

ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ имени МАРАТА ОСПАНОВА

УДК 616.13-004.6:615.03:612.352.121.122

На правах рукописи

ЖАРМАХАНОВА ГУЛЬМИРА МАХАМБЕТЬЯРОВНА

**Влияние симвастатина на ранние проявления атеросклероза,
индуцированного суточными колебаниями гликемии**

Специальность - 6D110100 «Медицина»

Диссертация на соискание ученой степени

доктора философии (PhD)

Научный руководитель

кандидат медицинских наук,

Искакова С.С.

Зарубежный научный консультант

MD, PhD, Associate Professor Dworacka M.

Республика Казахстан

Актобе, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ	5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	9
СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ.....	11
ВВЕДЕНИЕ	14
1 Современное представление о значении вариабельности гликемии в развитии раннего атеросклероза при сахарном диабете (обзор литературы).....	19
1.1 Эпидемиология сахарного диабета 2 типа.....	19
1.2 Развитие хронических диабетических осложнений – основная проблема сахарного диабета 2 типа	21
1.3 Роль гипергликемии в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета 2 типа	22
1.3.1 Определение и классификация различных типов гликемии.....	22
1.3.2 Эпидемиологические и клиничко-экспериментальные данные патогенетической роли гипергликемии и вариабельности гликемии в развитии диабетических ангиопатий	25
1.3.3 Патофизиологические механизмы воздействия гипергликемии и выраженных колебаний гликемии на возникновение и прогрессирование сосудистых осложнений сахарного диабета	26
1.4 Маркеры раннего атеросклероза (сосудистой дисфункции)	30
1.5 Статины – их значение в терапии сахарного диабета	33
1.5.1 Механизм действия, основные фармакологические эффекты на атеросклероз и гиперлипидемии	33
1.5.2 Применение статинов в терапии сахарного диабета	34
1.5.3 Связь между использованием статинов и риском развития диабета – эпидемиологические данные и возможные причины.....	35
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	38
2.1 Характеристика экспериментальных животных	38
2.2 Экспериментальное моделирование сахарного диабета. Индуцирование суточных колебаний гликемии.....	38
2.3 Методы исследования	42
2.3.1 Изучение метаболического статуса	42
2.3.2 Изучение показателей – маркеров раннего атеросклероза.....	44
2.4 Статистический анализ полученных результатов	47
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	48
3.1 Результаты влияния вариабельности гликемии на ранние проявления атеросклероза в условиях экспериментального сахарного диабета	48
3.2 Результаты влияния симвастатина на состояние метаболического статуса у диабетических крыс с индуцированными суточными колебаниями гликемии	57

3.3 Оценка воздействия симвастатина на ранние проявления атеросклероза, индуцированного суточными колебаниями гликемии.....	65
результаты исследований:	
- по определению количества циркулирующих эндотелиальных клеток и прогениторных эндотелиальных клеток	66
- по определению уровня экспрессии м-РНК гена, кодирующего трансформирующий фактор роста β в миокарде и тканях аорты.....	67
- по изучению экспрессии антигена CD68 в тканях аорты.....	68
3.4 Оценка характера взаимосвязи между показателями углеводного обмена и маркерами раннего атеросклероза в условиях экспериментального сахарного диабета	70
3.4.1 Корреляционный анализ	70
3.4.2 Ковариационный анализ	72
4 ОБСУЖДЕНИЕ И ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ...	78
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	87
ВЫВОДЫ	87
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	88
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	89
ПРИЛОЖЕНИЯ	

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 7.32-2001 - (Межгосударственный стандарт) Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 15.101-98 - (Межгосударственный стандарт) Система разработки и постановки продукции на производство. Порядок выполнения научно-исследовательских работ.

ГОСТ 7.1-84 - Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическое описание документа. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 7.9-95 (ИСО 214-76) - Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.

ГОСТ 7.12-93 - Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Сокращение слов на русском языке. Общие требования и правила.

ГОСТ 7.54-88 - Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Представление численных данных о свойствах веществ и материалов в научно-технических документах. Общие требования.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяют следующие термины с соответствующими определениями:

Ангиогенез – процесс формирования сети новых капилляров (микрососудов) в ответ на гипоксию или другие стимулирующие факторы. Ангиогенез начинается с локального повреждения сосудистой стенки, местной секреции ангиогенных факторов, активации пролиферации и миграции клеток эндотелия. Патологическая активация ангиогенеза характерна для злокачественных процессов, атеросклероза, некоторых аутоиммунных заболеваний.

1,5-ангидроглюцитол (1,5-AG) – естественный моносахарид, маркер острой постпрандиальной гипергликемии. Тест 1,5-AG предназначен для выявления гликемической вариабельности (краткосрочной острой гипергликемии без обнаружения гипогликемии) у людей с сахарным диабетом, которые имеют нормальные или близкие к нормальным значения уровня гликогемоглобина.

Вариабельность гликемии (суточные колебания гликемии) – колебания уровня глюкозы крови (разброс значений гликемии) – самостоятельный предиктор осложнений сахарного диабета.

Гликогемоглобин (HbA_{1c}) – гемоглобин, образующийся в результате неэнзиматической реакции между гемоглобином А и глюкозой сыворотки крови. Показатель гликированного гемоглобина характеризует средний уровень глюкозы в крови за длительный период (до 3 месяцев). HbA_{1c} достоверный предиктор целого спектра осложнений, как микрососудистых, так и макрососудистых.

Диабетическая ангиопатия – осложнение сахарного диабета, проявляющееся в поражении мелких сосудов, капилляров (микроангиопатии) и крупных сосудов (макроангиопатии).

Дисперсионный анализ (Analysis Of Variance – ANOVA) используется с целью проверки статистической значимости разницы между средними в более чем двух независимых выборках.

Инсулинорезистентность – состояние сниженной чувствительности периферических тканевых рецепторов к биологическому действию инсулина.

Корреляция – статистическая взаимосвязь двух или более случайных величин (наличие линейной связи или общей пропорциональности между переменными).

Липопротеины – сложные надмолекулярные комплексы, в составе которых липиды транспортируются в крови. Основными липопротеидами являются хиломикроны, липопротеины очень низкой плотности (ЛОНП), липопротеины низкой плотности (ЛНП), липопротеины высокой плотности (ЛВП).

Постпрандиальная гипергликемия – кратковременная гипергликемия как ответная реакция на прием пищи, которая возникает у людей через 2 часа после приема пищи, у лабораторных крыс через 1 час после приема пищи.

Циркулирующие прогениторные эндотелиальные клетки – циркулирующие предшественники эндотелиальных клеток, участвуют в формировании кровеносных сосудов в постнатальном периоде в условиях ишемии, препятствуют действию факторам риска дисфункции эндотелия. Являются клеточным маркером риска развития сердечно-сосудистых заболеваний.

Цитокины – гормоноподобные молекулы, действие которых на клетки-мишени опосредуется высокоспецифичными высокоаффинными мембранными рецепторами. Цитокины регулируют межклеточные взаимодействия, участвуют в формировании и регуляции защитных реакций организма при нарушении целостности тканей.

Интерлейкины – цитокины, синтезируемые в основном лейкоцитами и ответственные за межклеточные взаимодействия между лейкоцитами; также производятся мононуклеарными фагоцитами и другими тканевыми клетками.

Эндотелий – сложный и многофункциональный орган, представлен однослойным пластом специализированных клеток, выстилающих изнутри все сосуды, непрерывно вырабатывает огромное количество биологически активных веществ.

Трансформирующий фактор роста- β – цитокин широкого спектра действия, ингибитор коллагеназ и эластаз, медиатор фиброплазии; индуцирует тромбоцитарные факторы роста, способствуя ангиогенезу и атерогенезу.

ASCOT-LLA (Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Lipid Lowering Arm, 2004) – Англо-Скандинавское исследование, показавшее эффективность аторвастатина в дозе 10 мг в предупреждении сердечно-сосудистых осложнений, в частности ишемического инсульта, у больных с артериальной гипертензией.

CARE (Cholesterol and Recurrent Events Study, 1996) – исследование, в котором изучали правастатин у больных с ишемической болезнью сердца и инфарктом миокарда в анамнезе, но с умеренным уровнем ЛНП, которое доказало необходимость назначения статинов у больных высокого риска, безотносительно уровня холестерина.

CD (Cluster of Differentiation) – система маркерных антигенов или дифференцированных кластеров антигенов.

CD31 - или PECAM-1 (platelet/endothelial cell adhesion molecule-1) молекула-1 адгезии тромбоцитов к эндотелиальным клеткам) – гликопротеин, мембранный белок класса молекул клеточной адгезии; один из основных белков межклеточных контактов эндотелиоцитов, служит механосенсором эндотелиальных клеток к напряжению сдвига. PECAM-1 экспрессируется на поверхности ранних и зрелых эндотелиальных клеток, тромбоцитах и большинства субпопуляций лейкоцитов, используется как маркер эндотелиальных клеток.

CD34 – молекула межклеточной адгезии; маркер стволовых клеток крови. Экспрессируется селективно на гемопоэтических клетках предшественниках. Используется как поверхностный маркер самых ранних гемопоэтических стволовых клеток. Недавними исследованиями показано, что *CD34* экспрессируется также на зрелых эндотелиальных клетках.

CD133 – известный также как проминин-1 или AC 133; маркер стволовых клеток, экспрессируется на поверхности незрелых гемопоэтических стволовых, прогениторных эндотелиальных клетках и обычно отсутствует у зрелых эндотелиоцитов и моноцитов.

CD68 – гликопротеин из семейства лизосом-ассоциированных мембранных протеинов, экспрессирован на поверхности моноцитов/макрофагов и используется как маркер макрофагов.

CORONA (Controlled Rosuvastatin multinational Trial in Heart Failure, 2005) – исследование, в котором изучалось влияние розувастатина на предупреждение сердечно-сосудистых осложнений у пожилых больных с ишемической кардиопатией.

HPS (Heart Protection Study, 2002) – крупное исследование со статинами с участием 20526 пациентов, показавшее достоверное снижение риска общей смертности, количества инфаркта миокарда, всех типов инсульта, операций реваскуляризации у разных категорий пациентов, в первичной и вторичной профилактике, у мужчин и женщин, у лиц с различным исходным уровнем холестерина при терапии симвастатином в дозе 40 мг в течение 5 лет.

JUPITER (Justification for the Use of Statins in Primary prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin, 2003) – исследование по первичной профилактике, показавшее ранний достоверный эффект по снижению сердечно-сосудистой смертности и общей смертности при лечении розувастатином в дозе 20 мг/сут у 8900 лиц с низким риском сердечно-сосудистых осложнений, имевших нормальный уровень холестерина и повышенный уровень С-реактивного белка.

LIPID (Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease, 1998) – исследование по долговременному применению правастатина в дозе 40 мг/сут у пациентов с ИБС и гиперхолестеринемией, в котором наблюдали снижение сердечно-сосудистой смертности и осложнений ИБС.

4S (Scandinavian Simvastatin Survival Study, 1994) – плацебо контролируемое исследование, по результатам которого была впервые показана возможность существенно снижать сердечно-сосудистую (-42%) и общую (-30%) смертность у больных с высоким уровнем холестерина, перенесшим инфаркт миокарда, получавшим в течение 5 лет симвастатин в дозе 20-40 мг в сутки.

WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study, 1995) – исследование по первичной профилактике атеросклероза у мужчин 45-64 лет с высоким риском, в котором была доказана эффективность правастатина в дозе 40 мг/сут по влиянию на сердечно-сосудистую смертность.

DECODE (Diabetes Epidemiology: Collaborative Analysis Of Diagnostic Criteria in Europe, 1999) – исследование, показавшее, что высокий уровень гликемии в сыворотке крови через 2 часа после пероральной нагрузки глюкозой связан с повышенным риском смерти независимо от гликемии натощак.

Hoorn Study – исследование (1999), в котором было показано, что уровень гликемии через 2 часа после проведения глюкозо-толерантного теста – лучший предиктор смертности, чем гликогемоглобин (HbA_{1c}).

Honolulu Heart Study – исследование (1987), показавшее взаимосвязь между постпрандиальной гипергликемией и риском развития кардиоваскулярной патологии.

Diabetes Intervention Study – исследование (1996), которое показало, как постпрандиальная гипергликемия предсказывает риск развития инфаркта миокарда у больных сахарным диабетом 2 типа.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ВОЗ	- Всемирная Организация Здравоохранения
ВГ	- вариабельность гликемии
ГН	- гликемия натощак
ГМК-КоА- редуктаза	- гидрокси-метилглутарил-КоА-редуктаза
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ИБС	- ишемическая болезнь сердца
ЛПВП	- липопротеиды высокой плотности
ЛПНП	- липопротеиды низкой плотности
ЛПОНП	- липопротеиды очень низкой плотности
НГН	- нарушенная гликемия натощак
НТГ	- нарушенная толерантность к глюкозе
ОС	- окислительный стресс
ППГ	- постпрандиальная гипергликемия
ППГ-1	- постпрандиальная гипергликемия, зарегистрированная через 1 час после первого кормления при стимулировании суточных колебаний в эксперименте
ППГ-2	- постпрандиальная гипергликемия зарегистрированная через 1 час после второго кормления при стимулировании суточных колебаний в эксперименте
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
СД	- сахарный диабет
СД2	- сахарный диабет 2 типа
ССЗ	- сердечно-сосудистые заболевания
ТГ	- триглицериды
ХС	- общий холестерин
1,5- AG	- 1,5-anhydroglucitol – 1,5-ангидроглюцитол
ADA	- American Diabetes Association - Американская диабетическая ассоциация
AGEs	- Advanced glycation end products – конечные продукты гликирования
CGMS	- Continuous Glucose Monitoring System - система постоянного мониторинга глюкозы
EASD	- European Association for the Study of Diabetes – Европейская ассоциация по изучению диабета
ECs	- Endothelial cells - эндотелиальные клетки
EPCs	- Endothelial progenitor cells – прогениторные эндотелиальные клетки
ELISA	- Enzyme-linked immunosorbent assay – иммуноферментный анализ
IDF	- International Diabetes Federation – Международная федерация диабета

ICAM-1	- Inter cellular adhesion molecule – молекула клеточной адгезии-1
IGTT	- Intra gastric glucose tolerance test – интрагастральный глюкозо-толерантный тест
HbA _{1c}	- Glycated hemoglobin - гликированный гемоглобин
HFD	- High-fat diet – диета с высоким содержанием жиров
HOMA _{IR}	- Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance - индекс инсулинорезистентности
IL	- Interleukin – интерлейкин
MAGE	- Mean amplitude of glucose excursions – средняя амплитуда колебаний гликемии
MCP-1	- Monocyte Chemoattractant Protein 1 – моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1
NADPH	- Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase - никотинамид аденин динуклеотидфосфат-оксидазы
NO	- Nitric oxide - оксид азота
NF-κB	- Nuclear factor kappa-B - транскрипционный фактор карра-В
PCK	- Protein kinase C - протеинкиназа C
RAGEs	- Receptors for advanced glycation endproducts - Рецепторы конечных продуктов гликирования
TGF-β	- Transforming growth factor - beta – трансформирующий фактор роста β
TNF-α	- Tumor necrosis factor-alpha – фактор некроза опухоли-α
VCAM-1	- Vascular Cell Adhesion Molecule -1 – сосудистая молекула клеточной адгезии -1
VEGF	- Vascular endothelial growth factor - сосудистый эндотелиальный фактор роста

СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ

Таблица 1	Распределение животных по экспериментальным группам....	39
Таблица 2	Характеристика метаболического статуса (I, II, III) экспериментальных групп	48
Таблица 3	Показатели сосудистой дисфункции у животных I, II, III экспериментальных групп	51
Таблица 4	Данные исследования влияния симвастатина на метаболический статус при экспериментальном диабете на фоне вариабельности гликемии	57
Таблица 5	Результаты исследования, полученные при оценке влияния симвастатина на ранние проявления атеросклероза при экспериментальном сахарном диабете на фоне вариабельности гликемии	65
Таблица 6	Результаты ковариационного анализа ANCOVA характера взаимосвязи между зависимой переменной ECs и метаболическими факторами у животных диабетических групп	73
Таблица 7	Результаты ковариационного анализа ANCOVA характера взаимосвязи между зависимой переменной EPCs и метаболическими факторами у животных диабетических групп	74
Таблица 8	Результаты ковариационного анализа ANCOVA характера взаимосвязи между уровнем экспрессии м-РНК TGF β (в миокарде) и метаболическими факторами у животных диабетических групп	76
Схема 1	Механизм развития сосудистых осложнений, индуцированных гипергликемией	29
Рисунок 1	Показатель вариабельности гликемии ΔG при индуцировании гликемических экскурсий	49
Рисунок 2	Сравнение концентрации 1,5-AG между диабетическими крысами II, III групп и интактными животными	50
Рисунок 3	Сравнение индекса инсулинорезистентности $HOMA_{IR}$ между диабетическими крысами II, III групп и интактными животными	50
Рисунок 4	Сравнение количества ECs, циркулирующих в периферической крови между диабетическими крысами II, III групп и интактными животными	52
Рисунок 5	Сравнение количества циркулирующих в периферической крови EPCs между диабетическими крысами II, III групп и интактными животными	52
Рисунок 6	Сравнение экспрессии м-РНК к белкам TGF β в миокарде у диабетических крыс I, II и III групп	53

Рисунок 7	А – Распределение CD68 ⁺ моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты крыс I группы интактного контроля.....	54
	В – Распределение CD68-позитивных моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты крыс II группы с сахарным диабетом	55
	С – Распределение CD68 ⁺ моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты крыс III группы с сахарным диабетом и индуцированными суточными колебаниями гликемии	56
Рисунок 8	Сравнение уровней постпрандиальной гликемии после 1-го кормления (mean ППГ-1) между всеми экспериментальными группами	58
Рисунок 9	Сравнение концентраций глюкозы после 2-го кормления (mean ППГ-2) между всеми экспериментальными группами	59
Рисунок 10	Сравнение концентрации 1,5-AG между всеми экспериментальными группами	60
Рисунок 11	Сравнение концентрации С-пептида между всеми экспериментальными группами	60
Рисунок 12	Показатель гликемических экскурсий ΔG во всех группах	61
Рисунок 13	Сравнение вариабельности гликемии между всеми экспериментальными группами (MAGE)	62
Рисунок 14	Сравнение концентрации инсулина между всеми экспериментальными группами	63
Рисунок 15	Сравнение показателя инсулинорезистентности HOMA _{IR} между всеми экспериментальными группами	64
Рисунок 16	Взаимосвязь суточной вариабельности гликемии с показателем HOMA _{IR} у диабетических крыс II, III и IV групп (r=0,48, n=42)	64
Рисунок 17	Сравнение количества циркулирующих в периферической крови ECs у крыс всех экспериментальных групп	66
Рисунок 18	Сравнение количества циркулирующих в периферической крови EPCs во всех экспериментальных группах	67
Рисунок 19	Сравнение уровня экспрессии m-RНК гена, кодирующего фактор роста TGF-β в миокарде животных всех экспериментальных групп	68
Рисунок 20	Распределение CD68 ⁺ моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты крыс всех экспериментальных групп	69
Рисунок 21	Взаимосвязь суточной вариабельности гликемии (по показателю ΔG) с количеством циркулирующих в периферической крови ECs у диабетических крыс II, III и IV групп (r =0,6, n=42)	70
Рисунок 22	Взаимосвязь суточной вариабельности гликемии (по показателю ΔG) с количеством циркулирующих в периферической крови EPCs у диабетических крыс II, III и IV групп (r =-0,41, n=42)	71

Рисунок 23	Взаимосвязь суточной вариабельности гликемии (по показателю ΔG) с уровнем экспрессии м-РНК TGF- β в миокарде у диабетических крыс II, III и IV групп ($r = 0,38$, $n=42$)	72
Рисунок 24	График средних значений процента ECs среди животных диабетических II, III и IV групп	74
Рисунок 25	График средних значений процента EPCs среди животных диабетических II, III и IV групп	75
Рисунок 26	График средних значений уровня экспрессии м-РНК TGF β в миокарде среди животных диабетических II, III и IV групп	76

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Сахарный диабет представляет собой одну из серьезнейших медико-социальных и экономических проблем здравоохранения во всем мире, что обусловлено высокой распространенностью заболевания, ежегодным ростом числа больных и развитием сосудистых осложнений [1]. Необходимо отметить, что распространенность сахарного диабета, регистрируемая по статистике обращений, не отражает реальной ситуации, так как фактическая распространенность этого заболевания превышает регистрируемую по обращаемости [2].

По оценке Международной Диабетической Федерации (International Diabetes Federation - IDF), в 2014 году в мире зарегистрировано 387 млн человек больных СД, при этом, к 2035г. общее число больных диабетом составит 592 млн человек [3]. Количество больных сахарным диабетом постоянно растет во всем мире. Больные сахарным диабетом имеют повышенный риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, являющихся основной причиной смерти пациентов с сахарным диабетом [4 - 8].

Одним из наиболее частых и тяжелых поздних осложнений сахарного диабета является ускоренное развитие коронарного и периферического атеросклероза, приводящего к высокой инвалидизации и смертности больных. Доказано, что одна из основных причин повышенного риска сердечно-сосудистых осложнений при сахарном диабете – гипергликемия. Более того, согласно современным представлениям сахарный диабет является независимым фактором риска атеросклероза [9]. Постоянная (хроническая) и постпрандиальная гипергликемия инициируют окислительный стресс и дисфункцию эндотелия [10, 11], которая считается доклиническим признаком атеросклероза [12].

Ранняя стадия атеросклероза включает такие процессы как дисфункция эндотелия, воспаление, окислительный стресс, нарушение ангиогенеза, повышенная пролиферация гладкомышечных клеток, прокоагулянтный статус, происходящие в стенке артерий и затрагивающие, таким образом, статус миокарда [13].

Результаты последних исследований показали, что в повышении степени тяжести и смертности заболеваний, развивающихся на основе сердечно-сосудистых осложнений, значительную роль играют суточные колебания или вариабельность гликемии [14,15]. Вариабельность гликемии является более значимым независимым фактором, который повреждает сосуды сильнее, чем стабильная гипергликемия [16-18]. Суточная амплитуда колебаний гликемии может быть определяющим фактором риска прогрессирования осложнений при сахарном диабете и не коррелировать с высоким уровнем гликированного гемоглобина, являющегося показателем стабильной хронической гипергликемии. Высокая амплитуда колебаний гликемии более опасна, чем постоянно высокий уровень глюкозы: вариабельность гликемии, повышая

продукцию свободных радикалов в клетках эндотелия, приводит к стойкой дисфункции эндотелия и более выраженному, чем при стабильной гипергликемии нарушению сосудистой проницаемости [19].

При повреждении эндотелия резко снижается способность синтезировать оксид азота, возникает вазоконстрикция, нарушаются тесные контакты эндотелиоцитов, что, в свою очередь, способствует нарушению проницаемости, проникновению липидов в субэндотелиальное пространство, миграции клеток, а также десквамации эндотелиальных клеток [20, 21]. Активированные клетки эндотелия экспрессируют клеточные молекулы адгезии, цитокины и факторы роста, что приводит к адгезии циркулирующих моноцитов и Т-клеток. После адгезии моноциты активируются и проникают в субэндотелиальное пространство, превращаясь в «пенистые клетки», заполненные липопротеинами низкой плотности, с последующим образованием атеромы [22].

В связи с этим для снижения риска развития сосудистых осложнений у пациентов с сахарным диабетом необходимо снижение риска колебаний гликемии. Установлено, что уменьшение амплитуды колебаний гликемии ингибиторами дипептидилпептидазы-4 сопровождается снижением маркеров окислительного стресса и воспаления [23], что, в свою очередь, способствует снижению прогрессирования толщины интимы (intima media) [24].

Одной из наиболее часто назначаемых при сахарном диабете групп гиполипидемических препаратов являются статины. В ряде исследований продемонстрирована высокая эффективность статинов в снижении кардиоваскулярного риска и сердечно-сосудистых заболеваний [25], что позволяет широко применять их в клинической практике. Статинам наряду с основным гиполипидемическим действием свойственны плеiotропные эффекты: противовоспалительное, антиоксидантное, антитромботическое действие [26]. Тем не менее, в последнее время активно обсуждается вопрос о возможном риске развития диабета при применении статинов [27-29]. Предполагаемыми механизмами диабетогенного действия статинов являются нарушение регуляции процессов внутриклеточной инсулиновой сигнализации, функции β -клеток поджелудочной железы, а также секреции адипокина [30]. С другой стороны, результаты клинических исследований о влиянии статинов на инсулинорезистентность и секрецию инсулина противоречивы и свидетельствуют как о положительном, так и негативном воздействии статинов на чувствительность к инсулину [31]. Необходимо отметить, что недостаточно изучено, как статины влияют на течение сахарного диабета, включая гликемию натощак, гликогемоглобин и суточные колебания гликемии.

Принимая во внимание вышеизложенное, мы изучили сосудистые эффекты, индуцированные вариабельностью гликемии у крыс с экспериментальной моделью сахарного диабета, соответствующего диабету 2 типа у людей, и влияние симвастатина на гликемические экскурсии и ранние проявления сосудистой дисфункции.

Цель исследования

Изучить влияние симвастатина на ранние проявления атеросклероза, индуцированного суточными колебаниями гликемии на экспериментальной модели сахарного диабета.

Задачи исследования

1. Изучить влияние вариабельности гликемии на показатели раннего атеросклероза (количество циркулирующих эндотелиальных клеток и прогениторных эндотелиальных клеток; уровень экспрессии м-РНК гена, кодирующего трансформирующий фактор роста- β в миокарде, аорте и маркера макрофагов (CD68) в тканях аорты) у крыс с экспериментальной моделью сахарного диабета и индуцированными гликемическими экскурсиями.
2. Исследовать влияние симвастатина на состояние метаболического статуса (углеводный обмен, включая показатели вариабельности гликемии и инсулинорезистентность) у крыс с экспериментальной моделью сахарного диабета на фоне индуцированных суточных колебаний гликемии.
3. Изучить влияние симвастатина на содержание маркеров раннего атеросклероза у диабетических крыс с индуцированными гликемическими экскурсиями.
4. Оценить связь между показателями углеводного обмена и маркерами сосудистой дисфункции в условиях экспериментального сахарного диабета.

Научная новизна исследования

Впервые установлено, что в условиях экспериментального сахарного диабета вариабельность гликемии повышает инсулинорезистентность, приводит к развитию сосудистой дисфункции (повышению количества циркулирующих в периферической крови эндотелиоцитов, снижению количества прогениторных эндотелиальных клеток, повышению уровня экспрессии м-РНК трансформирующего фактора роста- β в миокарде и повышению CD68-позитивных макрофагов в адвентиции аорты).

Впервые в условиях экспериментального сахарного диабета на фоне суточных колебаний гликемии установлено положительное влияние симвастатина на вариабельность гликемии и инсулинорезистентность.

Впервые в эксперименте на модели крыс с сахарным диабетом установлено положительное влияние симвастатина на ранние проявления атеросклероза, индуцированного суточными колебаниями гликемии.

Практическая значимость

Результаты экспериментального исследования расширяют представления о значимости влияния вариабельности гликемии в ухудшении метаболического статуса и в повышенном риске развития атеросклероза при сахарном диабете.

Особую ценность работе придают результаты исследования, свидетельствующие о том, что с целью профилактики атеросклероза при сахарном диабете 2 типа может быть использован широко применяемый гиполипидемический препарат – симвастатин, снижающий инсулинорезистентность и проявления сосудистой дисфункции на фоне вариабельности гликемии. Выявленное положительное влияние симвастатина на ранние проявления атеросклероза является предпосылкой для проведения дальнейших исследований по изучению коррекции сосудистой дисфункции с целью эффективного управления диабета при вариабельности гликемии и снижения риска развития кардио-васкулярных осложнений.

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры фармакологии (Приложение А, Приложение Б) Западно-Казахстанского государственного медицинского университета имени Марата Оспанова.

Основные положения диссертационного исследования, выносимые на защиту

Суточные колебания гликемии способствуют развитию раннего атеросклероза у крыс с сахарным диабетом.

Применение симвастатина у крыс с сахарным диабетом в условиях индуцированной вариабельности гликемии приводит к снижению амплитуды гликемических экскурсий и инсулинорезистентности.

Применение симвастатина у крыс с сахарным диабетом на фоне вариабельности гликемии приводит к снижению ранних проявлений атеросклероза, индуцированных суточными колебаниями гликемии.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на:

- Международной научной конференции III International Scientific and Practical Conference “Topical Issues in Medicine” (17-18 апреля 2014 года) г.Актобе;
- X Международной научно-практической конференции «Экология. Радиация. Здоровье» (28-29 августа, 2014 года) г. Семей;
- II Международном Конгрессе «Профилактика и лечение метаболических нарушений и сосудистых заболеваний. Междисциплинарный подход» (24-25 ноября 2014 года) г. Москва, Россия;
- II Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и достижения в медицине» (7 апреля 2015 года) г. Самара, Россия;
- VI International Conference on Biology and Medical Sciences. “East West” Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH. Vienna. (10.06.2015);
- XIX International Congress of the Polish Pharmacological Society (17-19 September 2015) Świnoujście, Poland (г.Свиноуйсьце, Польша);

- заседании межкафедрального совещания по медико-биологическим и клиническим дисциплинам ЗКГМУ имени Марата Оспанова (30 сентября, 2015г., г. Актобе).

Сведения о публикациях

По теме диссертационного исследования опубликовано 11 научных работ, из них: 1 публикация в международном научном издании, имеющем ненулевой импакт-фактор, входящим в международную базу данных по цитируемости Thomson Reuters "European Journal of Pharmacology" (импакт-фактор 2,67 в 2014 году); 1 - в международном научном издании, входящем в международную базу данных Scopus "Georgian Medical News"; 3 - в научных изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК, 6 – в материалах международных научных конференций (в том числе зарубежных - 4).

Объем и структура диссертации

Работа изложена на 115 страницах компьютерного текста. Диссертация состоит из введения, аналитического обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Текст иллюстрирован 8 таблицами и 25 рисунками. Список использованной литературы включает 251 источник, в том числе 41 на русском языке и 210 на английском языке.

1 СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ЗНАЧЕНИИ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ГЛИКЕМИИ В РАЗВИТИИ РАННЕГО АТЕРОСКЛЕРОЗА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Атеросклероз и сердечно-сосудистая патология являются основными причинами инвалидизации и смертности среди больных сахарным диабетом. При сахарном диабете (СД) наблюдается повышенная частота сердечно-сосудистых поражений, развитие атеросклероза в более раннем возрасте и быстрое его прогрессирование в сравнении с общей популяцией [5, р.445; 9, с.131]. Основной мишенью для повреждения при сахарном диабете служат именно клетки сосудистой стенки. Согласно современным представлениям эндотелиальная дисфункция является пусковым звеном в патогенезе атеросклероза [32].

В настоящее время сформировался вполне корректный взгляд на течение атеросклероза в целом: атеросклероз – не патология просвета сосуда, а поражение артериальной стенки, в связи с чем, именно развитие, прогрессирование и стабилизация атеросклеротической бляшки в стенке сосуда определяет клинические исходы атеросклероза [9, с.24].

В соответствии с гипотезой ремоделирования сосудов, ранняя стадия атеросклероза характеризуется образованием бляшки в стенке сосуда с одновременным компенсаторным растяжением наружной эластичной мембраны без изменения просвета сосуда. Необходимо отметить, что при ангиографии атеросклеротические поражения обнаруживаются только тогда, когда бляшка занимает более 40% площади над наружной эластической мембраной. Истинная распространенность атеросклероза существенно превышает распространенность его клинических проявлений [9, с.24-25].

Самая ранняя стадия развития атеросклероза проявляется в поражении сосудистой стенки, когда в интиме, субэндотелиальном и адвентициальном слоях начинается формирование атеромы. Именно на стадии субклинического атеросклероза замедление процесса атерогенеза считается перспективным способом снижения смертности и частоты сердечно-сосудистых заболеваний.

1.1 Эпидемиология сахарного диабета 2 типа

В настоящее время во всех странах мира заболеваемость СД неуклонно растет. Согласно R.Sherwin, (2012) как заболеваемость, так и распространенность СД продолжают расти с силой приближающегося цунами [33]. Каждый раз, когда IDF обновляет данные, количество людей с СД растет. За последние 28 лет численность больных СД в мире возросла более чем в 12 раз: с 30 млн больных СД в 1985 году до 387 млн в 2014 году, в основном за счет больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) [3, с.2]. Нельзя не отметить, что реальные темпы прироста заболеваемости значительно опережают даже столь неутешительные прогнозы экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ).

По данным экспертов IDF по количеству больных СД (в 2013 и 2014 гг. соответственно) лидирует Китай (98,4 млн и 96,3млн), за ней следует Индия (65,1 млн и 66,8 млн), затем США (24,4 млн и 25,779млн) [2, с.13; 3, с.2]. Количество больных СД постоянно увеличивается в связи с ростом распространенности ожирения и малоподвижного образа жизни. В настоящее время можно отметить, что диабет резко молодеет (рост числа случаев СД2 у детей, подростков и молодых взрослых) [34].

По данным Национального регистра сахарного диабета на 2012 год в Республике Казахстан было зарегистрировано 207 935 больных СД. Из них 93% составляют пациенты с СД 2 типа, 7% - СД 1 типа [35].

Согласно исследованиям Н. Сабировой (2013), Казахстан лидирует в Средней Азии по динамике развития диабета: показатель заболеваемости на 100 тыс. населения составляет 1,17. Общее число больных СД в Казахстане неуклонно растет. За последние 10 лет в Казахстане наблюдается прогрессивный рост заболеваемости СД (увеличение в 1,6 раз). Число больных имеет тенденцию к дальнейшему росту, в первую очередь в возрастных группах старше 40 лет. Каждые 10-15 лет число больных СД удваивается. Это происходит в основном за счет прироста больных, страдающих СД2 типа, на долю которых приходится около 6-7% общей популяции [36].

По данным экспертов IDF, число больных СД в Казахстане в 2013 году достигло 526000 человек [2, с.120], в 2014 – 536400 человек [3, с.2].

Значимость медико-социальной проблемы СД2 обусловлена не только его высокой распространенностью, сохраняющейся тенденцией к росту числа больных, но также и высокой инвалидизацией, смертностью больных, вследствие развития микро- и макроангиопатий, необходимостью организации системы специализированной помощи больным.

Важно отметить, что среди непосредственных причин смерти СД2 занимает третье место после сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и онкологических заболеваний. Согласно статистическим данным, макроангиопатические осложнения диабета являются причиной смерти каждого 6-7 пациента из 10 [37]. Несмотря на достижения в лечении СД, миллионы людей во всем мире ежегодно умирают от этого заболевания. Так, по данным IDF, каждые 7 секунд один человек умирает по причине СД [3, с.1], в 2013 году диабет был причиной смерти 5,1 миллионов людей [2, с.14]. По данным ВОЗ на долю ССЗ приходится 60% смертности среди людей с СД [38]. Самая ранняя возрастная инвалидизация пациентов от заболевания и высокая смертность определили СД в качестве приоритетов в национальных системах здравоохранения всех стран мира [39]. Согласно статистическим данным, расходы на диабет во всем мире составили 12% расходов на здравоохранение в 2010 году или 376 миллиардов долларов США [40], в 2013 - 548 миллиардов долларов США [2, с.13] и в 2014 - 612 миллиардов [3, с.2]. Постоянное увеличение расходов на СД свидетельствует о его социальной значимости. Однако, несмотря на то, что проблема СД сегодня стоит на повестке дня во

многих странах мира, по оценкам IDF, около 175 миллионов случаев заболевания не диагностированы [2, с.11].

1.2 Развитие хронических сосудистых осложнений сахарного диабета 2 типа

В настоящее время качество жизни больных СД определяется развитием и прогрессированием хронических осложнений данного заболевания, обусловленные микроангиопатиями (поражение - капилляров, артериол и венул) и макроангиопатиями (поражение сосудов среднего и крупного калибра). Клиническими проявлениями микроангиопатий являются диабетические ретинопатии, нефропатии и нейропатии. Макроангиопатии приводят к инфаркту миокарда, инсульту и гангрене нижних конечностей. Основной причиной инвалидизации и смертности больных СД являются сердечно-сосудистые осложнения, развивающиеся вследствие прогрессирующего атеросклеротического поражения сосудов [41].

Лидирующее место в структуре заболеваемости и смертности у больных с СД2 занимают именно макроангиопатии. Риск развития ишемической болезни сердца (ИБС) в 2-4 раза выше у пациентов с СД 2 по сравнению с лицами без диабета [42]. По статистическим данным у больных СД слепота развивается в 25 раз чаще и ампутации нижних конечностей проводятся в 17-45 раз чаще, чем в общей популяции. У больных диабетом 2 типа диабетическая нефропатия занимает второе место среди причин смерти после ССЗ [43].

Причиной развития и прогрессирования сосудистых осложнений СД является хроническая гипергликемия [44]. Многочисленными исследованиями подтверждена гипотеза о причинной взаимосвязи между гипергликемией и окислительным стрессом (ОС) [45-47]. Гипергликемия при СД приводит к развитию ОС, уменьшению образования оксида азота (NO) и увеличению синтеза белков внеклеточного матрикса клетками сосудистой стенки. С одной стороны, это способствует ускоренному развитию атеросклероза и прогрессированию макроангиопатий, а с другой стороны – вызывает повреждение микрососудистого русла [48].

При гипергликемии вследствие усиленного накопления конечных продуктов гликирования (advanced glycation end products - AGEs) наблюдаются выраженные изменения в цитоплазме, ядерных структурах и компонентах внеклеточного матрикса [49]. AGEs, связываясь с их специфическими рецепторами (RAGE), способны активировать никотинамид динуклеотидфосфат-НАД(Ф)Н-оксидазы (NADPH) и повышать продукцию свободных радикалов кислорода. В последующем они, активируя транскрипционный фактор NF-κB (Nuclear Factor kappaB), индуцируют продукцию сосудистого эндотелиального фактора роста (Vascular Endothelial Growth Factor – VEGF) в моноцитах/макрофагах, эпителиальных клетках, клетках гладкой мускулатуры сосудов и клетках стенок микрососудов [50]. В макрофагах и эндотелиоцитах, связывание AGEs с их рецепторами стимулирует секрецию цитокинов: фактора некроза опухоли альфа (Tumour Necrosis Factor-

alpha - TNF- α), интерлейкина (IL)-1, экспрессию в лейкоцитах васкулярной молекулы клеточной адгезии-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule - VCAM-1) и внутриклеточный ОС со снижением уровней NO и повышением секреции эндотелина-1 [51].

Таким образом, гипергликемия запускает целый каскад биохимических преобразований, ведущих к повреждению сосудистой стенки. Поэтому, основным принципом профилактики развития и прогрессирования сосудистых осложнений СД является достижение и поддержание гликемии, близкой к нормальным значениям [52]. В настоящее время адекватная рациональная фармакологическая коррекция СД направлена на поддержание оптимального баланса глюкозы и предотвращение развития микро- и макрососудистых осложнений [53, 54].

1.3 Роль гипергликемии в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета 2 типа

Концентрация глюкозы в плазме крови представляет собой баланс между образованием глюкозы в печени и ее использованием в инсулиннезависимых (мозг, почки, эритроциты) и инсулинзависимых тканях (мышцы, жировая ткань). Данный баланс регулируется инсулином из β -клеток и глюкагоном из α -клеток поджелудочной железы. При СД2 имеет место инсулиновая резистентность наряду со снижением чувствительности β -клеток поджелудочной железы к глюкозе. В последующем инсулинорезистентность и дисфункция β -эндокриноцитов приводят к развитию гипергликемии и связанной с ней глюкозотоксичностью. Глюкозотоксичность, в свою очередь, способствует усилению инсулинорезистентности и формированию дефицита секреции инсулина [55].

Глюкозотоксичность включает сложный комплекс метаболических изменений: 1) окислительный стресс (ОС); 2) гликирование белков; 3) активацию серинкиназ, треонинкиназ типа протеинкиназы С (PKC); 4) изменение экспрессии генов, ответственных за образование белков, участвующих в развитии патологических морфологических структур [56]. Таким образом, гипергликемия является причиной постоянной прогрессии СД2, проявляющейся дисфункцией эндотелия.

