

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(Н И У « Б е л Г У »)**

ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК
Кафедра биологии

**АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ КРОВИ НА ФОНЕ ГИПЕРГЛИКЕМИИ**
Магистерская диссертация студентки

очно-заочной формы обучения 3 курса группы 07001472
специальность (направление подготовки) 06.04.01 Биология
Бондаревой Натальи Александровны

Научный руководитель
доцент кафедры биологии,
к.б.н., доцент Погребняк Т.А.

Рецензент
ведущий научный сотрудник
Белгородского филиала ФГБНУ
«Всероссийский научно-
исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии
им. Я. Р. Коваленко»,
к.б.н., доцент Присный А. А.

Белгород 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Введение.....	7
Глава 1. Обзор литературы.....	7
1. Гипергликемия и защитно-компенсаторные реакции.....	7
1.1. Физиологическая роль глюкозы в организме.....	7
1.2. Механизмы развития гипергликемии.....	9
1.3. Метаболические эффекты глюкозы.....	12
1.4. Инсулин и его физиологические эффекты.....	16
1.5 Системные эффекты системы крови на фоне гипергликемии.....	20
2. Физиологические эффекты сахарного диабета.....	24
2.1. Факторы и причины развития разных форм сахарного диабета.....	24
2.2. Характеристика различных видов сахарного диабета.....	27
Глава 2. Материал и методы исследования.....	33
2.1 Оборудование для исследований.....	33
2.1.1. Общеклинические исследования.....	34
2.2. Гематологические исследования.....	35
2.3. Биохимические исследования.....	36
2.4. Коагулологические исследования.....	37
Глава 3. Полученные результаты и их обсуждение.....	39
3.1. Результаты исследования уровня глюкозы крови и их анализ.....	39
3.2. Результаты исследования уровня глюкозы, кетоновых тел и удельного веса мочи.....	41
3.3. Результаты исследования уровня ферментов АСТ и АЛТ, общего билирубина и их анализ.....	44
3.4. Результаты исследования белкового обмена и анализ полученных данных.....	47
3.5. Результаты исследования липидного обмена на фоне гипергликемии.....	48

3.6. Результаты исследования показателей системы гемостаза и их анализ.....	49
3.7. Результаты исследования системы красной и белой крови на фоне гипергликемии.....	56
4. Выводы.....	63
5. Список использованной литературы.....	64
6. Приложение	

ВВЕДЕНИЕ

Гипергликемия является выраженным нарушением регуляции углеводного обмена, одной из причин развития тяжелых заболеваний организма человека. Среди них наиболее значимым является сахарный диабет второго типа, представляющий совокупность метаболических нарушений, которые имеют различную природу, но все они являются следствием постепенного развития в организме хронической гипергликемии [Старкова, 2015].

Изучение сведений о механизмах развития устойчивой гипергликемии показывает, что её проявление сопряжено с отклонением от физиологических норм всех видов обмена веществ (углеводов, жиров и белков) и энергии из-за изменения чувствительности клеток организма к глюкозе, которая в условиях нормы является для них основным источником энергии [Дедов, 2006].

Нарушения внутрисекреторной функции поджелудочной железы и активности её ключевого гормона – инсулина, непосредственно ведут к выраженным и наиболее часто наблюдаемым последствиями сахарного диабета – поражениям, дисфункциям и патологическим изменениям функций органов и систем, которые особенно чувствительны к сдвигам уровня глюкозы в крови – кровеносных сосудов, глаз, почек, нервов и миокарда сердца [Мазовецкий, 1987].

Приспособительные реакции обеспечивают организму возможность адекватно реагировать на изменения его внутренней и окружающей среды. Среди них выделяют так называемые компенсаторно-адаптивные реакции, механизмы которых включаются в тех случаях, когда нарушение определенной структуры или функции организма обеспечивает её поддержание за счет усиленной работы других структурно-функциональных образований организма [Воложин, 1998]. Система крови, реализуя в организме

разнообразные функции, наиболее быстро реагирует на любые отклонения показателей гомеостаза от нормы и, тем самым, запускает механизмы адаптивно-компенсаторных реакций организма [Тель, 2001].

Ведущим фактором риска развития гипергликемии и далее сахарного диабета 2 типа является неправильное питание – высокое потребление продуктов из рафинированной муки, насыщенных жиров, напитков с добавлением сахаров, красного мяса, углеводных продуктов с высоким гликемическим индексом. Этому нездоровому питанию способствуют урбанизация жизни, глобализация торговли, рост производства и доступность нездоровых продуктов питания, их высокая калорийность (так называемая «западная диета»), часто агрессивная реклама этих продуктов.

Устойчивая гипергликемия определяет развитие в организме острых осложнений в течение не только нескольких часов, но и нескольких дней, например:

1) диабетический кетоацидоз – тяжёлое состояние, развивающееся вследствие накопления в крови кетоновых тел продуктов промежуточного метаболизма жиров [Михалкина, 2003];

2) гипогликемия, обусловленная резким снижением уровня гликемии ниже 4,4 моль [Михалкина, 2003];

3) гиперосмолярная кома, вызывающая обезвоживание организма;

4) сдвиг клиренса глюкозы в моче. В норме глюкоза отсутствует во вторичной моче, но на фоне гипергликемии наблюдается её появление в моче [Шамхалова, 2006];

5) психосоциальная дисфункция у больных и членов их семей [Смолянский, 2006].

В совокупности эти негативные нарушения определяют актуальность изучения воздействия высокой углеводной нагрузки на все физиологические процессы в организме у лиц, находящихся на разных этапах онтогенеза [Николаев, 1987].

В связи с этим проявление устойчивой гипергликемии может служить моделью для изучения активации на тканевом и клеточном уровнях компенсаторно-адаптивных реакций системы крови [Лимарева, 1998].

Цель магистерской диссертации: изучить особенности изменений параметров клеточного и биохимического состава системы крови на фоне выраженной гипергликемии, вызванной обострением сахарного диабета 2 типа у лиц зрелого возраста.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи:**

1. Определить у мужчин и женщин, находящихся на стационарном лечении в стадии обострения сахарного диабета 2 типа, динамику изменения против физиологической нормы:

- физико-химических показателей крови и мочи;
- количественных показателей красной крови;
- биохимических показателей белкового, углеводного и липидного обменов.

2. Обосновать механизмы, которые определили особенности развития гипергликемии, вызывающей обострение сахарного диабета 2 типа и активирующей защитно-компенсаторные реакции на её фоне.

Магистерское исследование выполнено в течение 2015 года – с января по декабрь месяцы включительно, на базе клинико-диагностической лаборатории ОГБУЗ «Белгородская ЦРБ» Белгородского района с согласия сотрудников и пациентов данного лечебного учреждения. В условиях стационара дневного пребывания больных с диагнозом сахарный диабет второго типа были обследованы 52 мужчины и 56 женщин.

Научная новизна исследования

Впервые у мужчин и женщин зрелого возраста с хроническим заболеванием сахарный диабет 2 типа, проживающих в сельской местности на территории Белгородской области, изучена реактивность системы красной

крови на устойчиво высокий уровень гипергликемии – более 10 ммоль/л, по гематологическим и биохимическим показателям. Установлено выраженное проявление компенсаторно-адаптивных реакций у обследованных на устойчивый гипергликемический эффект, который у них обусловлен толерантностью клеток к глюкозе. К ним следует отнести:

1) переход клеток организма на иные источники питания – использование в качестве основных источников энергии триглицеридов и белков, о чем свидетельствует повышение против нормы средние и индивидуальные значения показателей глюкозурии и кетонурии;

2) повышенное содержание ферментов АЛТ против АСТ в крови у 38% мужчин и 19% женщин указывает на нарушение у них функций печени – цитолиза гепатоцитов;

3) индивидуальные значения ПТИ у 15,4% мужчин и 38,5% женщин, превышая физиологические нормы, указывают на гиперкоагуляцию и склонность к тромбообразованию;

4) повышение средних показателей МСН и МСНС у мужчин и женщин против физиологической нормы соответствует адаптивно-компенсаторной реакции красной системы крови, направленной на стабилизацию энергетических потребностей организма.

Рекомендации по применению результатов работы.

Полученные результаты магистерского исследования могут быть включены в учебный процесс и использованы как дидактический материал для изучения соответствующих вопросов учебных дисциплин «Экологическая физиология», «Физиология адаптивных процессов», «Физиология крови», «Физиология эндокринной системы» на отделениях очной и очно-заочной форм обучения по направлению 06.04.01 Биология, магистерская программа «Физиология человека и животных».

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гипергликемия и защитно-компенсаторные реакции

1.1. Физиологическая роль глюкозы в организме

С физиологической точки зрения основным энергетическим веществом для всех клеток организма человека является моносахарид – глюкоза. Кислородное окисление глюкозы в митохондриях, являясь экзотермической реакцией, направлено на аккумуляцию химической энергии в макроэргических связях молекул АТФ. Заключенная в них энергия необходима для реализации разнообразных функций организма [Телль, 2001].

Углеводы являются основным источником энергии для организма. Они занимают важное место в пищевом рационе человека, обеспечивая 50-60% его энергоценности. Углеводы, являясь продуктом фотосинтеза, входят в состав всех пищевых продуктов растительного происхождения, так как в каждой клетке растений на их долю приходится до 90% от массы клетки. Поскольку углеводы в пищевых продуктах животного происхождения содержатся в незначительных количествах – не более 1-2%, то наибольшее их количество представлено в печени животных и в небольшом количестве в скелетных мышцах, в виде сложного запасного полисахарида гликогена. Избыток углеводов, поступивший в организм, используется на синтез запасных жиров [Спирина, 2001].

Клетчатка, или целлюлоза, и пектины относятся к углеводам, без них нормальное пищеварение практически невозможно. Клетчатка стимулирует двигательную функцию кишечника, желчеотделение, формирует каловые массы, нормализует деятельность полезной кишечной микрофлоры, создает чувство насыщения, способствует выведению из организма многих вредных веществ, избавляет организм от избытка неусвоенных в кишечнике пищевых компонентов, например, холестерина. Аналогичными свойствами обладают

пектины. Чрезмерное потребление клетчатки ведет к снижению усвояемости почти всех питательных веществ и диареем. Длительный недостаток в питании клетчатки и пектинов способствует развитию хронических запоров, геморроя, дивертикулов, полипов и рака толстой кишки, и является одним из факторов риска атеросклероза, сахарного диабета, желчекаменной болезни [Козинец, 2000].

Длительный недостаток углеводов в питании вызывает серьезные нарушения в организме, в том числе обмена жиров, повышенный расход белков пищи и тканевых белков. В условиях длительного голодания этот процесс клинически проявляется наиболее ярко [Судаков, 1987].

Сахар дает нам чувство насыщения и таким образом подменяет более питательную пищу, ослабляет организм человека и его способность противостоять болезням.

Избыточное поступление сахаров в организм нарушает процессы жизнедеятельности. Экспериментально доказано, что:

1) введение глюкозы в кровь организма подавляет на пять часов способность лейкоцитов к фагоцитированию, то есть угнетает проявление иммунных защитных реакций на клеточном уровне;

2) наличие корреляции между избыточным потреблением дисахаридов и восемью видами рака – рака ободочной кишки, прямой кишки, поджелудочной железы, груди, яичников, простаты, почек, мозга;

3) нарушение процесса пищеварения, в том числе в желудке;

4) зависимость между повышенным употреблением дисахаридов и коронарными заболеваниями;

5) изменение интенсивности метаболизма углеводов представляет собой значительный фактор риска, способствующий развитию сердечнососудистых заболеваний;

6) избыточное употребление сладостей приводит к нарушениям менструального цикла и другим гинекологическим проблемам;

7) усиленное размножение и рост колоний бактерий, дрожжей и паразитов, которые ослабляют иммунную систему человека, и, интенсивно потребляя углеводы, они повышают потребность человека в сладком, определяя возникновение порочного круга.

