающей кривой: S- максимальная ( пиковая) систолическая , M- средневзвешанная во времени линейная скорость кровотока, D- конечная ( пиковая ) диастолическая скорость кровотока, PI – пульсативный индекс Gosling - отношение между разностью систолической и диастолической скоростей (от пика до пика) и средней скоростью,RI – резистивный индекс или индекс циркуляторного сопротивления Pourcelot **-** отношение между разностью систолической и диастолической скоростей (от пика до пика) к систолической скорости,S/D – - отношение между максимальными значениями систолической и диастолической скоростей, характеризующее сосудистую эластичностьSB- отношение между средней арифметической систолической скоростью ( частотой), замеренной на вершине систолического пика и максимальной систолической скоростью. Оценивали толщину интима - медиа (ТИМ). Кроме того, в работе нами был использован метод транскраниальной допплерографии (ТКДГ), проводился часовой мониторинг.

 Оценка эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) проводилась с помощью механического теста (манжеточной пробы) – временной окклюзии сосуда с последующим измерением поток-зависимой реакцией его на ишемию. Использовали дуплексное сканирование плечевой артерии по методике D.Celermajer с соавт., 1992 (Кунцевич Г. И., 2006) на ультразвуковом сканере « ALOKA 4000» (Япония) c помощью ультразвукового линейного датчика частотой 7,5 МГц. В манжете создавали давление, превышающее систолическое артериальное давление в плечевой артерии на 50 мм. рт. ст. Компрессию сохраняли в течение 5 мин, затем проводили быструю декомпрессию. В ходе исследования диаметр плечевой артерии измеряли: в покое, через 4,5 мин после наложения манжеты на область плеча в пробе с реактивной ни гиперемией, через 30 с, 60 с, 90 с после декомпрессии. Усреднённую за цикл скорость кровотока оценивают в покое и сразу после декомпрессии. Измерение диаметра просвета артерии проводили с использованием двух точек: одной - на границе адвентиция-медиа передней стенки артерии, другой - на границе медиа-адвентиция задней стенки. Диаметром плечевой артерии считали среднюю величину, вычисленную по трём сердечным циклам. В ходе исследования диаметр плечевой артерии измеряли в покое (0), через 4.5 мин наложения манжеты, через 30 секунд, 60 секунд, 90 секунд после декомпрессии в миллиметрах (мм). Поток-зависимую дилатацию как характеристику эндотелий - зависимого ответа рассчитывали как отношение изменения диаметра плечевой артерии в течение реактивной гиперемии к диаметру артерии в покое, выраженному в процентах к исходному диаметру. За норму принимали значение, равное 10±3,3 % (Celermajer D.S. et al 1993).

Электронейромиография (ЭНМГ)осуществлялась на аппарате « MBN-нейромиограф» ( Россия) при помощи стимулирующего поверхностного пластинчатого электрода ( катод-дистально, анод-проксимально), а отведение -стандартным набором монополярных, пластинчатых электродов диаметром 5 мм. Исследовались моторные порции малоберцовых нервов с определением амплитуды М-ответа, латентности М-ответа, площади М-ответа, скорости распространения волны (СРВ)

Полученные в ходе исследования результаты обрабатывались статистически общепринятыми методами статистики на компьютере IBM PC при помощи пакета прикладных программ для обработки медицинской и биологической информации « STATISTICA 6.0» (StatSoft,Inc.,США). Осуществлялось определение средней (М), стандартного отклонения (SD). Характер распределения определялся при помощи критериев Шапиро - Вилко и Колмогорова – Смирнова. Параметрические данные описывались в виде средней (М) и стандартного отклонения (SD)в формате М ± SD. Непараметрические данные описывались в виде медианы, нижнего квартиля (25 процентиль) и верхнего квартиля (75 процентиль) в формате (Мe [25p;75p]). При нормальном распределении переменных для определения различий между двумя зависимыми и независимыми группами использовался парный и непарный t-критерий Стьюдента, а при непараметрическом - критерий Вилкоксона и Манна-Уитни соответственно. В случае множественных сравнений проводили попарное сравнение групп с использованием непараметрического теста Манна Уитни, применяя поправку Бонферрони при оценке значения р. (пересчёт уровня значимости для множественных сравнений по формуле po/ n, где po- 0,005, а -n – часло парных сравнений. Для оценки статистической значимости наблюдаемых различий 3 связанных (зависимых) групп и более на разных этапах динамического наблюдения при распределении, отличном от нормального, использовался непараметрический метод Фридмана с вычислением коэффициента конкордации Кендалла.

 Различие между долями оценивали при помощи критерия χ² в таблицах сопряжённости. Сравнение относительных частот внутри одной группы проводили с использованием двустороннего критерия статистической значимости. При описании связанных групп исследований до и после воздействия применялся МакНемара χ². Для анализа взаимосвязи двух признаков использовали корреляционный анализ по Пирсону (для параметрических критериев) и по Спирмену (для непараметрических критериев) с обязательным визуальным контролем диаграмм рассеяния. При изучении связи нескольких признаков применялась корреляционная матрица. Использовалась следующая классификация силы корреляции в зависимости от значения коэффициента корреляции r : при величине r \_< 0,25- слабая корреляция, при 0,25<r<0,75- умеренная корреляция, а при r>\_0,75- сильная корреляция. Корреляции считалась значимой при p<0,05. В ходе исследования проводили проверку статистических гипотез о равенстве коэффициентов корреляции, полученных в разных группах объектов исследования. Для отбора наиболее значимых независимых переменных при нормальном распределении признаков применяли метод множественной пошаговой линейной регрессии (Реброва О. Ю., 2006)

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ и ОБСУЖДЕНИЕ.**

Ниже представлена общая клиническая характеристика больных (табл.1)

**Таблица 1**

Общая клиническая характеристика больных.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатель | Компенсир-ныйСД тип 2до5 лет, человек % (n=64)**1 группа** | Компенсир-ныйСД тип 2более 5 лет(n=48)**2 группа** | Декомпенсир-ныйСД тип 2до5 лет(n=74)**3 группа** | Декомпенс-ныйСД тип 2более5 лет(n=90)**4 группа** |
| Возраст, лет | 55[50;62] | 58,5[56;64] | 55[50;63] | 58[54;65] |
| ДлительностьССД типа 2, лет | 4,05 ±1,87p1-3=0,74 | 10,07± 1,28р2-4 = 0,68 | 4,01±1,64 | 9,8 ± 2,27 |
| HbA1c,% | 6,29±0,63p1-2=0, 86 | 6,25[5,3;6,0] | 8[7,2;9]P3-4=0, 86 | 8,56±1,27 |
| Средняя cт. тяжести, чел-к | 55 (85,9%) | 32 (66,7%) | 65 (87,8 %) | 55(61,1%) |
| Тяжёлый СД, человек | 9 (14,1%) | 16(33,3%) | 9 (12,2%) | 35(38,9%) |
| Диабет-кая ретинопатия, всегочеловекI стIIстIII ст | 25 (39%)25 (39%)00 | 33 (68,8%)22 (45,8%)9 (18,8%)2 (4,2%) | 45(60,8%)34 (45,9%)8(10,8%)3(4,05) | 68(75,5 %)48 (53,3%)14 (15,6%)6 (6,6%) |
| Диабет-кая нейропатия, всего человек | 48 (75%) | 42 (87,5 %) | 63 ( 85,1%) | 89 (98,9%) |
| Диабет-кая нефропатия, всего человекI стII стIII ст | 24 (37,5%)24(37,5%)00 | 27 (56,25%)21(43,75%)6 (12,5%)0 | 40 (54,05%)36 (48,65%)4 (5,40%)0 | 66 (73,3%)46 (51,1%)16 (17,8%)4 (4,4%) |
| ИБС( стенокардия напряжения), всего человекII КФК.III КФК. | 18 (28,13%)18 (28,13%)0 | 26 (54,2%)25 (52,08)1(2,12%) | 28 (37,83%)24 (32,43%)4 (5,40%) | 46 (51,11 %)40 (44,44%)6(6,67%) |
| ОИМ в анамнезе, всегочеловек | 0 | 1 (2,08%) | 7 (9,46%) | 9 (10%) |
| ДЭ, всего человек | 10(15,62%) | 12 (25 %) | 18 (24,3%) | 28 (31,1%) |
| ОНМК в анамнезе, всегочеловек | 2 (3,12%) | 2 (4,16%) | 3(4,05%) | 5 ( 5,55%) |
| ХОЗАНК, всегочеловек | 4 (6,25 %) | 7 (14,58%) | 11 (14,87%) | 16 (17,77%) |
| Диабетическая стопа, всего, человек | 0 | 2 (4,27%) | 4 (5,41%) | 9 (10%) |
| Жировой гепатоз, всего | 26 (40,62%) | 27 (56,25%) | 46 (62,16) | 63 (70%) |
| АГ, всего человек | 42 (65,62%) | 40(83,3%) | 62(83,7%) | 79(87,77%) |

Все группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Группы 1 и 2, а также 3 и 4 были сопоставимы по уровню гликозилированного гемоглобина. Группы 1 и 3, а также 2 и 4 были сопоставимы по длительности заболевания.

С увеличением длительности сахарного диабета при наличии хорошего гликемического контроля (группы 1-2) увеличивалась и частота развития ретинопатии, (χ²= 3,02, p=0,08), полиневропатии (χ²= 4,16,p=0,04), нефропатии (χ²= 5,46, p=0,01), ИБС (χ²= 15,21, p<0,001), ДЭ (χ²= 13,32, p<0,001), поражений сосудов нижних конечностей (χ²= 14,17, p<0,001), а также артериальной гипертензии (χ²= 5,09, p=0,02) и жирового гепатоза (χ²= 14,24, p=0,0002).

При небольшой длительности заболевания у больных с плохим гликемическим контролем (группы по сравнению с пациентами с компенсированным углеводным обменом статистически значимо чаще развивалась нефропатия (χ²= 14,24, p=0,02), полиневропатия (χ²= 6,42, p=0,01), ИБС (стенокардия напряжения) (χ²= 13,32, p<0,001), ХОЗАНК (χ²= 16,05, p<0,001).

Сравнительный анализ встречаемости диабетической ретинопатии (39%), нефропатии (37,5%), ИБС (стенокардии напряжения) (28,13%) при компенсированном СД 2 типа продолжительностью менее 5 лет не выявил статистически значимых различий между ними (p > 0, 05), подтверждая одновременность их возникновения, что согласуется с литературными данными (Богданова А. А., 2007). Следует заметить, что у пациентов данной группы не было статистически значимых различий в частоте встречаемости жирового гепатоза и диабетической ретинопатии ( p= 0,90), жирового гепатоза и диабетической нефропатии (р=0,73), жирового гепатоза и ИБС ( стенокардии напряжения) ( р=0,12). Эти данные позволяют предположить патогенетическую общность микро- и макроангиопатий и жирового гепатоза, которая формируется у больных СД 2 типа при небольшой длительности заболевания и при компенсированном на данный момент углеводном обмене. При увеличении длительности сахарного диабета при сохранении компенсации углеводного обмена также отсутствую различия в частоте встречаемости ретинопатии и нефропатии (р=0,19), нефропатии и ИБС (р=0,84), исчезают различия в частоте встречаемости ХОЗАНК и ДЭ ( р=0,22). В этой группе также не было статистически значимых различий между относительной частотой встречаемости жирового гепатоза и диабетической ретинопатии ( p= 0,19), жирового гепатоза и диабетической нефропатии ( р=1,00), жирового гепатоза и ИБС (стенокардии напряжения) ( р=0,844). Таким образом, при увеличении длительности диабета прогрессируют микро и макроангиопатий, вероятно, за счёт гликозилирования и повышения активности окислительного стресса.

С целью уточнения механизмов возникновения и прогрессирования поздних осложнений СД 2 типа нами проведён **анализ выраженности перекисного окисления липидов у пациентов, страдающих СД 2 типа, с различной степенью компенсацией углеводного обмена при различной длительности заболевания.** Нами показаночто активация свободно-радикального окисления статистически значимо по сравнению с контролемприсутствует даже при компенсированном недлительно текущем СД 2: интенсивность свободно-радикального окисления по сравнению с контролем была увеличена на 27%., а антиоксидантная активность снижена на 32 %. При увеличении длительности заболевания, а также при декомпенсации углеводного обмена происходит дальнейшее, статистически значимое нарастание интенсивности свободно радикального окисления и снижение общей антиоксидантной активности ( Рис. 1а, 1б)



А) Б)

Рисунок 1

А.. Интенсивность свободно-радикального окисления у больных СД 2 типа в зависимости от компенсации углеводного обмена и длительности заболевания.