1.3.1 Определение и классификация различных типов гликемии

В физиологических условиях колебания глюкозы в организме человека находятся в очень узком диапазоне, характеризуются низкой вариабельностью, высокой стабильностью и низкой экспозицией гипергликемии [55, с.21].

Гликемия натощак (ГН) в основном зависит от продукции глюкозы печенью в ночное время. ГН отражает баланс между продукцией глюкозы печенью и распределением глюкозы в тканях. В норме ГН $<5,6$ ммоль/л (в капиллярной цельной крови) и $<6,1$ ммоль/л в венозной крови [55, с.14]. Данный параметр характеризует не только процесс ночного глюконеогенеза, но и степень декомпенсации СД у пациентов, плохо контролирующих данное

заболевание. Как правило, снижение скорости распределения не отражается в повышении ГН. Фактором, который непосредственно отвечает за развитие гипергликемии натощак, является повышение продукции глюкозы печенью [55, с.23].

Нарушенная гликемия натощак (НГН) - это состояние, при котором концентрация глюкозы в крови (или плазме) натощак выше нормального значения, но ниже порогового уровня, являющегося диагностическим критерием диабета. НГН: концентрация глюкозы натощак 5,6-6,0 ммоль/л в капиллярной цельной крови, 6,1-6,9 ммоль/л в венозной крови [55, с.14].

Нарушенная толерантность к глюкозе (НТГ) - состояние, при котором концентрация глюкозы в крови (или плазме) через два часа после приема 75 граммов пероральной нагрузки глюкозой выше нормального уровня, но ниже порогового уровня, являющегося диагностическим критерием диабета. НТГ: концентрация ГН (при наличии таковой) <6,1 ммоль/л в капиллярной цельной крови и <7,0 ммоль/л в венозной крови и через 2 часа после приема внутрь 75 г глюкозы 7,8-11,1 ммоль/л [55, с.14].

Гипергликемия - нарушение углеводного обмена, которое характеризуется содержанием глюкозы в крови выше нормы (5,5 ммоль/л) и появлением ряда симптомов. Это состояние развивается при патологии многих органов, но особенно часто при СД.

Постпрандиальная гипергликемия (ППГ) – гипергликемия, связанная с приемом пищи. По определению ВОЗ нормальной считается толерантность к глюкозе при уровне глюкозы плазмы <7,8 ммоль/л (140мг%) через два часа после нагрузки 75 г глюкозы в рамках проведения перорального теста толерантности к глюкозе [57].

Многочисленными исследованиями показано, что для достижения целевых показателей гликемии при терапии СД важное значение имеет снижение не только гликированного гемоглобина и ГН, но и ППГ. В последние годы среди методов контроля гликемии активно рассматривается определение 1,5-ангидроглюцитола (1,5-AG). Показатель 1,5-AG является маркером острой постпрандиальной гипергликемии и используется как способ краткосрочного ретроспективного мониторинга ППГ для контроля компенсации и лечения СД [58-62]. Уровень 1,5-AG быстро реагирует на изменения уровня гликемии (высокочувствителен) и достаточно точно отражает транзиторные повышения уровня глюкозы в сыворотке крови в течение нескольких дней до измерения. После первого периода острой гипергликемии уровень 1,5-AG снижается в течение следующих 1-3 дней [63,64]. Являясь полиолом, 1,5-AG подвергается реабсорбции (99,9%) в почечных канальцах при участии 1,5-AG-фруктозо-маннозо-транспортной системы. При гипергликемии и превышении почечного порога для глюкозы, избыточное количество глюкозы (в связи со структурным сходством) конкурирует с 1,5-AG за систему 1,5-AG-фруктозо-маннозо-транспортеров [65]. Вследствие чего, увеличивается экскреция 1,5-AG с мочой, а уровень его в крови быстро снижается в отличие от HbA_{1c} , который не изменяется под влиянием краткосрочного повышения гликемии.

Принимая во внимание, что 1,5-AG это высокочувствительный индикатор повышения уровня гликемии, данный тест предназначен для выявления гликемической вариабельности при СД и является необходимым дополнением к показателю гликированного гемоглобина при достижении адекватного контроля гликемии, особенно у пациентов СД 2 типа с удовлетворительным показателем HbA_{1c} [66 - 69].

Средний уровень глюкозы в крови на протяжении длительного промежутка времени (хроническая гипергликемия), то есть действительную степень компенсации СД на протяжении 2-3 месяцев, характеризует уровень гликированного гемоглобина (HbA_{1c}). Концентрация HbA_{1c} признана «золотым стандартом» в оценке гликемического статуса при СД, интегрально отражающим ГН и ППГ [55, с.146].

Гликированный гемоглобин в крови появляется вследствие неферментативной реакции слияния аминокислоты и сахара. Эта реакция протекает по типу нуклеофильного присоединения с образованием лабильного основания Шиффа, с последующей перегруппировкой (реакция Амадори) в более стабильный продукт раннего гликирования [70].

Известно, что уровень HbA_{1c} находится в наибольшей зависимости от среднего показателя гликемии и не отражает значения всех наблюдаемых в течение 2-3 месяцев показателей уровня глюкозы. Поэтому у больных СД с удовлетворительным показателем HbA_{1c} могут отмечаться выраженные колебания гликемии относительно средних значений [71].

В последние годы исследования с использованием систем непрерывного мониторинга глюкозы (CGMS) продемонстрировали, что наряду с нормализацией уровня HbA_{1c}, ГН и ППГ важное значение имеет вариабельность гликемии (ВГ) - колебания глюкозы крови, как фактор, приводящий к ухудшению прогноза СД, а именно к развитию сосудистых осложнений [72]. Сосудистые осложнения СД зависят от нарушений уровня гликемии: хронической гипергликемии и острой пиковой гипергликемии с резкими падениями уровня сахара [73]. В связи с этим в настоящее время уделяется особое внимание совершенствованию способов и методов контроля гликемии. Для получения полной информации о состоянии углеводного обмена пациента с СД необходимо учитывать выраженность колебаний гликемии в течение дня. Так, Thomas A. и соавт. (2008) предлагают объединить HbA_{1c} и параметры ВГ под термином "glucose pentagon" [74]. Дополнив к вышеуказанным трем показателям дисгликемии индекс вариабельности MAGE (Mean Amplitude of Glucose Excursion – MAGE), французские ученые предложили концепцию «диабетической тетрады» [75], итальянские исследователи выдвинули модель «пирамиды риска» (the 'Pyramid of the Risk') [76].

Для оценки ВГ определено множество параметров и индексов, ВГ рассчитывают в разные временные интервалы, включая межсуточный [77]. Одним из часто используемым показателем вариабельности гликемии является MAGE - средняя амплитуда колебаний гликемии [78].

1.3.2 Эпидемиологические и клиничко-экспериментальные данные патогенетической роли гипергликемии и вариабельности гликемии в развитии диабетических ангиопатий

В рекомендациях Европейского общества кардиологов (European Society of Cardiology) и Европейской ассоциации по изучению СД (European Association for the study of diabetes) с высоким уровнем доказательности [79] представлены следующие утверждения: существует определенная взаимосвязь между гипергликемией и ССЗ; на каждый 1% HbA_{1c} увеличивается риск развития ССЗ; риск ССЗ у женщин с СД в 3-5 раз, а у мужчин в 2-3 раза выше, чем у лиц без СД. Уровень ППГ в большей степени является фактором риска ССЗ, чем ГН, и повышение уровня ППГ также повышает риск развития ССЗ у лиц с нормальным уровнем ГН. Принимая во внимание роль ранней смертности от ССЗ в ограничении продолжительности жизни у абсолютного большинства больных СД₂, Американская ассоциация диabetологов рассматривает СД в качестве эквивалента ССЗ [80].

Показана значимость контроля гликемии в профилактике микроангиопатий у больных СД. Каждое снижение содержания HbA_{1c} на 1% уменьшает риск прогрессирования диабетической ретинопатии на 40% [81], а результаты проспективного исследования UKPDS (the United Kingdom Prospective Diabetes Study) показали снижение риска развития микрососудистых осложнений в среднем на 37%, снижение частоты всех осложнений СД на 21%, смертности от осложнений СД на 21% и частоты инфаркта миокарда на 14% [82].

Эпидемиологическими исследованиями выявлено наличие выраженной зависимости между показателями ППГ, сердечно-сосудистым риском и клиническими исходами [83, 84]. Клиническими исследованиями показано, что весомый вклад в риск развития сосудистых осложнений вносит не только хроническая гипергликемия, но ППГ и выраженная ВГ в течение суток [85, 86]. Показана причинная связь между ППГ и оксидативным стрессом (ОС), воспалением, толщиной *intima media* сонных артерий [87] и дисфункцией эндотелия [88] – факторами, являющимися признанными маркерами сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [64, с. 12]. При наблюдении больных с СД 2 типа было установлено, что именно ППГ, а не ГН или уровень HbA_{1c}, является достоверным показателем риска развития ССЗ [89, 90].

Вариабельность гликемии является независимым фактором риска развития сосудистых осложнений СД [91- 94]. В обзоре швейцарских ученых отмечено, что колебания гликемии - более чувствительный фактор риска развития диабетических осложнений, чем показатель HbA_{1c} [95]. Сильная корреляция ВГ и маркеров ОС (8-изо-простагладина F_{2α}, 8-гидроксидеокигуанозина, реактивных соединений тиобарбитуровой кислоты и уровня С-реактивного белка) была выявлена при непрерывном мониторинговании гликемии у пациентов с СД₂ [96].

В последние годы особое внимание уделяется выраженности ВГ как фактору, ведущему к развитию эндотелиальной дисфункции, что было

продемонстрировано как в эксперименте на крысах с моделью СД [97, 98], так и в клинических исследованиях пациентов с СД 2 типа [99, 100].

Итальянскими исследователями при изучении апоптоза эндотелиоцитов из человеческих пупочных вен в клеточной культуре было показано, что перепады уровней гликемии могут иметь более пагубные последствия, чем стабильная хроническая гипергликемия [101]. Также в последующем исследовании было установлено значительное повышение активности протеинкиназы С (Protein Kinase C - РКС) в клетках, подвергшихся воздействию колебаний гликемии [102]. Данный эффект объясняется образованием маркера нитрозативного стресса – нитротирозина, а также образованием адгезивных молекул и интерлейкина-6 (IL-6) [103, 104].

Колебания гликемии в постпрандиальный период оказывают на ОС более специфические триггерные эффекты, чем постоянная хроническая гипергликемия у больных СД2 [105, 64, с.11]. Японскими исследователями было установлено, что больные с СД2 и ППГГ подвергаются периодическому воздействию ОС, вызванному приемами пищи в течение дня [106]. Ceriello A. с соавт. (2008) выявлено, что колебания глюкозы в диапазоне 5-15 ммоль/л каждые 6 часов в течение суток способствуют более выраженному проявлению ОС и дисфункции эндотелия, чем при стабильно высоких концентрациях глюкозы (10-15 ммоль/л) [16, р.1349].

Исследованиями ученых из Японии, Италии и Китая установлено, что у лиц с СД высокая ВГ является маркером развития атеросклероза. По данным Torimoto K. и соавт. (2013) выраженность дисфункции эндотелия коррелирует не с уровнем HbA_{1c} и средним уровнем гликемии, а с показателями ВГ (MAGE – средняя амплитуда колебаний глюкозы, SD – стандартное отклонение) [107]. В рандомизированном исследовании, проведенном итальянскими учеными, при снижении показателя ВГ (MAGE) на фоне терапии ингибиторами дипептидилпептидазы-4 выявлено уменьшение выраженности атеросклероза сонных артерий (снижение толщины интимы-медиа) [24, р.349].

Интересны результаты исследований, свидетельствующие, что колебания гликемии, изменяя толщину интима-медиа, являющейся маркером ранних атеросклеротических изменений сосуда, могут способствовать прогрессированию осложнений СД [108, 109].

1.3.3 Патофизиологические механизмы воздействия гипергликемии и выраженных колебаний гликемии на возникновение и прогрессирование сосудистых осложнений сахарного диабета

Гипергликемия вызывает сдвиги морфо-функционального состояния сердечно-сосудистой системы: повышая частоту сердечных сокращений, артериальное давление нарушает перфузию миокарда, снижает эндотелий-зависимую вазодилатацию, способствует эндотелиальной дисфункции и развитию генерализованного атеросклероза. Ухудшение функции эндотелия лежит в основе прогрессирования ССЗ, в первую очередь, атеросклероза и его последствий [110].

Установлено, что следствием хронической гипергликемии является избыточное гликозилирование. Кроме того, осложнения СД2 развиваются в результате ОС, который активируется под влиянием гипергликемии, но в большей степени зависит от колебаний уровня глюкозы крови [111].

В условиях гипергликемии существенно повышается уровень цитокинов: IL-1 (интерлейкин-1), IL-6, TNF- α . TNF- α активирует NADPH-оксидазу с последующим производством супероксида, а также блокирует активацию NO-синтетазы в эндотелии, что способствует его дисфункции [112]. Гиперпродукция цитокинов ассоциирована с повышением риска развития атеросклероза и ассоциируемых с ним сосудистых осложнений [113]. Повышая уровень свободных жирных кислот, TNF- α способствует развитию инсулинорезистентности и формированию атерогенного липидного профиля. Проатерогенный эффект TNF- α проявляется в стимуляции миграции лейкоцитов к эндотелию, индукции синтеза молекул адгезии [114]. При ППГ выявлено повышение секреции адгезивной молекулы ICAM-1 (inter cellular adhesion molecule), которая, обеспечивая прикрепление лейкоцитов к эндотелиоцитам, также способствует атерогенезу [115].

Вызывая сдвиги функционального состояния сосудистой стенки, гипергликемия способствует существенным изменениям обменных процессов. До формирования выраженной клинической картины заболевания развиваются НТГ, инсулинорезистентность, компенсаторное усиление секреции инсулина. На данном этапе отмечаются умеренная ППГ, ГН в пределах нормальных значений. С течением времени инсулинпродуцирующая способность β -клеток поджелудочной железы истощается, усиливается продукция глюкозы печенью, что приводит к повышению показателей ГН и ППГ, то есть нарастает гипергликемия [55, с.96]. Нельзя не отметить, что при диагностировании СД2 пациенты уже имеют 50% снижение функции β -эндокриноцитов [116]. Кроме того, гипергликемия, активируя ОС в β -клетках, оказывает непосредственно повреждающее действие на них, снижает секрецию ими инсулина [117], а также чувствительность тканей к инсулину. Учитывая, что островковые β -клетки содержат крайне низкий уровень антиоксидантных ферментов [118], повреждение β -эндокриноцитов под воздействием гипергликемии является таким же осложнением СД, как нейропатия и ретинопатия [119]. Исследователями Kohnert K. с соавт. (2009) показано, что вариабельность гликемии сильно коррелирует с постпрандиальной дисфункцией β -клеток у пациентов с СД2, принимающих пероральные гипогликемические препараты [120].

При диабете ОС представляет собой нарушение в организме соотношения между продукцией реактивных форм кислорода и антиоксидантными защитными факторами, что сопровождается дефицитом инсулина и инсулинорезистентностью [121]. ОС является следствием повышенного аутоокисления глюкозы. Гипергликемия индуцирует продукцию оксидантов как через ферментативные, так и не ферментативные реакции. Исследованиями Monnier L. и соавт. (2006) установлено, что ВГ у пациентов с СД2 вызывают повышение образования и выделения с мочой 8-изо-простагландина F₂ α ,

являющегося маркером ОС [105, p.1681]. Результаты исследований Piconi L. с соавт. (2006) выявили, что как стабильная гипергликемия, так и колебания гликемии, индуцируют ОС и апоптоз эндотелиальных клеток посредством перепроизводства активных форм кислорода [122]. Согласно Brownlee M. (2005), развитие всех осложнений диабета, в конечном счете, объясняется гиперпродукцией реактивных свободных радикалов и супероксида, генерируемых в ответ на гипергликемию в клеточных митохондриях [123]. Было показано, что гипергликемия стимулирует цепи переноса электронов в митохондриях в результате гиперпродукции супероксидного аниона [124]. В эндотелиоцитах и гладкомышечных клетках сосудов супероксид образуется в результате активации NADPH-оксидазы, локализуемой на мембранах митохондрий. Супероксид активирует РКС, c-Jun N-концевые киназы, ингибиторы κ B киназы (Inhibitor of κ B kinase β), которые, в свою очередь, способствуют экспрессии провоспалительных цитокинов: IL-6, TNF- α , моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1) [125]. Указанные цитокины стимулируют ангиогенез, а также дальнейшее образование реактивных форм кислорода, способствуя прогрессированию СД [126].

Через транскрипционный фактор NF- κ B (Nuclear Factor κ B) ОС активирует РКС, что объясняет многие сосудистые нарушения (изменения сосудистой проницаемости, факторов роста и компонентов внеклеточного матрикса) [127, 128]. Показана важная роль РКС в развитии дисфункции эндотелия и активации экспрессии гена VEGF, который оказывает влияние на ангиогенез, способствуя развитию микро- и макроангиопатий [129]. Повышение активности РКС способствует активации адгезии тромбоцитов к сосудистой стенке и ускоренному развитию атероматоза [130]. Указанные выше факторы воспаления и маркеры повреждения эндотелия (IL-1, IL-6, TNF- α , MCP-1) в настоящее время рассматриваются в качестве предикторов атеросклероза [131].

При гипергликемии значительно усиливается гликозилирование белков, сопровождаемое увеличением образования AGEs [132]. AGEs стимулируют экспрессию генов коллагена, мембранных белков, обладающих проатерогенными свойствами. Связываясь с рецепторами эндотелиоцитов и макрофагов, AGEs проявляют многообразную биологическую активность: повышают проницаемость эндотелия, активируют пролиферацию гладкомышечных клеток, миграцию и активацию мононуклеарных фагоцитов, стимулируют секрецию цитокинов (TNF- α , IL-1), экспрессию адгезивных молекул; подавляя образование NO, ингибируют вазодилатацию, усиливают окисление липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) [133]. Все эти внутриклеточные модификации лежат в основе дисфункции эндотелия, воспалительного процесса в сосудистой стенке и формирования атеросклеротической бляшки.

Внутриклеточное накопление AGEs способствует нарушению функций внутриклеточных белков, а также снижению каталитической активности альдегидредуктазы, что, в свою очередь, приводит к последующему

дополнительному образованию AGEs из реактивных дикарбонильных метаболитов [134]. Внеклеточная аккумуляция AGEs изменяет структуру и функциональные свойства экстрацеллюлярного матрикса, что приводит к изменению структуры и функции сосудов и способствует ускоренному атерогенезу [135].

Таким образом, патогенез развития сосудистых осложнений рассматривают как совокупность и результат действия двух патологических процессов – избыточного гликозилирования и активации ОС (схема 1), в разной степени активируемых гипергликемией и выраженными перепадами (колебаниями) гликемии.



Схема 1 – Механизм развития сосудистых осложнений, индуцированных гипергликемией.

Развитию выраженной variability гликемии способствует наличие частых гипогликемий у больных с СД2. При гипогликемии, гормональная

контррегуляция уровня глюкозы проявляется подавлением секреции инсулина β -клетками, стимуляцией секреции α -клеток с выделением глюкагона, активирующего гликогенолиз и глюконеогенез, а также усилением секреции адреналина, кортизола и гормона роста. По мере прогрессирования СД развивается дисфункция системы контррегуляции, что первоначально характеризуется снижением секреции глюкагона, а в дальнейшем - снижением адреналина [55, с.126-127]. Исследованиями американских ученых установлено, что два эпизода умеренной гипогликемии на следующий день характеризуются значительным снижением уровней глюкагона, гормона роста, адреналина и кортизола [136]. Было показано, что однократная продолжительная гипогликемия снижает гормональную контррегуляцию следующей гипогликемии, при этом каждая новая гипогликемия ухудшает контррегуляторный ответ. Частые гипогликемии в сочетании с ППГ являются серьезными повреждающими факторами, приводящими к истощению и снижению массы β -клеток, в то время как хроническая гипергликемия может и не приводить к этим последствиям [111 с.72].

Таким образом, негативное воздействие на организм оказывают как острые пики ППГ, так и быстрые снижения уровня глюкозы крови (эпизоды гипогликемии) относительно средних значений.

Принимая во внимание вышеизложенное, следует отметить значимость такого показателя, как ВГ в развитии сосудистых осложнений СД, являющегося независимым фактором риска развития ССЗ. Для замедления прогрессирования заболевания и предупреждения развития осложнений у больных с СД2 необходимо добиваться не только целевых уровней гликогемоглобина и среднего уровня гликемии, но также должны быть предотвращены сильные колебания глюкозы.

1.4 Маркеры раннего атеросклероза (сосудистой дисфункции)

В последнее время в связи с необходимостью раннего выявления кардиоваскулярного риска постоянно ведется поиск биомаркеров, определение которых позволит получить информацию о наличии сбоя на доклиническом этапе формирования сердечно-сосудистой патологии. Фундаментальными исследованиями уточнены основные патофизиологические механизмы атерогенеза, что позволило вплотную подойти к выявлению ранних маркеров повреждения сердечно-сосудистой системы [131, с.268].

В процесс атерогенеза вовлечены все слои сосудистой стенки: внутренняя (интима), средняя (медиа) и наружная (адвентиция). Интима представляет собой однослойную эндотелиальную выстилку поверхности сосуда. В физиологических условиях функциональная целостность эндотелия регулирует сосудистый тонус, местные процессы гемостаза, миграции и пролиферации клеток крови в сосудистую стенку [137]. Известно, что процесс атеросклероза начинается в эндотелии. На сегодняшний день сформулирована концепция эндотелиальной дисфункции как ключевого звена атерогенеза у больных СД [41, с.53]. Дисфункция эндотелия возникает вследствие нарушения равновесия

механизмов гомеостаза, предопределяющих сосудистый тонус, вероятность воспаления, тромбоза, ОС и проницаемость сосудистой стенки [137, с.156].

На клеточном уровне дисфункция эндотелия характеризуется повреждением и усиленным апоптозом эндотелиальных клеток [138]. При повреждении эндотелия нарушается эндотелий-зависимая релаксация сосудов, возникает вазоконстрикция, нарушаются тесные контакты эндотелиоцитов, что способствует нарушению проницаемости, проникновению липидов в субэндотелиальное пространство, миграции клеток. Активированные эндотелиоциты экспрессируют клеточные молекулы адгезии, цитокины и факторы роста, что приводит к адгезии циркулирующих моноцитов и Т-клеток. [20, с.43]. Также эндотелиоциты могут подвергаться воздействию биомеханических сил, генерированных вследствие пульсирующего кровотока, гидростатического давления или циклического напряжения [137, с.75]. Вследствие этого возникает структурная перестройка эндотелиального актинового цитоскелета и повышение проницаемости интимы. Повреждение сосудистого эндотелия в результате воздействия механических и химических факторов способствует повышению десквамации эндотелиоцитов [21, р.5]. В дальнейшем нарушение барьерной функции эндотелия приводит к диффузии липидов и клеток воспаления (моноцитов, Т-лимфоцитов) в эндотелий и субэндотелиальное пространство. Индуцированная активированными эндотелиоцитами секреция факторов роста и цитокинов способствует миграции в интиму, пролиферации гладкомышечных клеток, накоплению моноцитов, преобразованию в «пенистые клетки» с последующим образованием атеромы [139].

В настоящее время с целью диагностики сосудистой дисфункции используют такие маркеры субклинического атеросклероза как определение количества циркулирующих в периферической крови эндотелиальных [140, 141] и прогениторных эндотелиальных клеток [142], определение уровня экспрессии м-РНК гена, кодирующего трансформирующий фактор роста- β (TGF- β) [143] и экспрессии антигена CD68 [144].

Показатель циркулирующих в периферической крови эндотелиальных клеток рассматривают как чувствительный и специфический маркер повреждения эндотелия [140, р.17]. В физиологических условиях количество циркулирующих эндотелиоцитов очень низкое и значительно повышается при состояниях, ассоциированных с высокой степенью повреждения эндотелия, в частности при СД и атеросклерозе [21, р.193].

В процессах восстановления эндотелия, противодействуя неблагоприятным повреждающим факторам риска ССЗ, важную роль играют циркулирующие эндотелиальные прогениторные клетки, которые рассматривают как диагностический и прогностический биомаркер ССЗ [142, р.276]. Количество циркулирующих эндотелиоцитов и прогениторных эндотелиальных клеток отражает соотношение между процессами повреждения и восстановления сосудистой стенки. При повреждении (дисфункции) эндотелия наблюдается повышение десквамации эндотелиоцитов, снижение

количества и функциональной способности прогениторных эндотелиальных клеток [145]. Концентрация циркулирующих в периферической крови прогениторных эндотелиальных клеток тесно ассоциируется не только с тяжестью атеросклероза и эндотелиальной дисфункцией, но и с вероятностью возникновения неблагоприятных исходов [146]. Установлено, что снижение количества в крови циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток является независимым предиктором заболеваемости и смертности от ССЗ [147].

Для идентификации в периферической крови эндотелиальных клеток и прогениторных эндотелиальных клеток используют специфические поверхностные маркеры эндотелиальных и гемопоэтических клеточных линий, такие как CD31, CD34 и CD133. Являясь одним из основных белков межклеточных контактов эндотелия, CD31 служит механосенсором эндотелиоцитов к напряжению сдвига; используется как маркер эндотелиальных клеток. Поверхностным маркером зрелых эндотелиальных клеток является CD34. К маркеру прогениторных эндотелиальных клеток относится также CD133, который обычно отсутствует у зрелых эндотелиоцитов и моноцитов [140, p.19,23].

При СД гипергликемия и ОС приводят к активации транскрипционного фактора NF- κ B, который повышает экспрессию цитокинов. Трансформирующий фактор роста (Transforming growth factor β – TGF β) – цитокин широкого спектра действия, участвует в регуляции процессов роста клеток, дифференцировки, пролиферации, миграции, адгезии, апоптоза и формирования внеклеточного матрикса. Влияние данного цитокина на клетку осуществляется через сигнальный путь TGF- β , включающий рецепторы (мембранные серин/треонинкиназы) I и II типов и внутриклеточные медиаторы. Рецептор II типа активирует рецептор I типа, который катализирует фосфорилирование Smad-белков, обеспечивает передачу регуляторных сигналов [148].

Анализ данных литературы свидетельствует об участии TGF- β в инициации и развитии атеросклероза. Показано, что функции данного фактора роста могут существенно различаться на отдельных стадиях атерогенеза. Установлено, что у пациентов с атеросклерозом в поврежденных сосудах усиливается экспрессия рецептора I типа и TGF- β стимулирует формирование внеклеточного матрикса, способствуя раннему образованию липидных полос [149]. Также показано, что TGF- β снижает продукцию (синтез) коллагеназ и повышает экспрессию тканевых ингибиторов матричных металлопротеиназ, в результате чего ингибирование деградации экстрацеллюлярного матрикса, приводит к его накоплению [150]. Кроме того, TGF- β , стимулируя сосудистые гладкомышечные клетки к синтезу коллагена, участвуют в положительной и отрицательной стабилизации атеросклеротической бляшки. Также данный цитокин выступает в качестве посредника развития сосудистого фиброза, индуцированного факторами риска ССЗ, такими как гипергликемия и AGEs [151, 152]. Выявлена важная роль TGF- β 1 в патогенезе ССЗ [153], согласно Janda K. и соавт. (2014) повышенная концентрация TGF- β 1 может быть

биомаркером развития ССЗ и прогностическим фактором в оценке прогрессирования атеросклероза у пациентов, находящихся на перитониальном диализе [154].

Известно, что основными клетками, участвующими в фазе воспаления при атеросклерозе, являются макрофаги. В атерогенезе моноцитам/макрофагам придают особое значение как клеткам, способным захватывать патологически модифицированные (окисленные) ЛПНП и превращаться в «пенистые» клетки. Формируя липидные полосы, «пенистые» клетки инфильтрируют сосуд, затем формируются очаги поражения с внеклеточными липидными скоплениями в слое гладкомышечных клеток, что приводит к разрушению интимы. Прогрессирование до явной атеромы происходит, когда липидные скопления, клетки и другие компоненты бляшки разрушают сосудистую стенку [137, с.70]. Макрофаги способствуют истончению фиброзной крышки бляшки посредством секреции матриксных металлопротеиназ [155].

В качестве маркера макрофагов широко используют CD68 - гликопротеин из семейства лизосом-ассоциированных мембранных протеинов (LAMP), который экспрессируется на поверхности моноцитов и макрофагов, также присутствует на лимфоцитах, фибробластах и эндотелиоцитах, играет важную роль в фагоцитарной активности тканевых макрофагов как во внутриклеточном лизосомальном метаболизме, так и во внеклеточных взаимодействиях клетка-клетка и клетка-патоген [144, с.106]. Выявление значительного количества CD68-положительных клеток в атеросклеротических участках артерий сформулировало представление, что именно макрофаги являются основным типом клеток, определяющих формирование и прогрессирование атеросклеротических поражений [156].

1.5 Статины – их значение в терапии СД 2 типа

1.5.1 Механизм действия, основные фармакологические эффекты на атеросклероз и гиперлипидемии

Статины – одна из наиболее часто назначаемых групп гиполипидемических средств. Механизм их действия связан с ингибированием фермента гидрокси-метилглутарил-коэнзим-А-редуктазы (ГМК-КоА-редуктаза) в связи с чем, нарушается синтез холестерина (ХС) в печени на стадии мевалоновой кислоты. Статины снижают продукцию мевалоната и его последующих метаболитов, таких как изопренил-пирофосфат (участвует в синтезе РНК), долихол, убихинон (участвует в митохондриальном дыхании), геранил- и фарнезил-пирофосфат (участвуют в трансформации внутриклеточных регулирующих белков) [157]. Гиполипидемическое действие статинов проявляется в том, что они подавляют синтез в гепатоцитах специфичного пула холестерина, который вместе с фосфолипидами формирует на поверхности ЛПНП монослой полярных липидов. Статины, снижая содержание ХС в монослое, разделяют фермент и субстрат, способствуют быстрому поглощению клетками липопротеидов со всеми переносимыми ими эссенциальными полиеновыми жирными кислотами [158]. Снижение

образования внутриклеточного ХС приводит к активации на поверхности гепатоцитов мембранных рецепторов ЛПНП, которые распознают, связывают и выводят из кровотока атерогенные частицы ЛПНП, снижая концентрацию общего ХС. В результате терапии статинами отмечается умеренное снижение в крови уровня триглицеридов (ТГ). Действие статинов на триглицериды является вторичным и связано с экспрессией на поверхности печеночных клеток апо-Е рецепторов, принимающих участие в катаболизме липопротеидов промежуточной плотности, в составе которых примерно 30% триглицеридов [159]. Нельзя не отметить, что статины не только эффективно снижают уровни общего ХС и ХС ЛПНП, но и повышают содержание липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), обладающих выраженным противоатеросклеротическим действием.

Высокая эффективность статинов по снижению общего ХС и ЛПНП была продемонстрирована в ряде клинических исследований 4S (Scandinavian Simvastatin Survival Study), WOSCOPS (West Scotland Coronary Prevention Study), USAFCAPS/TexCAPS (Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study), CARE (Cholesterol And Recurrent Events), LIPID (Long-term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease), HPS (Heart protection Study), ASCOT-LLA (Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Lipid Lowering Arm) [160].

1.5.2 Применение статинов в терапии сахарного диабета

Одним из основополагающих принципов антидиабетической терапии при СД2 является назначение статинов. В международных рекомендациях ADA и EASD статины рассматриваются как средства выбора гиполипидемической терапии у больных СД2 [161]. Наличие СД2 обуславливает высокий риск ССЗ, основной причиной которых является атеросклеротическое поражение сосудов. Одним из наиболее значимых факторов атеросклеротического поражения сосудов служит дислипидемия. При СД2 дислипидемия включает повышение концентрации ТГ, снижение уровня ЛПВП и увеличение количества мелких плотных частиц ЛПНП фенотипа В, обладающих повышенной атерогенностью вследствие высокой способности к окислению [162]. Эти изменения липидного спектра происходят вследствие нарушения постпрандиальной регуляции липидов в результате инсулинорезистентности, увеличения уровня в крови свободных жирных кислот, снижения активности липопротеинлипазы, ответственной за катаболизм ТГ и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). Увеличение количества мелких плотных ЛПНП способствует активации макрофагов, образованию «пенистых» клеток, усилению апоптоза гладкомышечных клеток, что приводит к уменьшению их содержания в составе атеросклеротической бляшки. Так формируется особый тип нестабильных атеросклеротических бляшек [163]. Основной причиной смерти больных СД2 является атеросклеротическое поражение сердечно-сосудистой системы, в связи с чем, обязательной составляющей комплексной терапии таких пациентов служат именно ингибиторы ГМК-Ко-А-редуктазы.

Результаты многоцентровых рандомизированных исследований 4S, HPS показали высокую эффективность ингибиторов ГМК-Ко-А-редуктазы (в частности, симвастатина) в качестве средства вторичной профилактики атеросклероза и ИБС. В исследовании 4S в группе симвастатина, используемого в течение 5 лет в дозе 20-40 мг/сут для профилактики сердечно-сосудистых осложнений у больных ИБС и умеренной гиперхолестеринемией, было отмечено снижение уровня общего ХС на 25%, ЛПНП – на 35%, повышение уровня ЛПВП на 8%, а также снижение риска общей смертности на 30%, коронарной смертности на 42% [164].

Последующее проведение ретроспективного анализа в подгруппе больных СД показало, что применение симвастатина статистически значимо снизило на 55% риск возникновения основных коронарных осложнений [165]. Таким образом, было установлено, что снижение уровней общего ХС и ЛПНП сопровождается уменьшением риска коронарных событий у диабетиков. Кроме того, было отмечено, что при СД для развития клинических осложнений атеросклероза достаточным оказывается даже относительно невысокий уровень ЛПНП. Более углубленное изучение действия статинов было проведено в исследовании Heart Protection Study, которое показало, что при лечении симвастатином в дозе 40 мг/сут в течение 6 лет отмечается достоверное снижение общей смертности на 12%, частоты сердечно-сосудистой смертности – на 17%, основных сосудистых событий (ИБС, инсульта) – на 24% [166].

Нельзя не отметить, что у статинов, наряду с гиполипидемическими свойствами, в последние годы обнаружено множество таких плеiotропных эффектов, как: улучшение функций эндотелия, снижение клеточной адгезии, противовоспалительное действие, ингибирование пролиферации и миграции гладкомышечных клеток, снижение агрегации тромбоцитов, стабилизация атеросклеротической бляшки [167-172]. Таким образом, статины оказывают прямое действие на основные звенья воспаления при атерогенезе, стабилизируют процессы, протекающие в легко ранимых атеросклеротических бляшках, способствуя устранению развития серьезных сердечно-сосудистых осложнений, особенно у пациентов с СД.

1.5.3 Связь между использованием статинов и риском развития диабета – эпидемиологические данные и возможные причины

В последнее время активно обсуждается вопрос о возможном риске развития СД2 при применении статинов, а именно о диабетогенном действии [173, 174]. Американскими исследователями с целью изучения частоты вновь развивающегося диабета при лечении статинами был проведен мета-анализ шести рандомизированных исследований: WOSCOPS (West Scotland Coronary Prevention Study), HPS (Heart Protection Study), LIPID (the Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease), ASCOT (Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial), JUPITER (Justification for the Use of Statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin), CORONA (the Controlled Rosuvastatin Multinational Study in Heart Failure) [175]. В

исследованиях HPS, LIPID, ASCOT и CORONA не было обнаружено связи между использованием статинов и риском развития СД. В исследовании WOSCOPS, включавшем 6595 мужчин с гиперхолестеринемией и отсутствием признаков ССЗ, в период наблюдения при лечении правастатином у 139 человек был впервые диагностирован СД. Достоверно чаще наблюдались новые случаи СД при терапии розувастатином в исследовании JUPITER [176]. Мета-анализ 13 исследований, проведенный учеными из Великобритании (изучавшими вероятность развития СД среди 91 140 участников), показал, что терапия статинами ассоциировалась с повышением риска развития, впервые выявленного, СД на 9% [177]. При проведении мета-анализа Preiss D. и соавт. (2011) было установлено, что высокие дозы статинов повышают риск развития СД (диабетогенные эффекты статинов могут быть дозо-зависимыми) [178].

Исследователями из Японии Sasaki J. и соавт. (2006) выдвинуто предположение о том, что статины могут влиять на метаболизм углеводов, при этом степень влияния зависит от их гидро- и липофильности [179]. Гидрофильные статины (правастатин, розувастатин) не в состоянии проникать через мембраны внепеченочных клеток, в то время как липофильные (симвастатин, аторвастатин) статины достаточно легко проникают в экстрапеченочные клетки, подавляют синтез изопреноидов, усиливают инсулинорезистентность [180,181]. Липофильные статины, снижая экспрессию мембранного белка-транспортера глюкозы ГЛЮТ-4, способны ингибировать процессы внутриклеточной инсулиновой сигнализации. Это приводит к уменьшению инсулин-зависимого потребления глюкозы, снижению чувствительности к инсулину и способствует развитию нарушения толерантности к глюкозе [182]. Также статины могут снижать секрецию инсулина, воздействуя на β -клетки путем угнетения глюкозостимулируемого повышения цитоплазматического кальция и Ca^{2+} -каналов L-типа [183].

В настоящее время не существует единого мнения относительно механизмов диабетогенного действия статинов. Результаты исследований о влиянии статинов на метаболизм глюкозы и инсулинорезистентность противоречивы. Статины способствуют нарушению захвата глюкозы и секреции инсулина. Тормозящее влияние статинов на процессы внутриклеточной инсулиновой сигнализации приводит к уменьшению инсулин-зависимого потребления глюкозы, снижению чувствительности к инсулину и способствует развитию нарушений толерантности к глюкозе [29, p.354].

Эффект снижения статинами чувствительности к инсулину был также выявлен в исследованиях ученых из Кореи и Греции, в которых терапия аторвастатином и розувастатином приводила к дозо-зависимому повышению инсулинорезистентности [184, 185]. В мета-анализе Baker W.L. и соавт. (2010) показано, что симвастатин ухудшал чувствительность к инсулину [186]. Японские исследователи Nakata M. и соавт. (2006) обнаружили, что аторвастатин снижает чувствительность к инсулину путем ингибирования созревания адипоцитов и экспрессии мембранного белка-транспортера глюкозы ГЛЮТ-4 [187].

Статины воздействуют на β -эндокриноциты, блокируя Ca^{2+} -каналы L-типа, угнетают индуцированное глюкозой повышение внутриклеточного содержания кальция и снижают секрецию инсулина [188]. В экспериментальном исследовании Zhou J. и соавт. (2014) при изучении механизма подавления симвастатином секреции инсулина в островковых β -клетках было показано, что симвастатин значительно повышает экспрессию субъединиц АТФ-зависимых калиевых каналов Kir6.2 и блокирует Ca^{2+} -каналы L-типа β -эндокриноцитах, приводя к снижению секреции инсулина [189].

Таким образом, данные литературы свидетельствуют о том, что, несмотря на значительные успехи в диагностике и лечении СД, летальность вследствие диабета и его осложнений (атеросклероза и сердечно-сосудистой патологии) остается высокой. В условиях диабета процесс атеросклероза начинается с повреждения эндотелия вследствие гипергликемии, и что более важно, суточных колебаний - вариабельности гликемии, являющегося фактором, который оказывает более выраженное повреждающее действие на сосуды, чем стабильная гипергликемия.

Как известно, одним из основополагающих принципов гиполипидемической терапии является назначение пациентам с СД статинов, высокоэффективных в снижении кардиоваскулярного риска и ССЗ [25, p.1670]. Тем не менее, в последнее время активно обсуждается вопрос о возможном возникновении новых случаев СД при применении статинов. Механизмы диабетогенного феномена не до конца исследованы и требуют дальнейшего изучения, более того, результаты исследований о влиянии статинов на инсулинорезистентность противоречивы.

Анализ литературы свидетельствует о значимости варьирования статинов как диабетогенных препаратов, риск возникновения новых случаев диабета на фоне терапии статинами зависит от характеристики используемого статина, при этом, симвастатин считается более диабетогенным, чем аторвастатин.