Нарушенная толерантность к глюкозе является одним из существенных факторов, которые ведут к возникновению инсулиннезависимого диабета. Хотя, следует отметить, что снижение потребления полисахаридов (например, сахара и крахмала) способствует устранению вторичных проявлений диабета — нейропатии и слепоты [Мазовецкий, 1987].

Страсть человека к сладкому ведет к развитию гипогликемии, которая является следствием нарушения работы надпочечников и поджелудочной железы. Употребление легко усвояемых сахаров, способствует быстрому повышению в крови уровня глюкозы. Это активизирует химические рецепторы поджелудочной железы, которые раздражаясь, стимулируют выброс в кровь инсулина. Данный гормон соответственно влечет за собой быстрый спад уровня глюкозы в крови, вызывая ряд последующих за этим эмоциональных явлений – плохое настроение, депрессия, страхи. Достижения молекулярной медицины показали, что спады настроения, связанные с гипогликемией, стимулируют развитие алкоголизма. При этом люди начинают потреблять все большие и большие объемы спиртного, а это повышает уровень сахара в крови и позволяет человеку бороться со страхом. Однако, как показывают многие исследования отдаленные последствия этого пристрастия самые негативные [Дедов, 2006].

1.2. Механизмы развития гипергликемии

Показатель гликемия отражает уровень углеводного обмена в плазме крови, её соответствие физиологической норме и отклонения от неё. В норме

содержание глюкозы в плазме крови составляет 3,5-5,5 ммоль/л [Кишкун, 2012].

При различных нарушениях углеводного обмена могут развиваться как состояния гипергликемии с повышением содержания глюкозы в плазме крови выше 5,5 ммоль/л, так и гипогликемии, для которой характерно снижение гликемии менее 3,3 ммоль/л. Её концентрация различна в плазме, цельной крови, венозной и капиллярной. Этот факт учитывается при проведении диагностики – определенного вида и режима выполнения проб. Так, взятие пробы крови на гликемию проводится в состоянии натощак – утром после не менее чем 8-часового голодания; через 2 ч после глюкозной нагрузки глюкозотолерантного теста [Меньшиков, 2009].

Различают несколько причин, определяющих развитие гипогликемии, её двух основных форм – физиологической и патологической.

- 1) физиологически недостаточное поступление глюкозы в кровь;
- 2) ускоренный процесс выведения глюкозы из крови;
- 3) комбинация этих двух факторов [Фадеев, 2009].

К основным причинам возникновения физиологической гипогликемии относят:

- 1) тяжелую и длительную физическую нагрузку (работу);
- 2) продолжительное умственное напряжение;
- 3) интенсивную лактацию у кормящих женщин;
- 4) компенсаторный выброс в кровь инсулина в ответ на проявление в организме алиментарной гипергликемии [Дедов, 2006].

Проявление патологической гипогликемии связано с резким усилением секреции инсулина поджелудочной железой – гиперинсулинизм. Она часто наблюдается у лиц с сахарным диабетом и обусловлена передозировкой инсулина в процессе лечения. Хорошо известны и основные причины её проявления – развитие аденомы островковых клеток поджелудочной железы (инсулома), аденома или карцинома данной железы, которая поражает α -

клетки островков Лангерганса, регулирующих механизм секреции гормонов – глюкагона и гастрина [Козинец, 2000].

Развитие патологической гипогликемии без проявления процесса гиперинсулинизма обусловлено:

- 1) патологией почек, вызывающей снижение порога для глюкозы, что приводит к потере глюкозы с мочой;
- 2) механизмом нарушения всасывания глюкозы;
- 3) острыми и хроническими гепатитами, которые угнетают процесс синтеза гликогена и глюконеогенеза;
- 4) снижением секреторной функции надпочечников, определяющей дефицит в крови глюкокортикоидов;
- 5) гипоавитаминозом противоневротического витамина В₁; галактоземиях и при печеночных формах гликогенозов;
- 6) голоданием или недостаточным, или неполноценным питанием (алиментарная гипогликемия);
- 7) недостаточностью механизмов регуляции углеводного обмена у новорожденных [Стаценко, 2002].

Физиологические гипергликемии проявляются чаще, чем гипогликемии и являются быстро обратимыми состояниями. В физиологических условиях стабилизация уровня глюкозы в крови идет без внешних корректирующих воздействий. К ним относятся:

1. Алиментарная гипергликемия обусловленная приемом углеводной пищи и быстрым всасыванием ее из кишечника. Механизм активации секреции гормона β -клетками островков Лангерганса поджелудочной железы активируется рефлексивно с момента раздражения пищей рецепторов языка и слизистой полости рта, достигая максимума при перемещении пищевого химуса в двенадцатиперстную кишку и тонкий кишечник. Установлено, что по времени максимальная концентрация в крови инсулина и глюкозы совпадают. Функционально инсулин обеспечивает поступление глюкозы в клетки

организма, тем самым он стабилизирует уровень её содержания и ограничивает проявление гипергликемии в крови и ее выведение из организма в составе мочи.

2. Гипергликемический эффект может иметь и нейрогенную природу, являясь ответом на эмоциональный стресс. Его проявление вызвано резким выбросом в кровь катехоламинов из мозгового вещества надпочечников [Теппермен, 1989].

Причинами развития патологической гипергликемии являются

1) нейроэндокринные расстройства, которые связаны с нарушением функций эндокринных желез из-за органических поражений и развития опухолей гипофиза, коры надпочечников, при гипосекреции инсулина и глюкагона, нарушение соотношения их уровня в крови и соответственно гипо- и гипергликемического эффектов;

2) расстройства мозгового кровообращения и органические поражения центральной нервной системы;

3) нарушения функций печени, пораженной циррозом;

4) судорожные состояния, вызванные расщеплением гликогена мышц и образованием молочной кислоты, которая идет на синтез глюкозы в печени;

5) воздействие наркотических веществ (морфин, эфир), которые усиливают активирующие эффекты симпатической нервной системы [Потемкин, 1999].

1.3. Метаболические эффекты глюкозы

Согласно материалам Всемирной организации здоровья уровень глюкозы натощак в плазме венозной крови у взрослого человека в норме равен 6,4 ммоль/л, в цельной венозной крови – 5,6 ммоль/л и в цельной капиллярной крови – 5,6 ммоль/л [Кишкун, 2012].

С возрастом уровень гликемии в крови человека увеличивается и в среднем составляет 4,4-6,4 ммоль/л и даже выше – до 8,0 ммоль/л у практически здоровых лиц пожилого возраста (60-90 лет) [Меньшиков, 2009].

Определение уровня содержания глюкозы в крови проводят с использованием глюкозооксидазного метода утром в состоянии натощак и сравнивают с физиологической нормой, составляющей 3,3-5,5 ммоль/л [Инструкция для определения глюкозы, 2015]. Если уровень глюкозы в плазме венозной крови натощак выше, чем 15 ммоль/л, то он характеризует проявление в организме тяжелой системной патологии – заболевания «сахарный диабет» [Патофизиология крови, 2000].

При сахарном диабете уменьшается образование инсулина в β -клетках островков Лангерганса поджелудочной железы. С этим связано снижение её секреторной функции, то есть проявление гипофункции по данному гормону. Недостаточность инсулина может быть абсолютной или относительной. При абсолютной недостаточности, как правило, снижается секреция инсулина. При относительной инсулиновой недостаточности содержание инсулина в крови обычно не снижается, но он, связываясь с белком, переходит в малоактивную его форму или усиленно разрушается ферментами печени [Дедов, 2008].

Роль инсулина в организме заключается в регуляции углеводного обмена и, прежде всего, активности фермента гексокиназы, определяющей метаболические превращения глюкозы в организме. Инсулин, снижая уровень гликемии, способствует образованию и накоплению в печени сложного полисахарида – гликогена, играющего большую роль в энергетическом балансе углеводов [Спирина, 2001].

Глюкоза рассматривается как основной субстратный и регуляторный элемент энергетического гомеостаза наряду с жирными кислотами, инсулином и системой гормон-роста/инсулиноподобные факторы роста. Установлено, что в возрасте 30-40 лет выявляются, а затем и прогрессируют признаки снижения чувствительности гипоталамических центров, регулирующих секрецию

соматотропного гормона (СТГ), к торможению их активности глюкозой. На определенном этапе это способствует гиперпродукции СТГ, что усиливает его влияние на периферические ткани, подавляя возможность их клеток использовать глюкозу в качестве источника энергии и, тем самым, данный гормон способствует развитию инсулинорезистентности [Фадеев, 2009].

В организме в условиях недостаточной утилизации глюкозы основным энергетическим субстратом становятся свободные жирные кислоты. Избыточное их использование порождает вторичное (свойственное пожилому возрасту) угнетение секреции СТГ (соматопаузу), ведущее к дальнейшему накоплению жира в верхней части туловища и утрате процента активной мышечной массы, так называемой «тощей массы» в теле. В совокупности этот процесс происходит с параллельно развивающейся гиперлипидемией, определяя угнетение иммунитета на клеточном уровне – метаболической иммунодепрессии. Данное нарушение функций иммунной системы является компонентом синдрома гормонально-метаболической предрасположенности к развитию злокачественных новообразований и другой, связанной с возрастом патологией. В частности этот метаболический синдром рассматривается как предшественник таких тяжелых неинфекционных заболеваний как гипертензия, атеросклероз, сахарный диабет 2 типа. [Петрейкина, 2005].

Стойкий гипергликемический эффект обуславливает сдвиги углеводного обмена, прежде всего, у лиц в возрасте 40 лет и более старшем возрасте. Поэтому для данной возрастной группы населения наиболее характерно постепенное латентное развитие сахарного диабета 2 типа. Оно отмечено нарушением физиологического действия инсулина и его секреции, то есть проявлением эффекта инсулинорезистентности

Диагностика данной патологии затруднена, так как она развивается часто без симптомов или на фоне их слабой выраженности. Установлено, что её развитие чаще всего развивается у лиц, имеющих избыточную массу тела против физиологической нормы. Скрытое и слабо выраженное развитие

высокого уровня гипергликемии стимулирует медленное прогрессирование нарушений углеводного обмена. Этот процесс, вяло протекающий без симптомов, позволяет организму повысить его устойчивость и адаптацию к длительно действующему на весь организм эффекту гипергликемии. Постепенному проявлению симптомов патологии способствует выраженный в крови уровень С-пептида, аутоантител к β -клеткам поджелудочной железы, которые непосредственно продуцируют инсулин [Дедов, 2006].

На начальном этапе развития сахарного диабета 2 типа в поджелудочной железе выявляются морфологически нормальные размеры β -клеток с большим содержанием в них секреторных гранул, но может отмечаться и их гипертрофия. Этим данная форма патологии отличается от развития сахарного диабета I типа, который является аутоиммунным заболеванием, связанным с абсолютным дефицитом инсулина из-за деструкции β -клеток поджелудочной железы.

Нарушение физиологических функций инсулина может быть связано с нарушением последовательности аминокислот в молекуле инсулина в процессе его секреции и превращения его неактивной формы – проинсулина, в активную. Низкая регуляторная активность дефектного инсулина в обоих случаях является причиной развития в организме гипергликемии. Секреция инсулина может нарушаться вследствие патологии развития β -клеток при неадекватном внутриутробном и постнатальном питании или при длительно существующей в организме глюкозотоксичности, которая поддерживает секреторные дефекты секреции инсулина. Её нарушения могут быть обусловлены и наличием генетических дефектов, нарушающих механизм секреции физиологически полноценного гормона [Фадеев, 2009].

Наблюдаемое в организме нарушение поглощения периферическими тканями, прежде всего, печени, мышечной и жировой циркулирующей в крови глюкозы относится к проявлению периферической инсулинорезистентности. Доказано, что ее развитие в большей мере сопряжено с дефектами

инсулиновых рецепторов – уменьшением их количества, аффинности или сродства к инсулину. Кроме того этот патологический процесс может быть обусловлен и патологическими нарушениями в структуре и функциях транспортеров молекул глюкозы [Телль, 2001].