Б) Общая антиоксидантная активность у больных СД 2 типа в зависимости от компенсации углеводного обмена и длительности заболевания

Примечание:

И1- интенсивность СРО в 1-ой группе, ОАА 1- общая антиоксидантная активность в 1-ой групппе

И2 – интенсивность СРО во 2-ой группе, ОАА 2- общая антиоксидантная активность в 2-ой групппе

И3 – интенсивность СРО в 3 –ей группе, ОАА 3- общая антиоксидантная активность в 3-ей групппе

И4 – интенсивность СРО в 4-0й группе, ОАА 4- общая антиоксидантная активность в 4-0й групппе

 р1-2 =0,001,

Р1-3 <0,001 р1-2 =0,09

 Р2-4<0,001 Р1-3<0,001

 Р3-4<0,001 P2-4<0,001

 p3-4 =0,84

Содержание ДК, ТК, МДА у больных сахарным диабетом 2 типа (1 группа) превышало содержание аналогичных показателей у пациентов из группы контроля на 51%, 73,3%, 64% соответственно. При увеличении длительности СД, в период декоменсации углеводного обмена имело место статистически значимое прогрессирующее первичных и промежуточных продуктов пероксидации, достигая своего апогея при длительно текущем декомпенсированном сахарном диабете. Активность антиоксидантных ферментов достоверно снижалась с течением длительности заболевания, а также при декомпенсации углеводного обмена, вероятно, вследствие гликозилирования (табл. 2, Рис.2а, б)

**Таблица2**

**Молекулярные продукты перекисного окисления липидов и антиоксидантные ферменты у больных СД 2 типа (М ± SD)**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Пока-затель | Компенси-рованный СД 2 тип до 5 летГруппа 1 (1)( n= 28) | Компенси-рованный СД 2 тип более 5 летГруппа 2 (2)( n= 22) | Декомпенси-рованный СД 2 тип до 5 летГруппа 3 (3)( n= 36) | Декомпенси-рованный СД 2 тип более 5 летГруппа 4 (4)( n= 42) | Контроль( n=12) |
| ДК, ед. опт.пл/ г ткани.  | 0,027 ±0,004P1-2 =0,002P1-3 <0,001P1-4 <0,001 | 0,038 ± 0,012P2-1= 0,002P2-3 =0,41P2-4 =0,199 | 0,041±0,011P3-1 <0,001P3-2 =0,41P3-4 =0,56 | 0,044±0,013P4-1 <0,001P4-2 =0,199P4-3 =0,56 | 0,013±0,007Pк – 1=0,032Р к – 2<0,001Р к – 3<0,001Р к - 4<0,001 |
| ТК,ед. опт.пл/ г ткани.  | 0,031±0,007P1-2 =0,311P1-3 =0,005P1-4 <0,001 | 0,042± 0,011P2-1= 0,311P2-3 =0,462P2-4 =0,199 | 0,047 ±0,012P3-1 =0,005P3-2 =0,462P3-4 =0,560 | 0,055±0,004P4-1 <0,001P4-2 =0,199P4-3 =0,56 | 0,008±0,003Pк – 1=0,027Р к – 2<0,001Р к – 3<0,001Р к - 4<0,001 |
| МДА,ед. опт.пл/ г ткани.  | 2,46±0,541P1-2 <0,001P1-3 <0,001P1-4 <0,001 | 4,43±0,468P2-1<0,001P2-3 =0,253P2-4 =0,001 | 4,839±1,208P3-1 <0,001P3-2 =0,253P3-4 =0,034 | 5,98±0,487P4-1 <0,001P4-2 =0,001P4-3 =0,034 | 0,173± 0,050Pк – 1=0,006Р к – 2<0,001Р к – 3<0,001Р к - 4<0,001 |
| СОД,ед. акт./мг Hb мин | 64,92±8,02P1-2 =0,003P1-3 =0,001P1-4 <0,001 | 51,92±12,25P2-1=0,003P2-3 =0,573P2-4 =0,018 | 49,01±14,48P3-1 =0,001P3-2 =0,573P3-4 =0,128 | 42,14± 7,54 P4-1 <0,001P4-2 =0,018P4-3 =0,128 | 86,43± 4,491Pк – 1=0,041Р к – 2=0,032Р к – 3<0,001Р к - 4<0,001 |
| КАТ,ед. акт./мг Hb мин | 0,125±0,019P1-2 =0,166P1-3 =0,022P1-4 <0,001 | 0,20±0,021P2-1= 0,166P2-3 =0,358P2-4 =0,020 | 0,152±0,036P3-1 =0,022P3-2 =0,358P3-4 <0,001 | 0,065±0,026P4-1 <0,001P4-2 =0,02P4-3 <0,001 | 0,112±0,024Pк – 1=0,473Р к – 2 =0,052Р к – 3 = 0,624Р к – 4 = 0,032 |

Примечание: ДК – диеновые конъюгаты

 ТК – триеновые конъюгаты

 МДА - малоновый диальдегид

 СОД – супероксиддисмутаза

 КАТ - каталаза

 

 Рисунок 2а. Содержание молекулярных продуктов ПОЛ в различных группах



Рисунок 2б. Содержание антиоксидантных ферментов у больных СД 2 типа в различных группах

Примечание: ДК – диеновые конъюгаты в 1-4 группах

 ТК – триеновые конъюгаты в 1-4 группах

 МДА - малоновый диальдегид в 1-4 группах

 СОД – супероксиддисмутаза в 1-4 группах

 КАТ – каталаза 1- 4 группах

Интенсивность свободно-радикального окисления у больных СД 2 типа определась степенью компенсации углеводного обмена (r=0,41,p<0,01), длительностью заболевания (r=0,20,p=0,048).

Доказано, что наличие дефицита активности антиоксидантных ферментов является одной из важных причин развития окислительного стресса (Lankin V., Tikhaze A.,2003), компенсация углеводного обмена у больных сахарным диабетом 2 типа сопровождается безусловным снижением интенсивности свободнорадикальных процессов (Недосугова Л. В., 2006). По нашим данным, при недлительно текущем СД 2 при достижении компенсации углеводного обмена происходит достоверное снижение содержания молекулярных продуктов перекисного окисления липидов( ДК на 35%, ТК – на 14,69%, МДА – на 49,1%. Одновременно происходит повышение содержание супероксиддисмутазы на 80,5% (p<0,001) При улучшении гликемического контроля у больных с длительно текущим сахарным диабетом 2 типа имеет место снижение уровня ДК на 8,1%, ТК – на 18,5%, МДА – на 28,6%. Активность СОД повышается на 21,8 %.

 Несмотря на снижение молекулярных продуктов ПОЛ и увеличение активности антиоксидантных ферментов при улучшении гликемических показателей окислительный стресс не редуцируется полностью: по сравнению с контролем уровень ДК повышен на 51,8% (p=0,032), МДА - на 29,6 % (p =0,006), активность СОД снижена на 33,1 % (p=0,041), что требует дополнительного терапевтического воздействия с целью коррекции выраженности свободно-радикального окисления и восстановления равновесия между генерацией свободных радикалов и антиоксидантной защитой.

 Нами проведён **анализ выраженности окислительной модификации белков у пациентов с различной компенсацией углеводного обмена при различной длительности заболевания.** Окислительная модификация белков признаётся в настоящее время одним из ранних, но наиболее надёжных индикаторов поражений ткани при свободно-радикальном окислении (Губский Ю. И. и соавт., 2005г, Е. Е. Дубинина Е. Е., 2008). Нами отмечено, что по сравнению с контролем у пациентов, недлительно страдающих СД 2 типа и в настоящий момент имеющих компенсацию углеводного обмена, статистически значимо повышено содержание ранних маркёров окислительной деструкции белка как в покое (АДФГ с) - на 33% (p= 0,001), так и индуцированных (АДФГи) на 75 %(p=0,0186). У пациентов, имеющих СД 2 менее 5 лет, содержание поздних маркёров окислительной деструкции белка (КДФГ) даже в покое превышает таковую у группы сравнения на 80%, а при индукции возрастает в 2 раза. При увеличении длительности заболевания, декомпенсации обмена происходит достоверное прогрессивное увеличение содержания окисленно модифицированных белков, особенно поздних маркёров окислительной деструкции ( табл. 3,Рис. 3а, б)

**Таблица 3**.

**Содержание ОМБ у больных СД 2 типа в различных группах.**

**(Мe [25p;75p]); (М ± SD)**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Показатель** | **1****( n= 14)** | **2****( n=14 )** | **3****( n=14 )** | **4****( n=14 )** | **Контроль****( n=11)** | **P** **Контроль и группы** |
| АДФГ с, относ ед | 0,0004[0,0004;0,0004],p1-2=0,158**p1-3=0,034****p1-4=0,021** | 0,0005[0,0004;0006]p2-1=0,158p2-3=0,743p2-4=0,33 | 0,0005[0,0005;0,0006]**p3-1=0,034**p3-2=0,743p3-4=0,138 | 0,0005[0,00046;0,001]**p4 -1=0,021**p4-2=0,33p4 -3=0,148 | 0,0003[0,0002;0,0003] |  **Рк-1=0,001****рк-2=0,018****Рк-3<0,001****рк-4=0,003** |
| АДФГ и, относ ед | 0,0007 [0,0006;0,0007]p1-2=0,844p1-3=0,613p1-4=0,638 | 0,001[0,0009;0,001]p2-1=0,844p2-3=0,688p2-4=0,721 | 0,001[0,0007;0,0014]p3-1=0,613p3-2=0,688p3-4=0,991 | 0,0009[0,0008;0,0012]p4 -1=0,638p4-2=0,721p4 -3=0,991 | 0,0004[0,0003;0,0008] | **рк-1=0,0186****рк-2=0,023****Рк-3=0,007****рк-4=0,025** |
| КДФГ спонт, относ ед | 0,0036 ± 0,00084p1-2=0,210p1-3=0,856**p1-4=0,039** | 0,0042 ± 0,0011p2-1=0,210p2-3=0,274p2-4=0,195 | 0,0036 ± 0,0014p3-1=0,856p3-2=0,274p3-4=0,053 | 0,005 ± 0,0002**p4 -1=0,039**p4-2=0,195p4 -3=0,053 | 0,0004 ± 0,00001 | **Рк-1< 0,001****рк-2<0,001****Рк-3<0,001****рк-4,0,001** |
| КДФГ и, относ ед | 0,0039 ± 0,0011p1-2=0,125p1-3=0,134**p1-4=0,0004** | 0,0049 ± 0,0018p2-1=0,125p2-3=0,783**p2-4=0,029** | 0,0048 ± 0,0011p3-1=p3-2=**p3-4=0,004** | 0,0064± 0,0010**p4 -1=0,0004****p4-2=0,029****p4 -3=0,004** | 0,0019 ± 0,0009 | **Рк-1=0,003****рк-2<0,001****Рк-3<0,001****рк-4<0,001** |



**Рисунок 3а. Содержание АДФГ спонтанных и индуцированных у больных СД 2 типа в различных группах**

**Примечание: АДФГ с1-с4** альдегид-динитрофенилгидразоны спонтанные в 1- 4группах,

 **АДФГ и1-и4** альдегид-динитрофенилгидразоны индуцированные в 1- 4группах ,



**Рисунок 3 б. Содержание КДФГ спонтанных и индуцированных у больных СД 2 типа в различных группах.**

 **Примечание:** КДФГ с1-с4 кетон-динитрофенилгидразоны спонтанные в группах 1-4

 КДФГ и1-и4 кетон-динитрофенилгидразоны индуцированные в группах 1-4

 Достижение компенсации углеводного обмена, безусловно, способствует снижению содержания окислено модифицированных белков: при недлительно текущем диабете содержание АДФГ индуцированных уменьшается на 43%, при длительном течении заболевания – происходит их снижение на 10%., однако не достигая нормы (p =0,019 и p=0,007 соответственно) Аналогичные изменения происходят и в содержании КДФГс и КДФГи при небольшой длительности заболевания (на 15%(p=0,210) и 38%(p=0,125) соответственно), при длительно текущем сахарном диабете происходит снижение данных показателей на 25% ( p=0,039) ( Рис.4)

**Рисунок 4. Влияние компенсации углеводного обмена на содержание окислено модифицированных белков у больных СД 2 типа.**

**Примечание:**

**АДФГс3 – с4 -** динамика снижения содержания спонтанных альдегид-динитрофенилгидразонов в 3-ей и 4-ой группах при улучшении гликемического контроля

**АДФГи3 – и4 -** динамика снижения индуцированных альдегид-динитрофенилгидразонов в 3-ей и 4-ой группах при улучшении гликемического контроля

 **КДФГ с3-с4** – динамика снижения спонтанных кетон-динитрофенилгидразонов в 3-ей и 4-щй группах при улучшении гликемического контроля

 **КДФГ и 3-и4 -** динамика снижения индуцированных кетон-динитрофенилгидразонов в 3-ей и 4-ой группах при улучшении гликемического контроля

Следовательно, улучшение гликемического контроля ведёт за собой статистически значимое ограничение окислительной модификации белков, однако же не нормализует его полностью, что служит как источником новых свободных радикалов, активизируя ПОЛ, карбониловый стресс и приводит к структурным и функциональным изменением белков при небольшой длительности заболевания в условиях компенсации на данный момент углеводного обмена.

Детальный корреляционный ОМБ и молекулярных продуктов ПОЛ показал статистическую значимость их взаимосвязи (табл.4)

**Таблица 4**

**Корреляционные зависимости ОМБ и молекулярных продуктов ПОЛ**

**у больных СД 2 типа ( n= 56)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **показатели** | **r** | **p** |
| АДФГ с - ДК | -0,43 | 0,01 |
| АДФГ с - МДА | - 0,43 | 0,01 |
| АДФГ и - МДА | 0,42 | 0,01 |
| АДФГ с – СОД | 0,52 | 0,004 |
| АДФГи - СОД | 0,51 | 0,003 |
| КДФГ с TK | 0,38 | 0,03 |
| КДФГ с - МДА | 0,5 | 0,04 |
| КДФГ и - МДА | 0,67 | 0,005 |

Уровень АДФГс (наиболее ранний маркёр повреждения, свидетельствующий о нарушении окислительного потенциала клетки) статистически значимо коррелировал с активностью СОД (r=0,52; p =0,004) и отрицательно с ДК (r= - 0,43, p=0,01) и МДА (r = - 0,43, p= 0,01). Взаимосвязь АДФГи и СОД была также очевидной (r=0,51; p =0,003). При сопоставлении коэффициентов корреляции значимых различий между ними найдено не было(p=0,32), что свидетельствовало о том, что эти данные не являются случайными, а отражают патогенетические взаимосвязи между составляющими окислительного равновесия на самых ранних этапах заболевания. Вероятно, при небольшой длительности заболевания окисленные модифицированные белки выполняют и антиоксидантную функцию, способствуя восстановлению окислительного потенциала клетки за счёт активации СОД, тем самым ограничивая СРО. Значительно модифицированные белки (КДФГ), статистически значимо присутствуя при компенсированном сахарном диабете большой длительности (p= 0, 002), свидетельствуют об истощении резервно-адаптационных возможностей организма.