Вышеизложенное делает актуальным проведение исследования по изучению сосудистых эффектов, индуцированных суточными колебаниями гликемии на экспериментальной модели СД, соответствующей диабету 2 типа у людей, и влияние симвастатина на ранние проявления сосудистой дисфункции, индуцированные вариабельностью гликемии.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика экспериментальных животных

Эксперименты выполнены на 57 крысах-самцах линии Wistar с исходной массой $233,8 \pm 17,1$ г (в возрасте 8 недель), полученных из питомника лабораторных животных Hodowla Zwierząt Laboratoryjnych (Brwinów, Poland), аккредитованного Министерством науки и образования Польши. До проведения экспериментального исследования были получены допуск к работе с лабораторными животными (Приложение В) и положительные решения Локальной этической комиссии по проведению экспериментов на животных г.Познань, Польша (№54/2013 от 07.06.2013г. (Приложение Г), №55/2013 от 07.06.2013г (Приложение Д)). Все экспериментальные процедуры произведены в соответствии с “Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” [190, 191].

Перед началом экспериментального исследования животных выдерживали в течение 7 дней в карантинных условиях на стандартном пищевом рационе, при свободном доступе к воде и корму. Лабораторные животные были размещены в пластиковых клетках фирмы Techniplast (Италия) 1500U*** евростандарт тип IV S (480x375x210 мм, площадь основания 1500 см^2) с решетчатыми крышками. Корм и вода подавались в кормовое углубление решетчатой крышки клетки. Животных содержали в индивидуальных клетках при контролируемой комнатной температуре (22°C) и влажности ($55 \pm 5\%$) с обратным 12 часовым светлым и темным суточным циклом. Наблюдение и оценку состояния животных проводили в течение всего эксперимента (осмотр, состояние шерстного покрова, регистрация потребления воды и пищи, вес тела). Животных выводили из эксперимента декаптивированием в соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работ с лабораторными животными, отраженными в “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimentation and other Scientific Purposes”.

2.2 Экспериментальное моделирование сахарного диабета. Индуцирование суточных колебаний гликемии.

На сегодняшний день модифицированы и полностью описаны общепринятые экспериментальные модели СД, классифицируемые на генетические и негенетические, последние широко используются, что обусловлено простым воспроизведением, относительно низкой стоимостью и достоверностью результатов исследования [192]. В таких моделях СД используются различные селективные β -цитотоксические вещества (аллоксан, стрептозотозин и др.). Применяя различные дозы, режимы и пути введения β -цитотоксинов возможно моделирование различных типов СД [193-196]. Эффекты токсического действия на β -клетки могут проявляться некротическими изменениями различной степени выраженности или быть представлены запрограммированной клеточной гибелью [197].

Стрептозотоцин широко используется для моделирования как инсулинзависимого, так и инсулиннезависимого СД путем индукции гибели β -клеток через алкилирование ДНК. Стрептозотоцин приводит к селективному повреждению β -клеток панкреатических островков крыс, цитотоксический эффект стрептозотоцина обусловлен активацией каспазного каскада и апоптозиндуцирующего лиганда, связанного с TNF- α , а не только с повреждением ДНК в результате разрушения системы антиоксидантной защиты [198].

Экспериментальными исследованиями показано, что у крыс, находящихся на диете с высоким содержанием жиров (high-fat diet - HFD) развивается резистентность к инсулину. Предполагается, что HFD может быть лучшим способом инициировать инсулинорезистентность, которая является одной из важных патофизиологических особенностей СД2 типа [199, 200].

В нашем исследовании экспериментальные животные были распределены на следующие группы (таблица 1).

Таблица 1 - Распределение животных по экспериментальным группам

№ группы	Варианты опыта	Количество животных
I	Интактный контроль (здоровые крысы)	15
II	Крысы с экспериментальным СД 2 типа, получавшие плацебо	14
III	Крысы с экспериментальным СД 2 типа на фоне вариабельности гликемии, получавшие плацебо	15
IV	Крысы с экспериментальным СД 2 типа на фоне вариабельности гликемии, получавшие симвастатин	13
всего		57

Экспериментальные крысы содержались в условиях обратного суточного цикла, на стандартном корме при свободном доступе к воде.

С целью индуцирования у крыс СД мы использовали модель Mansor L.S. (2013) [201]. При моделировании СД в качестве β -цитотоксина применяли малые дозы стрептозотоцина (“Sigma-Aldrich Chemie GmbH”, США). Цитотоксин стрептозотоцин, характеризующийся повышенной тропностью к β -эндокриноцитам, вводили на 8-й день эксперимента, животным II, III и IV групп внутрибрюшинно в дозе 30 мг/кг в растворе (0,1 М) цитратного буфера (рН=4,4). Доза 30 мг/кг веса животного была выбрана в связи с тем, что введение животным стрептозотоцина большей дозы (>50мг/кг) приводит к повреждению подавляющего большинства β -клеток, имитируя СД 1 типа [194, р.314]. При этом развитие гипергликемии является прежде всего результатом непосредственного разрушения β -эндокриноцитов и дефицита инсулина, а не следствием инсулинорезистентности [202]. Доза 30 мг/кг веса животного

минимизирует повреждающее действие цитотоксина. Введение стрептозотоцина приводит к нарушению инсулиновой сигнализации (передачи сигнала от инсулинового рецептора к белкам-транспортёрам), способствуя нарушению углеводного обмена. На начальных этапах характерно развитие глюкозотолерантности вследствие нарушения рецепторного уровня утилизации глюкозы.

Крысам интактной группы внутривентриально вводили раствор цитратного буфера в том же объеме, что и диабетическим группам.

Состав цитратного буфера (pH = 4,4): 140 мг лимонной кислоты - КОН pH 4,6, 100 мг глюкозы, 8 мг Na₂HPO₄, 10,5 мг KH₂PO₄, H₂O до 50 мл.

Индукция СД сочетали с применением диеты с повышенным содержанием жиров (корм с содержанием 61% насыщенных жирных кислот, т.е. жиров животного происхождения) в течение 5 недель.

В настоящем исследовании в качестве корма для лабораторных животных применяли:

- стандартный корм "LABOFEED B standard" фирмы Zofia Połczyńska Wytwórnia Pasz "Morawski" (Poland), содержащий 2,8% жиров;
- корм с высоким содержанием жиров (61%) "LABOFEED B Wysokotłuszczowa o zawartosci 61% tłuszczu - pasta" фирмы Wytwórnia Pasz "Morawski" (Poland).

Экспериментальная модель СД2 (на крысах), индуцированная низкими дозами стрептозотоцина в сочетании с HFD, на патогенетическом уровне максимально соответствует развитию СД2 у человека [194, p.319]. Данная модель СД2, с одной стороны достаточно имитирует этапы развития заболевания (от инсулинорезистентности к дисфункции β-эндокриноцитов), а также метаболические особенности СД2 у человека, с другой стороны, является менее затратной, легко воспроизводимой и пригодной для исследований.

С целью подтверждения сформировавшегося экспериментального СД через 2 недели после инъекции стрептозотоцина проводили интрагастральный глюкозо-толерантный тест (intra gastric glucose tolerance test – IGGTT), до проведения которого крысам не давали корм в течение ночи, сохраняя свободный доступ к воде. Нагрузку глюкозой проводили в дозе 1 г/кг массы тела животного интрагастрально. Измерение уровня глюкозы проводилось до проведения теста (натощак) и через 1 час после IGGTT с последующим анализом данных глюкометрии с целью выявления животных, не соответствующих модели СД. Кровь для исследования брали из хвостовой вены.

Наличие сформировавшегося экспериментального диабета подтверждали с помощью оценки уровня глюкозы и выраженности клинической картины патологического процесса.

Основные критерии включения животных в группы с экспериментальным диабетом:

- 1) показатели гликемии после проведения IGGTT:

уровень глюкозы натощак более 126 мг/дл (7,0 ммоль/л) или гликемия после нагрузки более 140 мг/дл (7,8 ммоль/л), но ниже чем 200 мг/дл (11,1 ммоль/л);

- 2) отсутствие выраженных клинических симптомов СД 1 типа (прогрессирующее снижение массы тела, гиподинамия, полиурия, полидипсия).

Суточные колебания гликемии стимулировали в III и IV экспериментальных группах диабетических крыс в течение 8 недель, применяя обратный суточный цикл. При этом стандартный корм давали (в темный период) два раза в день в течение одного часа: с 11.00 до 12.00 часов (первое кормление) и с 17.00 до 18.00 (второе кормление). Измерение гликемии проводили 2 раза в неделю в следующие периоды: натощак; через 1 час после первого кормления (в 13.00); перед вторым кормлением и через 1 час после второго кормления (19.00). Всего было проведено 16 измерений.

В день измерения гликемии вычисляли разницу между минимальным и максимальным уровнем глюкозы – индекс ΔG , с последующим определением MAGE (mean amplitude of glycemic excursions) средней амплитуды колебаний гликемии (показатели вариабельности гликемии).

Ранние проявления атеросклероза, индуцированного суточными колебаниями гликемии, изучали с помощью методов оценки содержания в крови, тканях сердца и аорты маркеров субклинического атеросклероза (количество циркулирующих в периферической крови эндотелиальных клеток, количество циркулирующих в периферической крови прогениторных эндотелиальных клеток; уровень экспрессии м-РНК гена, кодирующего трансформирующий фактор роста TGF- β в миокарде и аорте, маркер макрофагов CD68 в тканях аорты), свидетельствующих о развитии сосудистой дисфункции.

С целью оценки влияния симвастатина на ранние проявления атеросклероза, индуцированного суточными колебаниями гликемии, экспериментальным животным IV группы (в условиях СД2 и гликемических экскурсий) ежедневно внутрижелудочно с помощью атравматического металлического зонда вводили симвастатин Simvastatin Bluefish (Simvastatin Bluefish, Bluefish Pharmaceuticals, Sweden) в дозе 20 мг/кг. При введении симвастатина в качестве растворителя использовали 0,5% раствор метилцеллюлозы (“Sigma-Aldrich”). Экспериментальным животным I, II и III групп ежедневно внутрижелудочно вводили раствор метилцеллюлозы в том же объеме, что и диабетическим крысам IV экспериментальной группы.

2.3 Методы исследования

2.3.1 Изучение метаболического статуса

С целью изучения метаболического статуса у всех экспериментальных животных были определены:

- 1) Гликемия натощак и постпрандиальная гликемия
 - глюкозооксидазным методом,
- 2) Концентрация 1,5-ангидро-D-глюцитола (1,5-AG) в плазме
 - ферментативным методом по Yabuuchi [203] с модификацией Dworacka и соавт [69 p.128].
- 3) Уровни С-пептида в сыворотке натощак
 - методом ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay – ИФА) с использованием теста коммерческого набора C-peptide rat-EASIA DIAsource ImmunoAssays
- 4) Уровни HbA_{1c} в цельной крови
 - методом иммунотурбидиметрии (Cobas Integra 400/700/800), стандартизировали в соответствии с IFCC [204].
- 5) Концентрации инсулина плазмы
 - методом ELISA с использованием наборов DRG (Rat Insulin ELISA[®], DRG Instruments GmbH, Germany)
- 6) Индекс инсулинорезистентности (НОМА-индекс)

Определение концентрации глюкозы (измерение гликемии) проводили 2 раза в неделю экспресс-методом при помощи глюкометра Diagnostics Gold System (Poland) с использованием реакции, катализируемой глюкозооксидазой. Кровь для исследования брали из хвостовой вены. С целью анализа показателей суточных колебаний гликемии глюкометрию проводили:

- натощак (в 11.00 ч.);
- через 1 час после первого кормления (в 13.00 ч.);
- перед вторым кормлением (в 17.00 ч.);
- через 1 час после второго кормления (в 19.00 ч.).

Показатель вариабельности гликемии MAGE вычисляли по формуле в соответствии с Service et al. [78 p.644]:

$$MAGE = \sum \frac{\lambda}{n} \quad (1)$$

где: λ – амплитуда каждого колебания гликемии более 1 SD;

n – количество измерений;

SD - стандартное отклонение

Определение 1,5-AG в плазме крови

Принцип метода определения концентрации 1,5-AG в плазме основан на реакции окисления-восстановления, катализируемой пиранозоксидазой – PROD (“Sigma-Aldrich”, USA). В результате этой реакции, окисление

гидроксильной группы в положении 2 молекулы 1,5-AG молекулярным кислородом с участием пиранозооксидазы приводит к образованию 1,5-ангидро-D-фруктозы.

Определение С-пептида

Иммуноферментный ультрачувствительный тест определения С-пептида представляет собой твердофазный двухстадийный метод ИФА, основан на принципе прямого «сэндвича», при котором используются два моноклональных антитела, направленных к разным антигенным детерминантам молекулы С-пептида. При инкубации образца С-пептид реагирует с антителами к С-пептиду, иммобилизованными на поверхности лунок микропланшета. После промывки добавляли конъюгат антител к С-пептиду с пероксидазой и снова инкубировали. Несвязавшийся конъюгат после инкубации удаляли промывкой. Связавшийся конъюгат выявляли реакцией с тетраметилбензидином. Реакцию останавливали добавлением в лунки кислоты, оптическую плотность образовавшегося окрашенного продукта определяли спектрофотометрически (спектрофотометр Statfax™ 1904 (Awareness Technology Inc., Palm City, Florida, USA)).

Определение HbA_{1c}

Концентрацию HbA_{1c} - показателя хронической, стабильной гипергликемии, анализировали методом иммунотурбидиметрии (Cobas Integra 400/700/800), стандартизировали в соответствии с IFCC [204, p.240-246].

Определение инсулина

Для оценки степени инсулинорезистентности и функциональной активности β-клеток используется определение иммунореактивного инсулина.

Определение концентрации инсулина проводили методом ИФА с использованием тест-наборов DRG (Rat insulin ELISA, DRG Instruments GmbH, Germany). Набор DRG Инсулин ELISA является твердо фазовым энзимсвязанным иммуносорбентным анализом (ELISA), что базируется на принципе сэндвича. Микропланшетные ячейки покрыты моноклональным антителом, направленным против уникальной антигенной стороны на молекуле инсулина.

Периферическую инсулинорезистентность выраженную сывороточным уровнем инсулина натошак как HOMA-индекс (HOMA-IR) рассчитывали по формуле [205]:

$$HOMAIR = \frac{ГН \text{ (ммоль/л)} \times ИН \text{ (мкЕд/мл)}}{22,5} \quad (2)$$

где: ГН - гликемия натошак;
ИН – инсулин натошак

В эксперименте уровень глюкозы в крови определяли в «мг/дл», инсулина – «нг/мл». Для перевода показателя уровня глюкозы в единицу изменения «ммоль/л» результат, выраженный в «мг/дл» умножали на пересчетный коэффициент 0,0555:

$$\text{Глюкоза ммоль/л} = \text{глюкоза мг/дл} \times 0,0555 \quad (3)$$

Для перевода показателя инсулина в «мкЕд/мл», применяли формулу:

$$\text{Инсулин мкЕд/мл} = \frac{\text{инсулин нг/мл}}{0,04167} \quad (4)$$

Для определения наличия и степени выраженности инсулинорезистентности также использовали определение отношения гликемии натощак к содержанию базальной концентрации инсулина (натощак) в сыворотке крови [206, 207]:

$$\frac{\text{ГН (мг/дл)}}{\text{ИН (мкЕд/мл)}} \quad (5)$$

где: ГН - гликемия натощак;

ИН – инсулин натощак

Определение всех показателей, характеризующих метаболический статус экспериментальных животных проводили на базе лаборатории кафедры фармакологии Медицинского университета им. Кароля Марцинковского г.Познань, Польша (Poznan Medical University of Medical Science, Poland).

2.3.2 Изучение показателей раннего атеросклероза (сосудистой дисфункции)

Для изучения показателей раннего атеросклероза у всех экспериментальных животных были определены:

1. Количество циркулирующих в периферической крови эндотелиальных клеток (Endothelial cells - ECs) и прогениторных эндотелиальных клеток (Endothelial progenitor cells -EPCs)
 - методом проточной цитофлуориметрии
2. Экспрессия м-РНК гена трансформирующего фактора роста- β (Transforming Growth Factor β – TGF- β) в миокарде и тканях аорты
 - методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени
3. Экспрессия антигена CD68 в тканях аорты (маркера макрофагов)
 - иммуногистохимическим методом

Определение количества циркулирующих в периферической крови ECs и EPCs (циркулирующих CD45⁻CD31⁺CD34⁺ и CD45⁻CD34⁺CD133⁺ клеток)

Исследование содержания в крови циркулирующих ECs и EPCs определялось методом проточной цитофлуориметрии с использованием флуоресцентно меченных антител CD31, CD34 и CD133 (ECs с фенотипом CD45⁻CD31⁺CD34⁺CD133⁻ и EPCs с фенотипом CD45⁻CD34⁺ и CD133⁺).

Для определения циркулирующих в периферической крови ECs и EPCs кровь забирали в стерильные одноразовые пробирки с антикоагулянтом ЭДТА. Клетки суспендировали в сбалансированном солевом растворе Хенка (HBSS, Invitrogen), в присутствии FITC конъюгированных поликлональных кроличьих анти-CD34 антител (Bioss antibodies) и PE конъюгированных поликлональных кроличьих анти-CD31/PECAM антител (Bioss antibodies) и APC-меченных моноклональных анти-CD133 мыши (Prominin-1) антител (Bioss antibodies) в течение одного часа. После двух промывок в фосфатно-буферном солевом растворе (PBS), клетки фиксировали в 2% формальдегиде/PBS до проведения анализа проточным цитометром (FACSCanto, Becton Dickinson, USA). Данные были проанализированы с использованием программного обеспечения Cell-Quest (Becton Dickinson). Количественное определение ECs и EPCs осуществляется за счет выделения клеточных популяций методами программного обеспечения (логического ограничения или гейтирования).

Определение количества циркулирующих в периферической крови ECs и EPCs с использованием метода проточной цитофлуориметрии проводили на базе лаборатории кафедры клинической иммунологии Медицинского университета им. Кароля Марцинковского г.Познань, Польша (Poznan Medical University of Medical Science, Poland).

Определение экспрессии м-РНК гена TGF-β в миокарде и тканях аорты

С целью изучения экспрессии м-РНК белка TGF-β были использованы ткани сердца и аорты, полученные образцы тканей (миокард и аорта) замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C.

Экспрессию м-РНК к белкам TGF-β определяли методом ПЦР в режиме реального времени. ПЦР в режиме реального времени (RTQ-PCR) проводили согласно рекомендованной производителем реактивов схеме. Образцы тканей сердца и аорты измельчали в жидком азоте, тотальную РНК выделяли из образцов методом Chomczynski и Sacchi (1987) [208] с использованием реагента Trizol. Образцы РНК обрабатывали ДНК-азой I. Комплементарную ДНК (кДНК) синтезировали на матрице РНК с использованием набора Roche Diagnostics (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) и с применением SYBR® Green I в качестве красителя для обнаружения. Для амплификации 1 µl раствора кДНК был добавлен к 9,0 µl qPCR Master Mix EURx company (Gdańsk, Poland), содержащие следующие последовательности праймеров: TGF-β, 5'-

AGAAGTCACCCGCGTGСТААТ-3' и 5'-САСТГСТТСССГААТГТСТГА-3' [209]. Все этапы проводились согласно протоколам фирм-производителей.

Определение уровня экспрессии м-РНК к белкам TGF- β в миокарде и аорты методом ПЦР в режиме реального времени проводили на базе лаборатории кафедры биохимии и молекулярной биологии Медицинского университета имени Кароля Марцинковского г.Познань, Польша (Poznan Medical University of Medical Science, Poland).

Оценка экспрессии антигена CD 68 (маркер макрофагов)

Для проведения иммуногистохимического исследования материал (ткань аорты) фиксировали в 10% растворе формалина, затем заливали в парафин по стандартной методике. Рутинное гистологическое окрашивание проводили на парафиновых срезах толщиной 6 мкм, окрашивали Н&Е (гематоксилином и эозином). Макрофаги были выявлены с помощью крысиных анти-CD68 антител (разведение 1/50, Serotec MCA341GA). Блокирование активности эндогенной пероксидазы проводили при добавлении к парафиновым срезам раствора цитрата натрия 10 ммоль/л, рН 6 (Sigma-Aldrich). Добавление вторичных биотинилированных антител непосредственно на срез (1/200, Vector Laboratories, Burlingam, CA), стрептавидин-пероксидаза хрена (Vectastain ABC Kit, Vector Laboratories) и 3-амино-9-этилкарбазол систему субстрат-хромоген (Sigma-Aldrich) для визуализации. Затем срезы были помещены в глицергель (DAKO Corporation) и проанализированы с помощью оптического микроскопа.

Иммуногистохимическое исследование тканей аорты с целью оценки экспрессии антигена CD68 проводили на базе лаборатории кафедры клинической иммунологии Медицинского университета им. Кароля Марцинковского г.Познань, Польша (Poznan Medical University of Medical Science, Poland).

2.4 Статистический анализ полученных результатов

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программы «STATISTICA 8.0» фирмы StatSoft, Inc. США. Проверку нулевой гипотезы об отсутствии различий между наблюдаемым распределением признака и теоретическим ожидаемым нормальным распределением выполняли с использованием W-критерия Шипиро-Уилка (Shapiro-Wilk's W-test). Оценку различий между выборками проводили:

- при нормальном распределении парных переменных с использованием t-критерия Стьюдента и ANOVA в случае множественных независимых;
- при отсутствии нормального распределения и в случае парных независимых совокупностей с использованием U-критериев Манна-Уитни (Mann-Whitney);
- в случае множественных независимых совокупностей, используя критерий Крускалла-Уоллиса (Kruskal-Walis)

Рассчитывались среднеарифметические значения количественных показателей, представленных в тексте в виде $M \pm SD$, где M - средняя арифметическая, SD – стандартное отклонение. Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывалось абсолютное число и относительная величина в процентах (%). В случае с зависимыми выборками для определения взаимосвязи между отдельными показателями использовали дисперсионный анализ Фридмана (Friedman ANOVA) и критерий согласованности Кендалла (Kendall's concordance). Для определения взаимосвязи между отдельными показателями использовали однофакторный дисперсионный анализ (One-way ANOVA) с методом линейных контрастов по тесту Шеффе (Sheffe). Для выявления зависимостей между изучаемыми параметрами проводили корреляционный анализ с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). С целью оценки значимости различий между средними двух или более выборок после принятия во внимание влияния ковариат применяли ковариационный анализ (ANCOVA). Во всех процедурах статистического анализа уровень значимости принимался $p \leq 0,05$.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Результаты влияния вариабельности гликемии на ранние проявления атеросклероза в условиях экспериментального сахарного диабета

Влияние вариабельности гликемии на ранние проявления атеросклероза изучали в условиях экспериментального сахарного диабета с последующим стимулированием гликемических экскурсий. На данном этапе исследовали показатели метаболического статуса и проявления сосудистой дисфункции.

Данные, отражающие состояние метаболического статуса, вариабельность гликемии и инсулинорезистентность у животных исследуемых экспериментальных групп представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Характеристика метаболического статуса (I, II, III) экспериментальных животных

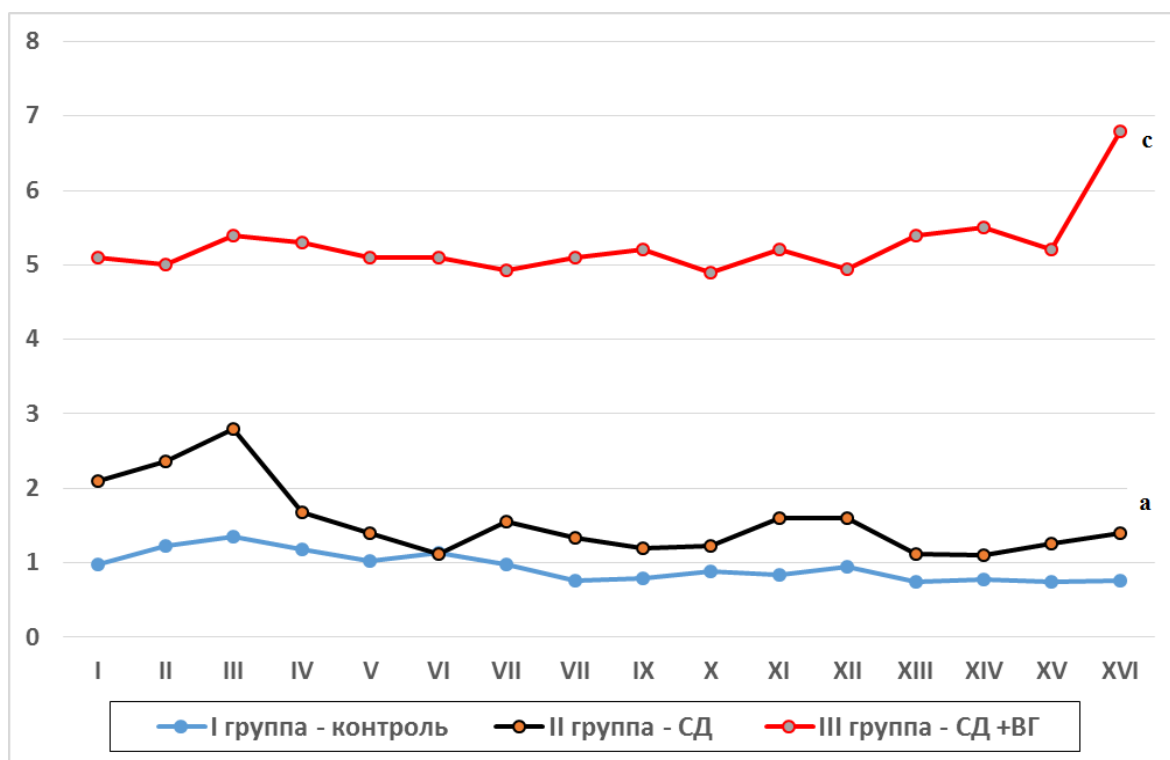
Показатель	I группа	II группа	III группа
	mean \pm SD		
ГН (ммоль/л)	6,1 \pm 0,4	6,8 \pm 0,8 ^a	6,8 \pm 0,3 ^a
ППГ-1 (ммоль/л)	6,4 \pm 0,1	7,5 \pm 0,4 ^{a b}	10,7 \pm 0,8 ^c
ППГ-2 (ммоль/л)	6,5 \pm 0,3	7,1 \pm 0,3 ^{a b}	11,3 \pm 1,2 ^c
HbA _{1c} (%)	2,9 \pm 0,3	3,2 \pm 0,2	3,2 \pm 0,5
1,5-AG (мг/л)	21,0 \pm 3,5	14,3 \pm 4,5 ^c	4,0 \pm 1,1 ^c
C-пептид (нг/мл)	1,8 \pm 0,2	1,1 \pm 0,3 ^a	1,0 \pm 0,2 ^a
Δ G индекс (ммоль/л)	1,0 \pm 0,2	1,6 \pm 0,2 ^{a b}	5,3 \pm 1,0 ^c
MAGE (ммоль/л)	0,4 \pm 0,2	0,6 \pm 0,3 ^b	4,4 \pm 0,7 ^a
Инсулин (нг/мл)	0,5 \pm 0,1	1,0 \pm 0,3 ^a	1,2 \pm 0,2 ^a
НОМА _{IR}	3,6 \pm 0,9	7,1 \pm 2,2 ^a	8,6 \pm 1,5 ^a
Примечания 1 ^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю 2 ^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе 3 ^c - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам			

Статистический анализ биохимических показателей выявил нарушение метаболического статуса у животных II и III экспериментальных групп, проявляющееся в достоверном повышении по отношению к интактному контролю показателей гликемии натощак, концентрации инсулина, индекса инсулинорезистентности и снижении концентрации C-пептида при сравнении этих же групп.

Сравнение показателей ППГ (зарегистрированных через 1 час после приема пищи в течение 8 недель основного эксперимента) показало, что индуцирование суточных колебаний у животных III группы привело к статистически значимому повышению их уровней, как после 1-го кормления (ППГ-1), так и после 2-го кормления (ППГ-2) по отношению к группам

контроля (I) и экспериментального диабета без гликемических экскурсий (II) (таблица 2).

При анализе показателей variability гликемии зарегистрировано статистически значимое повышение ΔG индекса в 5,3 раза и MAGE в 11,0 раз у диабетических крыс с индуцированными колебаниями гликемии (III) по отношению к группе интактных крыс (I), и в 3,3 раза и 7,3 раза по сравнению со II группой диабетических животных без гликемических экскурсий (рисунок 1).



по оси абсцисс -16 измерений; по оси ординат – ΔG (ммоль/л)

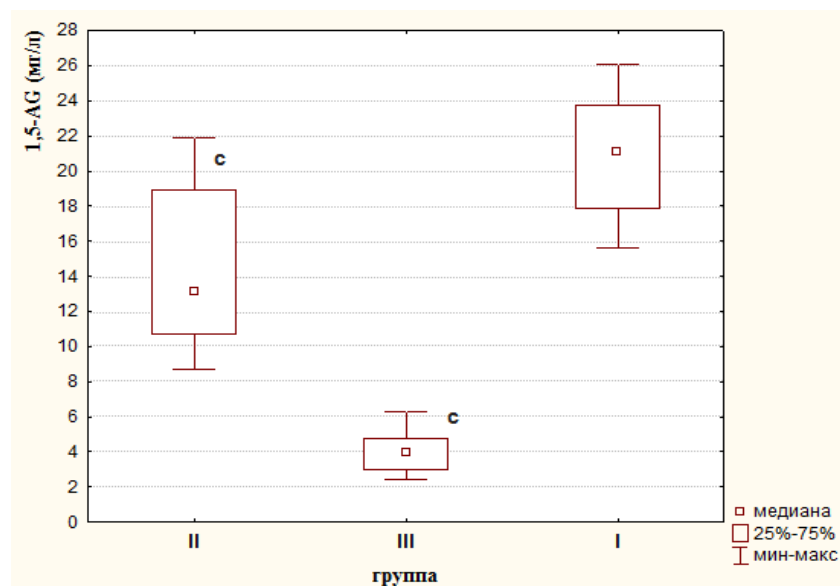
^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

^c - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

Рисунок 1 – Показатель variability гликемии ΔG при индуцировании гликемических экскурсий.

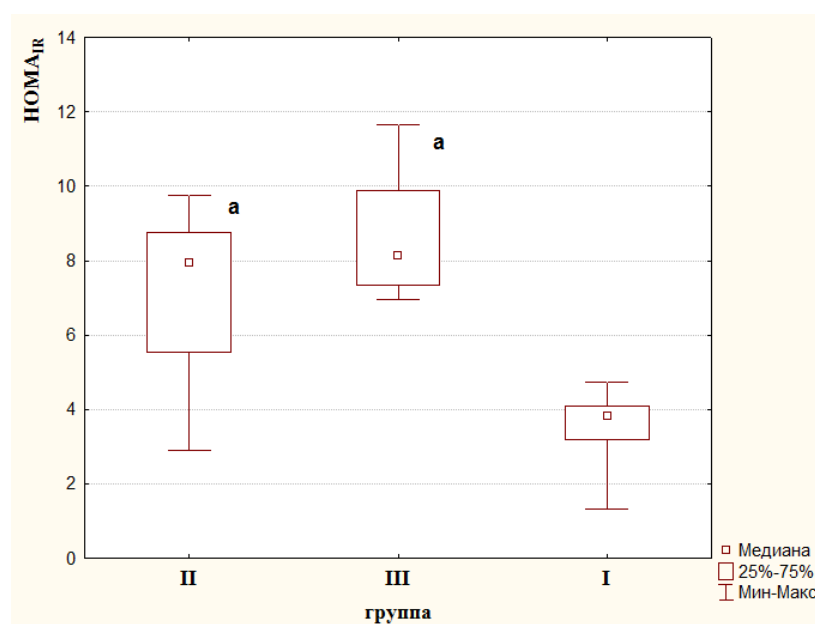
Кроме того, сравнение концентрации 1,5-AG – параметра эпизодов острой гипергликемии, выявило достоверное его снижение у животных II и III групп по отношению к контролю на 32% и 81% соответственно (рисунок 2).

Стимулирование суточных колебаний гликемии привело также к развитию инсулинорезистентности, что проявлялось в статистически значимом повышении концентрации инсулина и индекса $HOMA_{IR}$ по отношению к группе интактных животных в 2,4 раза (таблица 2, рисунок 3, 4).



I – группа интактного контроля; II - группа крыс с экспериментальным СД (ЭСД) 2 типа
 III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне вариабельности гликемии (ВГ)
^c - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

Рисунок 2 - Сравнение концентрации 1,5-АГ между диабетическими крысами II, III групп и интактными животными.



I – контроль; II - крысы с ЭСД 2 типа; III - крыс с ЭСД 2 типа на фоне ВГ
^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

Рисунок 3 - Сравнение индекса инсулинорезистентности HOMA_{1R} между диабетическими крысами II, III групп и интактными животными.

В нашем исследовании с целью выявления сосудистой дисфункции были определены количество циркулирующих в периферической крови эндотелиальных клеток (ECs) и предшественников (прогениторных) эндотелиальных клеток (EPCs), уровень экспрессии мРНК гена TGF β в миокарде, аорте и уровень экспрессии маркера макрофагов CD68 в тканях аорты, результаты которых представлены в таблице 3.

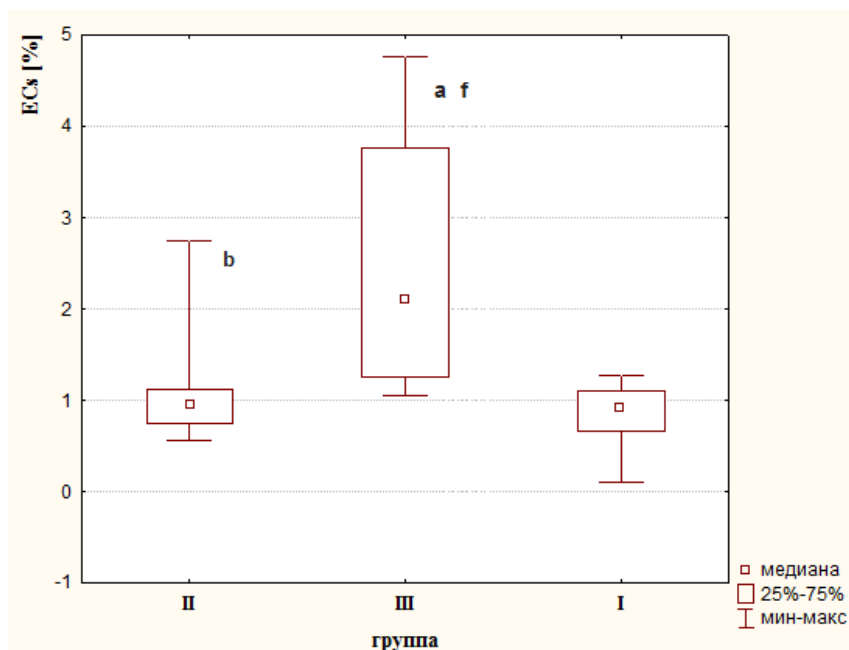
Таблица 3 – Показатели сосудистой дисфункции у животных I, II, III экспериментальных групп

Показатель	I группа	II группа	III группа
ECs (%)	0,8 \pm 0,4	1,2 \pm 0,7 ^b	2,5 \pm 1,3 ^{a f}
EPCs (%)	0,8 \pm 0,9	1,1 \pm 0,5 ^b	0,4 \pm 0,4 ^f
м-РНК TGF- β (в миокарде)	1,1 \pm 0,2	1,2 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1 ^a
м-РНК TGF- β (в аорте)	1,0 \pm 0,4	1,0 \pm 0,3	0,9 \pm 0,3
CD68 ⁺ (клеток в поле зрения)	0,7 \pm 1,0	3,1 \pm 1,2 ^g	8,7 \pm 6,4 ^g
Примечания 1 ^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю 2 ^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе 3 ^f - $p \leq 0,05$ по отношению ко II группе 4 ^g - $p \leq 0,01$ по отношению к контролю			

Результаты исследований по определению показателей раннего повреждения эндотелия в периферической крови методом проточной цитофлуориметрии показали, что в группе диабетических крыс с индуцированными гликемическими экскурсиями (III) отмечается достоверное повышение количества циркулирующих в периферической крови ECs по сравнению с интактными животными (I) в 3,1 раза и в 2,1 раза по отношению ко II группе диабетических крыс без колебаний гликемии (рисунок 4).

Статистический анализ результатов определения количества циркулирующих в периферической крови прогениторных эндотелиальных клеток показал, что вариабельность гликемии привела к достоверному снижению количества EPCs в 2,8 раза у животных III экспериментальной группы по сравнению со II группой диабетических крыс без колебаний гликемии (рисунок 5).

При изучении степени экспрессии м-РНК гена, кодирующего трансформирующий фактор роста (TGF- β), методом ПЦР в режиме реального времени, было установлено, что стимулирование суточных колебаний гликемии у диабетических крыс III группы привело к статистически значимому повышению уровня экспрессии м-РНК к белкам TGF- β в миокарде по отношению к I группе интактных животных (рисунок 6).



I – группа интактного контроля; II - группа крыс с ЭСД 2 типа

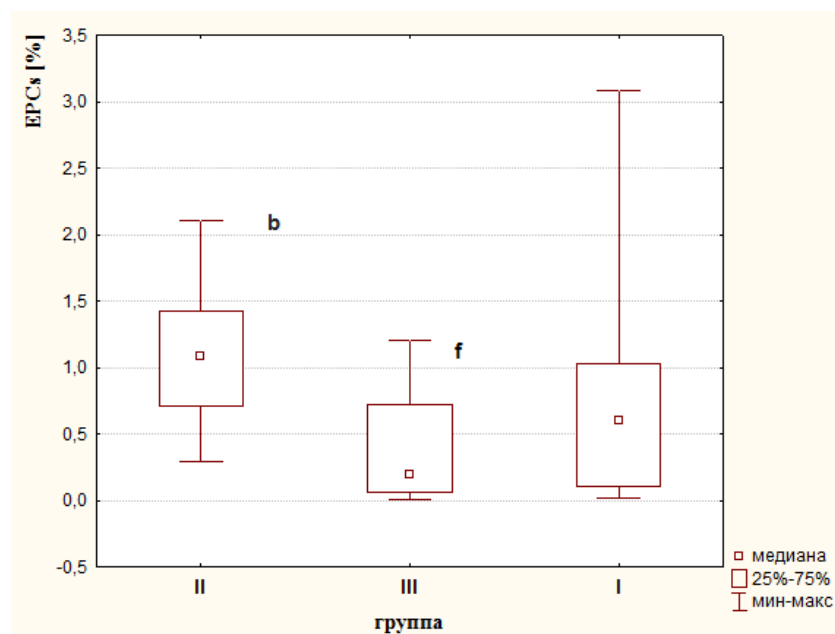
III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ

a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

f - $p \leq 0,05$ по отношению ко II группе

Рисунок 4 - Сравнение количества Ecs, циркулирующих в периферической крови между крысами I, II и III групп.