Согласно данным литературы, количество инсулиновых рецепторов снижено при болезнях (ожирении, сахарном диабете 2 типа, болезни Иценко-Кушинга акромегалии), приеме противозачаточных препаратов, лечения с применением глюкокортикоидов [Спирина, 2001].

Оптимальное функционирование системы транспортеров глюкозы определяет механизм её проникновения через плазматическую мембрану в клетки. В организме человека действуют до восьми транспортеров глюкозы. Так, связывание инсулина с α -субъединицей рецептора на клеточной мембране, приводит к автофосфорилированию β -субъединицы. Этот процесс определяет передачу импульса внутрь клетки – активируется система киназ и происходит транслокация транспортера глюкозы GLUT-4 в клеточную мембрану. Этот процесс обеспечивает физиологическое проникновение глюкозы внутрь клетки по градиенту концентрации путем диффузии, что не требует дополнительной энергии. В почках перенос глюкозы происходит против градиента концентрации и сопряжен с энергозатратами [Шамхалова, Клефортова, Трубицина, 2006].

1.4. Инсулин и его физиологические эффекты

Поджелудочная железа – непарный орган пищеварительной системы. По своему строению поджелудочная железа относится к сложным альвеолярным железам. В ней различают две составные части: главная масса железы имеет внешнесекреторную функцию, выделяя свой секрет через выводные протоки в двенадцатиперстную кишку, меньшая часть железы в виде так называемых

поджелудочных островков, относится к эндокринным образованиям, выделяя в кровь инсулин, регулирующий содержание сахара в крови [Привес, 2009].

Экзокринная (внешнесекреторная) функция обеспечивает секрецию панкреатического сока, содержащего бикарбонаты и ферменты, необходимые для переваривания пищи. Эндокринная функция поджелудочной железы определяется способностью её 4 типов клеток, расположенных в области панкреатических островков, секретировать гормоны:

- 1) глюкагон продуцируют клетки типа А (содержание в островке 20%);
- 2) инсулин продуцируют клетки типа В (содержание в островке 75%);
- 3) соматостатин продуцируют клетки типа D (содержание в островке 3-5%);
- 4) панкреатический полипептид продуцируют клетки типа PP, их содержание в островке менее 2% [Стаценко, 2002].

В 1921 году Бантинг и Бест выделили белок-гормон инсулин, который в последующем был использован для лечения больных с гипергликемией. За эти работы ученые были удостоены Нобелевской премии. Сама химическая структура молекулы инсулина была расшифрована значительно позднее в 1953 году Сангером [Смолянский, Лифляндский, 2006].

Синтез инсулина в организме происходит следующим образом: в результате рибосомального синтеза на мембранах шероховатой эндоплазматической сети образуется пропроинсулин, состоящий из 109 аминокислотных остатков. Далее в ретикулюме, от него отщепляется гидрофобный фрагмент, состоящий из 23 аминокислотных остатков, и остается проинсулин. Везикула с проинсулином переносится в аппарат Гольджи. Мембранная протеиназа выделяет из молекулы проинсулина фрагмент 31-65. В результате образуется молекула инсулина, непосредственно в аппарате Гольджи ранее сформированная везикула захватывает инсулин, и ионы цинка. Везикула перемещается к плазматической мембране, контактирует с ней и выделяет свое содержимое – инсулин, который выбрасывается в межклеточное

пространство. Синтез молекулы происходит за 1-2 минуты, транспорт проинсулина от ретикулума до аппарата Гольджи занимает 10-20 минут, а «созревание» везикул, несущих инсулин от аппарата Гольджи до плазматических мембран, происходит за 1-2 часа [Потемкин, 1999].

Активные молекулы инсулина состоят из 51 аминокислотного остатка. имеют третичную структуру и их активный центр содержит цинк. Для них свойственна видовая специфичность. По аминокислотному составу к молекуле инсулина человека наиболее близка молекула инсулина свиньи.

Секреторная активность β -клеток островков Лангерганса повышается под влиянием парасимпатических воздействий (блуждающий нерв), а также при участии таких веществ как глюкоза, аминокислоты, кетоновые тела, жирные кислоты, гастрин, секретин, холецистокинин-панкреозимин, которые оказывают свой эффект через соответствующие специфические рецепторы β -клеток. Кроме этого, стимулирующим влиянием на освобождение и секрецию инсулина обладает глюкагон, так как глюкагон увеличивает продукцию глюкозы печенью в результате распада гликогена и активации глюконеогенеза [Стаценко, 2002].

Подавляют секрецию и освобождение инсулина симпатические воздействия, гипогликемия, никотиновая кислота, соматостатин, адреналин и норадреналин, которые активируют β -клетки поджелудочной железы, воздействуют на их β -адренорецепторы.

Инсулиновые рецепторы находятся на поверхностной мембране клеток-мишеней. При взаимодействии инсулина с рецептором образуется комплекс «гормон+рецептор»; он погружается в цитоплазму, где под влиянием лизосомальных ферментов расщепляется; свободный рецептор вновь возвращается на поверхность клетки, а инсулин оказывает свой эффект. Основными клетками-мишенями для инсулина являются гепатоциты, миокардиоциты, миофибриллы, адипоциты, то есть гормон воздействует на метаболизм глюкозы преимущественно в печени, сердце, скелетных мышцах и

жировой ткани. Инсулин увеличивает примерно до 20 раз проницаемость плазматических мембран клеток-мишеней для глюкозы и ряда аминокислот, тем самым он способствует утилизации этих веществ в клетках-мишенях. Снижение в крови уровня гликемии сопровождается возрастанием синтеза запасного углевода гликогена в мышцах и печени, синтеза белков в печени, мышцах и других органах, синтез жиров в печени и жировой ткани [Николаев, 1987].

Основное физиологическое воздействие инсулина направлено на усиление транспорта глюкозы через мембрану клетки (скорость поступления глюкозы внутрь клетки увеличивается в 20-40 раз). Механизм транспорта глюкозы через мембрану клетки осуществляется с помощью таких белков-транспортеров, как Na^+ -глюкозный котранспортер и 6-изоформ собственных транспортеров молекул глюкозы. Практически во всех тканях организма физиологический эффект инсулина обусловлен его влиянием на обмен углеводов, жиров, белков и электролитов.

Инсулин стимулирует в клетках процессы, метаболизма, включая утилизацию и «складирование» поступающих в организм пищевых веществ. Он участвует в процессах роста и дифференцировки тканей, проявляет анаболические и антикатаболические свойства в отношении углеводов, жиров и аминокислот. Инсулин контролирует уровень глюкозы в кровотоке и ее утилизацию инсулинзависимыми тканями. К инсулиннезависимым тканям относятся ЦНС, форменные элементы крови, артериолы, глаз и хрусталик [Мазовецкий, Великов, 1987].

Через 1-2 часа после еды в крови повышается концентрация глюкозы и других веществ, которые всасываются в нее из полости кишечника. Насыщение крови питательными веществами стимулирует синтез и секрецию инсулина в кровь, который определяет транспорт глюкозы в клетки тканей, создавая в них условия для синтеза сложных запасных соединений – гликогена в печени и в мышцах, а жиров – в жировом депо.

В состоянии покоя натошак содержание инсулина в крови снижается. Этот процесс инициирует гликогенолиз и глюконеогенез в печени, которая начинает продуцировать и высвобождать глюкозу. При этом 75% молекул глюкозы является результатом гликогенолиза – синтеза её из жиров, и 25% – глюконеогенеза – из безазотистых остатков аминокислот [Стаценко, 2002].

Большая часть инсулина метаболизируется в печени. Инсулин после связывания с рецепторами гепатоцитов подвергается протеолизу, что ведет к его инактивации [Петрейкина, 2005].

Таким образом, инсулин регулирует уровень глюкозы в крови, предотвращает ее повышение в организме и связанные с ней системные нарушения процессов жизнедеятельности.

1.5. Системные эффекты системы крови на фоне гипергликемии

Кровь является основной транспортной системой организма, которая направленно создает необходимые условия для функционирования всех систем организма. Непрерывно циркулируя по системе кровообращения, она постоянно вступает в контакт с органами и тканями, обеспечивая их кислородом и питательными веществами. Удаляет продукты метаболизма к выделительным структурам организма, участвует в регуляторных процессах поддержания физико-химического, температурного, биохимического и клеточного гомеостаза, деятельности различных органов и их систем в соответствии с условиями среды или потребностями самого организма [Спирина, Овчарникова, 2001].

С кровью связаны механизмы обеспечения неспецифической и специфической сопротивляемости организма, адаптации к различным статусам и функциональным нагрузкам – психофизиологическим и физическим. Изучение физико-химических, биохимических и иммунологических её свойств расширяет представления специалистов о реакциях её белой и красной крови

на любые сдвиги параметров гомеостаза, в том числе и уровень гипергликемии [Меньшиков, 1987].

Основными компонентами системы крови, как жидкой соединительной ткани, являются:

- 1) форменные элементы эритроциты, лейкоциты, тромбоциты,
- 2) плазма – водный раствор органических (белки, жиры, углеводы, ферменты, гормоны, витамины), и неорганических (макро- и микроэлементы) веществ, продуктов клеточного метаболизма [Дудел, 1985].

Основными компонентами красной системы крови являются эритроциты – высокоспециализированные клетки, реализующие дыхательную функцию. Анализ взаимосвязи структуры эритроцитов с их функций свидетельствует, что они успешно реализуют свои функции, заключающиеся в транспорте кислорода из легких в ткани и двуокиси углерода – от тканей к легким [Судаков, 1987].

Эритроцит имеет форму двояковогнутого диска, что обеспечивает наибольшую площадь поверхности для контакта с кислородом и углекислым газом и их проникновением в клетки. Диаметр эритроцита составляет 7,5-8 мкм, однако особенности клеточного скелета и структуры мембраны позволяют ему претерпевать значительную деформацию и проходить через капилляры с просветом, имеющим диаметр в 2-3 мкм. Такая способность к деформации обеспечивается за счет взаимодействия между белками мембраны и цитоплазмы. Нарушения структуры этих белков ведут к морфологическим и функциональным нарушениям эритроцитов [Бондарь, 2003].

Зрелый эритроцит является высокоспециализированной клеткой. Он в процессе развития утрачивает цитоплазматические органеллы и ядро, утрачивая способность к синтезу белков и липидов, окислительному фосфорилированию и поддержанию реакций цикла трикарбоновых кислот. Поэтому для него характерен процесс получения большей часть энергии через анаэробный путь с накоплением её в макроэргических связях АТФ. В

зависимости от степени реализации окислительной стимуляции через гексозомонофосфатный шунт отводится соответствующее количество глюкозы с образованием восстановленных соединений (глутатион и никотинамид-адениндинуклеотидфосфат – НАДФ·Н) [Старкова, 1996].

Приблизительно 98% массы белков цитоплазмы эритроцита составляет кровяной пигмент – гемоглобин (Hb), молекула которого связывает и транспортирует кислород. Гемоглобин представляет собой гетеродимерный тетрамер – из четырех полипептидных цепей с определенной четвертичной конфигурацией. Варианты гемоглобина обусловлены сочетанием тех или иных доменов. У взрослого человека 95% составляет гемоглобин А, состоящий из двух цепей глобина типа α и двух цепей типа β , соединенных с гемом – комплексным соединением протопорфирина с атомом двухвалентного железа. Ионы 2-х валентного железа играют ключевую роль в функциональной активности гемоглобина. Они представляют простетическую группу, которая определяет функциональную активность эритроцитов. Одна из валентностей атома железа реализуется при связывании гема с белком-глобином, ко второй присоединяется кислород или другие леганды, например, вода, углекислый газ [Дудел, 1985].