 В нашем исследовании значимой взаимосвязи между АДФГс и гликозилированным гемоглобином не найдено (r=0,17;p=0,34). Между АДФГи, КДФГ и гликозилированным гемоглобином существует статистически значимая взаимосвязь (r=0,368, p = 0, 047 и r=0,354, p = 0, 043 соответственно).

 Следует сказать, что между АДФГс и АДФГи , а также между КДФГс и КДФГ и существует тесная взаимосвязь (r=0,0546,p=0,001 и r=0,81, p<0,001 соответственно), в то время как между АДФГс и КДФГс статистически значимой связи нами не обнаружено ( r=0,048,p=0,804)., а индуцированные АФДГ значимо коррелируют с индуцированными КДФГ ( r=0,651, р< 0,001). Вероятно, окислено модифированные белки иницируют генерацию свободных радикалов, вследствие чего уровень ДК возрастает в 1,5 раза ( р=0,029), содержание Т К увеличивается в 1,6 раза ( р=0,049).

 Полученные нами данные позволяют , вероятно, об этапности развития СРО, а также подтверждают мысль о том, что в спокойном состоянии (без индукторов, которыми являются свободные радикалы) окислено модифицированные белки являются нейтральными в плане дальнейшего углубления окислительного стресса. При дальнейшей генерации свободных радикалов (вследствие гипергликемии, гликозилирования, ослабления антиоксидантной защиты) происходит активация ОМБ, которая стимулирует ПОЛ, служит дополнительным источником свободных радикалов, инактивирует антиоксидантные ферменты, что служит источником для активизации свободно-радикального окисления и формирует так называемый « порочный круг свободно-радикального окисления)

Схему возможной взаимосвязи ОМБ и ПОЛ можно представить в виде

« порочного круга» ( рис.5)



















 **Рисунок 5. Потенциальная взаимосвязь ОМБ и ПОЛ (порочный круг).**

Примечание:СР - свободные радикалы

Нами проведён **анализ содержания метаболитов оксида азота** у пациентов

различной компенсацией углеводного обмена при различной длительности заболевания (табл. 5) Все группы отличались от контроля ( p=0,024).

Отмечено статистически значимое различие между исследуемыми группами, за исключением групп 2 и 3 ( p =0,123) – табл.5

**Таблица 5.**

**Содержание оксида азота у пациентов СД 2 типа в зависимости от длительности заболевания и компенсации углеводного обмена. (Мe [25p;75p]).**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатель | Компенси-рованный СД 2 тип до 5 летГруппа 1 ( n =14) | Компенси-рованный СД 2 тип более 5 летГруппа 2 ( n=10) | Декомпенси-рованный СД 2 тип до 5 летГруппа 3( n=12) | Декомпенси-рованный СД 2 тип более 5 летГруппа 4 ( n=14) |
| Оксид азота,мкг/мл | 0,53[0,48:0,65]p1-2=0,017p1-3=0,023 | 0,26[0,19:0,37]р2-1=0,017p2-4=0,011 | 0,35[0,31:0,43]р3-1=0,023p3-4=0,036 | 0,84[0,62:1,14]р4-2=0,011p4-3=0,036 |

Одновременно с увеличением содержания метаболитов оксида азота по мере увеличения окислительного стресса (с увеличением длительности заболевания, декомпенсации углеводного обмена) происходило снижение эндотелийзависимой вазодилатации. Так, если в ходе пробы с реактивной гиперемией в 1- й группе прирост диаметра артерии после декомпрессии составил 12[12;13] % , то во 2-й – 7[5;8] %, в 3-й – 10[9;11] %, в 4 – 3[2;4]%. Эти данные позволяют предположить, что в условиях окислительного стресса происходит более выраженное повреждение эндотелия, так как оксид азота в реакции с супероксид радикалом трансформируется с токсичный пероксилнитрит и теряет своё вазодилатирующее свойство ( Рис6а, б)



а) б)

**РИС6 а) Содержание оксида азота у пациентов с СД 2 типа в зависимости от длительности заболевания и компенсации углеводного обмена.**

**б) Эндотелийзависимая вазодилатация у пациентов СД 2 типа в зависимости от длительности заболевания и компенсации углеводного обмена.**

**Примечание:**NO 1 – содержание метаболитов оксида азота в 1-ой группе,

 NO 2 – содержание метаболитов оксида азота во 2-й группе,

 NO3 – содержание метаболитов оксида азота в 3-ей группе

 NO4 – содержание метаболитов оксида азота в 4-ой группе

 ЭЗВД 1- 4 –прирост диаметра плечевой артерии в пробе в реактивной гиперемией

 ( эндотелий-ависимая изаводилатация ) в 1-ой – 4х г группах,

По мнению нобелевского лауреата Дж. Вейна « эндотелий- это маэстро кровообращения, а NO- дирижёрская палочка в руках маэстро. Окислительный стресс может играть роль руки дирижёра, чьё ускоренное движение может вызвать какафонию звуков.

Ранее доказано, что NO индуцирует образование и регулирует активность ряда важнейших белков и ферментов: цитохрома Р 450, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, 5-липоксигеназы, Na+,K+АТФазы, рибонуклеотидредуктазы, каспазы, ДНК-лигазы, активирует гуанилатциклазу, активатор плазминогена, циклооксигеназу, АДФ-рибозилтрансферазу ( Голиков П. П., 2004), и сама молекула обладает антиоксидантными свойствами. ( Недосугова Л. В. 2006)

. Нами показано, что азота выполняет свои функции как ангиопротектор, вазодилататор, эндотелиопротектор, выступая в качестве эндогенного антиоксиданта относительно на ранних стадиях сахарного диабета. Об этом свидетельствует заметная положительная корреляция оксида азота с активностью СОД (r= 0,66, p=0,006)на этом этапе.

Однако в условиях нарастающего окислительного стресса эта взаимосвязь утрачивается (табл. 6) свидетельствуя, вероятно, о трансформации оксида азота и его метаболитов в цитотоксичный пероксилнитрит, оказывающий цитотоксическое действие.

 **Таблица 6.**

Корреляции оксида азота с СОД и КАТ в различных группах

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели/ группы | 1( n=14) | 2( n=10) | 3( n=12) | 4( n=14) |
| ОАА | **r= 0,45, p=0,006**  | r= - 0,12, p=0,66  | r= - 0,23, p=0,46  | r= - 0,35, p=0,49  |
| Активность СОД | **r= 0,66, p=0,006**  | r= 0,36, p=0,07  | r= 0,21, p=0,19  | r= 0,07, p=0,79  |
| Активность Кат | r= - 0,11, p=0,79  | r= - 0,32, p=0,11  | r= - 0,34, p=0,54  | r= - 0,47, p=0,06  |

Значимые корреляционные связи оксида азота с молекулярными продуктами ПОЛ, окисленно модифицированными белками при углублении окислительного стресса подтверждают гипотезу о взаимосвязи всех составляющих свободнорадикального окисления, и особенно эта связь прослеживается при углублении окислительного стресса (табл. 7)

**Таблица 7.**

Корреляции оксида азота и молекулярных продуктов ПОЛ, ОМБ в различных группах

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатели/ группы | 1( n=14) | 2( n=10) | 3( n=12) | 4( n=14) |
| Интенсивность | r= -0,139, p=0,74  | r= - 0,26, p=0,53  | r= 0,02, p=0,75  | r= 0,14, p=0,64  |
| ДК | r= 0,02, p=0,55  | r= 0,08, p=0,47  | r= 0,21, p=0,72 | **r= 0,59, p=0,02**  |
| ТК | r= 0,39, p=0,36  | r= 0,31, p=0,44  | r= 0,27, p=0,52  | r= 0,16, p=0,62  |
| МДА | r= 0,16, p=0,43  | **r= 0,68, p=0,015**  | r= 0,23, p=0,57  | r= 0,32, p=0,08  |
| АДФГ с | r= -0,34, p=0,41  | r= 0,24, p=0,56  | **r= 0,76, p=0,028** | r= 0,14, p=0,61  |
| АДФГ и | r= -0,36, p=0,36  | r= 0,07, p=0,86  | r= 0,02, p=0,94 | **r= 0,51, p=0,04**  |
| КДФГ с | r= -0,32, p=0,42  | r= -0,11, p=0,79  | r= 0,31, p=0,46  | **r= 0,58, p=0,027**  |
| КДФГ и | r= -0,25, p=0,51  | **r= 0,72, p=0,001**  | r= 0,22, p=0,07  | r= 0,17, p=0,08  |

Учитывая параболическую кривую биоактивности оксида азота, простого количественного определения метаболитов оксида азота с помощью реакции Грисса недостаточно, так как относительно высокий уровень метаболитов может свидетельствовать как о достаточной антиоксидантной активности оксида азота и ограничении окислительного стресса, а, с другой стороны, говорить об активизации свободно – радикального окисления и усугубления эндотелиальной дисфункции. В связи с чем целесообразно, наряду с определением нитратов и нитритов в плазме крови, в динамике определять направленность окислительного стресса ( интенсивность СРО, ОАА, АОФ), а также содержание фактора фон Виллебранда, имеющего значимые корреляционные зависимости с интенсивностью свободно-радикальных процессов у больных СД типа2 (r=0,23, р=0,049) и антиоксидантной активностью (r= -0,18; 0,23, р=0,051).

**Свободно-радикальное окисление тесно связано с показателями липидного обмена.** Нами показано, что при компенсированном СД 2 типа небольшой длительности, по сравнению с контролем, статистически достоверно повышено количество OX (p=0,031) ТГ (p = 0,013), ЛПНП (p = 0, 038), ЛПОНП (p=0,024), а также снижено содержание ЛПВП (p= 0,036). Все атерогенные показатели липидограммы статистически значимо положительно коррелируют с интенсивностью СРО (p<0,001), за исключением ЛПВП (r=-0,38, p<0,001), и отрицательно – с общей антиоксидантной активностью (p<0,01). Ранее было предположено, что гиперхолестеринемия способствует усиленной выработке пероксилнитрита в связи с недостатком тетрагидробиоптерина, снижения активности глутатионового механизма антиоксидантной защиты, в связи с вторичным ингибированием NOS-3 посредством повышения экспрессии гена кавеолина -1, а также в связи с накоплением других реактивных радикалов, что значительно усугубляет эндотелиальную дисфункцию (Недосугова Л. В. 2006). Нами показана статистически значимая взаимосвязь NO и уровня общего холестерина (r = - 0,47, p= 0,041) при СД 2 небольшой длительности, что подтверждает значение липотоксичности для эндотелия.

По нашим данным, функциональная активность β- клетки значимо коррелирует как с уровнем гликозилированного гемоглобина (r= - 0,41; p=0,043), так и с уровнем триглицеридов (r= - 0,56; p=0,004), причём при помощи метода пошаговой регрессии нами выявлена большая значимость негативного влияния триглицеридов, что свидетельствует о выраженном влиянии липотоксичности на снижение резервных возможностей β- клетки островков Лангерганса, возможно, через интенсификацию СРО.

Ранее было доказано, что **существует вполне закономерная взаимосвязь между активацией свободно-радикальных процессов, гиперактивностью тромбоцитов и активацией прокоагуляционых факторов**, приводящих в итоге к повышенному тромбообразованию при СД типа 2 (Недосугова Л. В., 2006). Нами проведён анализ взаимосвязи некоторых показателей агрегатограммы с интенсивностью СРО (табл. 8)

**Таблица 8**

**Корреляционные критерии показателей агрегатограммы**

 **с интенсивностью свободнорадикального окисления у пациентов,**

**страдающих СД типа 2 (n=97)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатель | r | t (n-2) | p |
| SL АДФ 5мкМ | 0,18 | 1,74 | 0,084 |
| SL АДФ 2мкМ | 0,25 | 2,55 | 0,01 |
| SL АДФ 0,5мкМ | 0,15 | 1,52 | 0,13 |
| LT АДФ 0,5мкМ | 0,30 | 2,57 | 0,01 |
| ристомицин0,8(mg/ml) | 0,19 | 1,87 | 0,064 |
| СРА | 0,68 | 8,83 | <0,001 |
| РТА | 0,67 | 8,77 | <0,001 |

Примечание : SL – степень агрегации тромбоцитов с АДФ разной концентрации

 LT – скорость агрегации тромбоцитов с АДФ 0,5 мкМ

 СРА – средний радиус агрегатов

 РТА – размер тромбоцитарных агрегатов

Было отмечено, что статистически значимо коррелируют с интенсивностью СРО степень и скорость агрегации с небольшой концентрации агрегантов, но особенно значимо коррелируют с выраженностью СРО – спонтанная агрегация ( СА) и размер тромбоцитарных агрегатов ( РТА) (p<0,001). ( табл.8)

Появление тромбоцитарных агрегатов в сосудистом русле свидетельствует о повышении внутрисосудистой активации тромбоцитов и снижении антиагрегационной активности стенки сосудов. Нами выявлена значимая корреляционная зависимость этого интегрального показателя с интенсивностью свободно-радикального окисления ( r=0,68, p < 0,001)

Достижение компенсации, безусловно, способствует восстановлению тромбоцитарно- сосудистого гемостаза, однако не вызывает его нормализацию ( p<0,05) ( рис.7)

%

Примечание : SL – степень агрегации тромбоцитов с АДФ разной концентрации

 LT – скорость агрегации тромбоцитов с АДФ 0,5 мкМ

РИС.7 Тромбоцитарно-сосудистый гемостаз у больных СД типа2 в зависимости от компенсации СД типа 2

 Методом пошагового линейного регрессионного анализа были определена значимость гликозилированного гемоглобина, длительности заболевания, интенсивность окислительного стресса для степени и скорости агрегации тромбоцитов под воздействием индуктора небольшой концентрации (2 и 0,5 мкМ), в связи с чем было выявлено, что наибольшую значимость имела интенсивность свободнорадикального окисления (β =0,239; p=0,018). Был сделан вывод о том, что именно интенсивность окислительного стресса определяет нарушения тромбоцитарного звена гемостаза и подтверждает мысль о том, что только нормализация гликемии не нормализует функцию тромбоцитов.