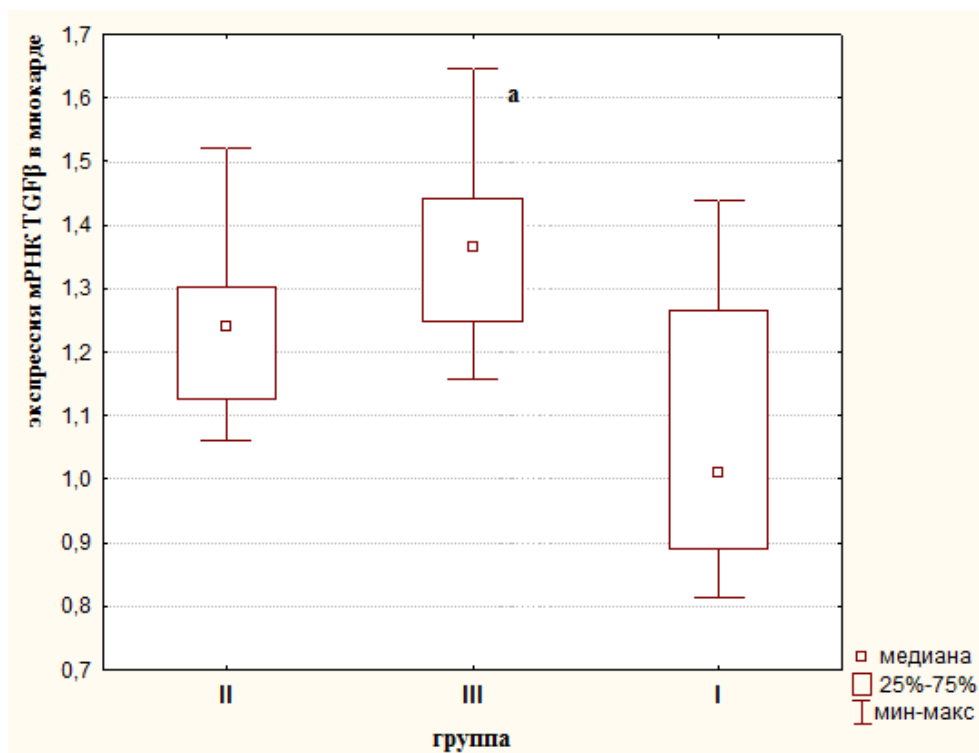
I – группа интактного контроля; II - группа крыс с ЭСД 2 типа

III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ

b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

f - $p \leq 0,05$ по отношению ко II группе

Рисунок 5 - Сравнение количества циркулирующих в периферической крови EPCs между крысами I, II и III групп.



I – группа интактного контроля; II – группа крыс с ЭСД 2 типа
 III – группа крыс с ЭСД 2 типа на фоне ВГ
^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

Рисунок 6 - Сравнение экспрессии м-РНК к белкам TGF- β в миокарде у животных I, II и III групп.

При сравнении между всеми исследуемыми группами уровней экспрессии м-РНК к белкам TGF- β в тканях аорты статистических различий не было выявлено.

Анализ результатов иммуногистохимического исследования тканей аорты показал, что распределение CD68 позитивных моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты было увеличено у животных II и III диабетических групп по сравнению с группой интактных крыс, соответственно в 4,4 и 12,4 раза (рисунок 7).

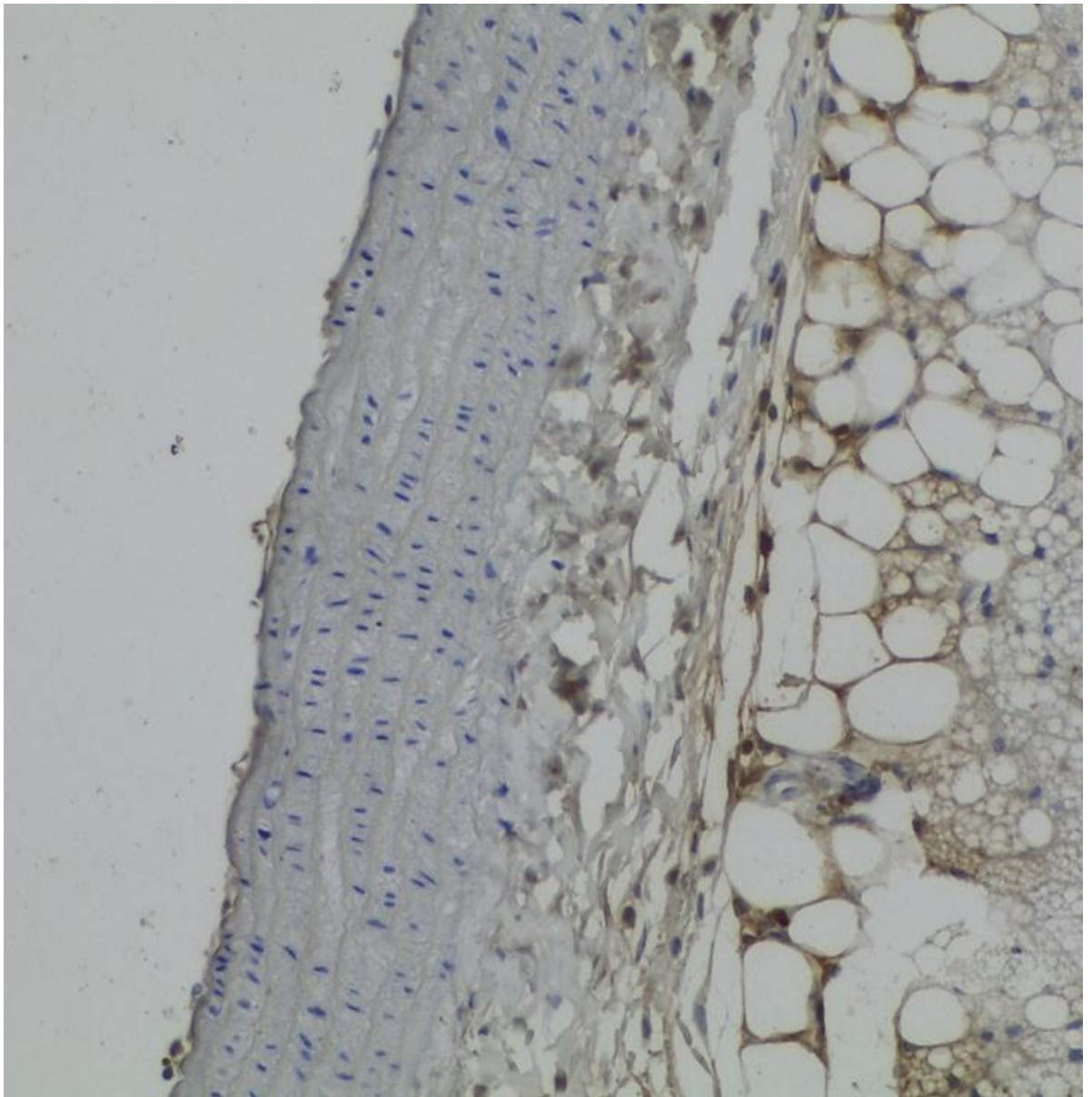


Рисунок 7 А – Распределение CD68⁺ моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты крыс I группы интактного контроля ($0,7 \pm 1,0$ клеток/в поле зрения, $\times 400$).

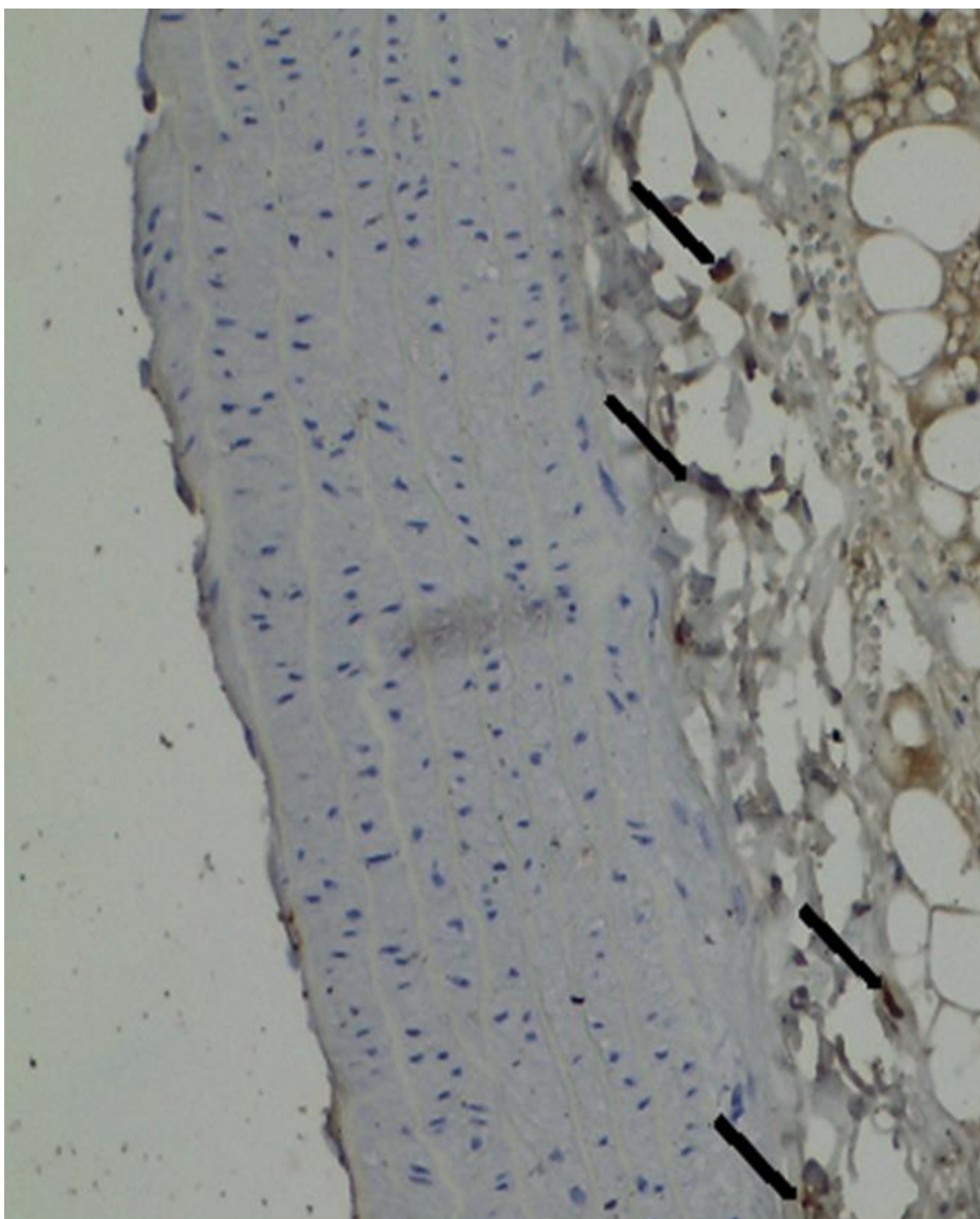


Рисунок 7 В – Распределение CD68-позитивных моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты крыс II группы с сахарным диабетом ($3,1 \pm 1,2$ клеток/ в поле зрения, $\times 400$, $p < 0,01$).

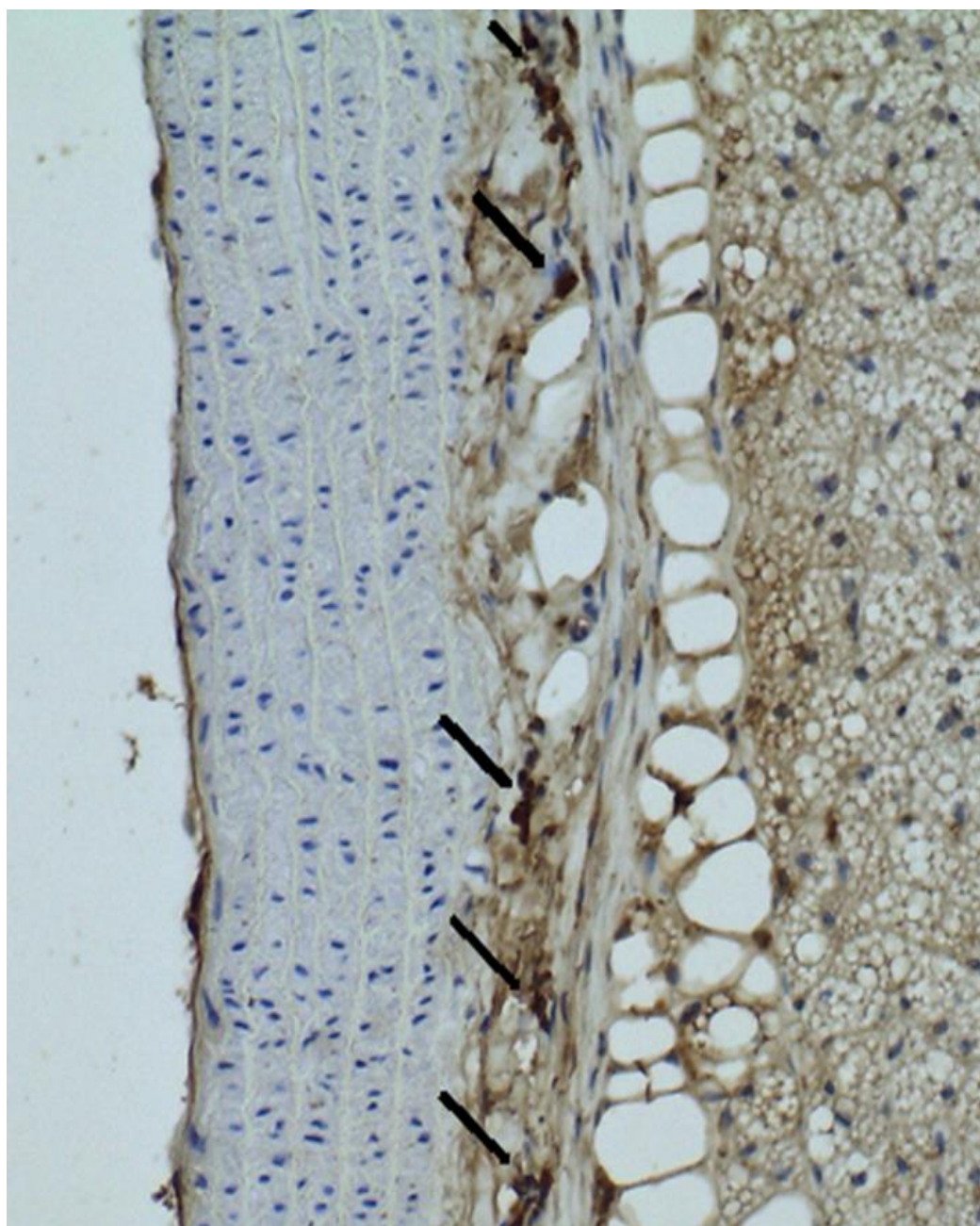


Рисунок 7 С – Распределение CD68⁺ моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты крыс III группы с сахарным диабетом и индуцированными суточными колебаниями гликемии ($8,7 \pm 6,4$ клеток/ в поле зрения, $\times 400$, $p < 0,01$).

Таким образом, обобщая результаты первого этапа собственных исследований, мы констатируем, что суточные колебания гликемии, индуцированные при сформировавшемся сахарном диабете в сравнении с условиями экспериментального диабета без стимулирования вариабельности гликемии вызывают более выраженные нарушения метаболического статуса и проявления сосудистой дисфункции, проявляющиеся в повышении десквамации эндотелиоцитов (повышении количества ECs), снижении количества циркулирующих в периферической крови EPCs, повышении уровня экспрессии м-РНК гена, кодирующего TGF- β в миокарде и увеличении количества CD68-позитивных макрофагов в адвентиции аорты.

3.2 Результаты влияния симвастатина на состояние метаболического статуса у диабетических крыс с индуцированными суточными колебаниями гликемии

На данном этапе было изучено влияние симвастатина на состояние метаболического статуса в условиях индуцированных суточных колебаний гликемии на экспериментальной модели СД. Группа диабетических животных на фоне гликемических экскурсий получала симвастатин в дозе 20 мг/кг в растворе метилцеллюлозы внутрижелудочно ежедневно в течение 8 недель. Экспериментальным крысам I, II и III групп ежедневно внутрижелудочно вводили раствор метилцеллюлозы в качестве плацебо, в том же объеме, что и животным IV группы. Результаты, отражающие состояние метаболического статуса (вариабельность гликемии и инсулинорезистентность) у животных исследуемых экспериментальных групп, представлены в таблице 4.

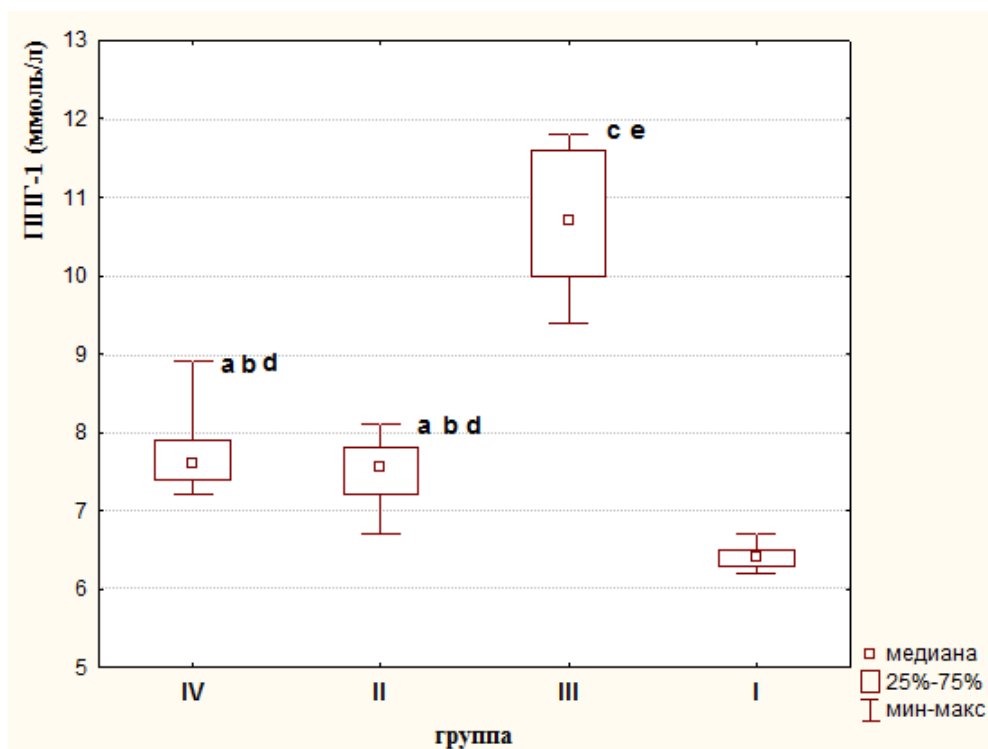
Таблица 4 - Данные исследования влияния симвастатина на метаболический статус при экспериментальном диабете на фоне вариабельности гликемии

Показатель	I группа	II группа	III группа	IV группа
ГН (ммоль/л)	6,1±0,4	6,8±0,8 ^a	6,8±0,3 ^a	6,5±0,8
ППГ-1 (ммоль/л)	6,4±0,1	7,5±0,4 ^{a b d}	10,7±0,8 ^{c e}	7,7±0,5 ^{a b d}
ППГ-2 (ммоль/л)	6,5±0,3	7,1±0,3 ^{a b d}	11,3±1,2 ^{c e}	7,1±0,5 ^{a b d}
HbA _{1c} (%)	2,9±0,3	3,2±0,2	3,2±0,5	3,2±0,2
1,5-AG (мг/л)	21,0±3,5	14,3±4,5 ^{a b}	4,0±1,1 ^{c e}	12,3±3,5 ^{a b}
С-пептид (нг/мл)	1,8±0,2	1,1±0,3 ^a	1,0±0,2 ^a	1,2±0,4 ^a
ΔG индекс (ммоль/л)	1,0±0,2	1,6±0,2 ^{a b d}	5,3±1,0 ^{c e}	1,8±0,3 ^{a b d}
MAGE (ммоль/л)	0,4±0,2	0,6±0,3 ^{b d}	4,4±0,7 ^a	0,7±0,3 ^{b d}
Инсулин (нг/мл)	0,5±0,1	1,0±0,3 ^a	1,2±0,2 ^a	0,8±0,2 ^{b d}
НОМА _{IR}	3,6±0,9	7,1±2,2 ^a	8,6±1,5 ^a	5,3±1,3 ^{c e}
ГН (мг/дл)/ИН (мкЕд/мл)	8,8±2,4	5,9±2,3 ^a	4,4±0,7 ^a	7,0±2,1 ^b
<p>Примечания</p> <p>1 При сравнении всех групп:</p> <p>^a - p ≤ 0,05 по отношению к контролю</p> <p>^b - p ≤ 0,05 по отношению к III группе</p> <p>^c - p ≤ 0,05 по отношению к другим группам</p> <p>2 При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп</p> <p>^d - p ≤ 0,05 по отношению к III группе</p> <p>^e - p ≤ 0,05 по отношению к другим группам</p> <p>3 ГН(мг/дл)/ИН(мкЕд/мл) - показатель инсулинорезистентности отношение гликемии натощак к инсулину натощак</p>				

При анализе показателей гликемии натощак выявлено статистически значимое повышение уровня тощачковой гликемии в группах диабетических крыс (II и III) по отношению к интактному контролю. При этом не отмечалось

достоверных различий уровней гликемии натощак у интактных животных контрольной группы (I) и диабетических крыс с вариабельностью гликемии, получавших симвастатин (IV).

Статистический анализ концентраций глюкозы через 1 час после приема пищи, зарегистрированных в течение 8 недель основного эксперимента, показал, что в группе диабетических животных с индуцированными суточными колебаниями, получавшими симвастатин уровни ППГ (как после первого, так и после второго кормления) были достоверно ниже по сравнению с III группой крыс, получавших плацебо (рисунки 8,9).



- I – группа интактного контроля
- II - группа крыс с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
- III - группа крыс с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
- IV - группа крыс с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин

^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

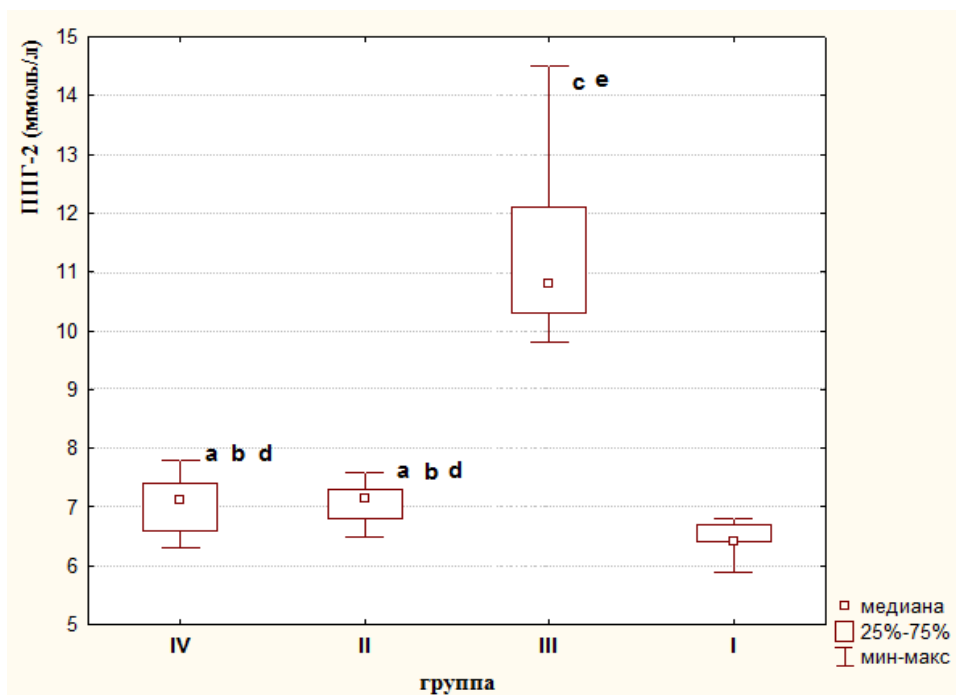
^c - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп:

^d - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

^e - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

Рисунок 8 – Сравнение уровней постпрандиальной гликемии после первого кормления (mean ППГ-1) между всеми экспериментальными группами.

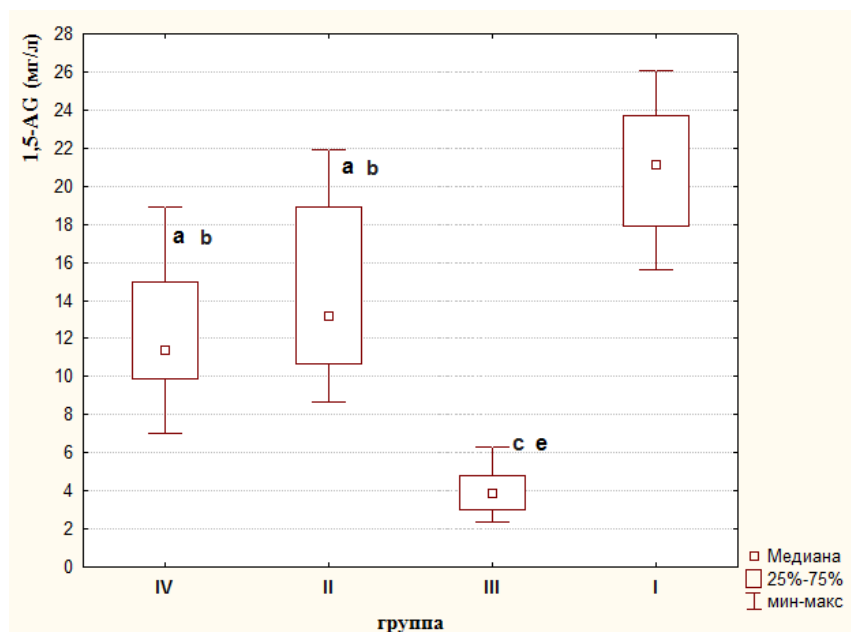


- I – группа интактного контроля
 II - группа крыс с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
 III - группа крыс с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
 IV - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин
- ^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю
^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе
^c - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам
 При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп:
^d - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе
^e - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

Рисунок 9 – Сравнение концентраций глюкозы после 2-го кормления (mean ППГ-2) между всеми экспериментальными группами.

Введение симвастатина животным с диабетом и суточными колебаниями гликемии привело к достоверному повышению концентрации высокочувствительного маркера острой постпрандиальной гипергликемии - 1,5-AG в 3,1 раза по отношению к показателям крыс III группы, получавшим плацебо. В то же время у диабетических животных с гликемическими экскурсиями, получавших симвастатин, данный показатель был значимо ниже на 41,3% по сравнению с интактными крысами (рисунок 10).

При сравнении концентрации С-пептида с группой интактного контроля установлено достоверное снижение данного показателя у диабетических животных с индуцированными колебаниями гликемии, получавших симвастатин (IV) на 33,3%, и на 44,0% у крыс III группы с диабетом и гликемическими экскурсиями, получавших плацебо. У животных IV группы по сравнению с III группой проявляется тенденция к повышению концентрации С-пептида, не достигая, однако, статистически значимых различий (рисунок 11).



I – группа контроля; II - крысы с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
 III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
 IV - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин

^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

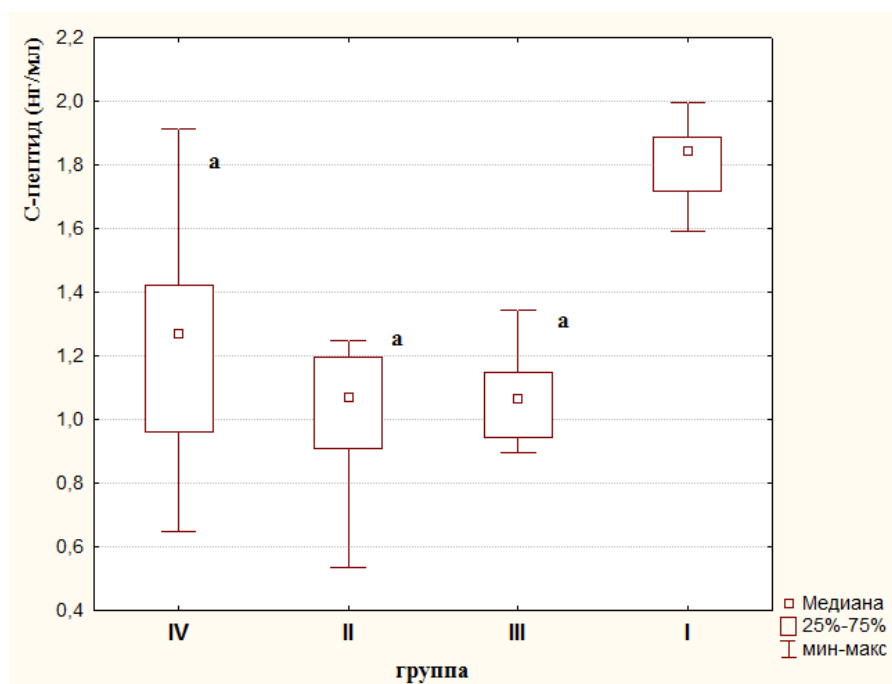
^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

^c - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп

^e - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

Рисунок 10 – Сравнение концентрации 1,5-AG между всеми экспериментальными группами.

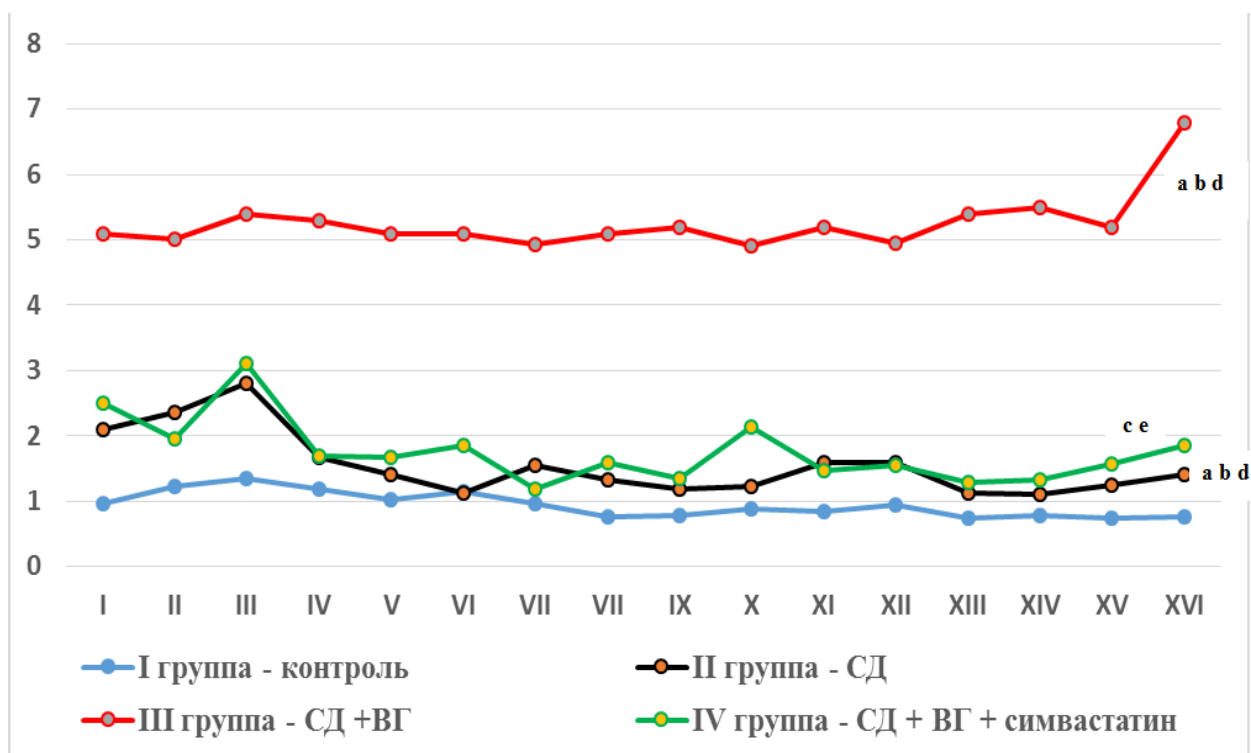


^a - $p < 0,05$ по отношению к контролю

Рисунок 11 – Сравнение концентрации C-пептида между всеми экспериментальными группами.

Статистический анализ результатов показателей variability гликемии выявил достоверно значимое повышение показателя ΔG в 5,3 раза у животных III группы по отношению к контролю (рисунок 12) и показателя MAGE в 11,0 раз. Группа диабетических животных на фоне variability гликемии, получавших симвастатин (IV), имела статистически значимые отличия по сравнению с группой крыс с диабетом и суточными колебаниями, получавших плацебо (III): введение симвастатина привело к снижению показателя MAGE в 6,3 раза и ΔG в 3,0 раза (рисунок 13).

С целью диагностики инсулинорезистентности использовали определение уровней инсулина и глюкозы в сыворотке крови, индекс $HOMA_{IR}$ и отношение базальной глюкозы к содержанию инсулина натощак. Установлено, что стимулирование суточных колебаний гликемии привело к статистически значимому повышению концентрации инсулина в III группе в 2,4 раза по отношению к I группе интактных крыс. Кроме того, у диабетических крыс с индуцированными гликемическими экскурсиями III группы отмечалось развитие инсулинорезистентности: в виде повышения $HOMA$ -индекса в 2,4 раза и снижения отношения глюкозы натощак к инсулину натощак ($ГН$ (мг/дл) / $ИН$ (мкЕд/мл)) в 2 раза по сравнению с интактными животными I группы.



по оси абсцисс -16 измерений; по оси ординат – ΔG индекс (ммоль/л)

^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

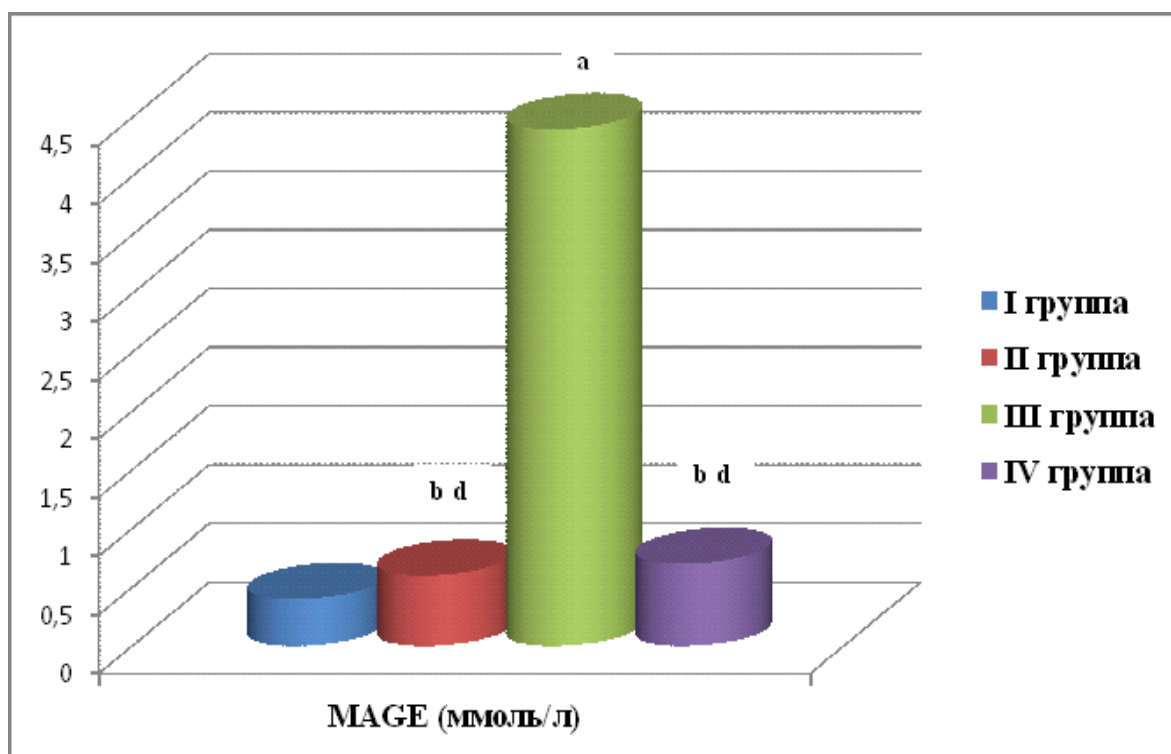
^c - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп

^d - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

^e - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

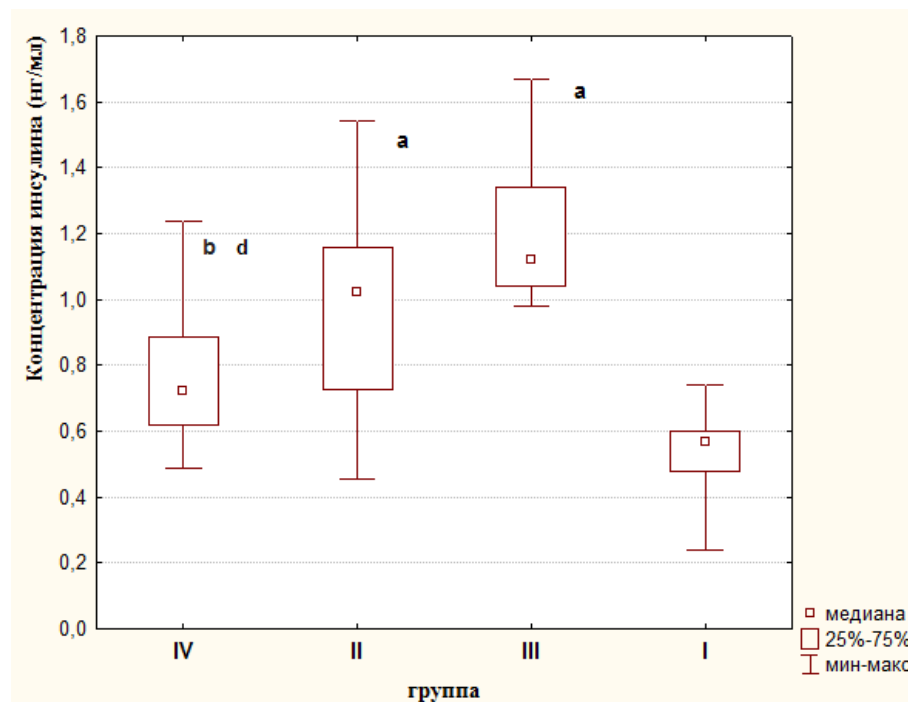
Рисунок 12 – Показатель гликемических экскурсий ΔG во всех группах.



I – группа интактного контроля
 II - группа крыс с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
 III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
 IV - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин
^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю
^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе
 При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп
^d - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

Рисунок 13 - Сравнение вариабельности гликемии между всеми экспериментальными группами.

Введение симвастатина диабетическим крысам на фоне суточных колебаний гликемии (IV) привело к снижению показателей инсулинорезистентности: достоверному снижению инсулинемии на 33,3% (рисунок 14) по отношению к показателям крыс III группы с диабетом и вариабельностью гликемии, получавших плацебо, и снижению НОМА-индекса по отношению ко всем группам животных с диабетом (на 38,3% по сравнению с III группой диабетических крыс на фоне вариабельности, получавших плацебо, и на 25,3% по отношению ко II группе диабетических крыс без гликемических экскурсий) (рисунок 15). При этом у крыс IV группы концентрация инсулина не отличалась от контроля.

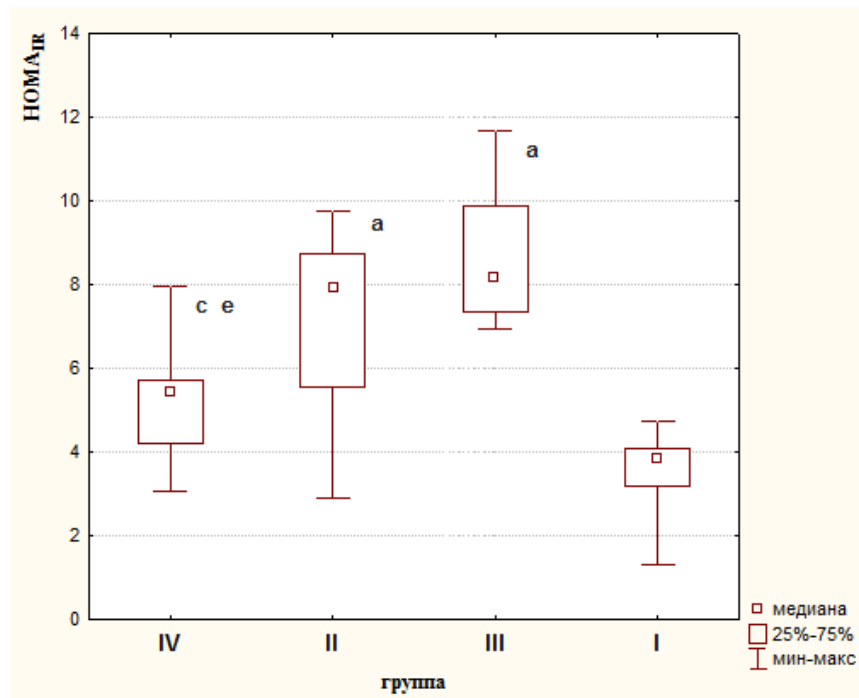


- I – группа интактного контроля
 II - группа крыс с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
 III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
 IV - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин
- ^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю
^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе
 При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп
^d - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

Рисунок 14 - Сравнение концентрации инсулина между всеми экспериментальными группами.