Глобин и простетическая группа постоянно оказывают друг на друга сильное влияние. Глобин изменяет свойства гема, определяя его способность к связыванию молекул кислорода, а гем обеспечивает устойчивость глобина к действию физических факторов, расщеплению ферментами и т.д. Каждый тетрамер гемоглобина может обратимо связывать и транспортировать не более четырех молекул кислорода. [Роуз, 2000].

В норме содержание эритроцитов в крови взрослого составляет – у мужчин $4,0-5,5 \cdot 10^{12}/л$, у женщин – $3,7-5,1 \cdot 10^{12}/л$ [Козинец, 2000]. При этом среднее количество гемоглобина в крови составляет 140 г/л, но в организме мужчин его содержание выше – 130-160 г/л, а у женщин он несколько снижен

– 115-145 г/л, что обусловлено меньшей у них массой тела и соответственно более низким уровне потребности их организма в энергии.

Количество гемоглобина в эритроцитах определяет кислородную емкость крови – количество кислорода, которое может связать её 1 см³. В одном эритроците здорового человека содержится 29-35 пг гемоглобина, что соответствует цветному показателю (ЦП) 0,87-1,05. Для расчета цветного показателя используют формулу: $(Hb \text{ (г/л)} * 3) / A$, где A – 3 первые цифры числа эритроцитов в миллионах [Бондарь, 2003].

Другим важным показателем системы крови является скорость оседания эритроцитов (СОЭ). Она является качественной пробой, которая позволяет оценивать общее состояние организма, наличие в нем патологии и, прежде всего, воспалительных процессов. При оседании эритроциты накладываются друг на друга, образуя так называемые «монетные столбики». Скорость оседания эритроцитов зависит от свойств плазмы и для неё характерны половозрастные особенности. Повышение СОЭ обычно связано с повышением в плазме крови содержания глобулинов. В норме СОЭ у мужчин составляет 2-10 мм/час; у женщин – 2-15 мм/час [Камышников, 2015].

Другой группой клеток крови являются лейкоциты, которые имеют ядро и цитоплазму. Их особенностью является непостоянная форма тела и способность к фагоцитозу. Все группы лейкоцитов обладают амебоидной подвижностью. В эту разнородную группу клеток входят основные эффекторы иммунных и воспалительных реакций. Участвуя в возникновении и развитии любой природы воспалительной реакции, их физиологическая активность наиболее значима при патологическом воспалении в организме, например при аутоиммунных заболеваниях.

Лейкоциты при наличии определенных раздражителей, обладая положительным хемотаксисом, способны выходить через эндотелий капилляров за их пределы в межклеточное пространство и устремляться к источнику раздражения – бактериям и вирусам, мутантным и поврежденным

клеткам данного организма, инородным телам или комплексам антиген-антитело [Лимарева, 1998].

Лейкоциты представляют собой гетерогенную группу клеток, которые можно классифицировать по происхождению (миелоидные или лимфоидные) и по их функции (фагоциты или иммуноциты). В клинической практике лейкоциты обычно группируют в соответствии с морфологией клеточного ядра (полиморфно-ядерные или мононуклеарные) или по наличию цитоплазматических включений (гранулоциты) [Воложин, 1998].

В зависимости от того, содержит ли цитоплазма зернистость или она однородна, лейкоциты делятся на два класса: гранулоциты (зернистые) и агранулоциты. К группе гранулоцитов относятся нейтрофилы (юные, палочковидные, сегментоядерные), эозинофилы и базофилы. Агранулоциты представлены в крови Т- и В-лимфоцитами и моноцитами системы красной крови [Телль, 2001].

2. Физиологические эффекты сахарного диабета

2.1. Факторы и причины развития разных форм сахарного диабета

В современной Международной классификации болезней [МКБ-10; 1992] сахарный диабет описывается, как гетерогенный синдром, обусловленный абсолютным (диабет типа 1) или относительным (диабет типа 2) дефицитом инсулина, который в начале вызывает нарушение углеводного обмена, а затем всех видов обмена веществ, что, в конечном итоге, приводит к поражению всех функциональных систем организма». Согласно данному определению сахарный диабет 2 типа – системное заболевание, группа метаболических (обменных) заболеваний, характеризующихся гормональной дисфункцией и нарушением механизмов регуляции различных функций организма на разных структурно-функциональных уровнях его организации, в

том числе и тканевом, представленном системами красной и белой крови [Потемкин В. В., 1999]. Он характеризуется нарушением процессов обмена веществ (прежде всего углеводов) и сопровождается повышением уровня содержания глюкозы в плазме крови [Сумароков, 1993].

Этот синдром хронической гипергликемии может быть результатом реализации дефекта процесса секреции инсулина, обусловленного совместным воздействием ряда генетических и экзогенных факторов. [Дедов, 2008; Старкова, 1991].

Недостаток в крови инсулина вызывает устойчивое проявление гипергликемии, которой непосредственно определяет возникновение тяжелых осложнений вплоть до потери трудоспособности. Последствия гипергликемии проявляются в разных органах и системах организма, запуская при этом механизмы компенсаторно-адаптивных процессов, которые направлены на стабилизацию всех процессов жизнедеятельности организма [Корякина, 2002].

Всемирная организация здоровья характеризует сахарный диабет как хронический метаболический синдром, который обусловлен гипергликемией, глюкозурией, кетонурией и связанными с ними нарушениями обмена веществ. Его развитие прямо связано с абсолютной или относительной недостаточностью инсулина в организме. Он приводит к нарушениям углеводного, жирового и белкового обмена, является причиной глубокой дезорганизации внутриклеточного метаболизма на уровне всего организма [Фадеев, 2009].

Анализ классификации сахарного диабета учитывает все основные факторы и причины его возникновения. По данным Всемирной организации здоровья классификация сахарного диабета включает следующие категории:

А. Клинические классы:

1. Сахарный диабет:

- 1) инсулинзависимый – тип I
- 2) инсулинонезависимый – тип II

- а) у лиц с нормальной массой тела
 - б) у лиц с ожирением
2. Сахарный диабет, связанный с недостаточностью питания:
- а) фиброкалькулезный панкреатический диабет;
 - б) панкреатический диабет, вызванный белковой недостаточностью
3. Другие типы сахарного диабета, связанные с определенными состояниями и синдромами:
- заболевания поджелудочной железы;
 - эндокринные заболевания;
 - состояния, вызванные приемом лекарственных препаратов или воздействием химических веществ;
 - аномалии инсулина или его рецепторов;
 - смешанные состояния.
4. Нарушенная толерантность к глюкозе
- у лиц с нормальной массой тела;
 - у лиц с ожирением.
5. Нарушенная толерантность к глюкозе, связанная с другими состояниями и синдромами.
6. Сахарный диабет беременных.

Б. Классы статического риска (лица с нормальной толерантностью к глюкозе, но со значительным риском сахарного диабета).

1. Предшествовавшие нарушения толерантности к глюкозе.

2. Потенциальные нарушения к глюкозе. [Петрова, 2008].

Современная классификация сахарного диабета с учетом десятого пересмотра международной классификации болезней, характеризуя его особенности, отмечает, что:

1. Сахарный диабет 1 типа (деструкция β -клеток поджелудочной железы, обычно приводящая к абсолютной инсулиновой недостаточности):
 - аутоиммунный;

– идиопатический.

2. Сахарный диабет 2 типа (развивается в результате резистентности к инсулину или связан с относительной инсулиновой недостаточностью).

3. Другие специфические типы сахарного диабета:

– генетические дефекты β -клеточной функции;

– генетические дефекты в действии инсулина;

– болезни эндокринной части поджелудочной железы;

– эндокринопатии;

– диабет, индуцированный лекарствами или химикатами;

– инфекции;

– необычные формы иммуноопосредованного диабета;

– другие генетические синдромы, иногда сочетающиеся с диабетом.

4. Гестационный сахарный диабет [Дедов, Мельниченко, 2008].

2.2. Характеристика различных видов сахарного диабета

Сахарный диабет 1-го типа, согласно современным представлениям, это аутоиммунное заболевание, в котором ключевую роль играют изменения гуморального и клеточного звена иммунитета. Это приводит к инфильтрации островков Лангерганса иммунокомпетентными клетками (инсулит) и, в итоге, вызывает разрушение β -клеток с развитием абсолютной инсулиновой недостаточности. В детском возрасте утрата β -клеток происходит быстро и уже к концу первого года заболевания остаточная эндокринная функция поджелудочной железы угасает [Тареев, Сумароков, 1993].

Аутоиммунная деструкция β -клеток поджелудочной железы зависит от многих генетических и влияния факторов внешней среды, но их активность недостаточно изучена. В литературе часто отмечают его сочетание с другими аутоиммунными заболеваниями, такими как болезнь Грейвса, тиреоидит Хасимото, болезнь Аддисона, витилиго и пернициозная анемия [Дудел, 1985].

При развитии заболевания в возрасте старше 25 лет отмечают умеренную гипергликемию натощак, которая нередко при присоединении инфекции или стресса может быстро смениться гипергликемией и кетоацидозом. В то же время у взрослых остаточная функция β -клеток сохраняется достаточно долго, затем секреция инсулина постепенно снижается и развивается абсолютный дефицит инсулина, подтверждаемый низким или неопределяемым уровнем С-пептида в плазме крови. Аутоиммунный диабет обычно начинается в детском и подростковом возрасте, но может развиваться в любом возрасте, в том числе старческом. [Дедов, 2008].

Несмотря на классическое острое начало заболевания, сахарный диабет 1 типа имеет длительный скрытый период, который может продолжаться в течение ряда лет. Согласно Eisenbarth G. S. (1989), выделяют 6 стадий этого процесса:

1 стадия – генетическая предрасположенность, которая реализуется менее чем у половины одноййцевых близнецов и у 2-5% сибсов. Большое значение придают наличию антигенов HLA, особенно II класса. При этом риск развития сахарного диабета 1 типа возрастает многократно.

2 стадия – гипотетический триггерный фактор (вирусная инфекция, стресс, характер питания, химические факторы). Триггерами могут быть как инфекционные (энтеровирусы, ретровирусы, паразиты, бактерии, грибы), так и неинфекционные (глютен, соя, чай, кофе, коровье молоко, воздействие тяжелых металлов, лекарственных средств, ультрафиолетовое излучение).

3 стадия – иммунные нарушения при сохранении нормальной секреции инсулина. Определяют иммунологические маркеры сахарного диабета 1 типа: аутоантитела к антигенам β -клеток (ICA), инсулину (IAA), глутаматдекарбоксилазе (GAD), тирозинфосфотазе островковых клеток.

4 стадия – выраженные иммунные нарушения. Прогрессирующее снижение секреции инсулина вследствие развивающегося инсулита при нормальном уровне глюкозы в плазме крови.

5 стадия – клиническая манифестация, которая развивается после гибели 80-90% массы β -клеток. При этом сохраняется остаточная секреция С-пептида. Наблюдают клинические проявления заболевания.

6 стадия – полная деструкция β -клеток. Течение сахарного диабета становится менее контролируемым. [Дедов, 2008].

Причина развития идиопатического сахарного диабета неизвестна. Но подавляющая часть больных относится к лицами африканского или азиатского происхождения. При данной форме патологии отмечается инсулинопения и склонность к кетоацидозу при отсутствии показателей, которые характерны для аутоиммунного процесса. Эта форма заболевания прямо связана с наследственностью, абсолютная потребность в проведении заместительной инсулинотерапии возникает периодически. В литературе нет данных об аутоиммунном поражении β -клеток [Дедов, 2008].

По степени тяжести протекания сахарный диабет I типа подразделяется на две формы:

1) средняя степень тяжести характеризуется необходимостью в заместительной инсулинотерапии (независимо от дозы) при неосложненном течении сахарного диабета или наличии ретинопатии I, II стадий, нефропатии I стадии, периферической нейропатии без выраженного болевого синдрома и трофических язв.