Также была уточнена взаимосвязь агрегация тромбоцитов с уровнем общего холестерина ( r=0,56, p < 0,001), ЛПНП (r=0,50, p < 0,001), триглицеридов (r=0,45, p < 0,001), отмечена отрицательная корреляционная связь с ЛПВП (r= - 0,22, p = 0,048), что подтверждает взаимосвязь дислипопротеидемии у больных СД 2 типа с нарушением тромбоцитарно – сосудистого гемостаза, вероятно, за счёт активизации окислительного стресса.

При уточнении взаимосвязи **плазменного звена гемостаза** с гликированным гемоглобином, нами найдена статистически достоверная взаимосвязь с гликогемоглобином уровня фибриногена (p=0,029), АТ3 (p=0,0002), АЧТВ (p=0,001) , однако не отмечено корреляции с фибринолитической активностью. Последняя значимо коррелирует с интенсивностью ПОЛ (r=0,454, p=0,001).

По нашим данным, фибринолитическая активность тесно связана с активностью ферментативной антиоксидантной системы, а именно, определяется выраженная, статистически значимая взаимосвязь фибринолитической активности с активностью СОД (r= -0,66,p=0,018;), с интенсивностью свободнорадикальных реакций (r=0,454, p=0,001,) в то же время заметной взаимосвязи между фибринолитической активностью и гликированным гемоглобином найдено не было (r= -0,12, p=0,290). Это позволяет сделать вывод о том, что в генезе изменённого фибринолиза при сахарном диабете типа 2 , возможно, более значимо нарушение свободнорадикаьного равновесия за счёт снижения активности гликозилированных ферментов, и эти нарушения более значимы, чем прямое действие как накопления гликозилированного субстрата для генерации радикалов, так и гипергликемии. Не исключается взаимосвязь между ингибитором активатора плазминогена 1 и активностью антиоксидантных ферментов, возможно, через регулирующее влияние NO на активатор плазминогена (Schini-Kerth V.B., 1999) или через ОМБ.

Между фибриногеном и активностью ГП отмечается отрицательная значимая взаимосвязь (r=-0,71, p=0,029), что более детально характеризует взаимосвязь антиоксидантной активности и фибриногеном (ранее предиктором нарушения содержания фибриногена считалась общая антиоксидантная активность)

Активность антиотромбина III находится в обратной значимой зависимости от уровня первичных молекулярных продуктов пероксидации липидов (r= -0,65, p=0,020), однако имеется отрицательная связь и с КАТ (r=-0,77;p=0,003). Возможно, эта отрицательная связь с антиоксидантными ферментами (в данном случае, с каталазой) может объяснить, почему активизируется гликозилирование преимущественно белковых элементов противосвёртывающей системы, что является дополнительным фактором местного тромбообразования.

Таким образом, при снижении активности антиоксидантных ферментов первыми отвечают на данные нарушения фибринолитическая активность, затем АТ3, что и определяет повышение коагуляционного потенциала у больных СД 2 типа

**Нами проведён анализ взаимосвязи интенсивности свободнорадикального окисления и основных электромиографических характеристик**. Как оказалось, амплитуда М-ответа достоверно отрицательно коррелирует с интенсивностью СРО (r=-0,56, р=0,044),содержанием МДА (r=-0,65,p=0,021),. Аналогичные данные получены и относительно СРВ. По нашим данным, найдена положительная корреляция между СОД и СРВ ( r=0,54,p=0,047, n= 64) и обратная корреляция между ОШ и и СРВ (r= -0,52,p=0,044, n=64).

 С другой стороны, амплитуда М- ответа значимо коррелировала с активностью ГП (r=0,61,p=0,044) и была найдена заметная отрицательная корреляционная взаимосвязь c уровнем диеновых коньюгатов и уровнем триеновых коньюгатов (r = - 0,36, p= 0,034 и r = - 0,41, p= 0,032 соответственно). У больных СД 2 типа с течением длительности заболевания закономерно снижается спектральная мощность всех показателей, что согласуется с литературными данными, однако статистически значимо снижается показатель NN50 (p=0,034), подтверждая мысль о том, что данный показатель является не только ранним диагностическим критерием автономной нейропатии, но и критерием, статистически значимо различающимся у больных СД типа 2 в зависимости от степени компенсации и длительности заболевания.

Отмечена статистически значимая обратная корреляционная зависимость между интенсивностью окислительного стресса и мощностью спектра в диапозоне низких частот(r=-0,63; p=0,037) и высоких частот (r=-0,58; p=0,046). Тотальная мощность спектра статистически достоверно положительно коррелировала с общей антиоксидантной активностью как в абсолютных значениях (r=0,61; p=0,04), так и в нормализованных единицах (r=0,62; p=0,04), подтверждая постулат о том, что нервное волокно очень зависит в силу своих особенностей от дефицита антиоксидантной защиты. При оценке взаимосвязи с антиоксидантыми ферментами, определена статистически значимая взаимосвязь последних с мощностью спектров вегетативной регуляции в любом диапазоне (p< 0,001).

Нами выявлена отрицательная корреляционная зависимость между NN50 и интенсивности окислительного стресса (r=-0,69; p=0,013), а также статистически значимая положительная корреляционная связь между NN50 и антиоксидантными ферментами (каталазой и ГП) (r=0,83; p=0,003 и r=0,77; p=0,03 соответственно) что подтверждает мысль о том, что именно дефицит антиоксидантных ферментов ведёт к накоплению оснований Шиффа, усиленному гликозилированию и прогрессированию поражения нервного волокна при диабетической невропатии.

Симпатовагальный индекс статистически значимо коррелировал с уровнем гликозилированного гемоглобина (r= - 0,66;p=0,024) и положительно с активностью СОД. ( r = 0,48, р=0,02) Учитывая, что СОД- первый антиоксидантный фермент, принимающий участие в удалении свободных радикалов,следует предположить, что данный индекс отражает напряжённость адаптационных систем и его снижение следует расценивать как истощение антиоксидантов и прогрессирование окислительного стресса.

По нашим данным, **диабетическая ретинопатия** значимо коррелирует с длительностью заболевания (r=0,52,p=0,0000,n=235),слабо, но достоверно с уровнем гликозилированного гемоглобина (r=0,17,p=0,011,n=227). Кроме того, нами была обнаружена недостоверная заметная ассоциация степени ретинопатии и интенсивности свободнорадикального окисления (r=0,25,p=0,11,n=113) и слабая недостоверная обратная связь общей антиоксидантной активности и степени ретинопатии.

Ассоциации между отдельными антиоксидантными ферментами и степенью ретинопатии нами не обнаружено, однако определена слабая отрицательная недостоверная взаимосвязь между уровнем церулоплазмина и степенью ретинопатии (r= - 0,19, p=0,077, n= 150)и заметная положительная, но недостоверная ассоциация между уровнем С-реактивного белка и степенью ретинопатии (r= 0,33, p=0,06, n= 110).

 Оценивая **взаимосвязь диабетической нефропатии и ОС**, нами определены корреляции МАУ с интенсивностью последнего (r=0,32; p=0,03), общей антиоксидантной активностью (r=-0,21; p=0,05), содержанием окислено модифицированных белков (r=0,36; p=0,04), метаболитами оксида азота на ранних стадиях заболевания ( r=-0,484; p=0,04). а также с уровнем гаптоглобина (r= 0,24; p=0,03), мочевой кислоты (r=0,25; p=0,04) Подтверждена корреляционная связь МАУ с маркёрами воспаления: С- реактивным белком ( r=0,22; p=0,05), фибриногеном ( r=0,28; p=0,05) Дифференцированной достоверной ассоциации нефропатии с отдельными антиоксидантными ферментами нами обнаружено не было.

Кроме того, нами оценена частота ассоциации нефропатии с ретинопатией (χ2=5,51, p=0001), диабетической стопой (χ2=5,36, p=006) , ИБС(χ2=5,02, p=0,025), ОНМК (χ2=7,02, p=0,07), ХОЗАНК (χ2=4,22, p=0,009), АГ (χ2=5,96, p=0,06) Вероятно, связующим фактором являлись активизация СРО и снижение общей антиоксидантной защиты

Следовательно, у пациентов СД типа 2, **осложнённым нефропатией,** уже на стадии микроальбуминурии имеются дополнительные факторы риска развития и прогрессирования нефро-ретинального, кардиоренального синдромов в связи с активизацией свободно-радикального окислительного стресса.

Уточнена взаимосвязь **диастолической функции левого желудочка** (E/A) с интенсивностью СРО (r= - 0,37; p=0,048) и ОАА (r=0,29; p=0,037), тогда как статистически значимой взаимосвязи с уровнем гликозилированного гемоглобина найдено не было. С увеличением длительности заболевания происходило достоверное снижение коэффициента E/A (p=0,03) и ОАА (p<0,001) что свидетельствовало о тесной взаимосвязи процессов СРО и выраженности диастолической дисфункции. Достоверно коррелировала с общей антиоксидантной активностью фракция выброса (p< 0,001).

Оценивая взаимосвязь между **спектральными характеристиками церебрального кровотока** и интегральными показателями окислительного стресса, нами найдена значимая положительная корреляция между показателем, характеризующим турбулентность кровотока в местах сужения сосудов, резкого перепада и неровностей стенки (SB) и интенсивностью окислительного стресса (r= 0,54; p=0,023,n=68).

Эластические свойства и тонус церебральных сосудов (скорость кровотока) значимо положительно коррелировали с состоянием общей антиоксидантной защиты (r= 0,38, p = 0, 022, n=68).

Нами отмечена значимая достоверная положительная корреляция между PI и маркёрами воспаления (СРБ, фибриноген)(r=0,64,p=0,0006,n=52 и r=0,61,p=0,0007 соответственно, n=52), подтверждая воспалительный генез атеросклеротических нарушений. Скоростные характеристики церебрального кровотока (D, S) статистически также значимо отрицательно коррелировали с данными маркёрами воcпаления (r= - 0,56, p=0,005,n=48)

По нашим данным, найдена заметная положительная корреляция ТИМ с NO ( r= - 0,831, p=0,021) и с КАТ ( r= - 0,755, p=-,049), тогда как значимых корреляций с уровнем гликированного гемоглобина нами не обнаружено.

Количество эритроцитарных сладжей (ЭС), регистрируемых в течение часового мониторинга, статистически значимо положительно коррелировало с интенсивностью свободнорадикального окисления(r=0,38,p=0,037,n=48) и отрицательно с ОАА (r=0,21,p=0,076,n=48).

Каждый из изучаемых инструментальных показателей, характеризующих наличие макроангиопатий (ТИМ, ЛПИ, Е/A,) достоверно коррелировал с одним или несколькими лабораторными маркёрами атеросклероза. В то же время только интенсивность свободно-радикального окисления статистически значимо коррелировала с ТИМ, ЛПИ, E/A ( r=0,42,p=0,031; r= - 0,72, p=0,030; r= - 0,61, p=0,007 соответственно), при этом статистически значимых различий между коэффициентами корреляции не отмечено, что подтверждает взаимосвязь структурных маркёров атеросклероза у больных сахарным диабетом 2 типа с интенсивностью свободно-радикального окисления. ( табл. 9)

**Таблица 9**

**Взаимосвязь структурных и лабораторных маркёров атеросклероза у больных**

**сахарным диабетом 2 типа.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатель | ТИМ( n= 74) | ЛПИ( n = 62) | E/A( n=58) |
| Общий холестерин | r= -0,31, p=0,023 | r= -0,41, p = 0,06 | r= -0,39,p=0,061 |
| ЛПНП | r= -0,33,p=0,042 | r= - 0,43,p=0,05 | r= - 0,40,p= 0,09 |
| ЛПОНП | r= -0,25,p=0,062 | r= - 0,51, p=0,31 | r= -0,28,p=0,07 |
| ЛПВП | r=0,29,p=0,071 | r=0,21,p=0,62 | **r=0,32,p=0,03** |
| ТГ | r= -0,31, p=0,49 | r=0,23,p=0,52 | r= - 0,44,p=0,055 |
| СРБ | **r=0,24,p=0,04** | **r= -0,77,p=0,04** | r= - 0,35, p=0,12 |
| фибриноген | **r=0,34,p=0,033** | r= 0,49, p=0,08 | r= -0,24,p=0,43 |
| **ИСРО** | **r= 0,42,p=0,031** | **r= 0,72, p=0,030** | **r= - 0,61,p=0,007** |
| ОАА | **r= - 0,41, p=0,043** | r= - 0,13,p=0,58 | **r= 0,30,p=0,025** |

В настоящее время **неалкогольная жировая болезнь печени** заслуженно считается некоторыми авторами как компонент метаболического синдрома (Cortez-Pinto H., 1999;Marchesini G, 2001) и сахарного диабета (Schindhelm R.K.,Diamant M., Dekker J.M.,2006). Проведён сравнительный анализ абсолютных частот встречаемости жирового гепатоза у пациентов с микроангиопатиями (χ2=13,36; p=0,004). Подтверждено, что АЛАТ является репрезентативным показателем NAFILD( r=0,26; р=0,008). Отмечена корреляция АЛАТ с интенсивностью окислительного стресса (r=0,81; р=0,048), с уровнем мочевой кислоты (r=0,31; р=0,025). Значимо коррелировала с интенсивностью окислительного стресса ГТП (r=0,97; р=0,001). У пациентов, имеющих жировой гепатоз, интенсивность окислительного стресса была в 1,8 раз выше, чем у пациентов, не имеющим жирового гепатоза.