При анализе результатов отношения базальной гликемии к инсулину натощак выявлено, что у крыс IV группы с диабетом на фоне вариабельности гликемии, получавших симвастатин, данный показатель был достоверно выше на 59% по отношению к III группе диабетических животных с колебаниями гликемии, получавших плацебо, при этом не отмечалось статистических различий с группой контроля.

С целью изучения связи между суточной вариабельностью гликемии и индексом инсулинорезистентности нами был проведен корреляционный анализ Спирмена. Выявлена достоверная положительная связь между суточной вариабельностью гликемии и НОМА_{IR} в группах с экспериментальным диабетом ($r=0,48$, $n=42$), демонстрирующая, что чем больше амплитуда гликемических колебаний, тем выше инсулинорезистентность (рисунок 16).



I – контроль; II - крысы с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
 III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
 IV - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин

^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

^c - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп

^e - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

Рисунок 15 - Сравнение показателя инсулинорезистентности $HOMA_{IR}$ между всеми экспериментальными группами.

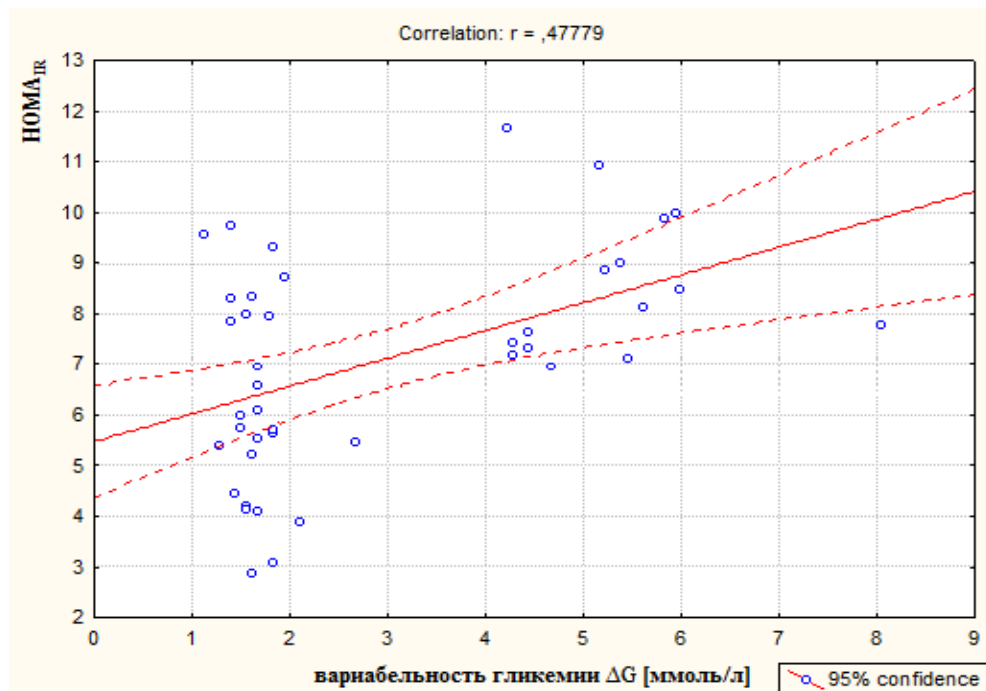


Рисунок 16 - Взаимосвязь суточной вариабельности гликемии с показателем $HOMA_{IR}$ у диабетических крыс II, III и IV групп ($r=0,48$, $n=42$).

Таким образом, полученные нами данные дают основание полагать, что введение симвастатина крысам с экспериментальным сахарным диабетом на фоне вариабельности гликемии приводит к снижению амплитуды гликемических экскурсий и инсулинорезистентности.

3.3 Оценка воздействия симвастатина на ранние проявления атеросклероза, индуцированного суточными колебаниями гликемии

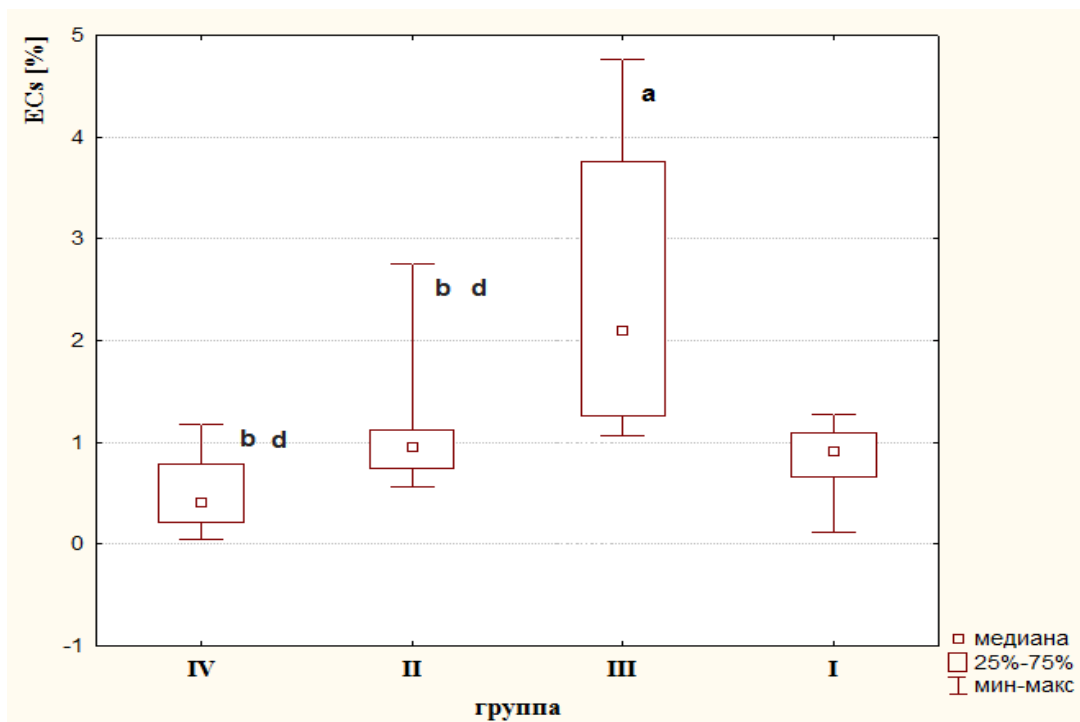
Влияние симвастатина на ранние проявления атеросклероза было изучено на экспериментальной модели сахарного диабета с индуцированной вариабельностью гликемии. Определяли маркеры раннего атеросклероза: количество циркулирующих в периферической крови эндотелиальных клеток (ECs) и предшественников (прогениторных) эндотелиальных клеток (EPCs), уровень экспрессии м-РНК гена TGF- β в миокарде, аорте и уровень экспрессии маркера макрофагов CD68 в тканях аорты. Результаты, отражающие содержание маркеров сосудистой дисфункции у животных исследуемых экспериментальных групп, представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Результаты исследования, полученные при оценке влияния симвастатина на ранние проявления атеросклероза при экспериментальном сахарном диабете на фоне вариабельности гликемии

Показатель	I группа	II группа	III группа	IV группа
ECs (%)	0,8 \pm 0,4	1,2 \pm 0,7 ^{b d}	2,5 \pm 1,3 ^a	0,5 \pm 0,4 ^{b d}
EPCs (%)	0,8 \pm 0,9	1,1 \pm 0,5 ^{b d}	0,4 \pm 0,4 ^{a f}	2,5 \pm 2,2 ^{a b d}
м-РНК TGF- β (в миокарде)	1,1 \pm 0,2	1,2 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1 ^a	1,1 \pm 0,2 ^{b e}
м-РНК TGF- β (в аорте)	1,0 \pm 0,4	1,0 \pm 0,3	0,9 \pm 0,3	0,8 \pm 0,3
CD68 ⁺ (клеток в поле зрения микроскопа)	0,7 \pm 1,0	3,1 \pm 1,2 ^g	8,7 \pm 6,4 ^g	2,9 \pm 1,0 ^g
Примечания 1 При сравнении всех групп ^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю ^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе ^f - $p \leq 0,05$ по отношению ко II группе ^g - $p \leq 0,01$ по отношению к контролю 2 При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп ^d - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе ^e - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам				

Результаты исследований по определению количества циркулирующих в периферической крови ECs методом проточной цитофлуориметрии показали,

что введение симвастатина диабетическим крысам с гликемическими экскурсиями привело к достоверному снижению десквамации эндотелиоцитов в 5,0 раз по отношению к диабетическим крысам с вариабельностью гликемии, получавшим плацебо (III). При этом при сравнении с группой интактных животных статистических различий не выявлено (рисунок 17).

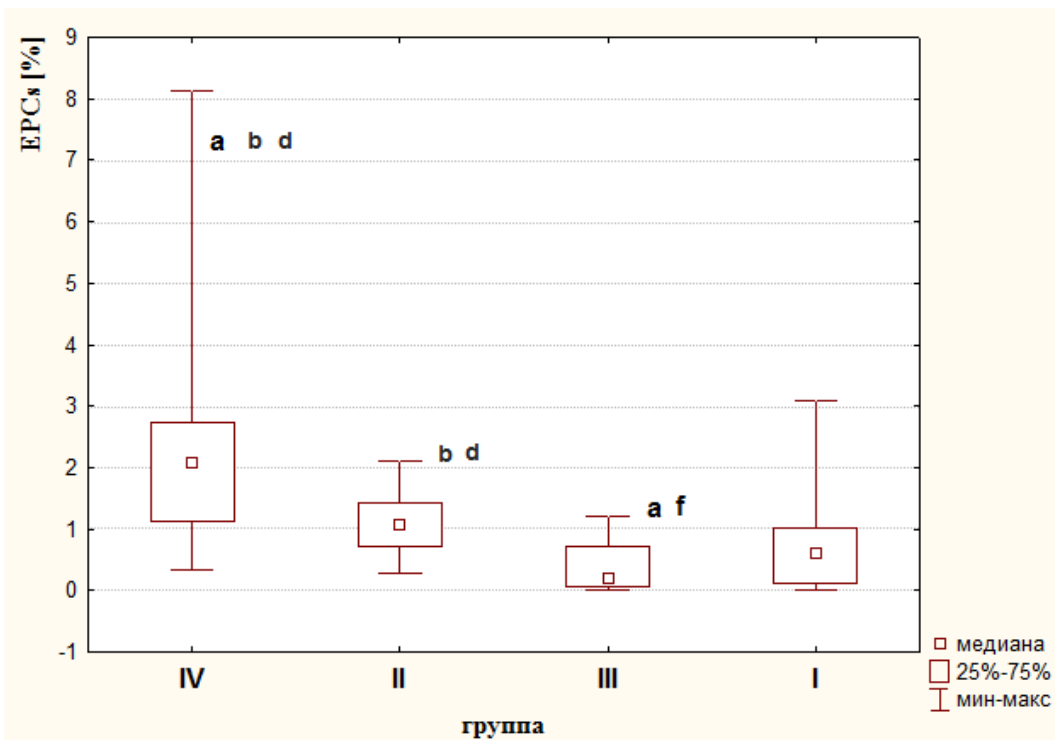


I – группа интактного контроля
 II - группа крыс с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
 III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
 IV - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин
^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю
^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе
 При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп
^d - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

Рисунок 17 - Сравнение количества циркулирующих в периферической крови ECs у крыс всех экспериментальных групп.

Статистический анализ результатов исследований по определению циркулирующих в периферической крови EPCs показал достоверное повышение количества в 6,3 раза у животных IV группы с диабетом и гликемическими экскурсиями, получавших симвастатин по отношению к III группе диабетических крыс с вариабельностью гликемии, получавших плацебо (рисунок 18).

В то же время данный показатель у этой же группы был статистически значимо выше в 3,1 раза уровня EPCs интактных крыс.



I – группа интактного контроля
 II - группа крыс с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
 III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
 IV - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин

^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю

^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

^f - $p \leq 0,05$ по отношению ко II группе

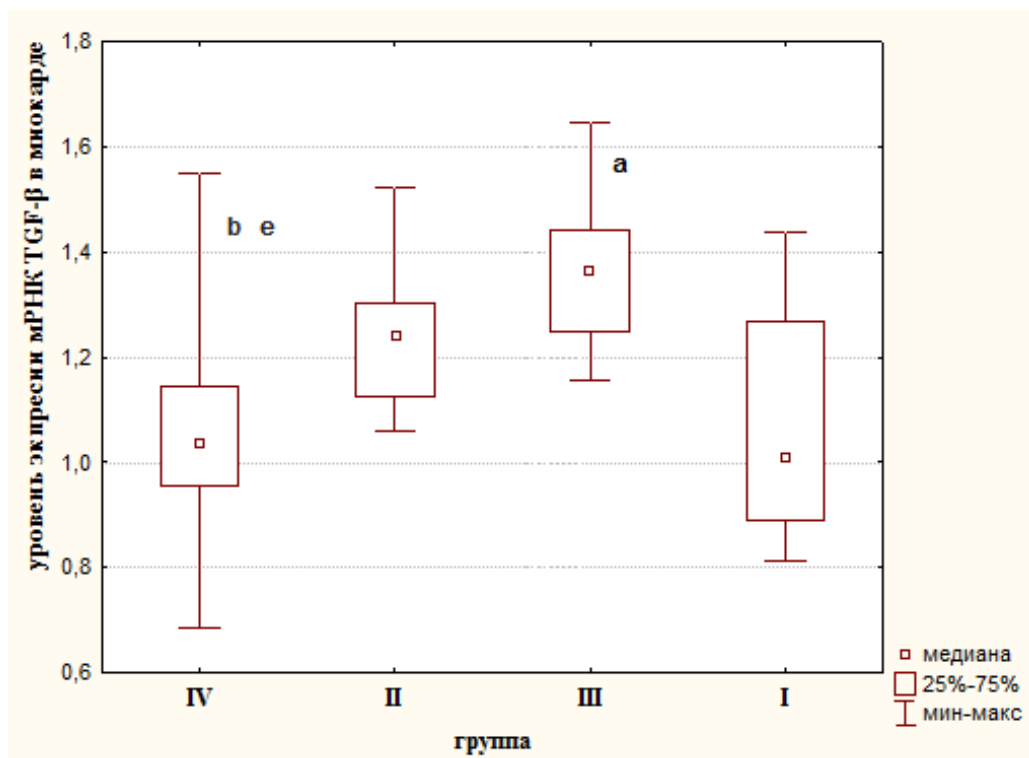
При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп:

^d - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

Рисунок 18 - Сравнение количества циркулирующих в периферической крови EPCs во всех экспериментальных группах.

Результаты исследований другого показателя сосудистой дисфункции – экспрессии м-РНК гена, кодирующего TGF- β в миокарде, показали, что в IV группе диабетических крыс с вариабельностью гликемии, получавших симвастатин отмечается достоверное снижение уровня экспрессии м-РНК к белкам TGF- β на 21,4% по отношению к III группе животных с диабетом и суточными колебаниями гликемии, получавшим плацебо. При этом не отмечалось достоверных различий с группой интактных животных (рисунок 19).

В тканях аорты при сравнении всех экспериментальных групп статистически значимых различий в уровнях экспрессии м-РНК гена, кодирующего TGF- β не выявлено (таблица 5).

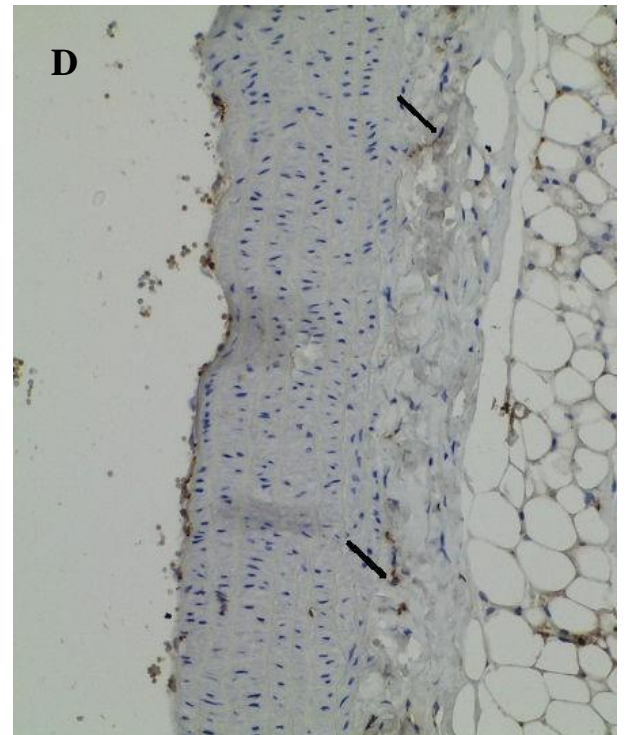
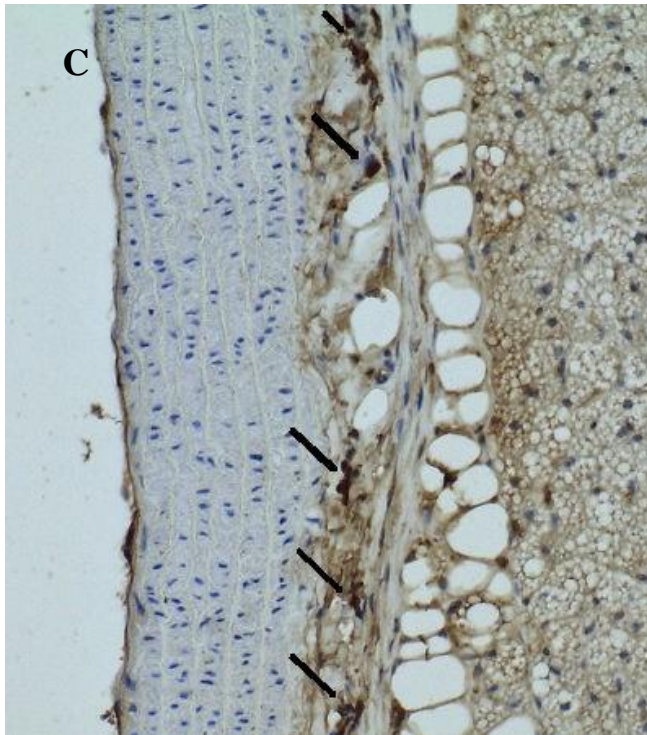
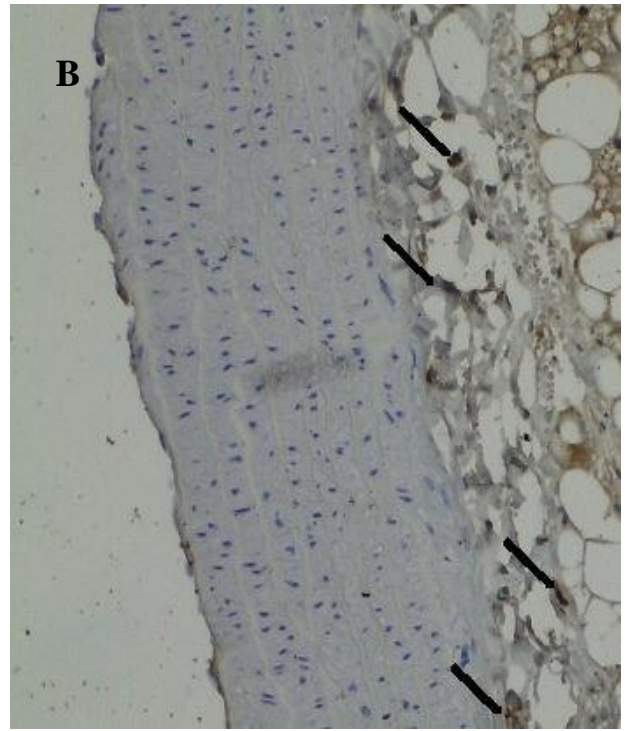
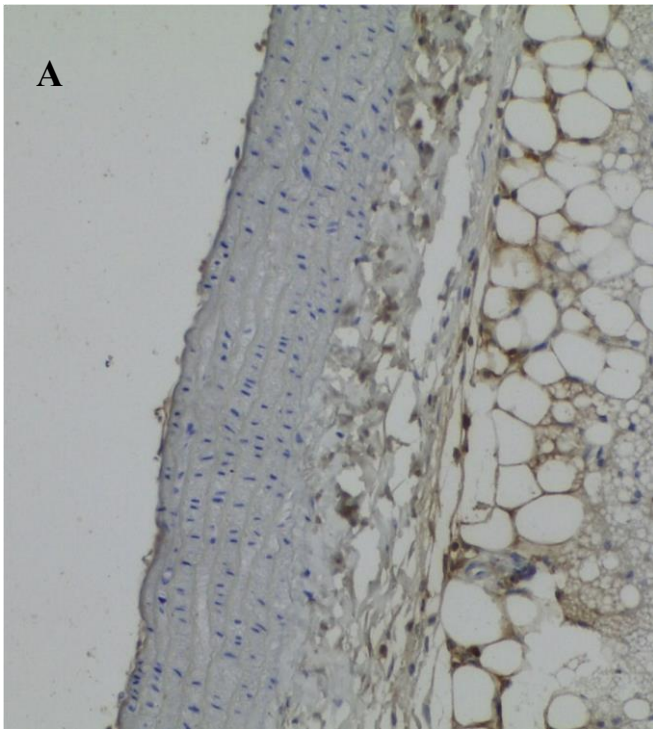


I – группа интактного контроля
 II - группа крыс с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
 III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
 IV - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин
^a - $p \leq 0,05$ по отношению к контролю
^b - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе
 При сравнении только диабетических (II, III, IV) групп
^e - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

Рисунок 19 - Сравнение уровня экспрессии м-РНК гена, кодирующего фактор роста TGF- β в миокарде животных всех экспериментальных групп.

Результаты изучения экспрессии антигена CD68 в тканях аорты

Результаты иммуногистохимического исследования тканей аорты показали, что введение симвастатина диабетическим крысам с индуцированными суточными колебаниями гликемии привело к статистически значимому снижению CD68-позитивных моноцитов/макрофагов ($2,9 \pm 1,0$ клеток/в поле зрения микроскопа, $p < 0,01$) в адвентиции аорты по сравнению с группой диабетических животных с гликемическими экскурсиями, получавших плацебо ($8,7 \pm 6,4$ клеток/в поле зрения микроскопа, $p < 0,01$) (рисунок 20).



А - I группа инактивного контроля ($0,7 \pm 1,0$ клеток/в поле зрения);
 В - II группа с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо ($3,1 \pm 1,2$, $p < 0,01$);
 С - III группа с ЭСД 2 типа и индуцированными суточными колебаниями гликемии, получавшие плацебо ($8,7 \pm 6,4$, $p < 0,01$);
 D - IV группа с ЭСД 2 типа и индуцированными гликемическими экскурсиями, получавшие симвастатин ($2,9 \pm 1,0$, $p < 0,01$).

Рисунок 20 - Распределение $CD68^+$ моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты крыс всех экспериментальных групп.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что введение симвастатина крысам с экспериментальным сахарным диабетом и индуцированными суточными колебаниями гликемии приводит к уменьшению ранних повреждений эндотелия (снижению десквамации эндотелиоцитов по содержанию ECs, повышению количества предшественников эндотелиальных клеток, снижению уровня экспрессии м-РНК гена, кодирующего фактор роста TGF- β в миокарде и снижению количества CD68-позитивных моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты).

3.4 Оценка характера взаимосвязи между показателями углеводного обмена и маркерами раннего атеросклероза в условиях экспериментального сахарного диабета

3.4.1 Корреляционный анализ

С целью изучения связи между суточной вариабельностью гликемии и показателями сосудистой дисфункции нами был проведен корреляционный анализ Спирмена. Корреляционный анализ позволил выявить достоверную положительную связь между суточной вариабельностью гликемии (по показателю ΔG) и количеством циркулирующих в периферической крови ECs в группах животных с экспериментальным диабетом ($r=0,6$, $n=42$), демонстрирующую, что амплитуда гликемических экскурсий прямо пропорциональна уровню десквамации эндотелиоцитов, обнаруженных в периферической крови диабетических крыс (рисунок 21).

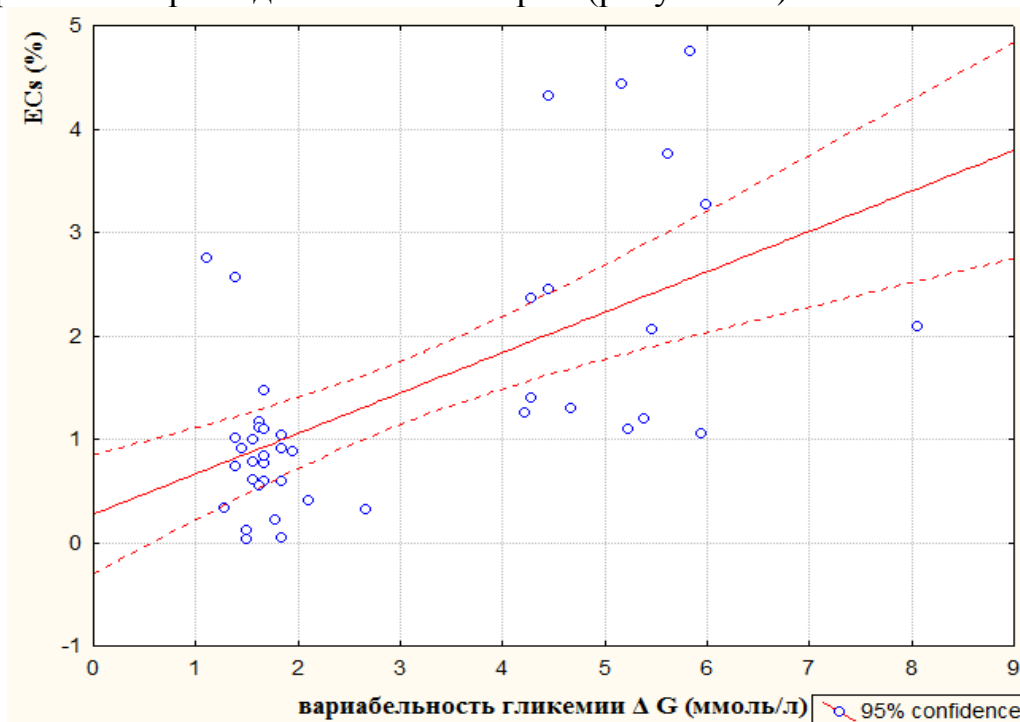


Рисунок 21 - Взаимосвязь суточной вариабельности гликемии (по показателю ΔG) с количеством циркулирующих в периферической крови ECs у диабетических крыс II, III и IV групп ($r=0,6$, $n=42$).

Также выявлена достоверная обратная корреляция суточных колебаний гликемии (по показателю ΔG) с количеством циркулирующих в периферической крови EPCs среди диабетических животных ($r = -0,41$, $n = 42$), демонстрирующая, что наиболее выраженной вариабельности гликемии соответствует и наибольшее снижение количества предшественников эндотелиальных клеток (рисунок 22).

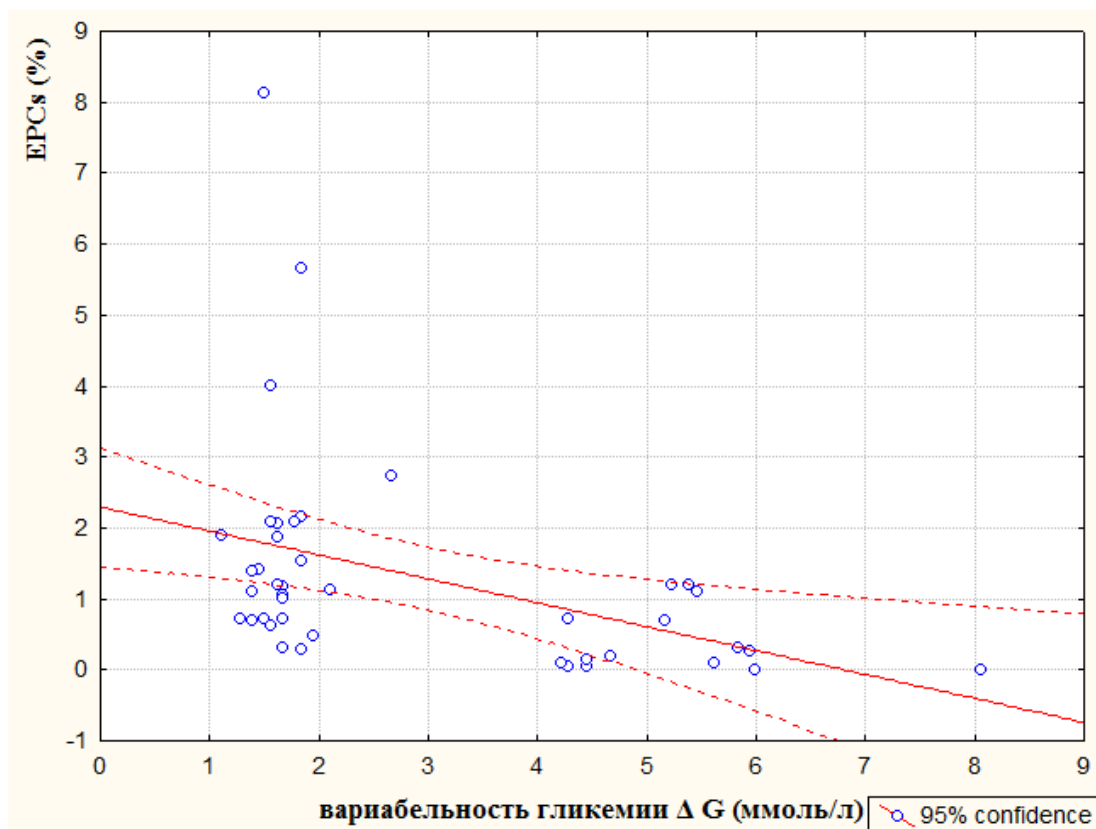


Рисунок 22 - Взаимосвязь суточной вариабельности гликемии (по показателю ΔG) с количеством циркулирующих в периферической крови EPCs у диабетических крыс II, III и IV групп ($r = -0,41$, $n = 42$).

При изучении корреляции между суточной вариабельностью гликемии (по показателю ΔG) и уровнем экспрессии м-РНК к белкам TGF- β в миокарде также выявлялась слабая, но достоверная положительная связь в группах животных с экспериментальным диабетом ($r = 0,38$, $n = 42$) (рисунок 23).

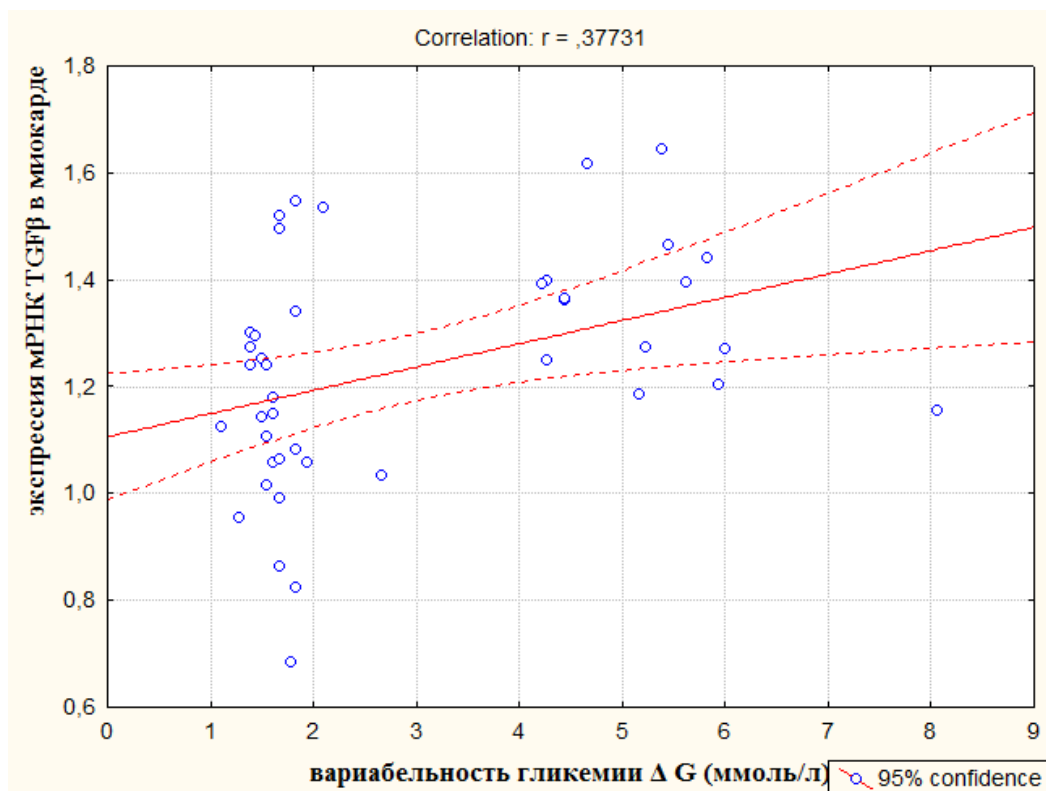


Рисунок 23 - Взаимосвязь суточной вариабельности гликемии (по показателю ΔG) с уровнем экспрессии м-РНК TGF- β в миокарде у диабетических крыс II, III и IV групп ($r = 0,38$, $n=42$).

Обнаруженные корреляционные зависимости между выраженностью вариабельности гликемии (по показателю ΔG) и маркерами субклинического атеросклероза (ECs, EPCs, м-РНК TGF- β) свидетельствуют о том, что суточные колебания гликемии играют значимую роль в развитии сосудистой дисфункции, проявляющуюся в повышении десквамации эндотелиоцитов, снижении количества предшественников эндотелиальных клеток и повышении уровня экспрессии м-РНК TGF- β в миокарде.

3.4.2 Ковариационный анализ

На предыдущих этапах с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) и критерия Крускала-Уоллиса (Kruskal-Wallis) нами выявлено, что процент циркулирующих ECs, EPCs и уровень экспрессии м-РНК гена TGF- β в тканях сердца варьируют среди всех экспериментальных групп с диабетом (II, III, IV). При этом установлено, что применение симвастатина у крыс с диабетом и гликемическими экскурсиями приводит к снижению десквамации эндотелиоцитов, уровня экспрессии м-РНК гена TGF- β и повышению количества циркулирующих EPCs по сравнению с III группой диабетических крыс с вариабельностью гликемии, получавших плацебо, что свидетельствует о снижении нарушений эндотелия.

Принимая во внимание, потенциальное влияние некоторых факторов метаболического статуса на варьирование показателей раннего атеросклероза между диабетическими группами нами был проведен ковариационный анализ (ANCOVA). Анализ ковариации проводили для показателей ECs, EPCs и TGF- β в миокарде, которые считались как зависимые переменные, а HbA_{1c}, 1,5-AG, С-пептид и HOMA_{IR} - независимые переменные, т.е. ковариаты. Полученные результаты представлены в таблицах 6-8.

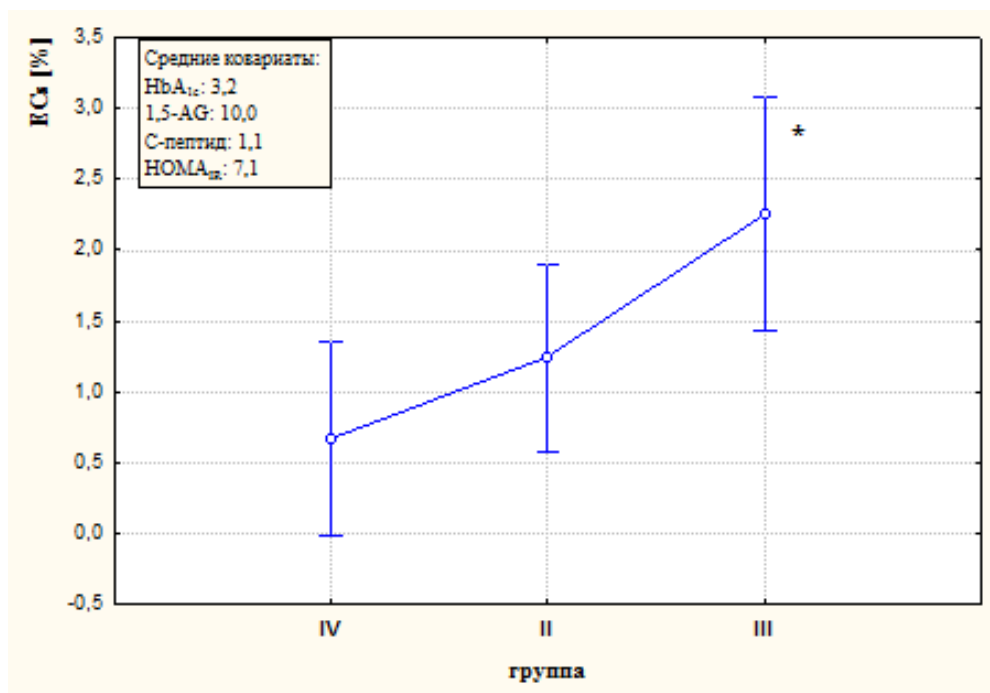
Таблица 6 – Результаты ковариационного анализа ANCOVA (analysis of covariance) характера взаимосвязи между зависимой переменной ECs и метаболическими факторами у животных диабетических групп.

Независимая переменная	F-критерий	<i>p</i>
HbA _{1c}	0,11	0,74
1,5-AG	0,17	0,68
С-пептид	0,0001	0,99
HOMA _{IR}	0,36	0,55

Ковариационный анализ взаимосвязи между количеством ECs и ковариатами HbA_{1c}, 1,5-AG, С-пептид и HOMA_{IR} показал, что процент ECs варьирует между диабетическими группами независимо от хронической гипергликемии (HbA_{1c}), независимо от острой гипергликемии (1,5-AG), независимо от функции β -эндокриноцитов (С-пептид) и независимо от периферической инсулинорезистентности (HOMA_{IR}) (таблица 6).

Результаты ковариационного анализа подтвердили, что различия в содержании ECs, выявленные нами ранее с использованием критерия Крускала-Уоллиса все еще существуют. Было проведено апостериорное сравнение по тесту Шеффе (Post-hoc). Обнаружено, что процент циркулирующих ECs в IV группе диабетических животных с колебаниями гликемии, получавших симвастатин, значительно ниже, чем в III группе диабетических крыс с вариабельностью гликемии и во II группе диабетических крыс без суточных колебаний гликемии, получавших плацебо (рисунок 24).

Таким образом, резюмируя результаты ковариационного анализа для переменной ECs, можно сделать вывод, что симвастатин снижает уровень ECs у крыс с диабетом и гликемическими экскурсиями, приводит к снижению проявлений сосудистой дисфункции, индуцированных суточными колебаниями гликемии, независимо от метаболического статуса и течения диабета.