2) тяжелая степень характерна для инсулинодефицитного диабета в сочетании с ретинопатией II и III стадий или нефропатией II и III стадий, периферической нейропатией с выраженным болевым синдромом или трофическими язвами, нейродистрофической слепотой, энцефалопатией, склонностью к кетоацидозу и повторным коматозным состояниям [Старкова, 1991].

Сахарный диабет 2 типа это форма сахарного диабета, обусловленная резистентностью к инсулину и/или его недостаточностью. В подавляющем

большинстве случаев в начале заболевания, а часто и на протяжении жизни больные не нуждаются в инсулинотерапии по жизненным показаниям.

Для этой формы диабета характерно одновременное существование двух фундаментальных патогенетических факторов: инсулинорезистентность и нарушение инсулиносекретирующей функции β -клеток поджелудочной железы. Чаще всего он возникает у лиц, которым свойственна избыточная масса тела. Установлено, что ожирение является основной причиной развития инсулинорезистентности. Инсулинорезистентность развивается и у лиц с нормальной массой тела, но избыточным абдоминальным отложением жира. Проявление сахарного диабета 2 типа происходит на уровне нормального или даже повышенного уровня инсулина в крови, но для них характерен недостаточный инсулиновый ответ на гипергликемию.

Сниженная секреция инсулина не может компенсировать процесс инсулинорезистентности. Резистентность к инсулину может уменьшиться в результате снижения веса и/или лечения гипергликемии, однако она редко восстанавливается до нормы.

Риск развития сахарного диабета 2 типа увеличивается с возрастом, особенно при постоянно сниженной физической активности. Поэтому он чаще развивается у женщин с сахарным диабетом беременных в анамнезе и у лиц с артериальной гипертензией и дислипидемией. Важен и тот факт, что наследственная предрасположенность отмечается при сахарном диабете 2 типа намного чаще, чем при сахарном диабете 1 типа. Однако генетика этой формы сахарного диабета сложна и пока четко не определена. [Дедов, 2008].

Сахарный диабет 2 типа характеризуется наличием длительной бессимптомной доклинической стадии развития и остается нераспознанным из-за отсутствия каких-либо видимых проявлений. Ко времени установления диагноза более чем у половины пациентов уже имеется одно или более осложнений [Старкова, 1991].

Клинические симптомы, обусловленные выраженной гипергликемией и дефицитом инсулина, обычно сводится к тому же комплексу, что и при сахарном диабете 1 типа: полиурия (в том числе в ночное время), жажда, полидипсия, снижение массы тела, сухость во рту, а также такие неспецифические симптомы, как слабость, утомляемость. Выявляются лабораторные симптомы: гипергликемия, глюкозурия, редко – кетоновые тела в моче в небольших концентрациях [Дедов И.И., 2008].

Наряду с признаками нарушения углеводного обмена нередко отмечают: ожирение или избыточный вес, повышение артериального давления, снижение зрения, неврологические нарушения, микро- и макроангиопатии, кожный зуд, фурункулез, грибковые инфекции, боли в ногах. Нередко сахарный диабет 2 типа впервые выявляют у больных с инфарктом миокарда или инсультом. Иногда его первым проявлением может оказаться гиперосмолярная кома. [Дедов, 2008].

Сахарный диабет II типа по степени тяжести разделяют на 3 формы:

1) легкая форма характеризуется возможностью компенсации диабета только диетой. Вероятно ее сочетание с ретинопатией I стадии и нефропатией I стадии;

2) средняя степень тяжести характеризуется компенсацией заболевания при помощи пероральных сахаропонижающих препаратов. Возможно сочетание с ретинопатией I и II стадий и нефропатией I стадии, переходящая нейропатия.

3) тяжелая форма компенсации заболевания связана с применением сахаропонижающих препаратов или периодическим введением инсулина. На этой стадии отмечают ретинопатии III стадии, нефропатия II и III стадий, тяжелые проявления периферической или вегетативной нейропатии, энцефалопатии [Потемкин, 1999].

Основная смертность больных, страдающих сахарным диабетом, связана не с «сахарными комами», а с заболеваниями, которые обусловлены его осложнениями.

Таким образом, сахарный диабет 2 типа, как системное заболевание, может рассматриваться как углеводная нагрузка, которая оказывает патологическое общее воздействие на все системы организма и на систему крови [Мазовецкий, 1987].

Из-за абсолютной или относительной недостаточности действия и/или секреции инсулина в организме происходят нарушения обмена веществ и патологические изменения в различных органах и тканях. Первичным дефектом при диабете является нарушение переноса глюкозы и аминокислот через клеточные мембраны в зависимые от инсулина ткани. Угнетение их трансмембранного транспорта обуславливает все остальные негативные обменные процессы [Николаев, 1987].

Такой образом, системный характер влияния гипергликемии на все аспекты процессов обмена веществ и жизнедеятельности организма в целом, определил тему и содержание нашей работы, направленное на изучение особенностей динамики и вариабельности клинических и биохимических показателей системы крови у взрослых лиц, имеющих хроническое заболевание сахарный диабет 2 типа.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Оборудование для исследования

Экспериментальная часть магистерского исследования выполнена на базе клинико-диагностической лаборатории ОГБУЗ «Белгородская ЦРБ» Белгородского района. Исследование проводилось с добровольного согласия сотрудников и пациентов лечебного учреждения. В процессе исследования за 2015 год были обследованы 108 пациентов стационара дневного пребывания больных с диагнозом сахарный диабет 2, среди них 52 мужчины и 56 женщин (табл. 2.1).

Таблица 2.1

Возрастной и половой состав участников исследования

Группы обследуемых	Показатели	M±m	Min	Max
Мужчины	возраст, лет	54,29±1,78	20	73
Женщины	возраст, лет	58,26±1,27	31	74

Согласно распорядку в условиях стационара забор крови у обследуемых осуществляли утром – с 8.00 до 10.00 ч. Кровь помещали в специальные пробирки-вакутейнеры, имеющие различно окрашенные крышки и содержащие определенные химические реактивы, соответственно предназначенные для проведения:

- 1) биохимического анализа (красная маркировка, активатор свертывания);
- 2) гематологические анализы (сиреневая маркировка, K₃ЭДТА);
- 3) коагулологические исследования (голубая маркировка, 3,8% цитрат натрия).

В клинико-диагностической лаборатории был выполнен весь спектр анализа крови и мочи с использованием современного медицинского оборудования:

- 1) гематологического анализатора Medonic M-series (Boule Medical A.B., Швеция, 2012);
- 2) автоматического биохимического анализатора DIRUI CS-300 (DIRUI Industrial Co., Ltd, Китай, 2013);
- 3) автоматического анализатора мочи URISCAN PRO (YD Diagnostics, Южная Корея, 2012);
- 4) коагулометра HELENA C-4 (HELENA BioSciences Europe, Великобритания, 2013) [Приложение 1-4].

В клинической лаборатории проведены следующие исследования:

- общеклинические, общий анализ мочи;
- гематологические, общий анализ крови;
- биохимические, анализ липидного профиля крови (холестерина, липопротеидов высокой плотности, липопротеидов низкой плотности, триглицеридов); углеводного обмена по содержанию глюкозы в крови; белкового обмена по содержанию в крови мочевины, креатинина, функциональное состояние печени оценивали по концентрации в плазме крови общего билирубина, АЛТ, АСТ;
- коагулологические, протромбиновое время, Международное нормализованное отношение (МНО), фибриноген.

2.1.1. Общеклинические исследования

Анализ мочи применяют для обнаружения и подтверждения заболеваний на ранних стадиях, применяя визуальную оценку цвета образца мочи; с использованием диагностических полосок; исследование мочевой субстанции под микроскопом. Для проведения всех этих диагностических заболеваний и контроля проводимого лечения в клинической лаборатории

использовали анализатор мочи URISCAN PRO предназначенный для определения полуколичественным методом показателей химического состава мочи и её физических свойств – билирубина, уробилиногена, кетонов, нитритов, аскорбиновой кислоты, а также для определения pH, удельного веса, цвета мочи и регистрации ее мутности. Он позволяет выявить наличие и уровень содержания в моче крови, лейкоцитов, белка и глюкозы, которые в норме не должны в ней присутствовать. Принцип работы анализатора основан на том, что все элементы мочи абсорбируются на соответствующей тестовой зоне тест-полоски, в которой затем происходят химические и ферментативные реакции, вызывающие изменение цвета и интенсивности окраски тестовой зоны. Степень окрашивания каждой зоны пропорциональна концентрации соответствующего элемента в моче.

Светочувствительный ПЗС-сенсор (прибор с зарядовой связью), как измерительный элемент, указывает на степень и направление изменения окраски, анализирует соотношения составляющих цветов исходного света, фиксирует изменение рассеяния света аналитической зоной, зависящего от концентрации аналита в исследуемой пробе мочи.

Результаты анализа выводятся на дисплей анализатора и встроенное печатающее устройство, которое точно считывает изменение окрашивания аналитических зон измерительных полосок, обусловленных протекающими в аналитических зонах специфическими химическими реакциями. Затем с использованием калибровочных параметров проводится вычисление значений исследуемых показателей [Руководство, 2012].

2.1.2. Гематологические исследования

Исследование общего анализа крови проводили на гематологическом анализаторе Medonic M-Series, который быстро и точно работает на принципах импеданса и спектрофотометрии. Он способен определять до 20 параметров цельной и разведенной крови, включая расчетные показатели

красной крови и тромбоцитов, гистограммы распределения лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов по объему, частичную дифференцировку лейкоцитов на три популяции – лимфоциты, средние клетки и гранулоциты.

Подсчитывали и оценивали количественный состав форменных элементов венозной крови. Современные гематологические анализаторы обладают точностью и высокой производительностью (до 100-200 проб в час), для анализа необходим небольшой объем крови (12-15 мкл). Анализатор графически представляет результаты исследований в виде гистограмм и скеттограммы [Руководство, 2012].

Принцип измерения гемоглобина на анализаторе – фотометрический бесциановый метод.

Анализатор Medonic M-Series использует технологию плавающего дискриминатора, которая выполняет математические вычисления для подсчета точного разделения между тремя популяциями белых кровяных клеток (лимфоцитов, гранулоцитов и фракций средних клеток). После проведения анализа образца прибор производит двух главных максимумов в пределах общего распределения клеток (пик гранулоцитов и пик лимфоцитов).

Путем экстраполяции кривых распределение двух главных популяций лейкоцитов третья популяция может быть математически высчитана. Эта третья популяция классифицируется как область средних клеток, которая в своем большинстве состоит из моноцитов [Руководство, 2012].

2.1.3. Биохимические исследования

Анализ биохимических показателей проводили на автоматическом биохимическом анализаторе DIRUI CS-300B, который представляет собой открытую реагентную систему, состоящую из операционной системы со специально разработанным программным обеспечением, оптической части, системы механизмов, жидкостной системы и точной электронной системы.

Прибор автоматически выполняет взятие образца и реагента, перемешивание в реакционной жидкости, измерение, промывку, вычисление и выводит результат на экран или на печать.

Замена ручной работы на автоматическое выполнение тестов позволяет не только увеличивать эффективность работы, но и уменьшает ошибки при выполнении тестов, тем самым увеличивая точность результатов. Анализатор выполняет разные клинические тесты на ферменты, сахара, белки, липиды, иммуноглобулины и другие тесты [Руководство, 2013]. Используя его возможности, определяли следующие показатели: АСТ, АЛТ, мочевины, креатинин, глюкоза, холестерин, триглицериды, липопротеиды высокой и низкой плотности.

2.1.4. Коагулологические исследования

Коагулологические исследования производились на Helena C-4. Это высокочувствительный 4-канальный фотометр, его оптика обеспечивает точность и аккуратность результатов, даже в иктеричных и липиемичных образцах. Полученный сигнал затем детектируется и преобразуется в электрический. Во время теста система наилучшим образом подстраивается, подбирая подходящее усиление сигнала, таким образом, что может использоваться широкая линейка реагентов (очень мутный тромбопластин или прозрачные реактивы). Кроме того, программное обеспечение основано на детекции изменения оптической плотности (экстинкции), что позволяет «убирать» внешние световые эффекты.