Учитывая очень большие трудности в диагностике выраженности ОС у больных СД, нами **предложены некоторые инструментальные методы и лабораторные критерии окислительного стресса,** позволяющие оценить его выраженность и динамику в процессе лечения.

С этой целью мы использовали **метод клиновидной дегидратации**.При сопоставлении содержания молекулярных продуктов ПОЛ и некоторых качественных показателей высушенной сыворотки крови больных СД, в баллах, нами обнаружена значимая ассоциация. Показатель «Языковые микроструктуры » отрицательно коррелировал с активностью СОД (r= - 0,35; p=0,033), а показатель

 « Листовидные микроструктуры » - с активностью КАТ (r=-0,382;p= 0,02). В процессе лечения антиоксидантами, наряду с изменением качественных показателей, полученных методом клиновидной дегидратации, наблюдалось тенденция к увеличению активности указанных антиоксидантных ферментов. Выявленная закономерность позволила нам сделать вывод о том, что с помощью метода клиновидной дегидратацииможно объективно оценить наличие и выраженность окислительного стресса у конкретного пациента с СД типа 2 и оценить динамику процесса и эффективность лечения.

С помощью метода **инфракрасной спектрометрии** была создана математическая модель сахарного диабета (Заявка № 200910618/15 (008305).Положительное решение о выдаче патента на изобретение от 09.06.2010).Учитывая статистически значимую взаимосвязь интенсивности свободно-радикального окисления и гипергликемии, целесообразно предположить, что данная картина « образ болезни» будет соответствовать выраженности окислительного стресса у больных СД 2 типа.

Нами предпринята попытка оценить возможности уровня **гаптоглобина** в качестве суррогатного показателя, комплексно характеризующего выраженность свободно-радикальных реакций в организме. Отношение к этому белку неоднозначное: по

мнению одних авторов, гаптоглобин эффективно ингибирует свободно-радикальные реакции, инициированные как нативным, так и модифицированным окисленным гемоглобином (Алёшкин В. А.. 1988), другие считают, что гаптоглобин является параметром, который значительно ассоциирован с окислительным стрессом, и после СРБ является независимым критерием ОС у пациентов, независимо от типа сахарного диабета (Campenhout A.V., (2006).

 Отмечена значимая корреляция данного показателя с МДА (r=0,70,p=0,017,n=48) и одновременно, с ОАА (r=0,41,p=0,049,n=62), подтверждая мнение о том, что ОАА и интенсивность свободно-радикальных процессов тесно взаимосвязваны и взаимообусловлены, и именно последняя активируют антиоксидантную защиту (как неферментативную, так и ферментативную), а также и то, что белок острой фазы, каким является гаптоглобин, является и показателем антиоксидантной защиты .

**Церулоплазмин** значимо коррелирует с интенсивностью свободно-радикальных процессов (r=0,48,p=0,030, n=76), присутствует тенденция к взаимосвязи церулоплазмина с МДА (r=0,35,p=0,08, n=26). В то же время известно, что церулоплазмин обладает достаточной антиоксидантной активностью.

Нами предложено использовать в качестве такого критерия – коэффициент г**аптоглобин/церулоплазмин, учитывая характерную динамику данного показателя в зависимости от степени компенсации и длительности сахарного диабета.** В частности, при декомпенсации сахарного диабета происходит достоверное повышение коэффициента. При увеличении длительности заболевания имеется тенденция к повышению показателя гаптоглобин/церулоплазмин (табл. 10)

Таблица 10

Соотношение гаптоглобин/церулоплазмин как показатель

выраженности и направленности свободно-радикального окисления

у больных СД 2 типа.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показатель/группы  | 1 группа (n=56) | 2 группа5 лет (n=42) | 3 группа (n=70) | 4 группа (n=91) | p |
| Гаптоглобин/церулоплазмин | 0,05[0,04;0,06] | 0,065[0,057;0,067] | 0,080[0,06;0,08] | 0,073[0,05;0,09] | p1-2=0,06p1-3=0,042-4=0,06 |

 **Гематокрит**, свидетельствующий о нарушении функции эндотелия (Nataly A,.2002),достоверно был ниже у больных даже с компенсированным СД типа по сравнению с контрольной группой. По мере улучшения гликемического контроля происходило статистически значимое увеличение гематокрита. Корреляционная взаимосвязь данного показателя с активностью антиоксидантных ферментов ( СОД - r= 0,70, р=0,021;КАТ - r= 0,564, p=0,032) и умеренная корреляция с промежуточными молекулярными продуктами ПОЛ ( - ДК r= -0,473) с интенсивностью СРО = ( r= -0,688, p=0,01) позволило сделать вывод о взаимосвязи гематокрита с выраженностью ОС и о возможности использовать его в качестве косвенного маркёра выраженности свободно-радикального окисления у больных сахарным диабетом 2 типа.

Нами предпринята попытка оценить значимость ферментов **аланинаминотрансферазы (АЛАТ) и глутаминтранспенпидазы как интегральных маркёров активности свободно-радикального окисления и** антиоксидантной защиты у больных СД типа 2. Ранее Schindhelm R. K. and al (2006) показали, что АЛАТ и ГТП коррелируют с маркёрами воспаления и окислительного стресса у лиц с метаболическим синдромом. Нами также статистически значимая корреляция АЛАТ и ГТП с интенсивностью окислительного стресса (r=0,81; р=0,048 и r=0,97;p=0,001 соответственно), однако статистически значимого различия этих ферментов у больных СД 2 типа в зависимости от компенсации углеводного обмена и длительности заболевания нами не обнаружено, Тем не менее найдена тенденция к повышению уровня ферментов при плохом гликемическом контроле и увеличении длительности заболевания.

**Нами оценён клинический эффект приёма антиоксидантных препаратов в лечении больных СД 2 типа.**

Отмечено статистически значимое **снижение интенсивности свободнорадикального окисления** и активизация антиоксидантной ферментативной системы под действием препаратов исследования вводимых внутривенно капельно в течение госпитализации. Максимальным повышение СОД было под воздействием альфа-липоевой кислоты и мексидола (на 39,8%, p= 0,00053). При использовании мексидола СОД повышалась на 9,1% (p=0,605), использовании альфа – липоевой кислоты - препаратов - на 20,7% (p=0, 04), достигая потенцирующего эффекта ( рис.8 )

 %

Рис.8. Результаты: динамика СРО ( в %) под влиянием α-липоевой кислоты,

мексидола и комбинации этих препаратов по сравнению с плацебо.

**Примечание:**

 АЛК +М – альфа-липоевая кислота + мексидол

 М - мексидол

 АЛК – альфа-липоевая кислота

Аналогичные результаты отмечались и относительно других ферментов: под влиянием альфа-липоевой кислоты, мексидола и их комбинации имело место статистически значимо повышение активности каталазы во всех случаях (р=0,004; р=0,043,р= 0,032 соответственно). Во всех трёх группах, по сравнению с плацебо, имело место статистически значимое снижение всех молекулярных продуктов ПОЛ (р<0,05).

При изучении влияния антиоксидантной терапии в указанных группах на выраженность ОМБ, статистически значимо оказалось влияние лишь альфа-липоевой кислоты на уровень КДФГ с (снижение на 58%, р=0,043). Следовательно, альфа-липоевая кислота может статистически значимо не только уменьшать ПОЛ, но и ограничивать окислительную модификацию белков, а,значит, и прерывать порочный круг ОС на самых ранних его этапах.

Интересными представляются результаты применения **дибикора** в течение 2,5 месяцев терапии. Влияние на СОД было статистически не значимо (р=0,330), однако нами отмечено выраженное повышение активности КАТ на 43% ( р=0,028), статистически значимое снижение уровня малонового альдегида на 55,4 % (p= 0,027), а также уменьшение уровня АДФГи на 37% ( р=0,049), КДФГ с на 64,3 % ( р=0,027), КДФГ и на 45,9 % ( p=0,026).

 Следовательно, антиоксидантное действие дибикора реализуется, в частности, через повышение активности антиоксидантного фермента каталазы, что способствует повышению общей антиоксидантной активности, достоверно ограничивается окислительная модификация белков, коррегируя ОС на самых ранних этапах, прерывая « порочный круг».

 При проведении пробы с реактивной гипергликемией нами уточнено, что **максимальная вазодилатация** плечевой артерии имела место при лечении альфа-липоевой кислотой (на 22 %), что можно объяснить повышением активности антиоксидантных ферментов. В группе контроля прирост диаметра артерии составил в среднем 9%.

 По нашим данным, у пациентов, получающих в комплексном лечении антиоксидантную терапию, по сравнению с контрольной группой, **отмечалось улучшение функциональной активности бета-клеток (p=0,047),** и статистически достоверное снижение индекса инсулинорезистентности (p= 0,04**)** при практически неизменённомуровне ИРИ, что свидетельствует о снижении потребности в инсулине, необходимого для поддержания компенсации сахарного диабета типа 2 и об улучшении метаболизма глюкозы на периферии (таблица 11)

**Таблица 11**

**Динамика показателей углеводного обмена, ИРИ, ИИР, ФАБ в сыворотке крови у больных СД типа 2 в процессе терапии антиоксидантной терапии (Мe [25p;75p]).**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| показатель |  Группа с антиоксидантамидо/после курса,p( n= 28) |  Группа сравнения( n= 12 | P( группа с антиоксидантами и группа сравнения |
| Гликемия натощак, | 9,5[7,0;12,0]6,5[5,0;5.85], p=**0,048** | 9,1[6,3;11,8]6,9[5,4;6,14], p=**0,031** | p>0,05 |
| ИРИ, мкЕд/мл | 15,95[9,80;24,24]15,30[9,35;21,5], p=0,87 | 13,45[6,10;22,15]18,17[11,86;27,8], p=0,65 | P>0,05 |
| ФАБ | 67,5[45;82,7]93[64,5;128], p=**0,047** | 56,3[36;76,4]64[38,2;74,5], p=**0,83** | Р <0,05 |
| ИИР | 7,08[4,46;11,06]4,82[3,0;6,07], p=**0,04** | 8,15[5,18;12,32]6,57[4,12;8,34], p=**0,41** | р<0,05 |

ИРИ – имуннореактивный инсулин

ИИР – индекс инсулинорезистентности

Антиоксиданты, достоверно не различаясь между собой, (p>0,05) однонаправлено коррегировали как ФАБ, так и ИИР, однако, в зависимости от вида базисной (инсулин, пероральные сахароснижающие препараты), их действие разнонаправлено: у пациентов, получающих инсулинотерапию, антиоксидантная терапия значимо (на 60%), в процессе курса терапии коррегировало инсулинорезистентность, тогда так ФАБ увеличивается в среднем на 9,1%. При использовании пероральных сахароснижающих препаратов, ФАБ увеличивалась на 78 %, а ИИР снижается на 18,5%. Следовательно, при подключении антиоксидантов к базисной инсулинотерапии можно значимо контролировать инсулинорезистентность, а при включении антиоксидантов в базисную терапию пероральными сахароснижающими препаратами удаётся значимо улучшить как функциональную активность β- клеток, так и добиться снижение инсулинорезистентости при недостоверном изменении уровня ИРИ, что крайне важно в профилактике поздних осложнений сахарного диабета.

Нами доказано, что при использовании антиоксидантов по сравнению с группой сравнения, статистически значимо ( р=0,03) **уменьшилась вариабельность гликемии**, приближаясь к целевым значениям ( Аметов А. С., 2008) ( РИС.9)



1- гликемия до приёма антиоксидантов

2- гликемия на фоне приёма антиоксидантов

А- альфа-липоевая кислота

**РИС. 9**

Пример гликемического профиля до лечения альфа – липоевой кислотой и через день после начала терапии (без приёма сахароснижающей терапии).

Нами оценено влияние антиоксидантной терапии **на показатели липидного спектра в процессе терапии и через 1 год.**

Под влиянием комплексной терапии с включением антиоксидантов по сравнению с контрольной группой нами отмечено достоверное снижение ТГ ( p=0,015), липопротеидов низкой плотности (p=0,001), липопротеидов очень низкой плотности (p=0,005), однако к концу первого года наблюдения эти изменения достоверны только по отношению липопротеидов низкой плотности( p=0,01). ЛПВП недостоверно изменяются под влиянием альфа-липоевой кислоты, мексидола и их комбинации в ходе 3-х недельного курса лечения (p=0,88) . Ниже графически представлена динамика содержания ЛПНП (в %) у больных СД 2 в процессе дифференцированной терапии и через год ( рис. 10)

**Рис.10**

**Динамика уровня ЛПНП ( в %) у больных СД 2 в процессе курса дифференцированной антиоксидантной терапии и через год.**

%

Учитывая особую роль ЛПНП в атерогенезе, особенно окисленных форм ( Недосугова Л. В., 2006, Ланкин В. З и соавт., 2009), подобную положительную динамику, возможно следует расценивать как результат потенцирующего действия антиоксидантных ферментов, ограничивающих как ПОЛ, так и ОМБ.