II - группа крыс с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
 III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
 IV - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин
 * - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

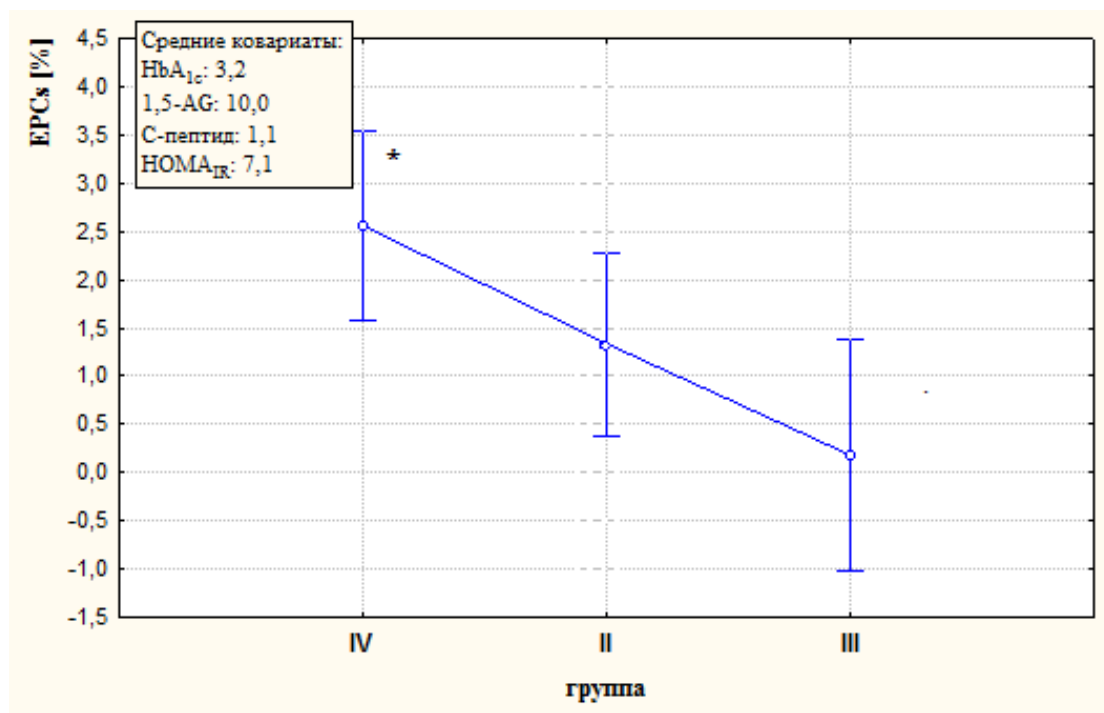
Рисунок 24 - График средних значений процента EPCs среди животных диабетических II, III и IV групп.

Ковариационный анализ взаимосвязи между количеством циркулирующих в периферической крови EPCs и ковариатами HbA_{1c}, 1,5-AG, C-пептид и HOMA_{IR} показал, что процент EPCs варьирует между диабетическими группами независимо от хронической гипергликемии (HbA_{1c}), независимо от острой гипергликемии (1,5-AG), независимо от функции β -эндокриноцитов (C-пептид) и независимо от периферической инсулинорезистентности (HOMA_{IR}) (таблица 7).

Таблица 7 – Результаты ковариационного анализа ANCOVA (analysis of covariance) характера взаимосвязи между зависимой переменной EPCs и метаболическими факторами у животных диабетических групп

Независимая переменная	F-критерий	<i>p</i>
HbA _{1c}	0,09	0,77
1,5-AG	0,41	0,53
C-пептид	0,01	0,91
HOMA _{IR}	0,01	0,92

Результаты анализа ковариации подтвердили, что различия в содержании EPCs, выявленные нами ранее с использованием критерия Крускала-Уоллиса все еще существуют, был проведен апостериорный анализ с использованием теста Шеффе (post-hoc). Обнаружено, что процент циркулирующих EPCs в группе диабетических животных с колебаниями гликемии, получавших симвастатин, значительно выше, чем в группе диабетических крыс с вариабельностью гликемии, получавших плацебо, и группе диабетических крыс без суточных колебаний гликемии, получавших плацебо (рисунок 25).



II - группа крыс с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
 III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
 IV - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин
 * - $p \leq 0,05$ по отношению к другим группам

Рисунок 25 - График средних значений процента EPCs среди животных диабетических II, III и IV групп.

Таким образом, результаты ковариационного анализа позволяют сделать вывод о том, что симвастатин повышает уровень циркулирующих в периферической крови EPCs у крыс с диабетом и гликемическими экскурсиями, приводит к снижению сосудистой дисфункции, индуцированной суточными колебаниями гликемии независимо от метаболического статуса и течения диабета.

Анализ ковариации взаимосвязи между уровнем экспрессии м-РНК к белкам TGF- β в миокарде и ковариатами HbA_{1c}, HOMA_{IR}, C-пептид и 1,5-AG, показал, что уровень экспрессии мРНК TGF β , не зависит от хронической гипергликемии (HbA_{1c}), не зависит от периферической инсулинорезистентности

(НОМА_{IR}) и не зависит от функции β -эндокриноцитов (С-пептид). Был выявлен значимый эффект острой гипергликемии (1,5-AG) (таблица 8).

Таблица 8 – Результаты анализа ANCOVA (analysis of covariance) характера взаимосвязи между уровнем экспрессии м-РНК TGF- β (в миокарде) и метаболическими факторами у животных диабетических групп

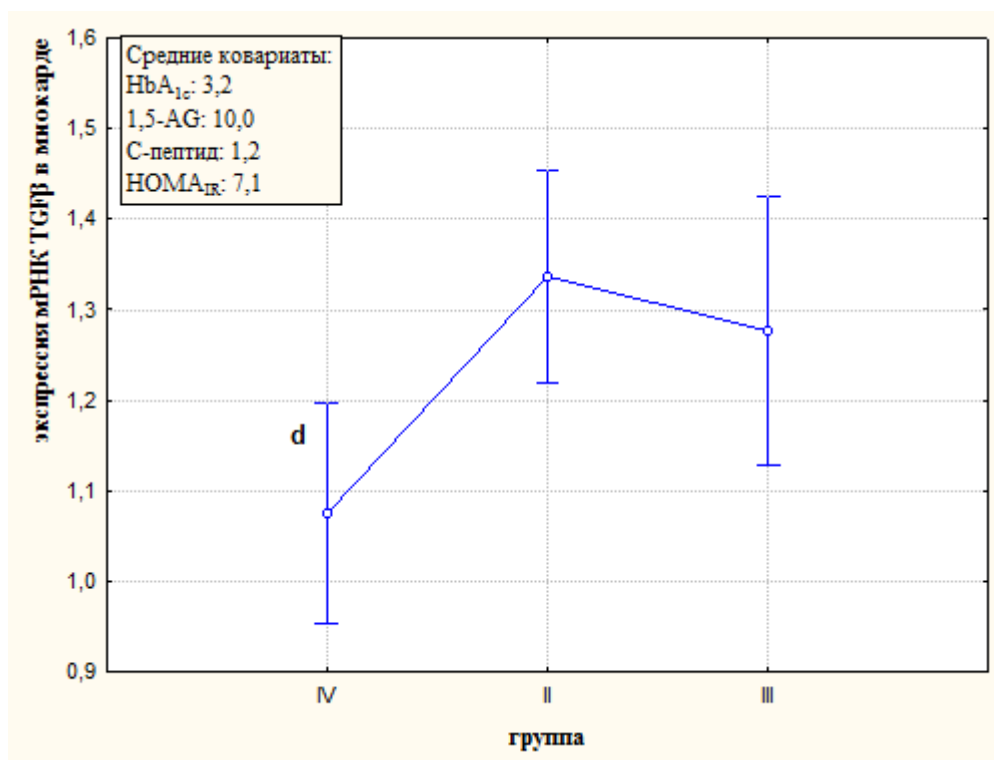
Независимая переменная	F-критерий	<i>p</i>
HbA _{1c}	0,03	0,85
1,5-AG	6,67	0,01*
С-пептид	0,05	0,82
НОМА _{IR}	3,62	0,06
Примечание - * - статистически значимо для $p < 0,05$		

Результаты ковариационного анализа подтвердили, что различия в уровнях экспрессии м-РНК TGF- β , выявленные нами ранее с использованием критерия Крускала-Уоллиса все еще существуют. Было проведено апостериорное сравнение по тесту Шеффе (Post-hoc). Установлено, что уровень экспрессии м-РНК к белкам TGF- β был значительно ниже в группе диабетических крыс с вариабельностью гликемии, получавших симвастатин, чем в группе диабетических животных с колебаниями гликемии, получавших плацебо (рисунок 26). Не выявлено статистических различий между группой крыс с диабетом и гликемическими экскурсиями, получавшими симвастатин и группой диабетических крыс без суточных колебаний гликемии, получавших плацебо.

Оценивая результаты ковариационного анализа, можно сделать вывод, что введение симвастатина экспериментальным крысам с диабетом на фоне вариабельности гликемии приводит к снижению уровня экспрессии м-РНК гена, кодирующего TGF- β в миокарде, предотвращает ремоделирование сосудов, что снижает проявления сосудистой дисфункции, индуцированные суточными колебаниями гликемии независимо от метаболического статуса и течения диабета. Но, следует отметить, что данный эффект симвастатина, наиболее вероятно, является вторичным по отношению к статин-зависимому снижению гликемических экскурсий.

Таким образом, обобщая результаты ковариационного анализа всех групп с экспериментальным диабетом по показателям сосудистой дисфункции ECs, EPCs и TGF- β в миокарде, можно констатировать, что введение симвастатина диабетическим крысам с индуцированными суточными колебаниями гликемии способствует снижению количества циркулирующих в периферической крови эндотелиоцитов, экспрессии м-РНК гена TGF- β в миокарде и повышению количества циркулирующих в периферической крови прогениторных эндотелиальных клеток, т.е. восстановлению функций эндотелия и ниже

лежащих слоев сосудистой стенки независимо от метаболического статуса и течения диабета.



II - группа крыс с ЭСД 2 типа, получавшие плацебо
III - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие плацебо
IV - крысы с ЭСД 2 типа на фоне ВГ, получавшие симвастатин
d - $p \leq 0,05$ по отношению к III группе

Рисунок 26 - График средних значений уровня экспрессии м-РНК TGF-β в миокарде среди животных диабетических II, III и IV групп.

4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В последние годы проблема сахарного диабета становится все более актуальной, что обусловлено с его постоянно увеличивающейся распространенностью, высокой инвалидизацией и смертностью больных вследствие развития поздних микро- и макроангиопатий [2, p.24; 37, с.18]. Предотвращение и замедление развития поздних ангиопатий является одной из главных задач современной диабетологии. Наряду с нормализацией показателей гликемии натощак, HbA_{1c} и постпрандиальной гликемии, важное значение имеет выраженность колебаний уровня гликемии как фактор, способствующий ухудшению прогноза СД [71, с.20]. Сахарный диабет является мощным самостоятельным фактором риска атеросклероза [9, с.18]. В связи с этим изучение влияния суточных колебаний гликемии при сахарном диабете на развитие дисфункции эндотелия – доклинического признака атеросклероза, являющейся основной причиной смертности у больных сахарным диабетом, представляет собой актуальную проблему.

Установлено, что вариабельность гликемии является фактором, который сильнее других и независимо от других повреждает сосуды [210]. Высокая амплитуда колебаний гликемии более опасна, чем постоянно высокий уровень глюкозы: повышая продукцию свободных радикалов в клетках эндотелия [19, p.274], вариабельность гликемии приводит к дисфункции эндотелия у пациентов с СД2 [107, p.6], а также, изменяя толщину интима-медиа, способствует развитию атеросклероза у лиц с СД2 [211]. Необходимо отметить, что исследования по влиянию вариабельности гликемии на функциональную активность эндотелия немногочисленны. Актуальность исследования влияния суточных колебаний гликемии на показатели повреждения эндотелия определяется возможностью дальнейшего изучения фармакологической коррекции сосудистой дисфункции.

Известно, что доклиническим признаком раннего атеросклероза является дисфункция эндотелия, которая на клеточном уровне характеризуется повреждением и усиленным апоптозом эндотелиальных клеток. Активированные эндотелиоциты подвергаются морфологическим и функциональным изменениям, синтезируя различные белки, цитокины и факторы роста, активирующие адгезию и миграцию клеток воспаления, запускающих атеросклеротический процесс. В атерогенезе моноцитам придают особое значение как клеткам, способным накапливать липиды и превращаться в пенистые клетки. К маркерам раннего повреждения сосудистой стенки (субклинического атеросклероза) относятся определение количества циркулирующих в периферической крови эндотелиальных и прогениторных эндотелиальных клеток, оценка уровня экспрессии м-РНК к белкам TGF- β и антигена CD68 (маркера макрофагов) в тканях аорты.

Остается не выясненным вопрос о влиянии на вариабельность гликемии статинов, как препаратов, наиболее часто назначаемых пациентам с СД2 с очень высоким риском развития атеросклероза [212, 213]. В то же время, в последние годы в литературе значительное внимание уделяется вопросу о

возможном нежелательном последствии статинотерапии, связанном с риском развития новых случаев СД2 [29, р.353-354]. Нарушения регуляции процессов внутриклеточной инсулиновой сигнализации, функции β -эндокриноцитов и секреции адипокина являются предполагаемыми механизмами нежелательного действия статинов [30, р.4904]. Тем не менее, не существует единого мнения относительно механизма диабетогенного действия статинов, более того, результаты клинических исследований противоречивы и свидетельствуют о положительном и негативном эффекте на инсулинорезистентность и секрецию инсулина [31, р.137]. Также необходимо отметить, что статинам свойственны плеiotропные эффекты, не зависящие от снижения уровня липидов в крови. К ним относятся антиатромботические и антиоксидантный эффекты, противовоспалительное действие [214].

В исследованиях продемонстрировано влияние статинов на улучшение функции эндотелия с использованием биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции и функциональных тестов эндотелий зависимой вазодилатации [167 р.357; 215, 216].

В нашем исследовании по изучению влияния симвастатина на ранние проявления сосудистой дисфункции, индуцированные вариабельностью гликемии использовали такие маркеры субклинического атеросклероза, как определение количества циркулирующих в периферической крови эндотелиальных и прогениторных эндотелиальных клеток, оценка уровня экспрессии м-РНК гена TGF- β в миокарде, аорте и маркера макрофагов CD68 в тканях аорты. В ходе исследования была проведена оценка влияния симвастатина на ранние проявления атеросклероза, индуцированные суточными колебаниями гликемии на экспериментальной модели сахарного диабета.

Модель сахарного диабета у крыс воспроизводили однократной внутрибрюшинной инъекцией стрептозотоцина в дозе 30 мг/кг веса животного в сочетании с диетой с повышенным содержанием жиров (61%) в течение 5 недель. Суточные колебания гликемии стимулировали в экспериментальных группах диабетических животных в течение 8 недель, применяя обратный суточный цикл с дачей стандартного корма в течение одного часа: с 11.00 до 12.00 часов (первое кормление) и с 17.00 до 18.00 (второе кормление). Группе экспериментальных животных с диабетом на фоне гликемических экскурсий ежедневно вводили симвастатин в дозе 20 мг/кг в растворе метилцеллюлозы, внутрижелудочно в течение 8 недель. Животным I, II и III экспериментальных групп вводили раствор метилцеллюлозы (в качестве плацебо). Во всех экспериментальных группах проводили оценку метаболического статуса и показателей сосудистой дисфункции.

Полученные нами данные свидетельствовали о глубоких нарушениях гомеостаза, развивающихся при экспериментальном СД и стимулировании суточных колебаний гликемии.

Так, результаты исследования метаболического статуса у крыс III группы с диабетом и индуцированными суточными колебаниями гликемии показали

повышение гликемии натощак, снижение концентрации 1,5-AG и C-пептида по отношению к контролю (таблица 4). Не выявлено статистических различий по показателям гликемии натощак, HbA_{1c} и C-пептида у животных IV группы с экспериментальным диабетом на фоне вариабельности гликемии, получавших симвастатин по отношению к III группе диабетических крыс с гликемическими экскурсиями, получавших плацебо. Но, в то же время, введение симвастатина диабетическим крысам с индуцированными суточными колебаниями гликемии привело к выраженному достоверному повышению концентрации 1,5-AG в 3,1 раза по отношению к III группе крыс с диабетом и гликемическими экскурсиями, получавших плацебо.

Известно, что 1,5-AG является высокочувствительным, быстро реагирующим индикатором гипергликемии, способным достаточно точно отразить даже транзиторные повышения уровней глюкозы в течение нескольких дней до измерения, признан маркером для оценки краткосрочных гликемических экскурсий при СД и предиктором ССЗ [217, 218]. Являясь метаболически инертным веществом, 1,5-AG конкурирует с глюкозой за систему реабсорбции в проксимальных почечных канальцах и в условиях гипергликемии увеличивается его выделение с мочой, а концентрация его в крови уменьшается [65, с.124]. Клиническими исследованиями установлены ассоциация низких уровней 1,5-AG с дисфункцией эндотелия при СД2 [219], негативная корреляция 1,5-AG с вариабельностью гликемии [67, р.359] и постпрандиальной гипергликемией у пациентов с диабетом с HbA_{1c}<8,0% [220, 221], что согласуется с результатами нашего исследования.

Статистический анализ показал, что индуцирование суточных колебаний гликемии у диабетических крыс привело к повышению показателей вариабельности ΔG и MAGE в 5,3 и 11,0 раз по отношению к интактным животным и в 3,3 и 7,3 раза соответственно по сравнению с группой диабетических крыс без гликемических экскурсий. Сравнение амплитуды гликемических экскурсий у крыс III и IV экспериментальных групп показало, что введение симвастатина диабетическим животным привело к снижению показателей вариабельности гликемии ΔG и MAGE в 3,0 и 6,3 раза.

Таким образом, в нашем исследовании введение симвастатина экспериментальным животным с индуцированными суточными колебаниями гликемии привело к снижению вариабельности гликемии по показателям ΔG, MAGE и 1,5-AG.

С целью диагностики инсулинорезистентности в нашем исследовании мы использовали определение концентрации инсулина и глюкозы в сыворотке крови, HOMA-индекса и отношение гликемии натощак к содержанию базальной концентрации инсулина.

Общепризнанно, что в патогенезе СД 2 типа основная роль принадлежит инсулинорезистентности, одному из существенных факторов, ухудшающих прогнозы заболевания, связанных с сосудистыми осложнениями [222]. Выраженные гликемические экскурсии являются серьезными повреждающими факторами, которые приводят к истощению и снижению функционирующей

массы эндокриноцитов, тогда как постоянная гипергликемия может и не приводить к таким последствиям [71, с.21]. Следует отметить, что перепады постпрандиальной гликемии могут привести к дальнейшему снижению чувствительности к инсулину. В исследовании Zhang Z. и соавт. (2014) продемонстрировано, что колебания гликемии вызывают достоверно более выраженное, чем при стабильной гипергликемии, повышение активности ксантин-оксидазы, ингибирование экспрессии циклина D1 и циклинзависимых киназ, способствуя активации ОС и снижению пролиферации β -эндокриноцитов [223]. Показано, что вариабельность гликемии сильно коррелирует с постпрандиальной дисфункцией β -клеток у больных с СД2, принимающих пероральные гипогликемические препараты [120, p.1058].

Отрицательная корреляция между вариабельностью гликемии и секрецией инсулина объясняется снижением массы β -клеток приводит к ухудшению инсулинового ответа, что, в свою очередь, способствует нарастанию пиков вариабельности гликемии, замыкая «порочный круг». Наше исследование подтверждает вышесказанное, а именно вариабельность гликемии приводит к повышению инсулинорезистентности. Так, у крыс с диабетом на фоне вариабельности гликемии (III группа) установлено достоверное повышение концентрации инсулина на 140% по отношению к контролю (I группа) и на 20% по отношению к диабетическим крысам без гликемических экскурсий (II группа); повышение индекса $HOMA_{IR}$ на 138% и 21% при сравнении этих же групп. Также по другому показателю инсулинорезистентности - отношению гликемии натощак к инсулинемии натощак, выявлено снижение чувствительности к инсулину (на 50%) у диабетических животных с индуцированными суточными колебаниями гликемии по отношению к группе интактного контроля (таблица 4).

Анализ данных литературы показывает, что результаты исследований о влиянии статинов на метаболизм глюкозы и инсулинорезистентность противоречивы. В рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании WOSCOPS было показано, что применение правастатина в дозе 40 мг в сутки ассоциировалось с уменьшением риска развития СД на 30% [224]. Sattar N. и соавт. (2010) опубликовали данные мета-анализа 13 рандомизированных исследований по оценке эффективности статинов. Авторы обнаружили, что статинотерапия сопровождалась повышением риска развития СД на 9% [177, p.735]. Авторами других исследований были получены данные об отсутствии влияния статинов на чувствительность к инсулину [225- 227].

Одним из возможных объяснений статин-индуцированного нарушения метаболизма глюкозы и инсулинорезистентности является дисфункция инсулиновых рецепторов и /или инсулиноподобного фактора роста вследствие нарушения гликирования [180, с.80]. Кроме того, ингибируя синтез холестерина, статины повышают экспрессию рецепторов ЛНП, что приводит к захвату и накоплению в клетке холестерина ЛНП, инициации воспалительного каскада, нарушению функциональной и структурной целостности β -клеток и, соответственно, к угнетению секреции инсулина. Такие процессы, как

активация цепи воспалительных реакций, окисление и апоптоз, индуцированные повышенным содержанием ЛНП, поступающего из плазмы, могут участвовать в развитии диабета у больных, получающих статины [228].

Однако по результатам нашего исследования мы можем констатировать, что у диабетических животных введение симвастатина на фоне суточных колебаний гликемии приводит к достоверному снижению индекса инсулинорезистентности НОМА (на 38,3%), улучшению чувствительности к инсулину (повышению отношения ГН/ИН на 59%) по отношению к III группе диабетических крыс с индуцированными колебаниями гликемии, получавших плацебо. По нашему мнению, статины могут быть полезными в улучшении чувствительности к инсулину при суточных колебаниях гликемии [229].

Полученные нами результаты, возможно, связаны с противовоспалительным действием статинов. На это нам указывают данные литературы, что статины снижают интенсивность воспалительного процесса в сосудистой стенке, улучшают функцию эндотелия [169, p.835; 168, p.5]. Учитывая, что провоспалительные цитокины тесно связаны с развитием инсулинорезистентности [230], статины за счет противовоспалительного эффекта могут улучшать чувствительность к инсулину. Воспалительный процесс и ОС, являясь звеньями патогенеза любой патологии, взаимосвязаны и могут индуцировать друг друга по принципу «порочного круга»: свободные радикалы являются не только продуктом активности клеток иммунной системы, но и их активатором с усилением секреции провоспалительных цитокинов, хемокинов и молекул адгезии, в то же время цитокины являются стимуляторами иммунных клеток и продукции ими радикалов кислорода [231]. Следовательно, можно предположить, что противовоспалительное действие статинов способно защитить от повреждающего эффекта ОС, индуцированного гликемическими экскурсиями. Кроме того, нами была выявлена достоверная положительная корреляция между вариабельностью гликемии и индексом $НОМА_{IR}$.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что повышенная инсулинорезистентность у крыс с диабетом III экспериментальной группы связана с выраженной суточной вариабельностью гликемии. Введение симвастатина привело к снижению резистентности к инсулину, связанную с суточными колебаниями гликемии у экспериментальных животных.

В рамках настоящего исследования для диагностики раннего повреждения эндотелия использовали перспективные маркеры субклинического атеросклероза, такие как определение количества циркулирующих в периферической крови эндотелиальных клеток ECs [140, p.17] и прогениторных эндотелиальных клеток EPCs [142, p.268], а также определение экспрессии м-РНК к белкам трансформирующего фактора роста TGF- β [143, p.9] в тканях сердца и аорты и экспрессии антигена CD68 [144, c.106] в тканях аорты.

Выраженная вариабельность гликемии в условиях СД приводит к повреждению эндотелия: активации стрессовых механизмов в эндотелиоцитах,

что способствует утрате антиатерогенных свойств, характерных эндотелию в норме. Избыточное накопление AGEs приводит к усилению генерации реактивных форм кислорода, которые активируют провоспалительные процессы, повреждают структуру и функцию многих белков. При повреждении эндотелия резко снижается синтез NO, возникает вазоконстрикция, повышается экспрессия молекул адгезии, притягивающих и активирующих тромбоциты и лейкоциты [20, с.43]. Активация AGEs факторов роста фибробластов способствует гиперпродукции коллагена, приводя к утолщению базальной мембраны и развитию хронического воспаления сосудистой стенки [232].

В нашем исследовании при изучении показателей раннего повреждения эндотелия у диабетических крыс с индуцированными суточными колебаниями (III) выявлено патологическое изменение их уровней, что вполне закономерно при начальной стадии развития атеросклероза.

Известно, что повышение в крови уровня циркулирующих ECs рассматривают как индикатор эндотелиальной дисфункции, отражающий степени повреждения эндотелия. Исследования последнего десятилетия показали, что повышение десквамации эндотелиоцитов было выявлено у больных СД [233, 234], с острой и хронической сердечной недостаточностью [235], острым ишемическим инсультом [236]. В норме количество циркулирующих ECs очень низкое.

В результате проведенного нами исследования было выявлено, что стимулирование суточных колебаний гликемии у диабетических крыс III экспериментальной группы привело к повышению количества циркулирующих ECs в 3,1 раза по отношению к интактным животным и в 2,1 раза по сравнению с диабетической группой без гликемических экскурсий (II). Полученные нами результаты согласуются с данными литературы, свидетельствующими в пользу того, что показатель циркулирующих ECs повышается при воздействии на эндотелий сосудов механических и химических факторов (гипергликемия) [145, p.1538]. Известно, что клетки эндотелия характеризуются наличием группы рецепторных систем, реагирующих на воздействие циркулирующих медиаторов. Кроме того, эндотелиоциты обладают комплексом механизмов распознавания механических воздействий на сосудистую стенку (кровяное давление и напряжение сдвига – fluid shear stress) [237]. Реакции эндотелия на действия напряжения сдвига проявляются участием в процессах репарации, сосудистого ремоделирования, ангиогенеза и очагового развития атеросклероза [238]. Таким образом, выявленное в нашем исследовании усиление десквамации эндотелиоцитов, выраженное увеличением количества циркулирующих в периферической крови ECs, можно расценивать как следствие повышения напряжения сдвига на эндотелий и воздействия на эндотелий гликемических экскурсий.

В нашем исследовании при анализе результатов определения в периферической крови второго маркера субклинического атеросклероза выявлено, что количество циркулирующих EPCs у диабетических животных на

фоне суточных колебаний гликемии было достоверно ниже на 63,6% по сравнению с группой крыс без вариабельности гликемии.

Данные литературы демонстрируют наличие положительной корреляции между количеством EPCs и степенью тяжести диабетической васкулопатии у больных с СД 2 [239]. EPCs выделенные у больных СД2 характеризуются снижением способности к пролиферации, адгезии и формированию сосудистых структур и возможностью для их мобилизации. При этом также было показано, что гипергликемия и повышенный уровень HbA_{1c} обратно коррелируют с количеством EPCs [240]. В свою очередь, снижение количества и функциональной активности EPCs при СД2 способствует нарушению реэндотелизации поврежденных сосудов с последующим развитием микро-макрососудистых осложнений СД [241]. Нарушение реэндотелизации обусловлено снижением биодоступности NO, что способствует прогрессированию эндотелиодеструкции.

Необходимо отметить, что результаты клинического исследования популяции здоровых лиц и страдающих ССЗ показали, что снижение количества циркулирующих EPCs является независимым предиктором прогрессирования атеросклероза [242], а в работе Fadini G. с соавт. (2006), было показано, что снижение уровня EPCs (CD34⁺/KDR⁺) является независимым предиктором раннего субклинического атеросклероза у 137 здоровых лиц [243].

В результате проведенного нами исследования в тканях сердца при индуцировании суточных колебаний гликемии у диабетических животных было выявлено повышение уровня экспрессии м-РНК к белкам TGF- β на 27,3% по сравнению с контролем (таблица 5).

Ранее Иванниковой Е. с соавт. (2013) было показано, что наличие СД2 у больных ИБС ассоциировано с более тяжелым атеросклеротическим поражением коронарных и брахицефальных сосудов. Выявленное повышение показателя TGF- β при СД2 свидетельствует о стимулирующем влиянии гипергликемии на факторы роста, что способствует ускорению атеросклеротических процессов [244]. Из данных литературы известно, что повышение экспрессии TGF- β обнаружено в атеросклеротически стенозированных почечных артериях [245], высокий уровень данного фактора роста приводит к стенозу сосудов и тромбообразованию, подавляет регенерацию эндотелия, усиливает фиброз [246, 247], стимулирует экспрессию проатерогенных генов [248], индуцирует патологическое сосудистое ремоделирование [249].

В нашем исследовании при статистическом анализе результатов изучения уровня экспрессии гена, кодирующего TGF β в тканях аорты значимых отличий выявлено не было.

Выявленное при иммуногистохимическом исследовании тканей аорты значительное повышение CD68⁺ моноцитов/макрофагов в адвентиции диабетических крыс с индуцированной вариабельностью гликемии, получавших плацебо по сравнению с группой диабетических животных с

гликемическими экскурсиями, получавших симвастатин, позволяет сделать вывод, что введение симвастатина значительно снижает (в 3,0 раза) негативное воздействие на сосуды, индуцированные суточными колебаниями гликемии.

Обнаруженные корреляционные зависимости между выраженностью вариабельности гликемии и маркерами субклинического атеросклероза (ECs, EPCs) позволили связать высокую амплитуду гликемических экскурсий со степенью выраженности эндотелиальной дисфункции, хотя, по нашему мнению, эта связь носит опосредованный характер. В частности, повышение вариабельности гликемии запускает механизм активации окислительного стресса и избыточного гликозилирования, что, в свою очередь, является одним из ключевых патогенетических звеньев формирования дисфункции эндотелия – доклинического признака раннего атеросклероза.

Полученные данные показывают, что в условиях вариабельности гликемии происходят нарушения метаболического статуса, повышение десквамации эндотелиоцитов, снижение содержания циркулирующих EPCs, повышение уровня экспрессии м-РНК гена, кодирующего TGF- β в миокарде и CD68-позитивных макрофагов в адвентиции аорты.

При анализе результатов применения симвастатина на ранние проявления атеросклероза, индуцированного суточными колебаниями гликемии в условиях экспериментального сахарного диабета на фоне суточных колебаний гликемии выявлено, что введение симвастатина в дозе 20 мг/кг в течение 8 недель диабетическим животным с гликемическими экскурсиями привело к снижению количества циркулирующих ECs в 5,0 раз, повышению количества циркулирующих EPCs в 6,3 раза и подавлению экспрессии м-РНК к белкам TGF- β в миокарде на 21,4% и CD68-позитивных моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты в 3,0 раза по сравнению с группой диабетических крыс с гликемическими экскурсиями, получавших плацебо (таблица 5).

Результаты ковариационного анализа всех групп с экспериментальным диабетом по показателям повреждения сосудистой стенки (ECs, EPCs и TGF- β в тканях сердца) и влияния метаболических факторов (ковариаты: HbA_{1c}, 1,5-AG, C-пептид, HOMA_{IR}, MAGE), позволяют сделать вывод о том, что введение симвастатина диабетическим крысам с индуцированными суточными колебаниями гликемии приводит к снижению десквамации эндотелиоцитов, повышению мобилизации прогениторных эндотелиальных клеток и снижению уровня экспрессии м-РНК гена TGF- β , т.е. снижению нарушений функций эндотелия, независимо от метаболического статуса и течения диабета (таблицы 6-8).

Данный факт также можно объяснить с позиции плейотропных эффектов симвастатина – антиатерогенных свойств, не зависящих от снижения уровня липидов в крови. Результаты проведенного нами исследования согласуются с данными литературы в пользу того, что симвастатин проявляет противовоспалительные свойства и улучшает функции эндотелия. Так, в экспериментальных исследованиях продемонстрировано, что симвастатин посредством ингибирования рецепторов AGEs [169, p.832], снижения

экспрессии молекулы клеточной адгезии VCAM-1 способен подавлять ранние воспалительные процессы при атеросклерозе [168, p.5,9]. Кроме того, ранее проведенное нами клиническое исследование показало снижение уровней молекул клеточной адгезии MCP-1 и VCAM-1 у пациентов с СД2 в результате применения симвастатина в малых дозах [250].

Таким образом, установленные в работе данные показывают, что симвастатин в условиях экспериментального сахарного диабета оказывает положительный эффект как на нарушенную вариабельность гликемии, так и на ранние проявления атеросклероза, индуцированного суточными колебаниями гликемии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Сахарный диабет является весомым и независимым фактором риска развития атеросклероза [9, с.17]. У больных сахарным диабетом наблюдается повышение риска смертности от сердечно-сосудистых осложнений по сравнению с общей популяцией. Установлено, что в прогрессировании сосудистых осложнений сахарного диабета значительную роль играет вариабельность гликемии [94, р.288] – как более значимый, чем стабильная гипергликемия фактор, повреждающий сосуды [16, р.1353; 18, р.125]. Выраженные колебания гликемии более опасны, чем хроническая гипергликемия. Высокая амплитуда колебаний гликемии при сахарном диабете 2 типа в большей степени способствует оксидативному стрессу, чем постоянно высокий уровень гликемии [105, р.1681], приводя к развитию атеросклероза независимо от других факторов риска. А именно, выраженные колебания уровня глюкозы крови вследствие активации окислительного стресса и избыточного гликозилирования приводят к дисфункции эндотелия, являющегося доклиническим признаком раннего атеросклероза [12, р.222]. Показано, что на ранних стадиях атерогенеза синхронно с воспалительным процессом в интиме происходит инфильтрация адвентиции воспалительными клетками [251].

В своей работе мы исследовали влияние симвастина на ранние проявления атеросклероза, индуцированные суточными колебаниями гликемии в условиях экспериментального сахарного диабета. На основании полученных результатов биохимических, иммунологических, молекулярно-генетических и иммуногистохимических исследований сформулированы следующие **выводы**:

1. Вариабельность гликемии, индуцированная при экспериментальном сахарном диабете, вызывает статистически более выраженные изменения метаболического статуса и сосудистой дисфункции, чем при диабете без стимулирования суточных колебаний гликемии, что проявляется в повышении инсулинорезистентности, количества циркулирующих в периферической крови эндотелиальных клеток, снижении количества прогениторных эндотелиальных клеток, повышении уровня экспрессии м-РНК гена трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) в миокарде и CD68-позитивных моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты.
2. Введение симвастина в дозе 20 мг/кг в течение 8 недель привело к достоверному снижению инсулинорезистентности (по показателям индекса $HOMA_{IR}$, отношения глюкозы натощак к инсулину натощак) и амплитуды суточных колебаний гликемии (по показателям ΔG , MAGE и 1,5-AG) у крыс с экспериментальным сахарным диабетом на фоне суточных колебаний гликемии.
3. Симвастин в дозе 20 мг/кг в течение 8 недель в условиях экспериментального сахарного диабета достоверно снижает ранние проявления атеросклероза, индуцированного суточными колебаниями гликемии: уменьшает количество циркулирующих эндотелиальных

клеток, повышает количество прогениторных эндотелиальных клеток; снижает уровень экспрессии м-РНК гена, кодирующего TGF- β в миокарде и снижает содержание CD68⁺ моноцитов/макрофагов в адвентиции аорты.

4. Применение симвастатина у диабетических животных привело к значимому уменьшению сосудистой дисфункции, индуцированной суточными колебаниями гликемии независимо от метаболического статуса и течения диабета.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Представленные результаты, свидетельствующие об антиатерогенных свойствах симвастатина в условиях суточных колебаний гликемии на ранних стадиях развития атеросклероза, могут служить предпосылкой для проведения дальнейших исследований по изучению методов коррекции сосудистой дисфункции, с целью эффективного управления диабетом при вариабельности гликемии и снижения риска развития сердечно-сосудистых осложнений.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Kharroubi A.T., Darwish H.M. Diabetes mellitus: The epidemic of the century // World J Diabetes.- 2015.- Vol.6(6).-P .850-867.
- 2 IDF Diabetes Atlas. Sixth edition. International Diabetes Federation, 2013. www.idf.org/diabetesatlas.
- 3 IDF Diabetes Atlas. Sixth edition. 2014. (Атлас Диабета IDF. Шестое издание. Обновленные данные 2014 год). www.idf.org/diabetesatlas.
- 4 Bornfeldt K.E. Uncomplicating the Macrovascular Complications of Diabetes: The 2014 Edwin Bierman Award Lecture // Diabetes. - 2015. - Vol.64(8). - P. 2689-2697.
- 5 Martín-Timón I., Sevillano-Collantes C., Segura-Galindo A., Del Cañizo-Gómez F.J. Type 2 diabetes and cardiovascular disease: Have all risk factors the same strength? // World J Diabetes.- 2014.- Vol.5(4).-P.444-470.
- 6 Seshasai S.R., Kaptoge S., Thompson A., Di Angelantonio E., Gao P., Sarwar N., Whincup P.H., Mukamal K.J., Gillum R.F., Holme I., Njølstad I., Fletcher A., Nilsson P., Lewington S., Collins R., Gudnason V., Thompson S.G., Sattar N., Selvin E., Hu F.B., Danesh J. (Emerging Risk Factors Collaboration) Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death // N Engl J Med.- 2011.- Vol.364(9). - P.829-841.
- 7 Sarwar N., Gao P., Seshasai S.R., Gobin R., Kaptoge S., Di Angelantonio E., Ingelsson E., Lawlor D.A., Selvin E., Stampfer M., Stehouwer C.D., Lewington S., Pennells L., Thompson A., Sattar N., White I.R., Ray K.K., Danesh J. Emerging Risk Factors Collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies // Lancet.- 2010.- Vol.375(9733).- P. 2215-2222.
- 8 Beckman J.A., Paneni F., Cosentino F., Creager M.A. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part II. // Eur Heart J.- 2013.- Vol.34(31).- P.2444-2452.
- 9 Собенин И.А., Орехов А.И. Принципы патогенетической терапии атеросклероза. Использование клеточных моделей. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2013. - 337с.
- 10 Ceriello A. Hyperglycaemia and the vessel wall: the pathophysiological aspects on the atherosclerotic burden in patients with diabetes // Eur J Cardiovasc Prev Rehabil. - 2010. - Vol.17. - Suppl. 1. - S15–S19.
- 11 Horio E., Kadomatsu T., Miyata K., Arai Y., Hosokawa K., Doi Y., Ninomiya T., Horiguchi H., Endo M., Tabata M., Tazume H., Tian Z., Takahashi O., Terada K., Takeya M., Hao H., Hirose N., Minami T., Suda T., Kiyohara Y., Ogawa H., Kaikita K., Oike Y. Role of Endothelial Cell-Derived Angptl2 in Vascular Inflammation Leading to Endothelial Dysfunction and Atherosclerosis Progression // Arterioscler Thromb Vasc Biol. - 2014. - Vol. 34(4). - P.790-800.
- 12 Mudau M., Genis A., Lochner A., Strijdom H. Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis // Cardiovascular Journal of Africa. - 2012. - Vol.23.(4) - P. 222-231.

- 13 Tousoulis D., Papageorgiou N., Androulakis E., Siasos G., Latsios G., Tentolouris K., Stefanadis C. Diabetes mellitus-associated vascular impairment: novel circulating biomarkers and therapeutic approaches // *J Am Coll Cardiol.* - 2013. - Vol.62(8). - P.667-676.
- 14 Hirakawa Y., Arima H., Zoungas S., Ninomiya T., Cooper M., Hamet P., Mancia G., Poulter N., Harrap S., Woodward M., Chalmers J. Impact of visit-to-visit glycemic variability on the risks of macrovascular and microvascular events and all-cause mortality in type 2 diabetes: The ADVANCE trial // *Diabetes Care.* - 2014. - Vol. 37. - P. 2359–2365.
- 15 Saisho Y. Glycemic variability and oxidative stress: a link between diabetes and cardiovascular disease? // *Int J Mol Sci.* - 2014.- Vol.15(10).- P.18381-18406.
- 16 Ceriello A., Esposito K., Piconi L., Ihnat M.A. , Thorpe JE., Testa R, Boemi M., Giugliano D. Oscillating glucose is more deleterious to endothelial function and oxidative stress than mean glucose in normal and type 2 diabetic patients // *Diabetes.*- 2008.- Vol.57(5).- P.1349-1354.
- 17 Ceriello A., Ihnat M.A. ‘Glycaemic variability’: a new therapeutic challenge in diabetes and the critical care setting // *Diabet Med.* - 2010. - Vol.27. - P. 862–867.
- 18 Standl E., Schnell O., Ceriello A. Postprandial Hyperglycemia and Glycemic Variability. Should we care? // *Diabetes Care.* - 2011.- Vol.34(Suppl.2). – S.120-127.
- 19 Ceriello A., Kilpatrick E.S. Glycemic variability: both sides of the story // *Diabetes Care.* - 2013. - Vol.36.- Suppl 2:S272-275.
- 20 Jane E., Reusch B., Draznin B. Атеросклероз при диабете и инсулинорезистентности // *Діабет і серце.* - 2009.- №5(131).- С.42-45.
- 21 Onat D., Brillon D., Colombo P.C., Schmidt A.M. Human vascular endothelial cells: a model system for studying vascular inflammation in diabetes and atherosclerosis // *Curr Diab Rep.* - 2011.- Vol.11(3).- P.193-202.
- 22 Roberts A.C, Porter K.E. Cellular and molecular mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes // *Diab Vasc Dis Res.* - 2013. - Vol. 10(6). - P. 472-82.
- 23 Rizzo M.R., Barbieri M., Marfella R., Paolisso G. Reduction of oxidative stress and inflammation by blunting daily acute glucose fluctuations in patients with type 2 diabetes: role of dipeptidyl peptidase-IV inhibition // *Diabetes Care.*- 2012.- Vol.35.- P.2076–2082.
- 24 Barbieri M., Rizzo M.R., Marfella R., Boccardi V., Esposito A., Pansini A., Paolisso G. Decreased carotid atherosclerotic process by control of daily acute glucose fluctuations in diabetic patients treated by DPP-IV inhibitors // *Atherosclerosis.* - 2013.-Vol. 227(2). - P.349-354.
- 25 Baigent C., Blackwell L., Emberson J., Holland L.E., Reith C., Bhala N., et al. Cholesterol Treatment Trialists’ (CTT) Collaboration. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials // *Lancet.* - 2010.- Vol. 376(9753).- P.1670-1681.