Принцип детекции основывается на том, что плазма, смешанная с реагентом, поглощает проходящий свет, остаточный свет достигает детектора, который посылает сигнал на микроконтроллер. Последний перерабатывает сигнал и посылает данные на дисплей и на принтер [Инструкция, 2013].

Клоттинговый метод позволяет анализировать состояние системы свертывания крови. Тромбин запускает реакцию фибриноген→фибрин в конечной реакции каскада свертывания. Образование фибрина приводит к увеличению мутности образца, которое фиксируется фотометром. Фотометрическое измерение запускается нажатием кнопки «Optic» с немедленным добавлением тестового реактива. Время между началом фотометрического измерения и точкой перегиба реакционной кривой является результатом (в секундах). Этот принцип лежит в основе определения протромбинового времени.

Расчетный фибриноген определяется с помощью клоттингового метода. Концентрация фибриногена в образце пропорциональна изменению оптической плотности в кювете, которое имеет место при превращении фибриногена в фибрин в конце реакции. Рассчитывается оптическая плотность сгустка в конечной точке [Инструкция, 2013].

Для оценки функционального статуса у данных лиц определяли основные корреляты – концентрацию в сыворотке крови общего билирубина, АЛТ, АСТ, мочевины, креатинина, холестерина, триглицеридов, ЛПВП, ЛПНП, глюкозы.

В работе оценку всех исходно полученных биохимических и клинических данных проводили на основе проведения сравнения их величин с референтными и возрастными нормами, между половыми группами, находящимися на разных стадиях лечения. Для обеих групп – мужчин и женщин, определяли значение средней (M), стандартной ошибки (m) и стандартного отклонения (σ). Все исходно полученные данные статистически обработаны с помощью описательной статистики пакета компьютерных программ «Statistica-6».

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Результаты исследования уровня глюкозы крови и их анализ

Выявленные у обследуемых лиц средние показатели содержания глюкозы в сыворотке венозной крови у мужчин и женщин были практически одинаковы по значению (табл. 3.1).

Таблица 3.1

Средняя концентрация глюкозы крови на фоне гипергликемии

Группы обследуемых	Показатели, ед. изм.	M±m	σ	Min	Max
Мужчины	глюкоза крови, моль/л	10,2±0,48	3,45	4,1	19
Женщины	глюкоза крови, моль/л	10,0±0,43	3,24	5,37	19,64

Учитывая, что референтные значения содержания глюкозы в сыворотке венозной крови у здоровых взрослых лиц составляют в норме 4,1-5,9 ммоль/л, то выявленные у мужчин и женщин показатели гликемии указывали на проявление у них хронической гипергликемии – как ключевого показателя нарушения углеводного обмена и проявления выраженной у них гипергликемии. Гипергликемия определяет повышение вязкости крови и в целом оказывает патологически негативное системное воздействие на функционирование всех органов и систем организма, нарушая интенсивность в них не только обмена веществ, но и энергии [Дедов, 2008].

Выраженность появления гипергликемического эффекта почти в два раза превысила физиологические пределы возрастной нормы, указывая на проявление у них заболевания «сахарный диабет 2 типа».

Анализ индивидуальных показателей гликемии у обследованных лиц позволил отметить неоднородность их значений в группе мужчин и женщин (рис. 3.1).

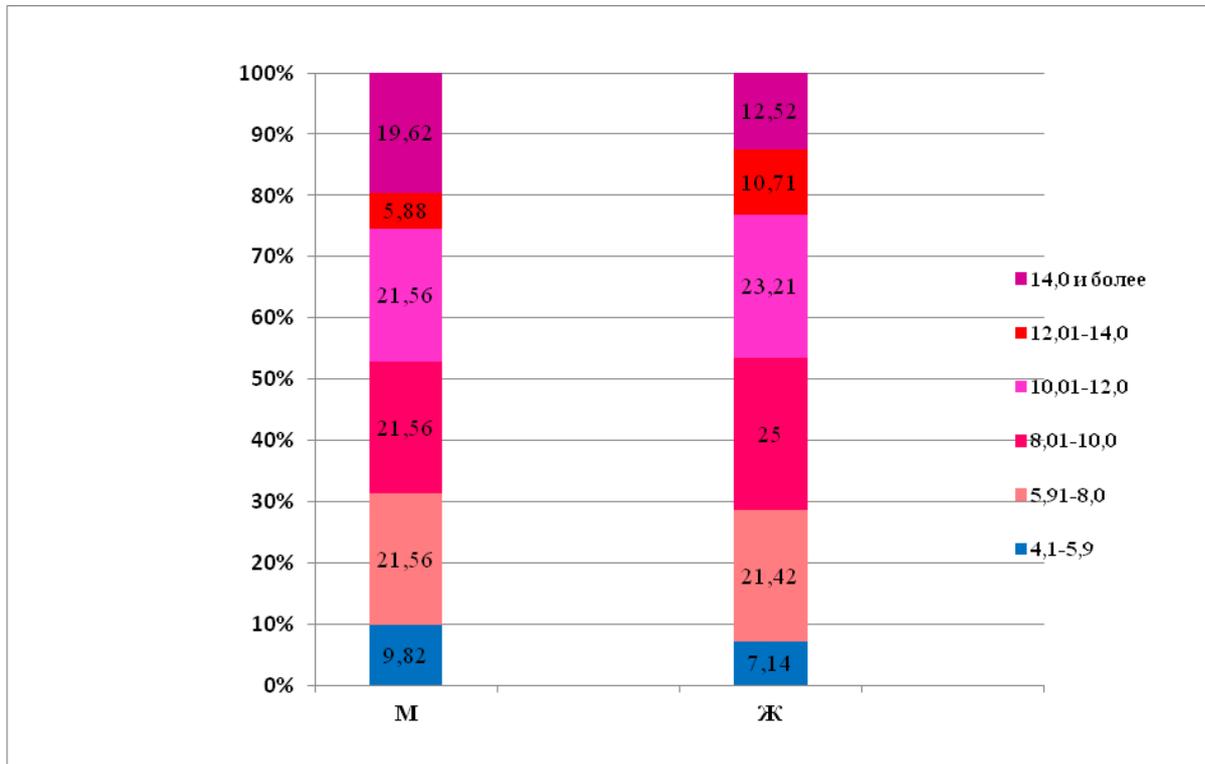


Рис. 3.1. Структура процентного распределения обследованных лиц по показателям гликемии; М – мужчины, Ж – женщины.

Согласно данной диаграмме, в период обострения основного заболевания наиболее высокий уровень гликемии – более 14 ммоль/л, у мужчин. Соответственно, данное заболевание протекает у них более тяжело. Полагаем, что причиной данного результата является с одной стороны ограниченность у мужчин физических нагрузок и двигательной активности, а с другой стороны – более высокий процент мышечной массы, которая в норме интенсивно потребляет глюкозу, обеспечивая физиологически необходимый в норме режим физической активности.

Уровень глюкозы в крови практически здоровых людей поддерживается в относительно постоянных пределах благодаря действию сложных физиологических механизмов нейрогуморальной регуляции, опосредующих свое влияние через ряд органов тканей, прежде всего, через

печень – «центральную лабораторию» человеческого организма. У одного и того же человека в разные периоды суток концентрации глюкозы находится в пределах 3,3-6,7 ммоль/л.

Известно, что если в результате проведенных исследований выявляется повышение концентрации глюкозы в крови и одновременно выявляется наличие глюкозы и кетоновых тел в моче, то этих показателей достаточно для подтверждения диагноза «сахарный диабет». Кроме того, присутствие кетоновых тел в моче свидетельствует о тяжелых нарушениях не только углеводного, но и липидного обмена.

3.2. Результаты исследования уровня глюкозы, кетоновых тел и удельного веса мочи и их анализ

Поскольку процесс гипергликемий может иметь разную природу – инсулярную или экстраинсулярные (внеинсулярную), то для уточнения природы проявления гипергликемии у обследуемых лиц определяли наличие в моче глюкозы – глюкозурии и кетоновых тел (рис. 3.2).

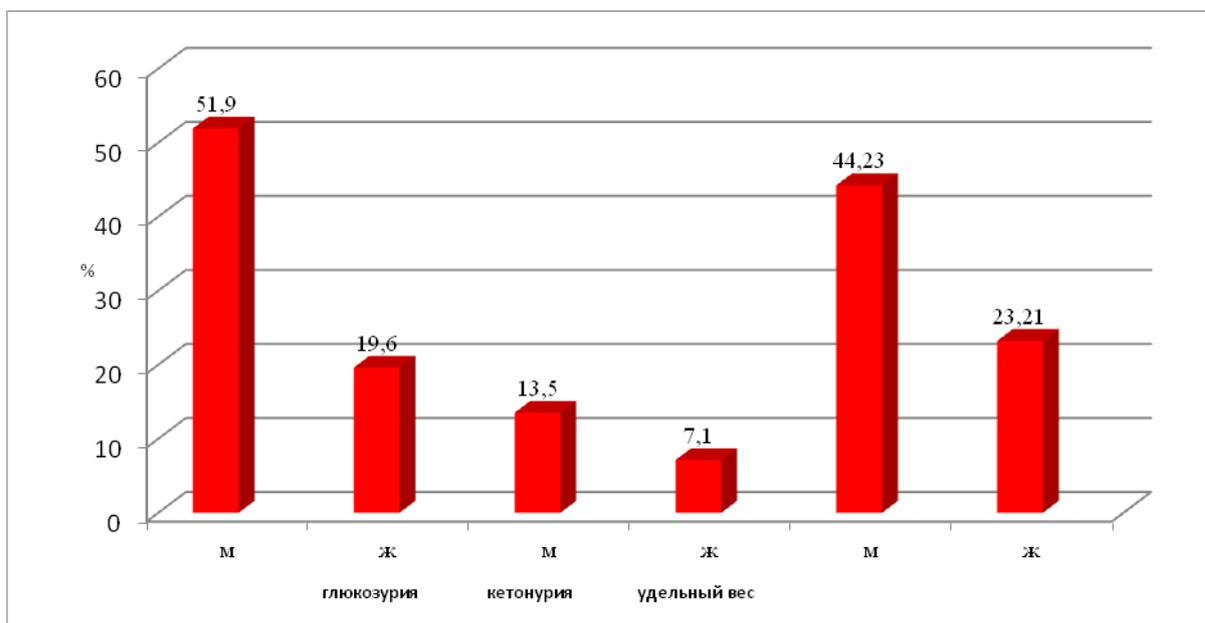


Рис. 3.2. Процент обследованных лиц с превышением против нормы индивидуальных показателей глюкозурии, кетонурии, удельного веса мочи: М – мужчины, Ж – женщины.

Референтные значения уровня глюкозы в моче допускают выделение с мочой за сутки до 130 мг глюкозы. Согласно диаграмме (рис. 3.2), у 51,9% мужчин и у значительно меньшего процента женщин – 19,%, выявлен процесс выведения из организма глюкозы с мочой в более высоких значениях против физиологически допустимой нормы.

Согласно данным литературы, появление глюкозы в моче может быть физиологическим и преходящей. Например, она может проявляться после эмоционального возбуждения, стрессовых состояний, после обширных хирургических вмешательств или связана с употреблением большого количества углеводов (фруктов и овощей). Её появление в моче возможно лишь в том случае, когда ее концентрация превышает почечный порог, то есть, если значение гликемии превысит значение более 8,88-9,99 ммоль/л у взрослых.