 По нашим данным, под влиянием комплексной терапии с включением антиоксидантов, хотя и имелась **чёткая тенденция к снижению степени и скорости агрегации,** в общем статистически значимых различий не отмечалось (степень и скорость агрегации с индуктором АДФ 5 мкМоль/л (p= 0,088 и p= 0,11 соответственно); степень и скорость агрегации с индуктором АДФ 2 мкМоль/л (p= 0,23 и p= 0,22 соответственно); степень и скорость агрегации с индуктором АДФ 0, 5 мкМоль/л (p= 0,42 и p= 0,25 соответственно;), однако по сравнению с контролем различия статистически значимы (p=0,02; p = 0,03; p = 0,03 соответственно). С учётом поправки Бонферони различия между группами в процессе курса терапии (альфа-липоевая кислота, мексидол, комбинация альфа-липоевой кислоты и мексидола) не могут быть признаны статистически значимыми (рис. 11)

после

после

после

٭

 **Рис.11**

**Динамика степени агрегации тромбоцитов
в ходе курса дифференцированной антиоксидантной терапии
у больных СД типа2.**

Оценена динамика составляющих **плазменного гемостаза под влиянием антиоксидантной терапии**. Отмечено статистически значимое изменение фибринолитичеаской активности в группах, где наряду с базисной терапией использовалась антиоксидантная терапия (альфа-липоевая кислота, мексидол)(p=0,008), однако через год наблюдения достоверного отличия сохранялись только в группе, которая использовала в комплексной терапии мексидол (p<0,001). Нами отмечено достоверно изменение фибринолитической активность плазмы крови в процессе курса терапии мексидолом (p=0,037), при использовании альфа-липоевой кислоты таких изменений найдено не было (p=0,25).). В процессе курса терапии во всех группах отмечалась тенденция к увеличению уровня АТ3,не достигая уровня статистической значимости (p=0,28), снижение РКФМ (p=0,50).

При комбинации мексидола и липоевой кислоты имелась только тенденция к изменению фибринолитической терапии в процессе курса терапии (p=0,59), уменьшения содержания РКФМ (p=0,11), увеличения АТ3 (p=0,59). Вероятно, полученные нами данные можно объяснить непосредственно повышением активности антиоксидантных ферментов, что приводит, с одной стороны, к ограничению окислительного стресса (уменьшение содержание ПОЛ, ОМБ), увеличению содержания метаболитов оксида азота и, в целом, уменьшением дисфункции эндотелия.

Нами проведён **анализ дифференцированной терапии антиоксидантами на суррогатные точки, храктеризующие полиневропатию**, в частности, СРВ по нижним конечностям, амплитуду М-ответа, латентный период

При анализе электронейромиограммы нами найдено, что под действием антиоксидантной терапии, по сравнению с контролем, в процессе курса терапии достоверно повышается амплитуда действия (p=0,002) и площадь М-ответа (p=0,006), причём под воздействием альфа-липоевой кислоты достоверно изменятся только амплитуда M- ответа (p=0,01). А под действием мексидола достоверно изменяется как амплитуда М-ответа (p=0,010), так и площадь М- ответа (p=0,001). Кроме того, достоверно уменьшается латентный период в течение года наблюдения.

Максимальными изменения амплитуды М-ответа были при комбинации мексидола и липоевой кислоты, что, вероятно, можно объяснить потенцирующим антиоксидантным действием данных препаратов. Действия курса терапии сохраняется в течение года.

При использовании стандартной базисной терапии по истечению 5-летнего срока наблюдения отмечалось снижение амплитуды М- ответа на 41,%, увеличение латентного периода на 21,1%, снижение скорости проведения импульса на 10%.

При использовании альфа – липоевой кислоты – отмечалось увеличение СРВ за 5 лет возрасла на 11,7 % , латентный период уменьшился на 11,4%, амплитуда М- ответа также уменьшилась на 24,5%. Мексидол оказывал аналогичное влияние на электромиографические показатели у больных сахарным диабетом типа 2: СРВ возрасла на 6,39%, латентный период уменьшился на 5,9%, амплитуда М- ответа снизилась на 22,5%.По сравнению с группой контроля все изменения были статистически значимы .

При комбинации мексидола и альфа-липоевой кислоты нами получено потенцирующее действие данных препаратов на замедление снижения амплитуды М- ответа (на 6,5%), снижение латентного периода на 16,6%, учитывая, вероятно, потенцирующий эффект активности антиоксидантных ферментов, однако такого потенцирующего влияния на СРВ не было (повышение на 7,6%).

Следовательно, при использовании данных антиоксидантных препаратов достигается значительное функциональное улучшение нервного волокна, и данный эффект максимален при комбинированной терапии с использованием альфа-липоевой кислоты и мексидола.

Под влиянием антиоксидантной терапии получено достоверное увеличение всего спектра волн, максимальные изменения были при использовании альфа-липоевой кислоты ( p<0,001)

 **При наблюдении за скоростными и спектральными характеристиками церебрального кровотока** через год лечения группе сравнения имеет место достоверное повышение периферического сопротивления и уменьшения скоростных характеристик кровотока в средней мозговой артерии. При рассмотрении дифференцированной терапии нами отмечено, что в средней мозговой артерии при использовании антиоксидантов, указанных выше, не только не происходило снижение кровотока, но и было отмечено его статистически значимое увеличение в группе, где использовалась альфа- липоевая кислота ( p = 0,021). При сочетании альфа – липоевой кислоты и мексидола не отмечалось повышения терапевтического эффекта. ТИМ менялась не значительно.

 По нашим данным, **общая смертность** в группах, где были применены антиоксиданты, достоверно не отличалась от смертности в группе сравнения (χ2= 2,57,p=0,106), однако достоверно меньше шансов развия ХПН (χ2= 5,55,p=0,0187). Частота наступления слепоты и ампутации нижних конечностей также достоверно не была различна в данных группах (χ2= 0,65,p=0,42 и 0,66, p=0,416 соответственно).

Снижение частоты развития сосудистых катастроф (ОИМ, ОНМК) в группе, использующих антиоксиданты, недостоверно (χ2= 0,58, p=0,45 и χ2= 1,26, p=0,26 соответственно), однако имеется отчётливая тенденция к снижению данных событий.

При анализе прогрессирования микро - и макроангиопатий при использовании только стандартной базистой терапии нами отмечена тенденция к увеличение микроангиопатий (ретинопатии. нефропатии, полиневропатии). ( рис.12)

Рис. 12

Частота развития микроангиопатий при использовании

 дифференцированных антиоксидантов.

При использовании антиоксидантов, по сравнению с группой сравнения, было отмечено снижении наличия таких осложнений, как ретинопатии (на 11%) , нейропатии – (на 19 %,) , нефропатии – (на 17 %)., что является клинически значимым, однако при сравнении относительных частот с применением двустороннего критерия статистическая значимость присутствует только для невропатии (p=0,037). В случае ретинопатии и нефропатии статистической значимости не найдено (p = 0,33 и p=0,076 соответственно).

Оценивая эффективность дифференцированной антиоксидантной терапии на развитие полиневропатии по сравнению с группой сравнения, отмечено максимальный результат при использовании альфа-липоевой кислоты (снижение на 20%), при использовании мексидола – на 18%, при комбинации альфа-липоевой кислоты и мексидола - на 18%. Различия внутри групп не являются статистически значимыми.

 У пациентов, использующих антиоксидантную терапию, в отличие от группы сравнения, отмечалось снижение развития диабетической нефропатии: при использовании альфа-липоевой кислоты – на 20,4 %, мексидола- 18 %, при комбинированной терапии мексидола и липоевой кислоты – на 10 %. Различия между группами не найдено.

 Оценивая выраженность утяжеления хронических осложнений внутри различных групп, нами было обнаружено следующее: в течение пятилетнего периода при использовании антиоксидантов по сравнению с группой контроля отмечено снижение прогрессирования нефропатии до стадии протеинурии на 9,8 %, однако при сравнении относительных частот с применением двустороннего критерия статистической значимости получено не было (p= 0,076). В то же время полученные результаты клинически значимы.

При использовании антиоксидантной терапии по сравнению с базисной терапии имело место уменьшения прогрессирования стадии ретинопатии в целом на 8, 4 % (p= 0,20). Статистически значимых различий в группах не было.

Таким образом, можно сделать вывод, что использование указанных антиоксидантных препаратов позволит замедлить развитие и прогрессирование микроантиопатий и полиневропатии.

**ВЫВОДЫ:**

1.У больных сахарным диабетом 2 типа при небольшой длительности заболевания присутствует активация окислительного стресса. Она проявляется усилением окислительной модификацией белков и ростом перекисного окисления липидов. Степень этой активации тесно связана с ослаблением ферментативной антиоксидантной защиты, длительностью заболевания, степенью декомпенсации углеводного обмена, наличием поздних осложнений.

2. Окислительная модификация белков, перекисное окисление липидов тесно связаны друг с другом, формируя порочный круг, способствующий дальнейшему усилению окислительного стресса.

3. Независимо от компенсации углеводного обмена прослеживается чёткая связь интенсивности свободно-радикального окисления липидов с выраженностью дислипидемии у больных СД 2 типа. Триглицеридемия угнетающе влияет на функциональную активность бета-клеток поджелудочной железы, в свою очередь, вторично обуславливая активацию окислительного стресса.

4. Выявленное у больных сахарным диабетом 2 типа нарушение сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза и нарушения фибринолиза отчётливо связано с интенсивностью окислительного стресса и угнетением ферментативной антиоксидантной защиты.

5. Существует тесная связь дисфункции эндотелия с интенсивностью свободно-радикального окисления. В условиях усиления окислительного стресса (увеличение длительности заболевания, декомпенсация углеводного обмена) имеет место диспропорция между высоким уровнем оксида азота и снижением эндотелийзависимой вазодилатации, что свидетельствует о более тяжёлой дисфункции эндотелия. При углублении окислительного стресса происходит потеря оксидом азота своих антиоксидантных свойств, снижение эндотелийзависимой вазодилатации, что способствует активизации пероксидации липидов, усугублению карбонильного стресса, увеличению содержания окислено модифицированных белков.

6. Из клинико-лабораторных и инструментальных показателей, тесно связанных с интенсивностью окислительного стресса и характеризующих патологию отдельных органов и систем, наиболее существенными оказались: для диабетической полиневропатии – амплитуда М-ответа и скорость распространения возбуждения по данным электронейромиографии, для автономной нейропатии - общая мощность спектра , для нефропатии – микроальбуминурия, для жирового гепатоза – уровень печёночных ферментов, для поражения миокарда – соотношение E/А при допплерЭхо-КГ, для сосудистого поражения головного мозга – толщина интима-медиа сонных артерий.

7.. Комплексная терапия больных СД 2 типа с подключением дифференцированной антиоксидантной терапии (альфа - липоевая кислота, мексидол, их комбинация, дибикор) достоверно уменьшает выраженность окислительного стресса в целом, ограничивая окислительную модификацию белков и повышая активность каталазы (при использовании дибикора), уменьшая перекисное окисление липидов и окислительную модификацию белков, активируя при этом все антиоксидантные ферменты (при использовании альфа-липоевой кислоты).

 7. Применение в качестве антиоксидантов альфа-липоевой кислоты и мексидола сопровождается уменьшением эндотелиальной дисфункции, что является следствием повышения активности антиоксидантных ферментов и ограничения свободно – радикального окислительного стресса. Одновременно констатируется тенденции к коррекции дислипидемии, нормализации показателей сосудисто-тромбоцитарного и плазменного звеньев гемостаза. Какого-либо преимущества ни у одного из препаратов не выявлено.

8. С помощью подключения антиоксидантов к базисной инсулинотерапии можно значимо контролировать инсулинорезистентность, а при включении антиоксидантов в базисную терапию пероральными сахароснижающими препаратами удаётся улучшить как функциональную активность β- клеток, так и добиться снижения инсулинорезистентости при недостоверном изменении уровня ИРИ, что крайне важно в профилактике поздних осложнений сахарного диабета.

9. Пятилетнее наблюдение за обследованными больными свидетельствует, что дополнение антиоксидантами (альфа-липоевая кислота, мексидол) стандартной терапии сахарного диабета 2 типа способствует достоверному замедлению прогрессирования полиневропатии, в том числе и автономной нейропатии, нефропатии, наблюдается тенденция к замедлению ретинопатии, но практически не сказывается на возникновении и динамике макроангиопатий различных локализаций, общей смертности больных.

**ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. В лечении больных СД 2типа следует использовать антиоксиданты, такие как альфа-липоевая кислота, мексидол, дибикор. Применять препараты следует длительно.
2. Применение используемых антиоксидантов оправдано для достижения полноценной компенсации углеводного обмена, нормализации метаболических, гемостазиологических нарушений, коррекции микроангиопатии, полиневропатии.
3. В практике врача-интерниста для уточнения динамики процесса СРО целесообразно использовать следующие лабораторные критерии (соотношение гаптоглобин/ церулоплазмин, АЛАТ, ГТП, значение гематокрита)
4. Для оценки выраженности окислительного стресса целесообразно использовать метод клиновидной дегидратации.
5. Для объективной оценки эффективности проведённого лечения, наряду с определением метаболитов оксида азота в плазме крови, целесообразно в динамике определять направленность окислительного стресса.