- 26 Satoh M., Takahashi Y., Tabuchi T., Minami Y., Tamada M., Takahashi K., Itoh T., Morino Y., Nakamura M. Cellular and molecular mechanisms of statins: an update on pleiotropic effects // *Clin Sci (Lond)*.- 2015.- Vol.129(2).-P.93-105.
- 27 Rocco M.B. Statins and diabetes risk: fact, fiction, and clinical implications // *Cleve Clin J Med*.- 2012.- Vol.79(12).- P.883-893.
- 28 Ray K. Statin diabetogenicity: guidance for clinicians // *Cardiovasc Diabetol*. – 2013. Vol.12.- Suppl 1.- S3.
- 29 Chogtu B., Magazine R., Bairy K.L. Statin use and risk of diabetes mellitus // *World J Diabetes*.- 2015.- Vol.6(2).- P.352-3557.
- 30 Banach M., Malodobra-Mazur M., Gluba A., Katsiki N., Rysz J., Dobrzyn A. Statin Therapy and New-Onset Diabetes: Molecular Mechanisms and Clinical Relevance // *Curr Pharm Des*.- 2013.- Vol.19(27). - P.4904-4912.
- 31 Muscogiuri G., Sarno G., Gastaldelli A., Savastano S., Ascione A., Colao A., Orio F. The good and bad effects of statins on insulin sensitivity and secretion // *Endocr Res*. - 2014. - Vol.39(4).- P. 137-143.
- 32 Polovina M.M., Potpara T.S. Endothelial dysfunction in metabolic and vascular disorders // *Postgrad Med*.- 2014.- Vol.126(2).- P.38-53.
- 33 Sherwin R., Jastreboff A.M. Year in diabetes 2012: The diabetes tsunami // *J Clin Endocrinol Metab*.- 2012. - Vol.97(12). - P.4293-4301.
- 34 Zimmet P.Z., Magliano D.J., Herman W.H., Shaw J.E. Diabetes: a 21st century challenge // *Lancet Diabetes Endocrinol*. - 2014. - Vol.2(1).- P. 56-64.
- 35 Султанова Б.П. Мультидисциплинарный подход в диабетологии // *Медицина*. - 2015. - №4(154).- С. 96-98.
- 36 Сабирова Н. Уровень и структура сахарного диабета в Казахстане и зарубежных странах // *Вестник КазНМУ*. - 2013. - № 1. - С. 228-231.
- 37 Аметов А.С., Карпова Е.В. Иванова Е.В. Эффективное и безопасное управление сахарным диабетом 2 типа на современном этапе // *Сахарный диабет*. - 2009. - №2. - С. 18-24.
- 38 Всемирный атлас профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и борьбы с ними. Всемирная организация здравоохранения, Женева, 2013.- 155с. WHO Press, World Health Organization, 20 Avenue Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland 2013. www.who.int.
- 39 Bos M., Agyemang C. Prevalence and complications of diabetes mellitus in Northern Africa, a systematic review. // *BMC Public Health*.-2013.-25;13:387.
- 40 Zhang P., Zhang X., Brown J., Vistisen D., Sicree R., Shaw J., Nichols G. Global healthcare expenditure on diabetes for 2010 and 2030 // *Diabetes Res Clin Pract*. - 2010.-Vol.87.- P.293-301.
- 41 Грачева С.А., Клефтортова И.И., Шахмалова М.Ш. Распространенность сочетанного атеросклеротического поражения сосудов у больных сахарным диабетом // *Сахарный диабет*. - 2012.- № 1.- С.49-55.
- 42 Wannamethee S.G., Shaper A.G., Whincup P.H., Lennon L., Sattar N. Impact of diabetes on cardiovascular disease risk and all-cause mortality in older men: influence of age at onset, diabetes duration, and established and novel risk factors // *Arch Intern Med*.- 2011.- Vol.171(5).- P. 404-410.

- 43 Дедов И.И. Сахарный диабет: развитие технологий в диагностике, лечении и профилактике // Сахарный диабет. - 2010.- № 3.- С.6-8.
- 44 American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes // Diabetes Care. - 2007. - Vol. 30. - P. 4–41.
- 45 Esposito K., Nappo F., Marfella R., Giugliano G., Giugliano F., Ciotola M., Quagliari L., Ceriello A., Giugliano D. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress // Circulation. - 2002.-Vol. 106(16). - P. 2067-2072.
- 46 Ikebuchi M., Nishio Y., Maegawa H., Kashiwagi A. Effects of hyperglycemia on oxidative stress and antioxidant potential in patients with type 2 diabetes // Diabetology International. - 2010.- Vol.1. Issue 2. - P.72-77.
- 47 Fiorentino T.V., Prioleta A., Zuo P., Folli F. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases // Curr Pharm Des.- 2013.-Vol.19(32).- P.5695-5703.
- 48 Акопян Ж.А. Функциональная активность эндотелиальных, мезенхимальных и циркулирующих прогениторных клеток при повышенной концентрации глюкозы in vitro и гипергликемии у больных сахарным диабетом: автореф. ... канд.мед.наук: 03.01.04; 03.03.04.- Москва, 2012. 25с.
- 49 Ramasamy R., Yan S.F., Schmidt A.M. Receptor for AGE (RAGE): signaling mechanisms in the pathogenesis of diabetes and its complications // Ann N Y Acad Sci.- 2011.- Vol.585.- P.88-102.
- 50 Devi M.S., Sudhakaran P.R. Differential modulation of angiogenesis by advanced glycation end products // Exp Biol Med.- 2011.-Vol.236.- P.52-61.
- 51 Piarulli F., Sartore G., Lapolla A. Glyco-oxidation and cardiovascular complications in type 2 diabetes: a clinical update // Acta Diabetol.- 2013.-Vol.50.- P.101-110.
- 52 Дедов И.И. Инновационные технологии в лечении и профилактике сахарного диабета и его осложнений // Сахарный диабет. - 2013.- № 3.- С.4-10.
- 53 Lerario A.C., Chacra A.R., Pimazoni-Netto A., Malerbi D., Gross J.L., Oliveria J.E., Gomes M.B., Santos R.D., Fonseca R.M., Betti R., Raduan R. Algorithm for the treatment of type 2 diabetes: a position statement of Brazilian Diabetes Society // Diabetol Metab Syndr. - 2010.- Vol.2(1).- P.35.
- 54 Спасов А.А., Петров В.И., Чепляева Н.И., Ленская К.В. Фундаментальные основы поиска лекарственных средств для терапии сахарного диабете 2-го тпа // Вестник РАМН. Актуальные вопросы эндокринологии.- 2013.- №2. - С.43-49.
- 55 Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа. Проблемы и решения. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012.- 704с.
- 56 Таганович А.Д., Олецкий Э.И., Котович И.Л. Патологическая биохимия. - Бином, 2013. - 448с.
- 57 World Health Organization. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia. Report of a WHO/IDF Consultation. 1-46. 2006. - www.who.int/diabetes/

- 58 Dungan K.M. 1,5-anhydroglucitol (GlycoMark) as a marker of short-term glycemic control and glycemic excursions // *Expert Rev Mol Diagn.* – 2008.- Vol.8(1).- P. 9-19.
- 59 Stettler C., Stahl M., Allemann S., Diem P., Schmidlin K., Zwahlen M., Riesen W., Keller U., Christ E. Association of 1,5-anhydroglucitol and 2-h postprandial blood glucose in type 2 diabetic patients // *Diabetes Care.*- 2008.- Vol.31(8).- P.1534-1535.
- 60 Gotoh M., Li C., Yatoh M., Iguchi A., Hirooka Y. Serum uric acid concentrations in type 2 diabetes: its significant relationship to serum 1,5-anhydroglucitol concentrations // *Endocr Regul.* - 2005.- Vol.39(4).- P.119-125.
- 61 Christensen B.L., Williams M. Assessing postprandial glucose using 1,5-anhydroglucitol: An integrative literature review // *J Am Acad Nurse Pract.*- 2009.- Vol.21(10).- P.542-548.
- 62 Kim W.J., Park .CY. 1,5-Anhydroglucitol in diabetes mellitus // *Endocrine.* - 2013.- Vol.43(1). - P. 33-40.
- 63 Yamanouchi T., Ogata N., Tagaya T., Kawasaki T., Sekino N., Funato H., Akaoka L., Miyashita H. Clinical usefulness of serum 1,5-anhydroglucitol in monitoring glycaemic control // *Lancet.*- 1996.- Vol.347(9014). - P.1514-1518.
- 64 Руководство по контролю постпрандиальной гликемии. Международная Диабетическая Федерация (IDF). - 2007.- 32с.
- 65 Арбузова М.И., Ильин А.В. Перспективен ли тест 1,5-ангидро-D-глюцитол для контроля компенсации и лечения сахарного диабета? // *Сахарный диабет.* - 2010.- №1.- С.123-125.
- 66 Sun J., Dou J.T., Wang X.L., Yang G.Q., Lü Z.H., Zheng H., Ma F.L., Lu J.M., Mu Y.M. Correlation between 1,5-anhydroglucitol and glycemic excursions in type 2 diabetic patients // *Chin Med J (Engl).*- 2011.- Vol.124(22).- P.3641-3645.
- 67 Wang Y., Zhang Y.L., Wang Y.P., Lei C.H., Sun Z.L. A study on the association of serum 1,5-anhydroglucitol levels and the hyperglycaemic excursions as measured by continuous glucose monitoring system among people with type 2 diabetes in China // *Diabetes Metab Res Rev.*- 2012.- Vol.28(4). - P.357-362.
- 68 Chon S., Lee Y.J., Fraterrigo G., Pozzilli P., Choi M.C., Kwon M.K., Chin S.O., Rhee S.Y., Oh S., Kim Y.S., Woo J.T. Evaluation of glycemic variability in well-controlled type 2 diabetes mellitus // *Diabetes Technol Ther.*- 2013.- Vol.15(6).- P.455-460.
- 69 Dworacka M., Winiarska H. The application of plasma 1,5-anhydro-D-glucitol for monitoring type 2 diabetic patients // *Dis Markers.* - 2005.- Vol.21(3).- P.127-132.
- 70 Ансари Н.А., Рашид З. Неферментативное гликирование белков: от диабета до рака // *Биомедицинская химия.*- 2010. - Т.56. вып. 2. - С. 168-178.
- 71 Аметов А.С., Абаева Ф.Т. Влияние вариабельности гликемии на течение сахарного диабета 2 типа и современные возможности ее коррекции // *Эффективная фармакотерапия. Эндокринология.*- 2012. №3.- С.20-24.

72 Monnier L., Colette C., Owens D.R. Glycemic variability: the third component of the dysglycemia in diabetes. Is it important? How to measure it? // *J Diabetes Sci Technol.* - 2008.- Vol. 2(6).- P.1094-1100.

73 Blaak E.E., Antoine J.M., Benton D., Björck I., Bozzetto L., Brouns F., Diamant M., Dye L., Hulshof T., Holst J.J., Lamport D.J., Laville M., Lawton C.L., Meheust A., Nilson A., Normand S., Rivellese A.A., Theis S., Torkov S.S., Vinoy S. Impact of postprandial glycaemia on health and prevention of disease // *Obes Rev.*-2012.Vol.-13(10).- P.923-984.

74 Thomas A., Schönauer M., Achermann F., Schnell O., Hanefeld M., Ziegler H.J., Mastrototaro J., Heinemann L. The "glucose pentagon": assessing glycemic control of patients with diabetes mellitus by a model integrating different parameters from glucose profiles // *Diabetes Technol Ther.*- 2009. - Vol.11(6).- P.399-409.

75 Monnier L., Colette C., Owens D.R. Integrating glycaemic variability in the glycaemic disorders of type 2 diabetes: a move towards a unified glucose tetrad concept // *Diabetes Metab Res Rev.*- 2009.-Vol.25(5).- P.393-402.

76 Zaccardi F., Pitocco D., Ghirlanda G. Glycemic risk factors of diabetic vascular complications: the role of glycemic variability // *Diabetes Metab Res Rev.*-2009.-Vol.25(3).-P.199-207.

77 Rodbard D. Interpretation of continuous glucose monitoring data: glycemic variability and quality of glycemic control // *Diabetes Technol Ther.*-2009.- Vol.11.- Suppl 1. - S.55-67.

78 Service F.J., Molnar G.D., Rosevear J.W., Ackerman E., Gatewood L.C., Taylor W.F. Mean amplitude of glycemic excursions, a measure of diabetic instability // *Diabetes.*- 1970.- Vol.19(9).- P.644-655.

79 Rydén L., Standl E., Bartnik M., Van den Berghe G., Betteridge J., de Boer M.J., Cosentino F., Jönsson B., Laakso M., Malmberg K., Priori S., Ostergren J., Tuomilehto J., Thrainsdottir I., Vanhorebeek I., Stramba-Badiale M., Lindgren P., Qiao Q., Priori S.G., Blanc J.J., Budaj A., Camm J., Dean V., Deckers J., Dickstein K., Lekakis J., McGregor K., Metra M., Morais J., Osterspey A., Tamargo J., Zamorano J.L., Deckers J.W., Bertrand M., Charbonnel B., Erdmann E., Ferrannini E., Flyvbjerg A., Gohlke H., Juanatey J.R., Graham I., Monteiro P.F., Parhofer K., Pyörälä K., Raz I., Schernthaner G., Volpe M., Wood D. Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC); European Association for the Study of Diabetes (EASD). Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) // *Eur Heart J.* -2007.- Vol.28(1).-P.88-136.

80 Смирнова О.М., Кононенко И.В. Гипогликемизирующая терапия больных сахарным диабетом 2 типа и ишемической болезнью сердца, в том числе с инфарктом миокарда и после интервенционных вмешательств // *Сахарный диабет.* - 2012. - № 3. - С. 27-38.

- 81 Genuth S. Insights from the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study on the of intensive glycemic treatment to reduce the risk of complications of type 1 diabetes // *Endocr. Pract.* - 2006.- № 12.- Suppl 1. - S.34- 41.
- 82 Stratton I.M., Adler A.I., Neil HAW., Matthews D.R., Manley S.E., Cull C.A., Hadden D., Turner R.C., Holman R.R. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study // *BMJ.* - 2000. - Vol.321(7258). - P. 405-412.
- 83 Raguso C.A., Helary C., Philippe J. Importance of the post-prandial glycemia in the management of type 2 diabetes // *Rev. Med. Suisse.*- 2008.- Vol.4.- P. 1383-1386.
- 84 Cavalot F., Pagliarino F., Valle M., Di Martino L., Bonomo K., Massucco P., M.D., Anfossi G., Trovati M. Postprandial Blood Glucose Predicts Cardiovascular Events and All-Cause Mortality in Type 2 Diabetes in a 14-Year Follow-Up: Lessons from the San Luigi Gonzaga Diabetes Study // *Diabetes Care.*- 2011.- Vol.34(10).- P.2237-2243.
- 85 Ceriello A. Postprandial hyperglycemia and diabetes complications: is it time to treat? // *Diabetes.*- 2005.-Vol.54(1).- P.1-7.
- 86 Krinsley J.S. Glycemic variability: a strong independent predictor of mortality in critically ill patients // *Crit Care Med.*- 2008.- Vol.36(11).- P.3008-3013.
- 87 Esposito K., Ciotola M., Carleo D., Schisano B., Sardelli L., Di Tommaso D., Misso L., Saccomanno F., Ceriello A., Giugliano D. Post-meal glucose peaks at home associate with carotid intima-media thickness in type 2 diabetes // *J Clin Endocrinol Metab.*- 2008.- Vol.93(4).- P.1345-1350.
- 88 Ceriello A., Esposito K., Piconi L., Ihnat M., Thorpe J., Testa R., Bonfigli A.R., Giugliano D. Glucose "peak" and glucose "spike": Impact on endothelial function and oxidative stress // *Diabetes Res Clin Pract.*- 2008.- Vol.82.- P. 262-267.
- 89 Cavalot F., Petrelli A., Traversa M., Bonomo K., Fiora E., Conti M., Anfossi G., Costa G., Trovati M. Postprandial blood glucose is a stronger predictor of cardiovascular events than fasting blood glucose in type 2 diabetes mellitus, particularly in women // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*- 2006.- Vol.91. - P. 813-819.
- 90 Fava S. Role of postprandial hyperglycemia in cardiovascular disease // *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* - 2008.- Vol.6.- P. 859-872.
- 91 Brownlee M., Hirsch I.B. Glycemic variability: a hemoglobin A1c-independent risk factor for diabetic complications // *JAMA.*- 2006.- Vol.295(14).- P.1707-8.
- 92 Lachin J.M., Genuth S., Nathan D.M., Zinman B., Rutledge B.N., DCCT/EDIC Research Group Effect of glycemic exposure on the risk of microvascular complications in the diabetes control and complications trial-revisited // *Diabetes.*- 2008.- Vol.57.- P.995-1001.
- 93 Kilpatrick E.S. Arguments for and against the role of glucose variability in the development of diabetes complications // *J Diabetes Sci Tech.*- 2009.- Vol.3.- P.649–655.

- 94 Nalysnyk L., Hernandez-Medina M., Krishnarajah G. Glycaemic variability and complications in patients with diabetes mellitus: evidence from a systematic review of the literature // *Diabetes Obes Metab.*- 2010.- Vol.12.-P.288-298.
- 95 Weber C., Schnell O. The assessment of glycemic variability and its impact on diabetes-related complications: an overview // *Diabetes Technol Ther.*- 2009.- Vol.11(10).- P.623-633.
- 96 Chang C.M., Hsieh C.J., Huang J.C., Huang I.C. Acute and chronic fluctuations in blood glucose levels can increase oxidative stress in type 2 diabetes mellitus // *Acta Diabetol.* - 2012.- Vol.49(1).- P.171-177.
- 97 Horváth E.M., Benko R., Kiss L., Murányi M., Pék T., Fekete K., Bárány T., Somlai A., Csordás A., Szabo C. Rapid 'glycaemic swings' induce nitrosative stress, activate poly(ADP-ribose) polymerase and impair endothelial function in a rat model of diabetes mellitus // *Diabetologia.* - 2009.- Vol.52(5).- P. 952-956.
- 98 Wang J.S., Yin H.J., Guo C.Y., Huang Y., Xia C.D., Liu Q. Influence of high blood glucose fluctuation on endothelial function of type 2 diabetes mellitus rats and effects of *Panax Quinquefolius* saponin of stem and leaf // *Chin J Integr Med.* - 2012.- Vol. 19(3).- P. 217-222.
- 99 Buscemi S., Re A., Batsis J.A., Arnone M., Mattina A., Cerasola G., Verga S. Glycaemic variability using continuous glucose monitoring and endothelial function in the metabolic syndrome and in Type 2 diabetes // *Diabet Med.*-2010.- Vol.27(8).- P. 872–878.
- 100 Di Flaviani A., Picconi F., Di Stefano P., Giordani I., Malandrucchio I., Maggio P., Palazzo P., Sgreccia F., Peraldo C., Farina F., Frajese G., Frontoni S. Impact of glycemic and blood pressure variability on surrogate measures of cardiovascular outcomes in type 2 diabetic patients // *Diabetes Care.*- 2011.- Vol.34(7).- P.1605-1609.
- 101 Risso A., Mercuri F., Quagliaro L., Damante G., Ceriello A. Intermittent high glucose enhances apoptosis in human umbilical vein endothelial cells in culture // *Am J Physiol Endocrinol Metab.*- 2001.- Vol.281(5).- P.924-930.
- 102 Quagliaro L., Picconi L., Assaloni R., Martinelli L., Motz E., Ceriello A. Intermittent high glucose enhances apoptosis related to oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells: the role of protein kinase C and NAD(P)H-oxidase activation // *Diabetes.*- 2003.- Vol.52(11).- P.2795-2804.
- 103 Quagliaro L., Picconi L., Assaloni R., Da Ros R., Maier A., Zuodar G., Ceriello A. Intermittent high glucose enhances ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin expression in human umbilical vein endothelial cells in culture: the distinct role of protein kinase C and mitochondrial superoxide production // *Atherosclerosis.*- 2005.- Vol.183(2).- P.259-67.
- 104 Picconi L., Quagliaro L., Da RR., Assaloni R., Giugliano D., Esposito K., Szabó C., Ceriello A. Intermittent high glucose enhances ICAM-1, VCAM-1, E-selectin and interleukin-6 expression in human umbilical endothelial cells in culture:

the role of poly(ADP-ribose) polymerase // *J ThrombHaemost.*- 2004.-Vol.2(8).- P.1453-1459.

105 Monnier L., Mas E., Ginet C., Michel F., Villon L., Cristol J.P., Colette C. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes // *JAMA.*- 2006.- Vol.295(14).- P.1681-1687.

106 Hasegawa G., Yamamoto Y., Zhi J.G., Tanino Y., Yamasaki M., Yano M., Nakajima T., Fukui M., Yoshikawa T., Nakamura N. Daily profile of plasma %CoQ10 level, a biomarker of oxidative stress, in patients with diabetes manifesting postprandial hyperglycaemia // *Acta Diabetol.*- 2005.- Vol.42(4).-P.179-181.

107 Torimoto K., Okada Y., Mori H., Tanaka Y. Relationship between fluctuations in glucose levels measured by continuous glucose monitoring and vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus // *Cardiovasc Diabetol.*- 2013,12:1.

108 Temelkova-Kurktschiev T.S., Koehler C., Henkel E., Leonhardt W., Fuecker K., Hanefeld M. Postchallenge plasma glucose and glycemic spikes are more strongly associated with atherosclerosis than fasting glucose or HbA1c level // *Diabetes Care.*- 2000.- Vol.23.- P.1830-1834.

109 Mo Y., Zhou J., Li M., Wang Y., Bao Y., Ma X., Li D., Lu W., Hu C., Li M., Jia W. Glycemic variability is associated with subclinical atherosclerosis in Chinese type 2 diabetic patients // *Cardiovasc Diabetol.*- 2013.- Vol.15;12:15.

110 Шварц В.Я. Значение постпрандиальной гипергликемии в развитии сердечно-сосудистых заболеваний при сахарном диабете 2-го типа. // *Клиническая медицина.* - 2009. - Том 87, № 11. - С.17-24.

111 Аметов А.С., Абаева Ф.Т. Влияние гипогликемии и выраженной вариабельности гликемии на течение сахарного диабета 2 типа // *Кардиосоматика.* - 2012.-Том 3.- № 4.- С. 70-72.

112 Picchi A., Gao X., Belmadani S., Potter B.J., Focardi M., Chilian W.M., Zhang C. Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome // *Circ Res.*- 2006.- Vol.99(1).- P. 69-77.

113 Визир А.В., Березин А.Е. Иммунопатология атеросклероза. Значение биологических маркеров в оценке кардиоваскулярного риска // *Український Медичний Часопис (Український Медичинський журнал).* - III/IV. - 2010.2(76). - С.76-83.

114 Елисеев М.С., Барскова В.Г., Насонов Е.Л. Роль фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) в развитии обменных нарушений и атеросклероза и влияние на них ингибиторов ФНО- α у больных ревматическими заболеваниями // *Научно-практическая ревматология.* - 2009.- № 2.- С.67-72.

115 Hadi H.A, Suwaidi J.A. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus // *Vasc Health Risk Manag.*- 2007.- Vol.3(6).- P. 853-876.

116 Guillausseau P.J., Meas T., Virally M., Laloi-Michelin M., Médeau V., Kevorkian J.P. Abnormalities in insulin secretion in type 2 diabetes mellitus // *Diabetes Metab.* - 2008.-Vol. 34(2).- P.43-48.

- 117 Laybutt D.R., Kaneto H., Hasenkamp W., Grey S., Jonas J.C., Sgroi D.C., Groff A., Ferran C., Bonner-Weir S., Sharma A., Weir G.C. Increased expression of antioxidant and antiapoptotic genes in islets that may contribute to beta-cell survival during chronic hyperglycemia // *Diabetes*.- 2002.-Vol.51(2).- P. 413-423.
- 118 Robertson R., Zhou H., Zhang T., Harmon J.S. Chronic oxidative stress as a mechanism for glucose toxicity of the beta cell in type 2 diabetes // *Cell Biochem Biophys*. - 2007.- Vol. 48(2-3).- P. 139-146.
- 119 Аметов А.С., Богданова Л.Н. Гипергликемия и глюкозотоксичность – ключевые факторы прогрессирования сахарного диабета 2-го типа // *РМЖ. Эндокринология*. - 2010. Том.18, № 18. - С. 1416-1418.
- 120 Kohnert K.D., Augstein P., Zander E., Heinke P., Peterson K., Freyse E.J., et al. Glycemic variability correlates strongly with postprandial beta-cell dysfunction in a segment of type 2 diabetic patients using oral hypoglycemic agents // *Diabetes Care*.- 2009.- Vol.32(6).- P.1058-1062.
- 121 Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Лечение сахарного диабета и его осложнений // *МЖ Медицина*. - 2005. 512с.
- 122 Piconi L., Quagliaro L., Assaloni R., Da Ros R., Maier A., Zuodar G., Ceriello A. Constant and intermittent high glucose enhances endothelial cell apoptosis through mitochondrial superoxide overproduction // *Diabetes Metab Res Rev*.- 2006.-Vol.22(3).- P.198-203.
- 123 Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. // *Diabetes*.- 2005.-Vol.54(6).-P.1615-1625.
- 124 Ahmad F.K., He Z., King G.L. Molecular targets of diabetic cardiovascular complications // *Curr Drug Targets*.- 2005.- Vol.6.- P. 487-494.
- 125 Lamb R.E., Goldstein B.J. Modulating an oxidative-inflammatory cascade: potential new treatment strategy for improving glucose metabolism, insulin resistance, and vascular function // *Int J Clin Pract*. - 2008. - Vol.62(7).- P. 1087-1095.
- 126 Kota S.K., Meher L.K., Jammula S., Kota S.K., Krishna S.V., Modi K.D. Aberrant angiogenesis: the gateway to diabetic complications // *Indian J Endocrinol Metab*.- 2012.-Vol.16.- P.918–930.
- 127 Gerald P., King G.L. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications // *Circ Res*.- 2010.- Vol.106.- P.1319-1331.
- 128 Schaffer S.W., Jong C.J., Mozaffari M. Role of oxidative stress in diabetes-mediated vascular dysfunction: unifying hypothesis of diabetes revisited // *Vasc Pharmacol*.- 2012.- Vol.57.- P.139-149.
- 129 Pathak D., Gupta A., Kamble B., Kuppusamy G., Suresh B. Oral targeting of protein kinase C receptor: promising route for diabetic retinopathy? // *Curr Drug Deliv*.- 2012.- Vol.9.- P.405-413.
- 130 Недосугова Л.В. Окислительный стресс при сахарном диабете типа 2 и возможности его медикаментозной коррекции: автореф. ...докт.мед.наук: 14.00.03.- Москва, 2006. 42с.

- 131 Джанаева Э.Ф., Шеметова Г.Н., Ширшова С.А. Патогенетические основы и современные подходы к ранней диагностике атеросклероза // *Фундаментальные исследования*. - 2012. - №4. - С.264-269.
- 132 Grzebyk E., Knapik-Kordecka M., Piwowar A. Advanced glycation end-products and cathepsin cysteine protease in type 2 diabetic patients // *Pol Arch Med Wewn.*- 2013.- Vol.123(7-8).- P.364-370.
- 133 Basta G., Schmidt A.M., De Caterina R. Advanced glycation end products and vascular inflammation: implications for accelerated atherosclerosis in diabetes // *Cardiovasc. Res.* - 2004.- Vol. 63.-P. 582-592.
- 134 Балаболкин М.И. Роль гликирования белков, окислительного стресса в патогенез сосудистых осложнений при сахарном диабете // *Сахарный диабет*.- 2002.- № 4.- С.8-16.
- 135 Del Turco S, Basta G. An update on advanced glycation endproducts and atherosclerosis.// *Biofactors*.- 2012.-Vol.38(4).- P.266-274.
- 136 Heller S.R., Cryer P.E. Hypoinsulinemia is not critical to glucose recovery from hypoglycemia in humans // *Am J Physiol.* -1991.-Vol. 261(1).- P.41-48.
- 137 Хьюстон М. Сосудистая биология в клинической практике. - Львов: Медицина світу, 2007.- 170с.
- 138 Durand E., Scoazec A., Lafont A., Boddaert J., Al Hajzen A., Addad F., Mirshahi M., Desnos M., Tedgui A., Mallat Z. In vivo induction of endothelial apoptosis leads to vessel thrombosis and endothelial denudation // *Circulation.* - 2004. -109. - P. 2503-2506.
- 139 Шварц Я.Ш., Чересиз Е.А. Фиброзный процесс при атеросклерозе // *Атеросклероз*.- 2011.- Т. 7, №2.- С. 57-66.
- 140 Erdbruegger U., Haubitz M., Woywodt A. Circulating endothelial cells: A novel marker of endothelial damage // *Clinica Chimica Acta*.- 2006.- Vol.373.- P.17-26.
- 141 Zhang K., Yin F., Lin L. Circulating endothelial cells and chronic kidney disease // *Biomed Res Int.* - 2014. -Vol.2014:364738.
- 142 Sen S., McDonald S.P., Coates P.T., Bonder C.S. Endothelial progenitor cells: novel biomarker and promising cell therapy for cardiovascular disease // *Clin Sci (Lond)*. - 2011.- Vol.120.- P. 263-283.
- 143 Björkbacka H., Fredrikson G.N., Nilsson J. Emerging biomarkers and intervention targets for immune-modulation of atherosclerosis - a review of the experimental evidence // *Atherosclerosis*.- 2013.- Vol.227(1). - P.9-17.
- 144 Барсук А.В., Славинский А.А. Особенности экспрессии CD68 в тканевом воспалительном инфильтрате железы при остром панкреатите // *Advances in Current Natural Sciences*. - 2013.- Vol.2.- P.106.
- 145 Boos C.J., Lip G.Y., Blann A.D. Circulating endothelial cells in cardiovascular disease // *J Am Coll Cardiol*.- 2006. -Vol.48. - P.1538-1547.
- 146 Bozdag-Turan I., Turan R.G., Paranskaya L., Arsoy N.S., Turan C.H., Akin I., Kische S., Ortak J., Schneider H., Ludovicy S., Hermann T., D'Ancona G., Durdu S., Akar A.R., Ince H., Nienaber C.A. Correlation between the functional

impairment of bone marrow-derived circulating progenitor cells and the extend of coronary artery disease // J. Transl. Med.- 2012.- Vol.10 (1).- P. 143.

147 Семенова А.Е., Сергиенко И.В., Домбровский А.Л., Рвачева А.В. Роль эндотелиальных прогениторных клеток при атеросклерозе// Атеросклероз и дислипидемии. -2012.№3.- С.14-24.

148 Aihara K., Ikeda Y., Yagi S., Akaike M., Matsumoto T. Transforming Growth Factor- β 1 as a Common Target Molecule for Development of Cardiovascular Diseases, Renal Insufficiency and Metabolic Syndrome // *Cardiol Res Pract.* - 2011. - Pp. 175381.

149 Gourdy P., Schambourg A., Filipe C., Douin-Echinard V., Garmy-Susini B., Calippe B., Tercé F., Bayard F., Arnal J.F. Transforming growth factor activity is a key determinant for the effect of estradiol on fatty streak deposit in hypercholesterolemic mice // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2007. - Vol.27(10). - P.2214-2221.

150 Leask A., Abraham D.J. TGF-beta signaling and the fibrotic response // *FASEB J.*- 2004. - Vol.18(7). - P. 816-827.

151 Li J.H., Huang X.R., Zhu H.J., Johnson R., Lan H.Y. Role of TGF-beta signaling in extracellular matrix production under high glucose conditions // *Kidney Int.*- 2003.- Vol.63(6).- P.2010-2019.

152 Li J.H., Huang X.R., Zhu H.J., Oldfield M., Cooper M., Truong L.D., Johnson R.J., Lan H.Y. Advanced glycation end products activate Smad signaling via TGF-beta-dependent and independent mechanisms: implications for diabetic renal and vascular disease // *FASEB J.* - 2004.- Vol.18(1).- P.176-178.

153 Rath D., Chatterjee M., Müller I., Müller K., Böckmann C., Droppa M., Stimpfle F., Karathanos A., Borst O., Seizer P., Langer H., Schwab M., Gawaz M., Geisler T. Platelet expression of transforming growth factor beta 1 is enhanced and associated with cardiovascular prognosis in patients with acute coronary syndrome // *Atherosclerosis.* - 2014. -Vol.237(2). - P. 754-759.

154 Janda K., Krzanowski M., Dumnicka P., Kuśnierz-Cabala B., Kraśniak A., Sułowicz W. Transforming growth factor beta 1 as a risk factor for cardiovascular diseases in end-stage renal disease patients treated with peritoneal dialysis // *Clin Lab.*- 2014. -Vol. 60(7). - P.1163-1168.

155 Libby P. Collagenases and cracks in the plaque // *J Clin Invest.*-2013.- Vol.123(8).- P.3201-3203.

156 Cho KY., Miyoshi H., Kuroda S., Yasuda H., Kamiyama K., Nakagawara J., Takigami M., Kondo T., Atsumi T. The phenotype of infiltrating macrophages influences arteriosclerotic plaque vulnerability in the carotid artery // *J stroke Cerebrovasc Dis.*- 2013.- Vol.22.- P.910-918.

157 Белоусов Ю.Б. Леонова М.В., Смирнова Е.П., Лысейко Н.В., Стулин И.Д. Применение статинов у больных с каротидным атеросклерозом // *Лечебное дело.* - 2009.- № 2.- С.32-39.

158 Титов В.Н. Статины, холестерин, жирные кислоты и сахарный диабет // *Научный диалог.* - 2013.- №3(15): Естествознание. Экология. Наука о земле. - С. 148-183.

- 159 Сусеков А.В. Ингибиторы ГМК-КоА-редуктазы при вторичной профилактике атеросклероза: 30 лет спустя // *Consilium medium.*- 2005. -№1.- С. 896-903.
- 160 Gunnar N. Holmqvist Statins: Indications and Uses, Safety and Modes of Action. New York. 2009. 227p.
- 161 Position Statement: American Diabetes Association. Standards of medical Care in Diabetes - 2010// *Diabetes Care.* - 2010. Vol.33.- S11-S61.
- 162 Мельниченко Г.А., Глинкина И.В. Статины в лечении дислипидемии при сахарном диабете 2 типа // *Ожирение и метаболизм.* - 2005.- №1.- С.21-26.
- 163 Аметов А.С., Сокарева Е.В. Нарушения липидного обмена при сахарном диабете 2-го типа и их коррекция // *Русский медицинский журнал.* - 2009.- №24.- С.1586-1590.
- 164 Randomised trial of cholesterol lowering in 4,444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S): Scandinavian Simvastatin Survival study Group // *Lancet.*- 1994.- Vol.344.- P.1383-1389.
- 165 Pyorala K., Pederson T.R., Kjekshus J., Faegeman O., Olsson A.G., Thorgeirsson G. Cholesterol lowering with simvastatin improves prognosis of diabetic patients with coronary heart disease: a subgroup analysis of the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) // *Diabetes Care.*- 1997. - Vol.20(4). - P.614-620.
- 166 Heart Protection Study Collaborative Group. MRC-BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20 536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial // *Lancet.*- 2002.- Vol.360.- P.7-22.
- 167 Altun I., Oz F., Arkaya S.C., Altun I., Bilge A.K., Umman B., Turkoglu U.M. Effect of statins on endothelial function in patients with acute coronary syndrome: a prospective study using adhesion molecules and flow-mediated dilatation // *J Clin Med Res.*- 2014.-Vol.6(5).- P.354-361.
- 168 Khanicheh E., Mitterhuber M., Xu L., Haeselmann S.P., Kuster G.M., Kaufmann B.A. Noninvasive ultrasound molecular imaging of the effect of statins on endothelial inflammatory phenotype in early atherosclerosis // *PLoS One.*- 2013.- Vol.8(3):e58761.
- 169 Liu M., Yu Y., Jiang H., Zhang L., Zhang P.P., Yu P., Jia J.G., Chen R.Z., Zou Y.Z., Ge J.B. Simvastatin suppresses vascular inflammation and atherosclerosis in Apo E(-/-) mice by downregulating the HMGB1-RAGE axis // *Acta Pharmacol Sin.*- 2013.- Vol.34(6).- P.830-836.
- 170 Chan K.C., Wu C.H., Huang C.N., Lan K.P., Chang W.C., Wang C.J. Simvastatin inhibits glucose-stimulated vascular smooth muscle cell migration involving increased expression of RhoB and a block of Ras/Akt signal // *Cardiovasc Ther.*- 2012.- Vol.30(2).- P.75-84.
- 171 Moraes L.A., Vaiyapuri S., Sasikumar P., Ali M.S., Kriek N., Sage T., Gibbins J.M. Antithrombotic actions of statins involve PECAM-1 signaling // *Blood.*- 2013.- Vol.122(18). - P. 3188-3196.

- 172 Shiomu M., Koike T., Ito T. Contribution of the WHHL rabbit, an animal model of familial hypercholesterolemia, to elucidation of the anti-atherosclerotic effects of statins // *Atherosclerosis*.- 2013.- Vol.231(1).- P.39-47.
- 173 Axsom K., Berger J.S., Schwartzbard A.Z. Statins and diabetes: the good, the bad, and the unknown // *Curr Atheroscler Rep*.- 2013.- Vol.15(2):299.
- 174 Niazi A.K. Increased risk of diabetes with statin use: Reconsidering the use of high potency statins // *Adv Biomed Res*. - 2014.- Vol.3.- P.128.
- 175 Rajpathak S.N., Kumbhani D.J., Crandall J., Barzilai N., Alderman M., Ridker P.M. Statin Therapy and Risk of Developing Type 2 Diabetes: A Meta-Analysis // *Diabetes Care*.- 2009.- Vol.32(10).- P.1924-1929.
- 176 Ridker P.M., Danielson E., Fonseca F.A., Genest J., Gotto A.M. Jr, Kastelein J.J., Koenig W., Libby P., Lorenzatti A.J., MacFadyen J.G., Nordestgaard B.G., Shepherd J., Willerson J.T., Glynn R.J. JUPITER Study Group. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein // *N Engl J Med*.- 2008.-Vol.359(21).- P.2195-2207.
- 177 Sattar N., Preiss D., Murray H.M., Welsh P., Buckley B.M., de Craen A.J., Seshasai S.R., McMurray J.J., Freeman D.J., Jukema J.W., Macfarlane P.W., Packard C.J., Stott D.J., Westendorp R.G., Shepherd J., Davis B.R., Pressel S.L., Marchioli R., Marfisi R.M., Maggioni A.P., Tavazzi L., Tognoni G., Kjekshus J., Pedersen T.R., Cook T.J., Gotto A.M., Clearfield M.B., Downs J.R., Nakamura H., Ohashi Y., Mizuno K., Ray K.K., Ford I. Statins and risk of incident diabetes: a collaborative meta-analysis of randomised statin trials // *Lancet*.- 2010.- Vol.375(9716).- P. 735-742.
- 178 Preiss D., Seshasai S.R., Welsh P., Murphy S.A., Ho J.E., Waters D.D., DeMicco D.A., Barter P., Cannon C.P., Sabatine M.S., Braunwald E., Kastelein J.J., de Lemos J.A., Blazing M.A., Pedersen T.R., Tikkanen M.J., Sattar N., Ray K.K. Risk of incident diabetes with intensive-dose compared with moderate-dose statin therapy: a meta-analysis // *JAMA*.- 2011.-Vol.305(24).- P. 2556-2564.
- 179 Sasaki J., Iwashita M., Kono S., Takahashi M., Kimura M., Okamura A. Statins: beneficial or adverse for glucose metabolism // *J Atheroscler Thromb*. – 2006.- Vol.13(3).- P.123-129.
- 180 Драпкина О.М., Костюкевич М.В. Статины и риск развития сахарного диабета // *Сахарный диабет*. - 2012.- №2. - С. 77-82.
- 181 Wang L., Duan G., Lu Y., Pang S., Huang X., Jiang Q., Dang N. The effect of simvastatin on glucose homeostasis in streptozotocin induced type 2 diabetic rats // *J Diabetes Res*.- 2013.-Vol.2013:274986.
- 182 Takaguri A., Satoh K., Itagaki M., Tokumitsu Y., Ichihara K. Effects of Atorvastatin and Pravastatin on Signal Transduction related to Glucose Uptake in 3T3L1 Adipocytes // *J Pharmacol Sci*.- 2008.- Vol.107(1).- P.80-89.
- 183 Yada T., Nakata M., Shiraishi T., Kakei M. Inhibition by simvastatin, but not pravastatin, of glucose-induced cytosolic Ca²⁺ signalling and insulin secretion due to blockade of L-type Ca²⁺ channels in rat islet beta-cells // *Br J Pharmacol*. -1999.- Vol.126(5).- P.1205-1213.