Постоянная глюкозурия наблюдается как при сахарном диабете, так и гиперпродукции гормонов стресса – адренокортикотропного гормона (АКТГ), глюкокортикоидов, адреналина. Полагаем, что эта группа гормонов активизирует защитно-компенсаторные механизмы организма, позволяя ему противостоять негативному стресс-воздействию. Они повышают уровень гликемии на фоне повышения свертываемости крови. Как только значение гипергликемии преодолевает почечный порог, то сразу происходит выведение избыточного содержания глюкозы в составе мочи из организма.

Референтное значение уровня кетонов в моче однозначно является отрицательным, то есть в норме в моче кетоновых тел не должно быть. Но их присутствие в моче свидетельствует о выраженных нарушениях не только углеводного, но и липидного обменов. Кетонурия может наблюдаться при кахексии, гиперинсулинемии, акромегалии, эклампсии, при обширных операциях, сильном эмоциональном возбуждении, при токсикозе беременных [Камышников, 2015].

Проявление кетонурии свидетельствует о снижении интенсивности синтеза гликогена в печени у лиц, болеющих сахарным диабетом. Результаты экспериментальных исследований показывают, что липолиз усиливается при раздражении метаболических центров ЦНС, параллельно происходит мобилизация жирных кислот из жировых депо с перемещением их в печень. Окислительные процессы жирных кислот в печени связаны с образованием кетоновых тел, которые далее с током крови попадают в ткани. Высокий уровень проявления кетонурии отмечен у лиц с хроническим сахарным диабетом, находящихся в прекоматозном состоянии или коме. Негативные состояния, связанные с проявлением кетонурии, обусловлены накоплением в крови ацетона, который в силу его хорошей растворимости в липидах изменяет структурно-функциональные свойства мембран и, тем самым, проявляет общее токсическое влияние на организм.

При заболеваниях других внутренних органов показатели указанной триады (гипергликемии, глюкозурии и кетонурии) не проявляются. При употреблении жирной и белковой пищи без углеводов у детей и у взрослых может развиваться кетонурия алиментарного характера. Этим обусловлен и тот факт, что при голодании ткани испытывают энергетический голод за счет сокращения запасов гликогена.

Относительная плотность мочи (удельный вес мочи) – зависит от количества растворенных плотных веществ в 1л мочи. При обычном рационе питания референтные значения удельной плотности в утренней порции мочи составляют 1,015-1,025. Установлено, что у 44,2% мужчин и 11,5% женщин удельная плотность мочи превысила возрастную физиологическую норму и соответствовала гиперстенурии – частичной утрате способности почек концентрировать и разводить мочу.

Этот результат указывал на нарушение у данных лиц выделительной функции почек, так как повышение удельной плотности мочи наблюдается, как при сахарном диабете, так и других патологических состояниях организма. Например, по данным литературы, гиперстенурия проявляется

при ограниченном водном питьевом режиме, сухоядении, лихорадке, обильном потоотделении, при экстраренальной потере жидкости, при остром гломерулонефрите, нефротическом синдроме при проявлении отеков, трансудатов, эксудатов [Камышников, 2015].

3.3. Результаты исследования уровня ферментов АСТ и АЛТ, общего билирубина и их анализ

Интенсивность процессов межмолекулярного переноса аминокрупп в процессе трансаминирования аминокислот отражают показатели содержания в крови ферментов аминотрансфераз – АСТ и АЛТ. В связи с этим изучение активности аминотрансфераз в сыворотке крови имеет важное значение для диагностики болезней печени и миокарда [Теппермен, 1989].

Анализ научных работ показал, что в тканях организма важную роль играют эндогенные белки-ферменты аспаратаминотрансфераза (АСТ) и аланинаминотрансфераза (АЛТ). Наиболее высокое содержание фермента АСТ находится в скелетной мускулатуре, сердце, печени, нервной ткани, поджелудочной железе, легких, селезенке. АЛТ содержится в цитоплазме клеток многих органов: печени, почек, скелетных мышц, миокарда, поджелудочной железы [Кишкун, 2012].

При болезнях и травмах, вызывающих повреждения или разрушения клеток данных органов АЛТ и АСТ попадают в кровь. Повышение в крови против нормы уровня содержания АЛТ и АСТ указывает на нарушение функций того или иного органа и развития характерного для него заболевания. Умеренный рост их активности наблюдается при гипертоническом кризе и пароксизмальной тахикардии. Наиболее высокое увеличение их активности выявляется при некрозе и травме скелетных мышц, миокардите и гангрене мышц [Теппермен, 1989].

Процесс трансаминирования аминокислот играет ключевую роль в промежуточном обмене белковых молекул. С одной стороны он связан с

синтезом аминокислот, а с другой стороны, с разрушением отдельных аминокислот в организме. Три аминокислоты – глутаминовая, аспарагиновая и аланиновая в процессе реакции трансаминирования соответственно превращаются в α -кетокислоты, которые являются компонентами цикла трикарбоновых кислот [Корякина, Эммануэль, 2002].

Выявленные средние значения концентрации в крови аминотрансфераз АСТ и АЛТ соответствовали их референтным значениям, равным 0-40 ЕД/л (табл. 3.2).

Таблица 3.2

Средние показатели концентрации АСТ и АЛТ на фоне гипергликемии

Группы обследуемых	Биохимические показатели, ед. изм.	M \pm m	σ	Min	Max
Мужчины	АСТ, ЕД/л	23,96 \pm 1,15	8,22	13	49,8
	АЛТ, ЕД/л	30,89 \pm 3,32	23,72	9	157,8
Женщины	АСТ, ЕД/л	22,78 \pm 1,3	9,78	10	67
	АЛТ, ЕД/л	28,19 \pm 2,05	15,34	10	101

Но, по индивидуальным значениям содержание аминотрансфераз в сыворотке крови, превысило физиологические нормы, указывают на наличие в организме мужчин и женщин функциональных нарушений (рис. 3.3). Согласно рисунку 3.3 содержание аминотрансферазы АЛТ у 21,2% мужчин и 19,4% женщин превысили референтные значения, указывая на патологические изменения функций печени, обусловленные цитолизом её клеток. Процент мужчин и женщин с более высокой концентрацией в крови аминотрансферазы АСТ был менее выражен (рис. 3.3).

Поэтому преобладание уровня содержания в сыворотке крови АЛТ против АСТ указывает на более выраженные нарушения функций печени у мужчин по сравнению с женщинами.

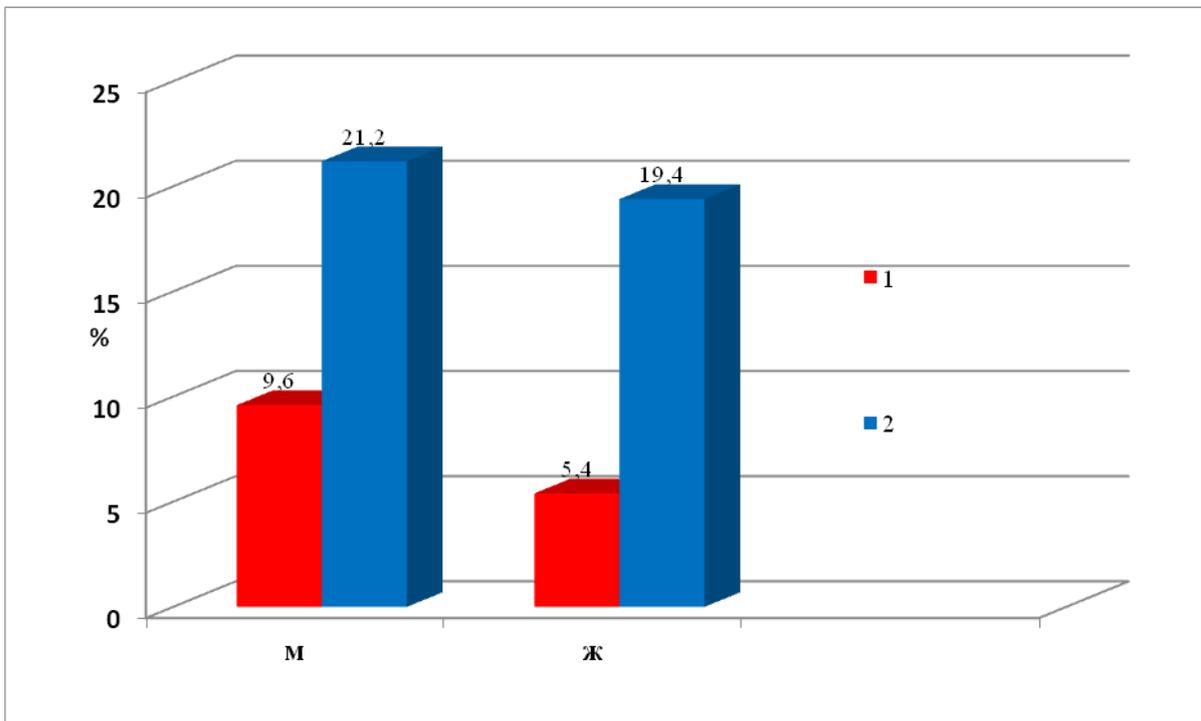


Рис. 3.3. Процент обследованных лиц с превышением против нормы индивидуальных показателей содержания в сыворотке крови аминотрансфераз: 1 – АСТ, 2 – АЛТ; М – мужчины, Ж – женщины.

Повышение в сыворотке крови уровня билирубина свидетельствует о негативных изменениях в жизнедеятельности организма, которые связаны с недостатком витамина В₁₂, проявлением острых и хронических заболеваний печени или желчекаменной болезни [Николаев,1987].

Полученные средние величины концентрации в крови билирубина у обследованных лиц проявлялись в пределах референтных значений, равных 8,55-20,52 мкмоль/л (табл. 3.3).

Таблица 3.3

Средние показатели концентрации в крови билирубина на фоне гипергликемии

Группы обследуемых	Билирубин, ммоль/л			
	М±m	σ	Min	Max
Мужчины	18,07±1,83	12,59	6,4	76,6
Женщины	14,17±0,83	6,08	6	39,2

Анализ индивидуальных величин концентрации в крови билирубина показал, что у 25,5% мужчин и 11,3% женщин его значения превысили физиологическую норму, указывая на проявление у данных лиц выраженной гипербилирубинемии. По данным литературы, её причиной может быть нарушение функции гепатоцитов (паренхиматозная желтуха) [Меньшиков, 2009].

Следует отметить, что появление желтухи обычно наблюдается в организме при уровне билирубина в крови 27-34 мкмоль/л и более [Камышников, 2015].

3.4. Результаты исследования белкового обмена и анализ полученных данных

Референтные значения концентрации в сыворотке крови мочевины составляют 1,7-8,3 ммоль/л, креатинина у мужчин – 62-111 мкмоль/л, у женщин – 53-97 мкмоль/л. Полученные средние величины концентрации мочевины и креатинина у обследованных мужчин и женщин соответствовали физиологической норме (табл. 3.4).

Таблица 3.4

Средние значения показателей содержания мочевины и креатинина в сыворотке крови на фоне гипергликемии

Группы обследуемых	Биохимические показатели, ед.изм.	M±m	σ	Min	Max
Мужчины	мочевина, моль/л	5,78±0,23	1,67	2,41	11,7
	креатинин, мкмоль/л	90,75±3,59	24,89	52,3	159
Женщины	мочевина, моль/л	6,03±0,22	1,66	3,28	9,45
	креатинин, мкмоль/л	77,97±2,49	18,51	38,7	131

Полученные данные показали, что у женщин в сыворотке крови выше уровень содержания мочевины с более узким диапазоном изменения их индивидуальных величин. У мужчин по сравнению с женщинами более высокий уровень содержания в сыворотке крови креатинина и, соответственно, их индивидуальные показатели по значению были более высокими и проявлялись в более широком диапазоне (см. табл. 3.4). Известно, что возрастание концентрации мочевины и креатинина в сыворотке крови соответственно более 8,5-9,0 ммоль/л и 117-120 мкмоль/л отмечает проявление в организме продукционной (метаболической) «гиперазотемии» [Судаков, 1987]. Анализ индивидуальных параметров уровня мочевины и креатинина в сыворотке крови показал, что уровень мочевины был выше нормы у 8,7% женщин, а креатинина – у 17% мужчин.