**СПИСОК РАБОТ,**

**ОПУБЛИКОВАННЫХПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.**

1. **Занозина,** О. В. Применение препарата Мильгамма 100 для лечения диабетической дистальной полиневропатии / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Г. П. Рунов // Тезисы докладов 6 Российского национального конгресса «Человек и лекарство».19-23 апреля 1999г, Москва. - С. 84.

 2. Клиническая эффективность танакана у больных сахарным диабетом, имеющих поздние осложнения со стороны нервной и сосудистой систем / О. В. **Занозина**, А. В. Густов, М. Н. Ерохина, Е. В. Жирнова // Тезисы докладов6 Российского национального конгресса «Человек и лекарство»19-23 апреля 1999г, Москва – С. 108

3. Нарушение высших мозговых функций и перекисное окисление липидов у больных сахарным диабетом старшей возрастной группы /**О. В. Занозина**, А. В. Густов, М. Н. Ерохина, Т. В. Мельникова, Г. П. Рунов // Первый РоссийскийСъезд геронтологов и Гериатров: сборник тезисов и статей. – Самара, 20 – 23 июня 1999г. – C. 87 – 88.

4. **Занозина, О. В**. Перекисное окисление липидов у лиц старше 60 лет, страдающих инсулиннезависимым сахарным диабетом / О. В. Занозина, Г. П. Рунов// Геронтология и гериатрия: (материалы межобластной научно-практической конференции). - Екатеринбург, 1999г. – С.17 – 18.

5. Нарушение высших корковых функций и изменения церебральной гемодинамики у больных сахарным диабетом старшей возрастной группы / А. В. Густов, М. Н. Ерохина, **О. В.Занозина,** Г. П. Рунов, Т. В. Мельникова, Е. В. Жирнова// Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии: сборник статей и тезисов научно – практической конференции. – Н. Новгород. – 1999. – С. 110 – 111.

6. Перекисное окисление липидов и нейропсихологические нарушения у больных сахарным диабетом /**О. В. Занозина**, Н. Н. Боровков, Г. П. Рунов, А. В. Густов, М. Н. Ерохина. Новые технологии в профилактической медицине: Сборник научных трудов. Изд-во НГМА, г. Н. Новгород, 1999г. – С. 194 - 197.

7. **Занозина, О. В**.Диабетическая полиневропатия: перекисное окисление липидов и невроваскулярная дисфункция / О. В. Занозина, Г. П. Рунов, Н. Н. Боровков // Информационное письмо. – г. Н. Новгород: Изд-во Нижегородский гуманитарный центр. – 1999г. – 27 с.

8. Жирнова, Е. В. ТКУЗД и высшие корковые функции при лечении пирацетамом / Е. В. Жирнова, М. Н. Ерохина, **О. В. Занозина** // Современное состояние методов неинвазивной диагностики в медицине. Материалы VI международной конференции. – Москва, 1999. – С.32 – 34.

9. **Занозина, О. В**. Применение препарата мильгамма –100 у больных сахарным диабетом и дистальной диабетической полинейропатией / О. В. Занозина, Г. П. Рунов // Вопросы практической и теоретической медицины: тезисы 34 научно- практической конференции врачей Ульяновской области. – Ульяновск, 1999г. – С.489 – 490.

10. **Занозина, О. В**. Коррекция диабетических ангиопатий у больных сахарным диабетом: дифференцированный подход с целью избежания полипрагмазии /О. В. Занозина // Тезисы конференции молодых учёных Поволжья и Северного Кавказа (под ред. проф. В.В. Шкарина, проф. Б.Е. Шахова). – Н. Новгород, Из-во: НГМА, 2000. – С.112 – 113.

11. Факторы риска тромбоза у больных инсулинонезависимым диабетом в сочетании с артериальной гипертензией / Н. В. Аминева, М. Т. Сальцева, Н. Н. Боровков, **О.В. Занозина**, О. Г. Батюкова // Материалы 5 Всероссийской конференции «Тромбозы, геморрагии, ДВС- синдром. Проблемы лечения». – Москва, 2000. – С. 28 – 29.

12. Особенности метаболизма и гемореологии у больных сахарным диабетом и ишемической болезнью сердца: профилактика и терапия нарушений / **О. В. Занозина**, Н. Н. Боровков, Г. П. Рунов, О. Г. Батюкова // Материалы первой Всероссийской конференции «Профилактическая кардиология». – Москва, 2000. – С. 166 – 167.

13. Коагуляционные маркёры эндотелиального стресса у больных сахарным диабетом 2 типа в сочетании с артериальной гипертензией / Н. В. Аминева, М. Т. Сальцева, О. Г. Батюкова, **О. В. Занозина**, Н. Н. Боровков // Актуальные вопросы Современной эндокринологии. Материалы IV Конгресса эндокринологов. – Санкт-Петербург, 2001. – C. 12.

14. Занозина, О. В. Артериальная гипертония и сахарный диабет: выбор оптимальной терапии / **О. В. Занозина**, Н. Н. Боровков, Г. П. Рунов // Актуальные вопросы Современной эндокринологии. Материалы IV Конгресса эндокринологов. – Санкт-Петербург, 2001. – C. 32.

15. Занозина, О. В. Современные взгляды на патогенез диабетической полинейропатии / **О. В. Занозина**, Г. П. Рунов //Актуальные вопросы внутренней патологии. Сборник научных работ, посвящённых 90-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки профессора Вадима Габриэловича Вогралика, Нижний Новгород, 2001 – С. 52 – 56.

**16. Коагуляционные маркёры эндотелиального стресса у больных сахарным диабетом типа 2 в сочетании с артериальной гипертензией (по материалам IV Всероссийского конгресса эндокринологов, Санкт-Петербург, июнь 2001) / Н. В. Аминева, М. Т. Сальцева, О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, О. Г. Батюкова // Проблемы эндокринологии. – 2002, № 4. – Том 48. – C. 27 – 30.**

17. **Занозина, О. В**. Окислительный стресс у больных сахарным диабетом типа 2 и поздние осложнения сахарного диабета / О. В. Занозина, Г. П. Рунов, Н. Н.Боровков / / Второй Российский диабетологический конгресс « Сахарный диабет и сердечно-сосудистые осложнения». Тезисы докладов. – Москва, 2002. – С. 295 – 296.

18. Поражение сердца у больных сахарным диабетом 2 типа с сопутствующей артериальной гипертензией / Н. В. Аминева, **О. В. Занозина**, М. Т. Сальцева, Н. Н. Боровков, Ю. В. Кошелев, П. И. Рыхтик // Второй Российский диабетологический конгресс « Сахарный диабет и сердечно-сосудистые осложнения». Тезисы докладов.- Москва, 2002.-С.122 – 123.

19. Окислительный стресс в развитии диабетической полинейропатии. Роль альфа-липоевой кислоты в коррекции нарушений (пособие для врачей) / **О. В. Занозина**, Г. П. Рунов, Н. И. Жулина, Е. Г. Родионова. – Н. Новгород: Нижегородский гуманитарный центр, 2002г. – 32 с.

 **20. Роль свободнорадикального опосредованного окислительного стресса в развитии диабетической полинейропатии / О. В. Занозина, Г. П. Рунов, К. М. Беляков, Н. Н. Боровков, М. И. Балаболкин // Сахарный диабет. – 2004, № 3. – С. 22 - 24**

21. Терапия метаболических нарушений у больных сахарным диабетом 2 типа пожилого возраста. Пособие для врачей / **О. В. Занозина**, Г. П. Рунов, Н. И. Жулина, А. А. Рунова. – . Новгород: НГМА, 2004. – 16 с.

22. Взаимосвязь метаболических, гемодинамических, гемостазиологических, антиоксидантных факторов в прогрессированнном поражении сосудов головного мозга у больных сахарным диабетом 2 типа и возможность патогенетической коррекции нарушений / **О. В. Занозина**, Е. В. Жирнова, Н. Н. Боровков, А. В. Густов // Третий Всероссийский диабетологический конгресс. Тезисы докладов. – Москва. – 2004. – С. 133 – 134.

1. Атеросклероз и сахарный диабет: поражение различных отделов артериального русла у больных сахарным диабетом 2 типа / **О. В. Занозина**, Н. Н. Боровков, Е. И. Матусова, А. Г. Рунов, Е. В. Жирнова, Г. П. Рунов // Третий Всероссийский диабетологический конгресс. Тезисы докладов. – Москва. – 2004. – С. 242.

24. Как избежать полипрагмазии при коррекции метаболических, гемодинамических, микроциркуляторных расстройств у больных сахарным диабетом 2 типа / **О. В. Занозина,** О. Г. Батюкова, Н. Н. Боровков, Г. П. Рунов, Е. В. Жирнова, Е. О. Обухова, Т. А. Цыганова // Третий Всероссийский диабетологический конгресс. Тезисы докладов. – Москва. – 2004. – С. 119 - 120.

25. Занозина, О. В. Дистальная диабетическая полинейропатия: современный взгляд на патогенез и патогенетическую терапию // «Ремедиум Приволжья», г. Н. Новгород, 2006. – С.51 – 56

26. Особенности тромбоцитарно - сосудистого, плазменного гемостаза, процессов перекисного окисления липидов и некоторых метаболических показателей у больных СД типа 2 / **О. В. Занозина,** О. Г. Батюкова, Н. Н. Боровков, Н. В. Аминева // Тезисы в сборнике «Артериальная гипертензия в практике врача терапевта, кардиолога, эндокринолога». - Москва 1-2 марта 2006г. –С.11.

**27. Необходимость и достаточность использования антиоксидантов в терапии больных сахарным диабетом 2 типа / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, М. И. Балаболкин, Г. П. Рунов, К. М. Беляков, Е. О. Обухова, Е. В. Жирнова, Т. Г. Щербатюк, О. Г. Батюкова //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. Приложение1. - 2006 . – C. 112 – 118.**

28. Применение антиоксидантов в рациональной терапии сахарного диабета типа 2 / **О. В. Занозина**, Н. Н. Боровков, М. И. Балаболкин, Г. П. Рунов, К. М. Беляков, Е. О. Обухова, Е. В. Жирнова, Т. Г. Щербатюк, О. Г. Батюкова // Фарматека. – 2006. - № 11. – С. 90 – 94.

29. Взаимосвязь метаболических нарушений, тромбоцитарно-сосудистого, коагуляционного гемостаза, перекисного окисления липидов у пациентов пожилого возраста, страдающих сахарным диабетом типа 2. Возможности коррекции / **О. В. Занозина**, Г. Н. Варварина Г. П. Рунов, Н. Н. Боровков, Е. В. Жирнова, О. Г. Батюкова, Т.Г. Щербатюк, Н. В. Аминева, М. Т. Сальцева // « Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии». Сборник трудов юбилейной научно-практической конференции под редакцией профессора А. Л. Арьева. – Санкт- Петербург: СПбМАПО. – 2006. – C. 151 – 152.

30. Особенности вегетативной регуляции у больных сахарным диабетом типа 2 пожилого возраста. Возможности коррекции / Г. Н. Варварина, **О. В. Занозина**, Е. О. Обухова, Е. А. Пряникова, Н. Н. Боровков, Г. П. Рунов, Т. Г. Щербатюк // « Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии». Сборник трудов юбилейной научно-практической конференции под редакцией профессора А. Л. Арьева. - Санкт- Петербург: СПбМАПО. – 2006. – C. 147 – 148.

31. Применение антиоксидантов в терапии больных СД типа 2 Высокие медицинские технологии в эндокринологии / **О. В. Занозина**, Н. Н. Боровков, М. И. Балаболкин, Г. П. Рунов, К. М. Беляков, Е. О. Обухова, Е. В. Жирнова, Т. Г. Щербатюк, О. Г. Батюкова // Материалы V Всероссийского конгресса эндокринологов. – Москва.- 30октября -2 ноября 2006. - C. 117.

**32. Роль окислительного стресса в развитии артериальной гипертензии при метаболическом синдроме / О. В. Занозина, Т. Г. Щербатюк, О. Г. Батюкова, Н. Н. Боровков, Е. В. Жирнова, Е. О. Обухова, Г. П. Рунов / /Нижегородский медицинский журнал. - 2006, № 6. - С.149 – 154.**

33. Диабетическая нейропатия. Вопросы патогенеза и патогенетической терапии: учебно – методическое пособие / **О. В. Занозина**, Г. Н. Варварина, Г. П. Рунов, Л. В. Снегирёва. – г. Н. Новгород: Изд-во НГМА. – 2006. - 60 с.

34. Взаимосвязь перекисного окисления липидов, белков, функции эндотелия, коагуляционного гемостаза у больных сахарным диабетом типа 2: перспективы коррекции / **О. В. Занозина,** Н. Н. Боровков, Т. Г. Щербатюк, О. Г. Батюкова, И. Ю. Максимова, Г. П. Рунов // Сборник тезисов « Гемореология и микроциркуляция» (от молекулярных мишеней к органным и системным изменениям. Материалы международной научной конференции.- Ярославль. - 2007. – C. 124

35. **Занозина**, О. В. Перекисное окисление липидов и нейропсихологические нарушения у больных сахарным диабетом 2 типа / О. В. Занозина, М. Н. Ерохина, Г. П. Рунов, Т. Г. Щербатюк // Сборник тезисов « Гемореология и микроциркуляция» (от молекулярных мишеней к органным и системным изменениям. Материалы международной научной конференции.- Ярославль. - 2007. – C. 5.