- 184 Koh K.K., Quon M.J., Han S.H., Lee Y., Kim S.J., Shin E.K. Atorvastatin causes insulin resistance and increases ambient glycemia in hypercholesterolemic patients // *J Am Coll Cardiol.*- 2010.- Vol.55.- P.1209-1216.
- 185 Kostapanos M.S., Milionis H.J., Agouridis A.D., Rizos C.V., Elisaf M.S. Rosuvastatin treatment is associated with an increase in insulin resistance in hyperlipidaemic patients with impaired fasting glucose // *Int J Clin Pract.*- 2009.- Vol.63(9).- P.1308-1313.
- 186 Baker W.L., Talati R., White C.M., Coleman C.I. Differing effect of statins on insulin sensitivity in non-diabetics: a systematic review and meta-analysis // *Diabetes Res Clin Pract.*- 2010.- Vol.87(1).- P.98–107.
- 187 Nakata M., Nagasaka S., Kusaka I., Matsuoka H., Ishibashi S., Yada T. Effects of statins on the adipocyte maturation and expression of glucose transporter 4 (SLC2A4): implications in glycaemic control // *Diabetologia.* - 2006. - Vol.49(8).- P.1881-1892.
- 188 Александров А.А., Ядрихинская М.Н., Кухаренко С.С., Шацкая О.А. Статины и сахарный диабет: цена сотрудничества // *Сахарный диабет.*- 2012.-№ 2. - С.70-76.
- 189 Zhou J., Li W., Xie Q., Hou Y., Zhan S., Yang X., Xu X., Cai J., Huang Z. Effects of Simvastatin on Glucose Metabolism in Mouse MIN6 Cells // *J Diabetes Res.*- 2014.-Vol.2014:376570.
- 190 European Communities (EC) (1986). – European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg, 18.III.1986. European Treaty Series No. 123. Website: www.conventions.coe.int/ (accessed on 11 April 2005).
- 191 COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Legislative acts and other instruments. Subject: Position of the Council at first reading with a view to the adoption of a DIRECTIVE OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL on the protection of animals used for scientific purposes. Brussels, 26 May 2010. 131p.
- 192 Спасов А.А., Воронкова М.П., Снигур Г.Л., Чепляева Н.И., Чепурнова М.В. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2 // *Биомедицина.* - 2011.- №3.- С.12-18.
- 193 Islam M.S., Wilson R.D. Experimentally induced rodent models of type 2 diabetes // *Methods Mol Biol.*- 2012.- Vol.933.- P. 161-74.
- 194 Srinivasan K., Viswanad B., Asrat L., Kaul C.L., Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening // *Pharmacological Research.*- 2005. - Vol.52.- P. 313-320.
- 195 Srinivasan K., Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview // *Indian J. Med. Res.* - 2007. - Vol.125. - №3. - P. 451-472.
- 196 Zhang M., Lv X.Y., Li J., Xu Z.G., Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model // *Experimental Diabetes Research.* - 2008.- Vol.2008, Article ID 704045, 9 pages.[doi:10.1155/2008/704045](https://doi.org/10.1155/2008/704045).

- 197 Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes // *Diabetologia*. – 2008. - Vol.51(2).- P.216-226.
- 198 Писарев В.Б., Снигур Г.Л., Спасов А.А., Самохина М.П., Буланова А.Е. Механизмы токсического действия стрептозотоцина на бета-клетки островков Лангерганса // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины: ежемесячный международный научно-теоретический журнал*. - 2009. - Том 148, N 12. - С. 700-702.
- 199 Tanaka S., Hayashi T., Toyoda T., Hamada T., Shimizu Y., Hirata M., Ebihara K., Masuzaki H., Hosoda K., Fushiki T., Nakao K. High-fat diet impairs the effects of a single bout of endurance exercise on glucose transport and insulin sensitivity in rat skeletal muscle // *Metabolism*.- 2007.- Vol. 56(12).- P.1719-1728.
- 200 Flanagan A.M., Brown J.L., Santiago C.A., Aad P.Y., Spicer L.J., Spicer M.T. High-fat diets promote insulin resistance through cytokine gene expression in growing female rats // *J Nutr Biochem*.- 2008.- Vol.19(8).- P. 505-513.
- 201 Mansor L.S., Gonzalez E.R., Cole M.A., Tyler D.J., Beeson J.H., Clarke K., Carr C.A., Heather L.C. Cardiac metabolism in a new rat model of type 2 diabetes using high-fat diet with low dose streptozotocin // *Cardiovascular Diabetology* 2013, 12:136.
- 202 Shafrir E. Diabetes in animals: Contribution to the understanding of diabetes by study of its etiopathology in animal models. In Porte D., Sherwin RS, Baron A, Diabetes mellitus // In *Diabetes mellitus* Edited by: D.Porte RSSAB. NewYork: McGraw-Hill.- 2003.- P. 231-255.
- 203 Yabuuchi M., Masuda M., Katoh K., Nakamura T., Akanuma H. Simple enzymatic method for determining 1,5-anhydro-D-glucitol in plasma for diagnosis of diabetes mellitus // *Clin Chem*.- 1989.- Vol.35(10).- P.2039-2043.
- 204 Weykamp C., John W.G., Mosca A., Hoshino T., Little R., Jeppsson J.O., Goodall I., Miedema K., Myers G., Reinauer H., Sacks D.B., Slingerland R., Siebelder C. The IFCC reference measurement system for HbA1c: a 6-year progress report // *Clin.Chem*.- 2008.-Vol.2.- P.240-248.
- 205 Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S., Naylor B.A., Treacher D.F., Turner R.C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man // *Diabetologia*.- 1985.- Vol.28(7). - P.412-429.
- 206 Legro R.S., Finegood D., Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratio is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. // *J Clin Endocrinol Metab*.- 1998.- Vol.83(8).- P.2694-2698.
- 207 Albareda M., Rodríguez-Espinosa J., Murugo M., de Leiva A., Corcoy R. Assessment of insulin sensitivity and beta-cell function from measurements in the fasting state and during an oral glucose tolerance test // *Diabetologia*.- 2000.- Vol.43(12).- P.1507-1511.
- 208 Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Anal Biochem*.- 1987.- Vol.162.- P.156-159.

- 209 Shynlova O., Tsui P., Dorogin A., Langille B.L., Lye S.J. The expression of transforming growth factor beta in pregnant rat myometrium is hormone and stretch dependent // *Reproduction*. - 2007. - Vol.134(3).- P. 503- 511.
- 210 Su G., Mi S., Tao H., Li Z., Yang H., Zheng H., Zhou Y., Ma C. Association of glycemic variability and the presence and severity of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes // *Cardiovasc Diabetol*.- 2011.-Vol.10.-P.19.
- 211 Hu Y., Liu W., Huang R., Zhang X. Postchallenge plasma glucose excursions, carotid intima-media thickness, and risk factors for atherosclerosis in Chinese population with type 2 diabetes // *Atherosclerosis*.- 2010.- Vol.210.- P.302-306.
- 212 Ray K.K., Seshasai S.R., Erqou S., Sever P., Jukema J.W., Ford I., Sattar N. Statins and all-cause mortality in high-risk primary prevention: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials involving 65,229 participants // *Arch Intern Med*.- 2010.- Vol.170.- P.1024-1031.
- 213 Kearney P.M, Blackwell L., Collins R., Keech A., Simes J., Peto R., Armitage J., Baigent C. Efficacy of cholesterol-lowering therapy in 18,686 people with diabetes in 14 randomised trials of statins: a meta-analysis // *Lancet*.- 2008.- Vol.371.- P.117-125.
- 214 Profumo E., Buttari B., Saso L., Rigano R. Pleiotropic effects of statins in atherosclerotic disease: focus on the antioxidant activity of atorvastatin // *Curr Top Med Chem*.- 2014.- Vol.14(22).- P.2542-2551.
- 215 Duan C., Du Z.D., Wang Y., Jia L.Q. Effect of pravastatin on endothelial dysfunction in children with medium to giant coronary aneurysms due to Kawasaki disease // *World J Pediatr*.- 2014.- Vol.10(3).- P.232-237.
- 216 Kesavan M., Sarath T.S., Kannan K., Suresh S., Gupta P., Vijayakaran K., Sankar P., Kurade N.P., Mishra S.K., Sarkar S.N. Atorvastatin restores arsenic-induced vascular dysfunction in rats: modulation of nitric oxide signaling and inflammatory mediators // *Toxicol Appl Pharmacol*.- 2014.- Vol.280(1).- P.107-116.
- 217 Seok H., Huh J.H., Kim H.M., Lee B.W., Kang E.S., Lee H.C., Cha B.S. 1,5-anhydroglucitol as a useful marker for assessing short-term glycemic excursions in type 1 diabetes // *Diabetes Metab J*. - 2015. - Vol.39(2). - P.164-170.
- 218 Watanabe M., Kokubo Y., Higashiyama A., Ono Y., Miyamoto Y., Okamura T. Serum 1,5-anhydro-D-glucitol levels predict first-ever cardiovascular disease: an 11-year population-based cohort study in Japan, the Suita study // *Atherosclerosis*. - 2011.- Vol.216. - P.477-483.
- 219 Torimoto K., Okada Y., Mori H., Tanaka Y. Low levels of 1,5-anhydro-D-glucitol are associated with vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes // *Cardiovasc Diabetol*.- 2014. -Vol.13. - P.99.
- 220 Mehta S.N., Schwartz N., Wood J.R., Svoren B.M., Laffel L.M. Evaluation of 1,5-anhydroglucitol, hemoglobin A1c, and glucose levels in youth and young adults with type 1 diabetes and healthy controls // *Pediatr Diabetes*. - 2012. - Vol.13. - P.278-284.

- 221 Dungan K.M. 1,5-anhydroglucitol (GlycoMark) as a marker of short-term glycemic control and glycemic excursions // *Expert Rev Mol Diagn.* - 2008. - Vol.8. - P. 9-19.
- 222 Дудинская Е.Н., Ткачева О.Н., Стражеско И.Д., Акашева Д.У. Роль инсулинорезистентности и ее коррекции в процессах сосудистого старения // *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии.* - 2013. - №9(2). - С. 163-170.
- 223 Zhang Z., Li J., Yang L., Chen R., Yang R., Zhang H., Cai D., Chen H. The cytotoxic role of intermittent high glucose on apoptosis and cell viability in pancreatic beta cells // *J Diabetes Res.* - 2014. - Vol.2014, 712781.
- 224 Frieman D.J., Norrie J., Sattar N., Neely R.D., Cobbe S.M., Ford I., Isles C., Lorimer A.R., Macfarlane P.W., McKillop J.H., Packard C.J., Shepherd J., Gaw A. Pravastatin and the development of diabetes mellitus: evidence for a protective treatment effect in the West of Scotland Coronary Prevention Study // *Circulation.* - 2001. - Vol.103. - P.357-362.
- 225 Gannagé-Yared M.H., Azar R.R., Amm-Azar M., Khalifé S., Germanos-Haddad M., Neemtallah R., Halaby G. Pravastatin does not affect insulin sensitivity and adipocytokines levels in healthy nondiabetic patients // *Metabolism.* - 2005. - Vol.54(7). - P.947-951.
- 226 Koh K.K., Quon M.J., Han S.H., Chung W.J., Ahn J.Y., Seo Y.H., Choi I.S., Shin E.K. Additive beneficial effects of fenofibrate combined with atorvastatin in the treatment of combined hyperlipidemia // *J Am Coll Cardiol.* - 2005. - Vol.45(10). - P.1649-1653.
- 227 Güçlü F., Ozmen B., Hekimsoy Z., Kirmaz C. Effects of a statin group drug, pravastatin, on the insulin resistance in patients with metabolic syndrome // *Biomed Pharmacother.* - 2004. - Vol.58(10). - P.614-618.
- 228 Sampson U.K., Linton M.F., Fazio S. Are statins diabetogenic? // *Curr Opin Cardiol.* - 2011. - Vol.26(4). - P.342-347.
- 229 Iskakova S., Zharmakhanova G., Bekmukhambetov Y., Dworacka M., Dworacki G. [Simvastatin's effect on insulin resistance in rats with diabetes mellitus] // *Georgian Med News.* 2015.-Vol.(242). - P.70-77.
- 230 Bastard J.P., Maachi M., Van Nhieu J.T., Jardel C., Bruckert E., Grimaldi A., et al. Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro // *J Clin Endocrinol Metab.* - 2002. - Vol.87(5). - P.2084-2089.
- 231 Талаева Т.В., Шишкин В.В., Вавилова Л.Л. Роль воспаления и оксидативного стресса в кардиоваскулярной патологии // *Буковинський медичний вісник.* - 2013. - Том 17- №1(65). - С.156-163.
- 232 Nin J.W., Jorsal A., Ferreira I., Schalkwijk C.G., Prins M.H., Parving H.H., Tarnow L., Rossing P., Stehouwer C.D. Higher Plasma Levels of Advanced Glycation End Products Are Associated With Incident Cardiovascular Disease and All-Cause Mortality in Type 1 Diabetes: A 12-year follow-up study // *Diabetes Care.* - 2011. - Vol.34(2). - P.442-447.
- 233 McClung J.A., Naseer N., Saleem M., Rossi G.P., Weiss M.B., Abraham N.G., Kappas A. Circulating endothelial cells are elevated in patients with type 2

diabetes mellitus independently of HbA(1)c // *Diabetologia*. - 2005. - Vol. 48. - P.345-350.

234 Ascioglu E., Gogas Yavuz D., Koc M., Ozben B., Yazici D., Deyneli O., Akalin S. Circulating endothelial cells are elevated in patients with type 1 diabetes mellitus // *Eur J Endocrinol*. - 2010. - Vol.162. - P.711-717.

235 Chong A.Y., Lip G.Y., Freestone B., Blann A.D. Increased circulating endothelial cells in acute heart failure: comparison with von Willebrand factor and soluble E-selectin // *Eur J Heart Fail*. - 2006. - Vol.8(2). - P.167-172.

236 Nadar S.K., Lip G.Y., Lee K.W., Blann A.D. Circulating endothelial cells in acute ischaemic stroke // *Thromb Haemost*. - 2005. -Vol.(94). - P.707-712.

237 Максименко А.В., Турашев А.Д. Функции и состояние эндотелиального гликокаликса в норме и патологии // *Атеросклероз и дислипидемии*. - 2011.- №2. - С. 4-17.

238 Caro C.G. Discovery of the role of wall shear in atherosclerosis. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*. - 2009.- Vol.29(2).- P.158-161.

239 Fadini GP, Sartore S., Albiero M., Baesso I., Murphy E., Menegolo M., Grego F., Vigili de Kreutzenberg S., Tiengo A., Agostini C., Avogaro A. Number and function of endothelial progenitor cells as a marker of severity for diabetic vasculopathy // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.- 2006.- Vol.26(9).- P.2140-2146.

240 Tepper O.M., Galiano R.D., Capla J.M., Kalka C., Gagne P.J., Jacobowitz G.R., Levine J.P., Gurtner G.C. Human endothelial progenitor cells from type 2 diabetes exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures // *Circulation*.-2002.- 106.-P. 2781-2786.

241 Fadini G.P., Avogaro A. It is all in the blood: the multifaceted contribution of circulating progenitor cells in diabetic complications // *Exp Diabetes Res*.- 2012.-Vol.2012:742976.

242 Schmidt-Lucke C., Rössig L., Fichtlscherer S., Vasa M., Britten M., Kämper U., Dimmeler S., Zeiher A.M. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair // *Circulation*. - 2005.-Vol.111. - P.2981-2987.

243 Fadini G.P., Coracina A., Baesso I., Agostini C., Tiengo A., Avogaro A., de Kreutzenberg S.V. Peripheral blood CD34+KDR+ endothelial progenitor cells are determinants of subclinical atherosclerosis in a middle-aged general population // *Stroke*. - 2006.- Vol.37(9).- P.2277-2282.

244 Иванникова Е.В., Мелкозеров К.В., Калашников В.Ю., Терехин С.А., Кононенко И.В., Смирнова О.М. Изучение роли факторов роста фибробластов (bFGF, TGFβ1), маркеров воспаления (IL-6, TNF-α) и конечных продуктов гликирования (AGE, RAGE) у пациентов с ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом 2 типа // *Сахарный Диабет*.- 2013.- № 3. - С. 64-70.

245 Glociczki M.L., Keddis M.T., Garovic V.D., Friedman H., Herrmann S., McKusick M.A., Misra S., Grande J.P., Lerman L.O., Textor S.C. TGF expression and macrophage accumulation in atherosclerotic renal artery stenosis // *Clin J Am Soc Nephrol*. - 2013. - Vol.8(4). - P. 546-553.

- 246 Kim I.Y., Kim M.M., Kim S.J. Transforming growth factor-beta: biology and clinical relevance // *J Biochem Mol Biol.* - 2005. - Vol.38(1). - P. 1-8.
- 247 Leask A., Abraham D.J. TGF-beta signaling and the fibrotic response // *FASEB J.* - 2004.-Vol.18(7). - P.816-827.
- 248 Nurgazieva D., Mickley A., Moganti K., Ming W., Ovsyi I., Popova A., Sachindra, Awad K., Wang N., Bieback K., Goerd S., Kzhyshkowska J., Gratchev A. TGF- β 1, but not bone morphogenetic proteins, activates Smad1/5 pathway in primary human macrophages and induces expression of proatherogenic genes // *J Immunol.*- 2015. - Vol.194(2). - P.709-718.
- 249 Kieć-Wilk B., Stolarz-Skrzypek K., Sliwa A., Zdienicka A., Kawecka-Jaszcz K. Peripheral blood concentrations of TGF β 1, IGF-1 and bFGF and remodelling of the left ventricle and blood vessels in hypertensive patients // *Kardiol Pol.* - 2010. - Vol.68(9). - P.996-1002.
- 250 Dworacka M., Krzyżagórska E., Wesołowska A., Zharmakhanova G., Iskakova S., Dworacki G. Circulating monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) and angiogenin in type 2 diabetic patients treated with statins in low doses // *Eur J Pharmacol.*- 2014.-Vol.740. -P.474-479.
- 251 Kortelainen M.L., Porvari K. Adventitial macrophage and lymphocyte accumulation accompanying early stages of human coronary atherogenesis // *Cardiovasc Pathol.*- 2014.-Vol. 23(4).-P.193-1297.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Акт внедрения результатов научного исследования в учебный процесс

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по учебно-воспитательной работе
ЗКГМУ им.Марата Оспанова
Тусупкалиев А.Б.
«25» 01 2015 г.

АКТ

внедрения результатов научных исследований в учебный процесс

№ 423 «25» 01 2015 г.

Основание:

выписка из протокола заседания кафедры фармакологии №10 от «16» 01/2015 г.
выписка из протокола заседания КОП по специальности «Общая медицина» №5 от 16/2015 г.

Место проведения: ЗКГМУ им.Марата Оспанова, кафедра фармакологии

Наименование предложения: внедрение в образовательный процесс результатов экспериментального исследования PhD-докторанта Жармахановой Г.М. по теме докторской диссертации «Влияние симвастатина на ранние проявления атеросклероза, индуцированного суточными колебаниями гликемии».

Работа выполнена: в рамках образовательной программы подготовки доктора философии (PhD) по специальности 6D110100-«Медицина» научно-педагогического направления.

Специальность: «Общая медицина».

Дисциплина: «Фармакология».

Содержание внедрения: в диссертационном исследовании выявлены плейотропные эффекты симвастатина - антиатерогенные свойства, не зависящие от снижения уровня липидов в крови: в условиях экспериментального сахарного диабета на фоне вариабельности гликемии применение симвастатина приводило к снижению инсулинорезистентности и проявлений сосудистой дисфункции (восстановлению функций эндотелия и ниже лежащих слоев сосудистой стенки). Результаты исследования рекомендуется внедрить в лекционный материал и занятие по теме «Современные гиполипидемические препараты» по дисциплине «Фармакология» специальности «Общая медицина».

Исполнители: ППС кафедры фармакологии, Жармаханова Г.М.

Сроки внедрения: 2014-2015 гг.

Эффективность внедрения: Результаты внедрения позволили расширить знания студентов о плейотропных свойствах и механизмах действия (ингибиторы фермента гидрокси-метилглутарил-коэнзим-А-редуктазы) гиполипидемического препарата симвастатина.

Предложения, замечания, осуществляющего внедрение: Представленные результаты, свидетельствующие об антиатерогенных свойствах симвастатина в условиях суточных колебаний гликемии на ранних стадиях развития атеросклероза, могут быть использованы для разработки наиболее рациональных подходов коррекции сосудистой дисфункции, с целью эффективного управления диабета при вариабельности гликемии и снижения риска развития сердечно-сосудистых осложнений.

Руководитель кафедры фармакологии
Председатель Комитета образовательных программ
по специальности «Общая медицина»
Руководитель ДУМР
Исполнители

Искакова С.С. Искакова С.С.
Алмагамбетова А.С. Алмагамбетова А.С.
Дильмагамбетов Д.С. Дильмагамбетов Д.С.
Нургалиева Ж.Ж. Нургалиева Ж.Ж.
Чуканова Г.Н. Чуканова Г.Н.
Жармаханова Г.М. Жармаханова Г.М.

Н БКММУ 705-50-12. Оку процесіне ғылыми зерттеу нәтижелерін енгізу актісі. Бірінші басылым.
Ф ЗКГМУ 705-50-12. Акт внедрения результатов научных исследований в учебный процесс. Издание третье.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Акт внедрения результатов научного исследования в учебный процесс

«УТВЕРЖДАЮ»
Проректор по учебно-воспитательной работе
ЗКГМУ им.Марата Оспанова
Тусупкалиев А.Б.
«25» 06 2015г.

АКТ внедрения результатов научных исследований в учебный процесс

№ 429 «25» 06 2015г.

Основание:

выписка из протокола заседания кафедры фармакологии № 10 от «16» 01 2015г.

выписка из протокола заседания КОП по специальностям «Общественное здравоохранение», «Медико-профилактическое дело», «Фармация» № 3 от «17» 2015г.

Место проведения: ЗКГМУ им.Марата Оспанова, кафедра фармакологии

Наименование предложения: внедрение в образовательный процесс результатов экспериментального исследования PhD-докторанта Жармахановой Г.М. по теме докторской диссертации «Влияние симвастатина на ранние проявления атеросклероза, индуцированного суточными колебаниями гликемии».

Работа выполнена: в рамках образовательной программы подготовки доктора философии (PhD) по специальности 6D110100-«Медицина» научно-педагогического направления.

Специальность: «Фармация».

Дисциплина: «Фармакология».

Содержание внедрения: в экспериментальном исследовании выявлено антиатерогенные свойства симвастатина - плейотропные эффекты, не зависящие от снижения уровня липидов в крови: в условиях сахарного диабета на фоне суточных колебаний гликемии применение симвастатина приводило к снижению инсулинорезистентности и проявлений раннего атеросклероза (восстановлению функций эндотелия и ниже лежащих слоев сосудистой стенки). Результаты исследования рекомендуется внедрить в лекционный материал и занятие по теме «Антиатеросклеротические средства» по дисциплине «Фармакология» специальности «Фармация».

Исполнители: ППС кафедры фармакологии, Жармаханова Г.М.

Сроки внедрения: 2014-2015 гг.

Эффективность внедрения: Результаты внедрения позволили расширить знания студентов о плейотропных свойствах и механизмах действия (ингибиторы фермента гидроксиметилглутарил-коэнзим-А-редуктазы) гиполипидемического препарата симвастатина.

Предложения, замечания, осуществляющего внедрение: Представленные результаты, свидетельствующие об антиатерогенных свойствах симвастатина в условиях вариабельности гликемии на ранних стадиях развития атеросклероза, могут быть использованы для разработки наиболее рациональных подходов коррекции раннего атерогенеза, с целью эффективного управления сахарного диабета при суточных колебаниях гликемии и снижения риска развития кардио-васкулярных осложнений.

Руководитель кафедры фармакологии

Председатель Комитета образовательных программ по специальностям «Общественное здравоохранение», «Медико-профилактическое дело», «Фармация»

Руководитель ДУМР

Исполнители

Искакова С.С.

Уразаева С.Т.

Дильмагамбетов Д.С.

Нургалиева Ж.Ж.

Чуканова Г.Н.

Жармаханова Г.М.

Н БҚММУ 705-50-12. Оқу процесіне ғылыми зерттеу нәтижелерін енгізу актісі. Бірінші басылым.

Ф ЗКГМУ 705-50-12. Акт внедрения результатов научных исследований в учебный процесс. Издание третье.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Допуск к работе с лабораторными животными

UNIwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu
61-701 Poznań, ul. Fredry 10

Pieczęć jednostki
doświadczalnej

ZEZWOLENIE Nr 26/2013

NA PRZEPROWADZANIE DOŚWIADCZEŃ NA ZWIERZĘTACH

Na podstawie art. 16 ust. 2 pkt 1 ustawy z dnia 21 stycznia 2005 r. o doświadczeniach na zwierzętach (Dz. U. Nr 33, poz. 289)

ZEZWALAM

Pani/u Gulmira Zharmakhanova.....

Tytuł naukowy lub stopień naukowy – mgr nauk med.....

Stanowisko – doktorant.....

Tytuł zawodowy – lek. med.....

na przeprowadzanie doświadczeń na następujących zwierzętach:

1. myszy.....
2. szczury.....
3. króliki.....
4. chomiki.....
5. świnki morskie.....

Zezwolenie dotyczy wyłącznie doświadczeń na zwierzętach wykonywanych w ramach działalności
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, ul. Fredry 10, 61-701 Poznań – Katedry i Zakładu
Farmakologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.....

(nazwa i adres jednostki doświadczalnej)

Zezwolenie jest ważne do dnia 12 maja 2014 roku.

Poznań, 3 czerwca 2013

(data)

PEŁNOMOCNIK REKTORA
UNIwersytetu Medycznego
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
ds. wydawania zezwoleń
na wykonywanie doświadczeń na zwierzętach

prof. dr hab. Ewa Florek

(podpis kierownika jednostki
doświadczalnej)

UWAGA

Doświadczenia na zwierzętach mogą być przeprowadzane wyłącznie po uzyskaniu zgody lokalnej komisji etycznej do spraw doświadczeń na zwierzętach lub Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach oraz zezwolenia kierownika jednostki doświadczalnej.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Обоснование проведения экспериментального исследования. Решение локальной этической комиссии по проведению экспериментального исследования.

Uzasadnienie uchwały 54/2013 z dnia 7.6.2013 roku

Lokalna Komisja Etyczna ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu

Wniosek dotyczy doświadczenia, na które Lokalna Komisja Etyczna ds. Doświadczeń na Zwierzętach wyraziła zgodę Uchwałą 25/2013 z dnia 5.04.2013 i jest rozszerzony o nowe procedury doświadczalne związane z podawaniem szczurom insuliny. Natomiast pozostałe elementy doświadczenia nie uległy istotnym zmianom.

Substancje i leki, które będą zastosowane w badaniu na szczurach:

1. simwastatyna
2. karma bogata w nasycone kwasy tłuszczowe (61%)
3. karma standardowa
4. roztwór glukozy
5. streptozotocyna
6. insulina o pośrednim czasie działania WOS lente

Badania zostaną przeprowadzone w grupie 42 szczurów płci męskiej rasy Wistar o wadze 200-300g, w tym u 28 szczurów z cukrzycą i u 14 zwierząt bez cukrzycy.

Badania będą obejmowały następujące etapy:

- indukcja u dorosłych szczurów cukrzycy analogicznej do cukrzycy typu 2 u ludzi z zastosowaniem karmy wysokotłuszczowej 61% podawanej codziennie ad libitum przez 3 tygodnie i dwukrotnej, w 7-dniowych odstępach, iniekcji dootrzewnowej streptozotocyny 20mg/kg m.c po zakończeniu okresu stłuszczenia
- przeprowadzenie dożołądkowego testu tolerancji glukozy u szczurów z cukrzycą – u 42 zwierząt przed rozpoczęciem indukcji cukrzycy oraz dla potwierdzenia cukrzycy
- podawanie insuliny o pośrednim czasie działania podskórnie szczurom, u których glikemia przekracza 300mg/dl
- stymulowanie wahań glikemii poprzez odstawienie karmy standardowej szczurom z cukrzycą 1-krotnie w ciągu doby, każdorazowo przez 4 godziny przez 8 tygodni, z dostępem do wody – *ad libitum* (u 28 zwierząt)
- podawanie 14 szczurom z cukrzycą simwastatyny w dawce 20mg/kg dożołądkowo codziennie na czczo
- ocena glikemii 2 razy w tygodniu przed podaniem insuliny i po upływie 4 godzin tego samego dnia – u 28 szczurów z cukrzycą oraz jednocześnie u 14 szczurów zdrowych
- po zakończeniu badania - pobranie krwi pełnej surowicy oraz tkanek na ciekły azot dla oceny wykładników wczesnych etapów miażdżycy (badanie ekspresji CD133, CD131, CD34 we krwi, badanie ekspresji CD68 w tkankach, oznaczanie stężenia insuliny, anhydroglucitolu w surowicy, oznaczenie stężenia glikowanej hemoglobiny we krwi).

Najwyższy stopień inwazyjności procedury wynosi: **3**.

Doświadczenie będzie wykonywane na: **Szczury, szczepu Wistar – 42 osobników.**

Czas trwania projektu: **12 m-cy.**

Uprzejmie informuję, że na posiedzeniu Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w dniu 7 czerwca 2013 r. Komisja jednomyślnie uznała za dopuszczalny wniosek

pt.:

**„WPLYW STATYN NA WYSTĘPOWANIE WCZESNYCH OBJAWÓW
MIAŻDŻYCY INDUKOWANYCH DOBOWYMI WAHANIAM
GLIKEMII”.**

PRZEWODNICZĄCY
Lokalnej Komisji Etycznej
do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach
dr Paweł Antosik

UCHWAŁA NR 54/2013

z dnia 7.6.2013r.

Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu

§ 1

Na podstawie art. 30 ust. 1 pkt 1 ustawy z dnia 21 stycznia 2005r. o doświadczeniach na zwierzętach (Dz. U. Nr 33, poz. 289) i § 14 ust. 3 rozporządzenia Ministra Nauki i Informatyzacji z dnia 29 lipca 2005r. w sprawie Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach oraz lokalnych komisji etycznych do spraw doświadczeń na zwierzętach (Dz. U. Nr 153, poz. 1275), po rozpatrzeniu wniosku o wydanie dodatkowej liczby zwierząt, pt.: „WPLYW STATYN NA WYSTĘPOWANIE WCZESNYCH OBJAWÓW MIAŻDŻYCY INDUKOWANYCH DOBOWYMI WAHANIAMI GLIKEMII” z dnia 4.6.2013 r., złożonego przez Panią dr hab. med. Marzenę Dworacką z Katedry i Zakładu Farmakologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

lokalna komisja etyczna:

WYRAŻA ZGODĘ

na przeprowadzenie doświadczeń na zwierzętach w zakresie wniosku.

§ 2

W wyniku rozpatrzenia wniosku, o którym mowa w § 1, lokalna komisja etyczna ustaliła, że:

1. Wniosek należy zaliczyć do kategorii:

Badania naukowe na zwierzętach

2. Najwyższy stopień inwazyjności proponowanych procedur nie przekracza wartości 3.
3. Doświadczenia będą przeprowadzone na zwierzętach (gatunek, liczba zwierząt): **Szczury szczepu Wistar - 42 osobników.**
4. Doświadczenia będą przeprowadzone przez (nazwisko i imię, nazwa jednostki doświadczałnej): **dr hab. med. Marzena Dworacka z Katedry i Zakładu Farmakologii UM w Poznaniu wraz z Zespołem.**
5. Doświadczenia będą przeprowadzane na tkankach i narządach uzyskiwanych od zwierząt w ramach:

§ 3

Integralną część niniejszej uchwały stanowi uzasadnienie i kopia wniosku, o którym mowa w § 1.

[Pieczęć lokalnej komisji etycznej]

LOKALNA KOMISJA ETYCZNA
do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach
60-637 Poznań, ul. Wołyńska 35
tel. 061 8487198; fax 061 8487197

Podpisy członków lokalnej komisji etycznej biorących udział w głosowaniu:

1. Dr Paweł Antosik Przewodniczący LKE
2. Dr hab. Leszek Rychlik, Wiceprzewodniczący LKE
3. Dr Czesław Sadowski
4. Prof. dr hab. Teresa Bobkiewicz-Kozłowska
5. Dr Anna Kasprzyk
6. Prof. dr hab. Piotr Krutki
7. Prof. dr hab. Paweł Mačkowiak,
8. Mgr inż. Przemysław Wylegała
9. Dr Aleksandra Ziętek-Berdychowska

Otrzymała:

1. Wnioskodawca,
2. a/a

Pouczenie

Strona niezadowolona z niniejszej uchwały może wnieść odwołanie do Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w terminie 30 dni od dnia otrzymania uchwały.
Odwołanie składa się za pośrednictwem lokalnej komisji etycznej, która wydała uchwałę, zgodnie z § 20 rozporządzenia Ministra Nauki i Informatyzacji z dnia 29 lipca 2005r. w sprawie Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach oraz lokalnych komisji etycznych do spraw doświadczeń na zwierzętach (Dz. U. Nr 153 poz. 1275).

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Обоснование проведения экспериментального исследования. Решение локальной этической комиссии по проведению экспериментального исследования.

Uzasadnienie uchwały 55/2013
z dnia 7.6.2013 roku

Lokalna Komisja Etyczna ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu

Wniosek dotyczy doświadczenia, na które Lokalna Komisja Etyczna ds. Doświadczeń na Zwierzętach wyraziła zgodę Uchwałą 25/2013 z dnia 5.04.2013. W przebiegu niniejszego doświadczenia, w grupach zwierząt z indukowaną eksperymentalnie cukrzycą zaistniała potrzeba stosowania insuliny związana z nasileniem zaburzeń metabolicznych u zwierząt. Aby uzyskać wyniki zgodne z celem badania, który stanowi ocena wpływu simwastatyny na nasilenie dobowych wahań glikemii u zwierząt z cukrzycą nie otrzymujących innych leków, należy przeprowadzić część eksperymentu dotyczącego 2 grup szczurów (po 14 zwierząt każda) z indukowaną cukrzycą ponownie, uwzględniając także zmniejszenie dawki streptozotocyny do 15 mg/kg m.c.

Najwyższy stopień inwazyjności procedury wynosi: **3**.

Doświadczenie będzie wykonywane na: **Szczury, szczepu Wistar – 28 osobników.**

Czas trwania projektu: **12 m-cy.**

Uprzejmie informuję, że na posiedzeniu Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w dniu 7 czerwca 2013 r. Komisja jednogłośnie uznała za dopuszczalny wniosek

pt.:

**„WPLYW STATYN NA WYSTĘPOWANIE WCZESNYCH OBJAWÓW
MIAŻDŻYCY INDUKOWANYCH DOBOWYMI WAHANIAMII
GLIKEMII”.**

PRZEWODNICZĄCY
Lokalnej Komisji Etycznej
do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach
dr Paweł Antosik

UCHWAŁA NR 55/2013

z dnia 7.6.2013r.

Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu

§ 1

Na podstawie art. 30 ust. 1 pkt 1 ustawy z dnia 21 stycznia 2005r. o doświadczeniach na zwierzętach (Dz. U. Nr 33, poz. 289) i § 14 ust. 3 rozporządzenia Ministra Nauki i Informatyzacji z dnia 29 lipca 2005r. w sprawie Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach oraz lokalnych komisji etycznych do spraw doświadczeń na zwierzętach (Dz. U. Nr 153, poz. 1275), po rozpatrzeniu wniosku o wydanie dodatkowej liczby zwierząt, pt.: „WPLYW STATYN NA WYSTĘPOWANIE WCZESNYCH OBJAWÓW MIAŻDŻYCY INDUKOWANYCH DOBOWYMI WAHANIAMI GLIKEMII” z dnia 4.6.2013 r., złożonego przez Panią dr hab. med. Marzenę Dworacką z Katedry i Zakładu Farmakologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

lokalna komisja etyczna:

WYRAŻA ZGODĘ

na przeprowadzenie doświadczeń na zwierzętach w zakresie wniosku.

§ 2

W wyniku rozpatrzenia wniosku, o którym mowa w § 1, lokalna komisja etyczna ustaliła, że:

1. Wniosek należy zaliczyć do kategorii:

Badania naukowe na zwierzętach

2. Najwyższy stopień inwazyjności proponowanych procedur nie przekracza wartości **3**.

3. Doświadczenia będą przeprowadzone na zwierzętach (gatunek, liczba zwierząt): **Szczury szczepu Wistar - 28 osobników.**

4. Doświadczenia będą przeprowadzone przez (nazwisko i imię, nazwa jednostki doświadczałnej):

dr hab. med. Marzena Dworacka z Katedry i Zakładu Farmakologii UM w Poznaniu wraz z Zespołem.

5. Doświadczenia będą przeprowadzane na tkankach i narządach uzyskiwanych od zwierząt w ramach:

§ 3

Integralną część niniejszej uchwały stanowi uzasadnienie i kopia wniosku, o którym mowa w § 1.

[Pieczęć lokalnej komisji etycznej]

Podpisy członków lokalnej komisji etycznej biorących udział w głosowaniu:

1. Dr Paweł Antosik Przewodniczący LKE

2. Dr hab. Leszek Rychlik, Wiceprzewodniczący LKE

3. Dr Czesław Sadowski

4. Prof. dr hab. Teresa Bobkiewicz-Kozłowska

5. Dr Anna Kasprzyk

6. Prof. dr hab. Piotr Krutki

7. Prof. dr hab. Paweł Maćkowiak,

8. Mgr inż. Przemysław Wylegała

9. Dr Aleksandra Ziątek-Berdychowska

LOKALNA KOMISJA ETYCZNA
do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach
60-637 Poznań, ul. Wołyńska 35
tel. 061 8487198; fax 061 8487197

Otrzymują:

1. Wnioskodawca,
2. a/a

Pouczenie

Strona niezadowolona z niniejszej uchwały może wnieść odwołanie do Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w terminie 30 dni od dnia otrzymania uchwały.
Odwołanie składa się za pośrednictwem lokalnej komisji etycznej, która wydała uchwałę, zgodnie z § 20 rozporządzenia Ministra Nauki i Informatyzacji z dnia 29 lipca 2005r. w sprawie Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach oraz lokalnych komisji etycznych do spraw doświadczeń na zwierzętach (Dz. U. Nr 153 poz. 1275).