36. Ерохина, М. Н. Когнитивные нарушения у больных сахарным диабетом 2 типа на фоне хронической цереброваскулярной недостаточности / М. Н. Ерохина, О. В. **Занозина**, Е. В. Жирнова // Сборник тезисов « Гемореология и микроциркуляция» (от молекулярных мишеней к органным и системным изменениям. Материалы международной научной конференции.- Ярославль. - 2007. – C. 99.

37. Возможности ограничения продукции свободных радикалов при сахарном диабете 2 типа с помощью антиоксидантов **/ О. В. Занозина**, Г. П. Рунов, Н. Н. Боровков, М. И. Балаболкин, Т. Г. Щербатюк //Четвёртый Всероссийский диабетологический Конгресс: тезисы докладов.19-22 мая 2008г. – Москва. – С. 124.

38. Взаимосвязь окислительного стресса о гемореологических нарушений при сахарном диабете 2 типа: возможности антиоксидантной терапии / **О. В. Занозина,** Н. Н. Боровков, М. И. Балаболкин, Г. П. Рунов, Т.Г. Щербатюк, О. Г. Батюкова //Четвёртый Всероссийский диабетологический Конгресс: тезисы докладов.19-22 мая 2008г. – Москва. – 2008. – С. 92.

39. Роль окислительного стресса в развитии поздних осложнений сахарного диабета 2 типа / **О. В. Занозина,** Н. Н. Боровков, М. И. Балаболкин, Г. П. Рунов, Т. Г. Щербатюк, О. Г. Батюкова, Е. В. Жирнова, К. М. Беляков, Е. О. Обухова // Четвёртый Всероссийский диабетологический Конгресс: тезисы докладов.19-22 мая 2008. – Москва. – 2008. – С. 104.

40. Возможности метода клиновидной дегидратации биологических жидкостей в косвенной оценке окислительного стресса у больных сахарным диабетом 2 типа / **О. В. Занозина**, Ю. А. Занозина, Т. Г. Щербатюк, Е. С. Клинцова // Четвёртый Всероссийский диабетологический Конгресс: тезисы докладов.19-22 мая 2008г, г. Москва. – С.105.

41. Возможности ограничения продукции свободных радикалов при сахарном диабете 2 типа с помощью антиоксидантов / **О. В. Занозина,** Г. П. Рунов, Н. Н. Боровков, М. И. Балаболкин, Т. Г. Щербатюк // Четвёртый Всероссийский диабетологический Конгресс: тезисы докладов.19-22 мая 2008г, г. Москва. – С.124.

42.  **Занозина**, **О. В**. Дибикор в терапии больных сахарным диабетом типа 2 / О. В. Занозина, Г. П. Рунов, Н. Н. Боровков //XV Российский национальный конгресс « Человек и лекарство»: сборник материалов конгресса (тезисы докладов).14-18 апреля 2008г. Москва. – С.124.

43. **Занозина, О. В.** Цитофлавин как цито - и эндотелиопротектор в терапии больных сахарным диабетом типа 2 / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Г. П. Рунов, И. Ю. Максимова, Т. Г. Щербатюк //XV Российский национальный конгресс « Человек и лекарство»: сборник материалов конгресса (тезисы докладов).14-18 апреля 2008г. Москва. – С. 496.

44. Особенности гемокоагуляции у больных сахарным диабетом 2 типа в

 сочетании с артериальной гипертензией / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Н. В. Аминева, О. Г. Батюкова, М. Т. Сальцева //Всероссийская конференция с международным участием « Тромбозы. Кровоточивость, ДВС-синдром: современные подходы к диагностике и лечению».16-18 октября 2008г. Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов. – Москва. -2008.- Приложение №6. – С. 24 – 25.

45. Занозина, О. В. Взаимосвязь окислительного стресса и гемостаза при сахарном диабете типа 2: возможности антиоксидантной терапии / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, М. И. Балаболкин // Медицинский альманах. – 2008, №3. – С.136 – 139.

46. Занозина, О. В. Роль свободно-радикального окислительного стресса в формировании дополнительных факторов риска развития кардиоренального синдрома у больных сахарным диабетом 2 типа / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Г. П. Рунов // Сборник тезисов всероссийского конгресса « Диабет и почки» 17-20 мая 2009. – Москва. – 2009. – С.152.

47. Роль дибикора в терапии больных сахарным диабетом типа 2 / **О. В. Занозина**, Н. Н. Боровков, Т. Г. Щербатюк, А. С. Полякова / Актуальные вопросы восстановительной медицины и реабилитации больных с двигательными нарушениями. Материалы конференции. – Нижний Новгород. – 2009. – С. 192 – 196.

48. Значение метода клиновидной дегидратации в оценке степени декомпенсации сахарного диабета типа 2 / Т. Г. Щербатюк, **О. В. Занозина,** Е. С. Клинцова, Ю. А. Занозина // Материалы международного симпозиума « актуальные проблемы биофизической медицины», Киев,14-17 мая 2009. – С.119 – 120.

**49. Занозина, О. В**. Окисленные модифицированные белки в генезе атеросклероза при сахарном диабете типа 2 / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Т. Г. Щербатюк // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2009; 8(6), Приложение 1. – С. 141.

50. Зависимость показателей диастолической функции сердца от степени компенсации углеводного обмена у больных сахарным диабетом 2 типа в сочетании с эссенциальной артериальной гипертензией / Н. А. Яркова, **О. В. Занозина**, Н. Н. Боровков, Г. П. Рунов //Всероссийский конгресс « Современные технологии в эндокринологии (тиреоидология, нейроэндокринология, эндокринная хирургия): сборник тезисов. Москва. – 23-26 ноября 2009. – С. 246.

51. Влияние антиоксидантной терапии на систему гемостаза у больных сахарным диабетом 2 типа / Н. Н. Боровков, **О. В. Занозина,** Н. В. Аминева, М. Т. Сальцева / Всероссийская конференция с международным участием « Тромбозы, кровоточивость, ДВС-синдром: современные подходы к диагностике и лечению»: тезисы конференции. Москва, 26 – 28 ноября 2009г. - Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов. – Приложение № 7. – C.14 – 15.

52. **Занозина, О. В**. Окислительный стресс и поздние осложнения сахарного диабета типа 2 / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков // Материалы четвёртого Национального конгресса терапевтов.- М.: Издат. дом « Бионика». – 2009. – С. 95 – 96.

53. **Занозина, О. В**. Взаимосвязь структурных и метаболических маркёров атеросклероза у больных, страдающих сахарным диабетом типа 2 / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Е. В. Жирнова // Материалы четвёртого Национального конгресса терапевтов. – М.: Издат. дом « Бионика». – 2009. – С. 96.

54. Значение антиоксидантной терапии в коррекции гемостазиологических расстройств у больных сахарным диабетом типа 2 / Н. Н. Боровков, О. В. Занозина, Н. В. Аминева, М. Т. Сальцева // Материалы четвёртого Национального конгресса терапевтов. – М.: Издат. дом « Бионика». – 2009. – С.34 – 35.

**55. Щербатюк, Т. Г. Возможность оценки наличия окислительного стресса у больных сахарным диабетом типа 2 с помощью метода клиновидной дегидратации / Т. Г. Щербатюк, О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Е.С. Клинцова // Российский медико-биологический вестник им. Акад. И. П. Павлова. – 2009. - № 4. – С. 92 – 97**

**56**.**Занозина, О. В.** Окисленные модифицированные белки в генезе атеросклероза при сахарном диабете 2 типа / О. В. Занозина, Т.Г. Щербатюк, Н. Н. Боровков // Современные технологии в медицине. – 2009. – № 2. – С. 72 – 75.

**57. Занозина, О. В. Окислительный стресс: особенности при сахарном диабете, источники образования, характеристика составляющих, патогенетические механизмы токсичности (обзор) / Уральский медицинский журнал.- 2010 - №1(66). – С.79 – 87**

**58. Занозина, О. В.** К вопросу о роли окислительного стресса в развитии артериальной гипертензии у больных сахарным диабетом 2 типа / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков // Клиническая медицина. – 2010. – Приложение 1, № 1. – С. 33 – 34.

**59. Занозина, О. В. Окислительная модификация белков у больных сахарным диабетом в зависимости от длительности и компенсации заболевания / О. В. Занозина, Т. Г. Щербатюк Н. Н. Боровков // Российский медико-биологический вестник им. Акад. И. П. Павлова. – 2010. - № 1. – С. 98 – 103.**

**60. Занозина, О. В.** Метод клиновидной дегидратации в оценке степени декомпенсации сахарного диабета / О. В. Занозина, Е. С. Клинцова, Ю. А. Занозина, Т. Г. Щербатюк // Процессы самоорганизации в высыхающих каплях многокомпонентных жидкостей: эксперименты, теории, приложения. Материалы I международной конференции 3 – 6 мая 2010, Астрахань. – Астрахань: Изд – во Астраханский университет. – 2010 – С. 154.

61. Занозина, О. В. Аланинаминотрансфераза как косвенный маркёр окислительного стресса и воспаления у больных сахарным диабетом 2 типа и его прогностическая значимость / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Г. П. Рунов // V Всероссийский диабетологический конгресс: сборник тезисов. – Москва. – 23 – 26 мая 2010. – С. 285.

62. Занозина, О. В. Взаимосвязь структурных и лабораторных маркёров атеросклероза у больных, страдающих сахарным диабетом 2 типа / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Е. В. Жирнова // V Всероссийский диабетологический конгресс: сборник тезисов. – Москва. – 23 – 26 мая 2010. – С. 286.

63. Занозина, О. В. Взаимосвязь структурных и метаболических маркёров атеросклероза у больных, страдающих сахарным диабетом 2 типа / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Е. В. Жирнова, Г. П. Рунов // V Всероссийский диабетологический конгресс: сборник тезисов. – Москва. – 23 – 26 мая 2010. – С. 287.

**64. Занозина, О. В. Свободнорадикальное окисление у больных сахарным диабетом: источники образования, характеристика составляющих, патогенетические механизмы токсичности (обзор) / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Т. Г. Щербатюк // Современные технологии в медицине. -** – **2010. – № 3. – С. 104 – 112.**

**Заявки на патенты**

1. № 2009116989/15 (023353) от 04.05.2009

2. № 2009121919/ 15 (030335) от 08.06.2009

**Получены патенты**

1. Способ лечения диабетической полинейропатии. № 96101675 от 1998.03.27

2. Способ диагностики сахарного диабета. Заявка № 200910618/15 (008305). Дата подачи заявки 25.02.2009. дата начала отсчёта срока патента 25.02.2009.Решение о выдаче патента на изобретение от 09.06.2010.

**СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

АДФГ-аденозиндифосфатгидрозон

АДФГ и- аденозиндифосфатгидрозон индуцированный

АЛАТ- аламинаминотрансфераза

АОС - антиоксидантная система

АСАТ- аспартатаминотрансфераза

АТ3- антитромбин 3

АЧТВ – активированное частично тромбиновое время

 АФК- Активные формы кислорода

ГТП- глютаминтранспептидаза

ДК - диеновые конъюгаты

Дней – диабетическая нейропатия

ДН - диабетическая нефропатия

ДР – диабетическая ретинопатия

ДС- диабетическая стопа

ДЭ - дисциркуляторная энцефалопатия

ИР - инсулинорезистентность

ИИР- индекс инсулинорезистентности

КАТ- каталаза

КДФГ- карбонилдифосфатгидрозон

КДФГ и- карбонилдифосфатгидрозон индуцированный

Л - листовые микроструктуры

ЛПВП - липопротеиды высокой плотности

ЛПНП- липопротеиды низкой плотности

ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности

М-морщины

МДА- малоновый диальдегид

ОАА - общая антиоксидантная активность

ОИМ- острый инфаркт миокарда

ОМБ - окислительная модификация белков

ОНМК- острое нарушение мозгового кровообращения

ОС- окислительный стресс

ОХ - общий холестерин

ОШ – основания Шиффа

ПА – позвоночная артерия

ПД - потенциал действия

ПСА - показатель спонтанной агрегации

РКФМ – растворимые комплексы фибринмономеров

СД 2 - сахарный диабет типа 2

СМА - средняя мозговая артерия

СОД - супероксиддисмутаза

СРА - средний радиус агрегатов

СРБ - С-реактивныйбелок

СРВ- скорость распространения волны

СРО - свободнорадикальное окисление

ТГ - триглицериды

ТК- триеновые конъюгаты

ТКДГ – транскраниальная допплерография

ФАБ - функциональная активность β- клетки

ХОЗАНК – хронические оклюзионные заболевания артерий нижних конечностей

**D**- максимальное значение спектра во время конечной диастолы

fW- фактор фон Виллебранда

HbA1c- гликозилированный гемоглобин

HF- мощность в диапазоне высоких частот (0,15—0,40)

I- интенсивность свободно-радикального окисления

IP – индекс Пурселло -отношение между разностью систолической и диастолической скоростей (от пика до пика) и систолической скоростью

IR- отношение между разностью систолической и диастолической скоростей (от пика до пика) с средней скоростью

LT –скорость агрегации тромбоцитов

**Базисная терапия +**

**Мексидол ( n=84)**

LF- Мощность в диапазоне низких частот (0,04—0,15 Гц)

M - среднее значение спектра.

NO - оксид азота

pNN50 - количество пар соседних NN-интервалов, различающихся более чем на 50 мс, в течение всей записи

SDNN, мс- Стандартное отклонение интервалов R—R

SL-степень агрегации тромбоцитов

TIM - толщина интима-медиа