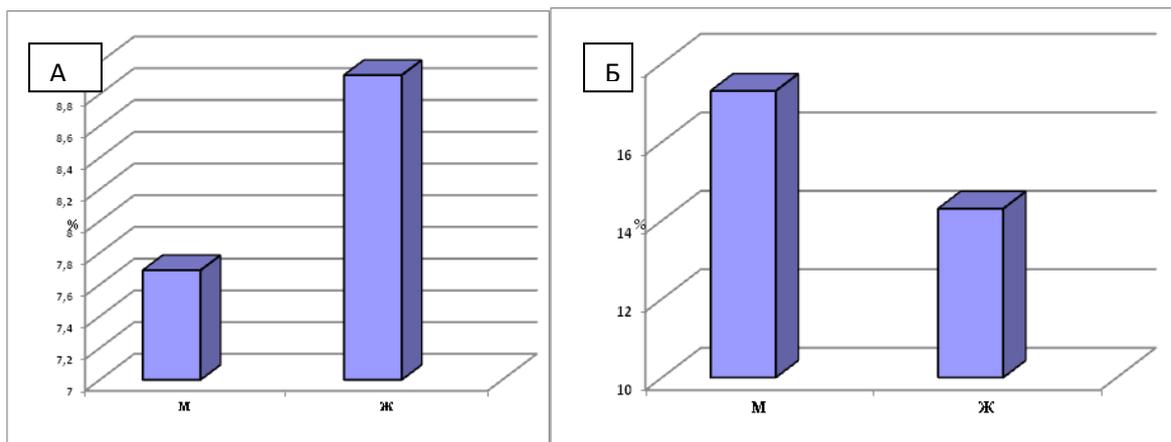


Рис. 3.5. Процент обследованных лиц с превышением против нормы индивидуальных показателей содержания в сыворотке крови мочевины (А) и креатинина (Б): М – мужчин, Ж – женщин.

По своему характеру гиперазотемия может быть абсолютной (связанной с действительным накоплением в крови компонентов остаточного азота) и относительной (обусловленной обезвоживанием, дегидратацией). При сахарном диабете наблюдается продукционная (метаболическая) гиперазотемия [Камышников, 2015].

Увеличение уровня креатинина в сыворотке крови обусловлено, как усиленным образованием, так и задержкой его, как метаболита, в организме.

Известно, что возрастание уровня содержания креатинина может быть вызвано изменением эндокринного баланса при тяжело протекающем сахарном диабете [Дедов, 2006].

3.5. Результаты исследования липидного обмена на фоне гипергликемии

Особенности проявления липидного обмена на фоне гипергликемии оценивали по содержанию в сыворотке крови уровня холестерина, триглицеридов, липопротеидов низкой и высокой плотности – ЛПНП и ЛПВП (табл. 3.5).

Таблица 3.5

Параметры липидного профиля у мужчин и женщин на фоне гипергликемии

Показатели, ед. изм.	M±m	σ	Min	Max
Мужчины				
холестерин, ммоль/л	5,30±0,16	1,14	3,1	7,6
триглицериды, ммоль/л	2,12±0,31	1,97	0,55	9,33
ЛПВП, мг/дл	46,61±3,10	16,42	26,7	85
ЛПНП, мг/дл	150,63±9,21	48,74	59,4	239,3
Женщины				
холестерин, ммоль/л	5,49±0,14	1,03	3,53	7,71
триглицериды, ммоль/л	2,07±0,19	1,29	0,33	6,59
ЛПВП, мг/дл	51,31±2,64	14,45	24,5	83,5
ЛПНП, мг/дл	147,54±9,01	49,39	79,5	252,7

Выявленные средние значения содержания в сыворотке крови холестерина у мужчин и женщин по референтным значениям, равным 5,1-6,1 ммоль/л, соответствовали физиологической норме (см. табл. 3.5). Однако,

согласно данным литературы, повышение уровня холестерина в плазме крови более 5,2 ммоль/л способствует отложению холестерина в стенке артериальных сосудов. Поэтому даже при минимальном уровне холестерина в сыворотке крови смертность от сердечно-сосудистых заболеваний не снижается, так как формирование холестериновых сгустков-бляшек внутри артерий снижает кровоток, нарушая оптимальные условия для функционирования клеток и органов [Камышников, 2015].

Аналогично у обеих групп обследованных по средним значениям содержание триглицеридов в сыворотке крови соответствовало референтным значениям, равным 0-2,26 ммоль/л, проявляясь в их верхних границах. Триглицериды являются основным источником энергии, в частности на фоне гипергликемии, обусловленной толерантностью клеток к глюкозе.

Среди мужчин и женщин по индивидуальным показателям содержания в сыворотке крови холестерина и триглицеридов выявлены лица, у которых они превысили границы физиологической нормы (рис. 3.6).

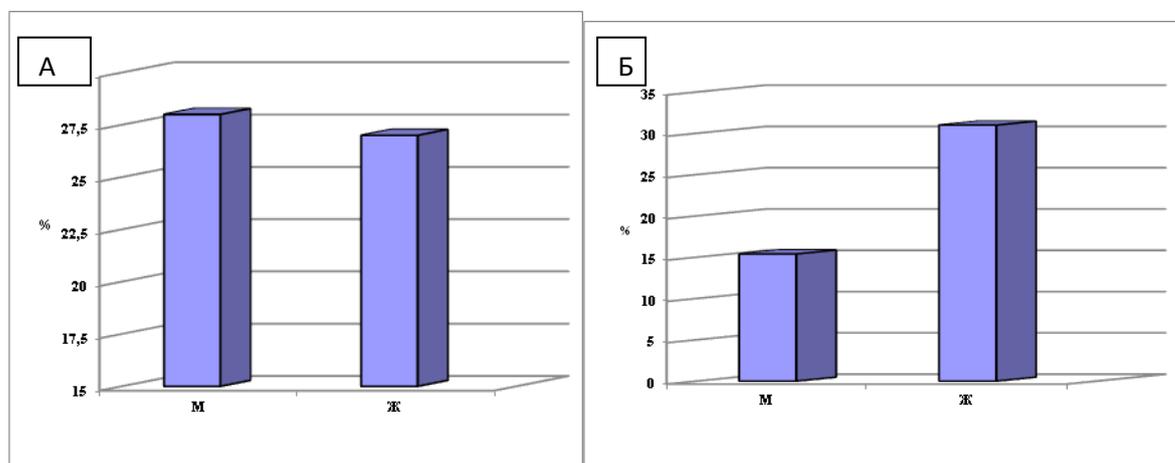


Рис. 3.6. Уровень холестерина (А) и триглицеридов (Б) в сыворотке крови превышающие физиологические нормы у: М – мужчин, Ж – женщин.

Этот результат согласуется с данными литературы, согласно которым повышение уровня глюкозы в крови ведет к нарушению различных

обменных процессов и повышению уровня холестерина (вторичная гиперхолестеринемия) [Дедов, Мельниченко, 2008].

Согласно диаграмме 3.6 у 28% мужчин и 27% женщин на фоне гипергликемии отмечено проявление гиперхолестеринемии, так как у данных лиц содержание холестерина в сыворотке превысило референтные значения. Гиперхолестеринемия оценивается как важный фактор риска коронарного атеросклероза. У 15,5% мужчин и 31% женщин уровень в сыворотке крови триглицеридов превысил референтные значения – 0-2,26 ммоль/л, что является фактором риска развития ишемической болезни сердца и атеросклероза кровеносных сосудов [Кишкун, 2012].

Определение фракций холестерина в составе липопротеидов является важнейшим диагностическим критерием выявления фактора риска развития у больных сахарным диабетом атеросклероза и его осложнений. Различают три фракции липопротеидов, которые отличаются по отношению в них белка к холестерину. Так у практически здоровых людей:

- 1) 60% холестерина («плохого» или «вредного») находится в состоянии атерогенных ЛПНП, прямо участвующих в атеросклеротических процессах;
- 2) 10% холестерина входит в состав липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП);
- 3) 30% холестерина («полезного») входят в антиатерогенные ЛПВП, участвующих в транспорте его из периферических тканей в печень [Камышников, 2015].

При указанном процентном соотношении холестерина с липопротеидами низкой и высокой плотности в стенке кровеносных сосудов сохраняется оптимальный баланс скорости его притока и оттока.

Референтные значения содержания в сыворотке крови ЛПВП и ЛПНП различны для мужчин и женщин и составляют для ЛПВП у мужчин 30-63 мг/дл, у женщин – 33-87 мг/дл, а для ЛПНП – 0-130 мг/дл.

Полученные усредненные значения содержания ЛПВП в сыворотке крови соответствовали референтным значениям, а средние значения уровня

ЛПНП превысили их, отмечая повышенный риск развития у обследованных лиц атеросклеротических процессов (табл. 3.6).

Таблица 3.6

Параметры липопротеидного профиля у мужчин и женщин на фоне гипергликемии

Показатели, ед. изм.	M±m	σ	Min	Max
Мужчины				
ЛПВП, мг/дл	46,61±3,10	16,42	26,7	85
ЛПНП, мг/дл	150,63±9,21	48,74	59,4	239,3
Женщины				
ЛПВП, мг/дл	51,31±2,64	14,45	24,5	83,5
ЛПНП, мг/дл	147,54±9,01	49,39	79,5	252,7

Оценка содержания липопротеидов в сыворотке крови показала, что у 17,8% обследованных мужчин по индивидуальным показателям содержание в сыворотке крови ЛПВП превысило верхнюю границу нормы, равной 130-159 мг/дл, отмечая у них стабильное функциональное состояние (рис. 3.7).

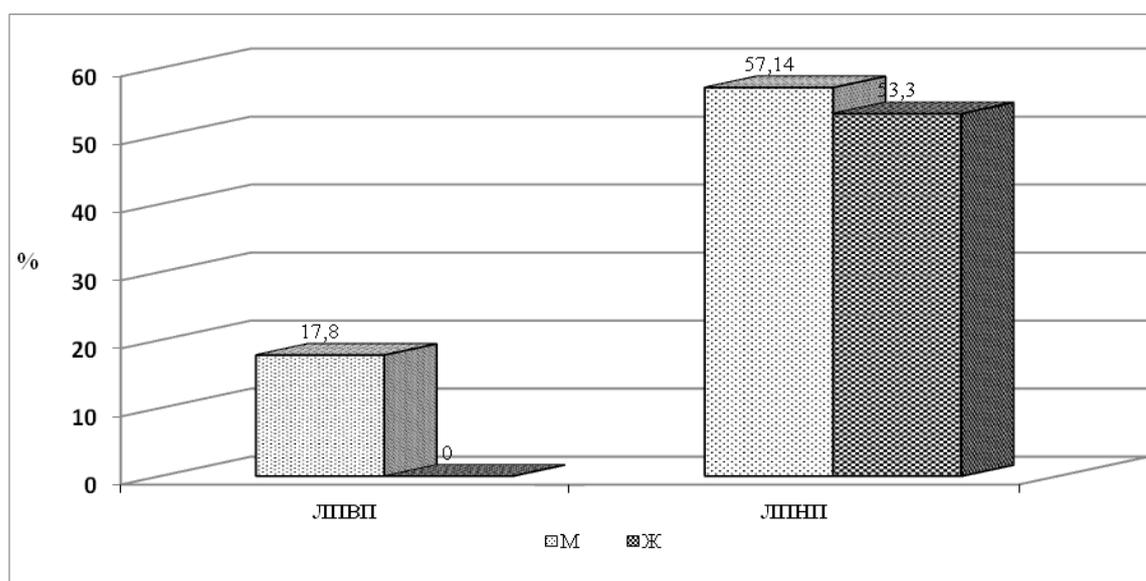


Рис. 3.7. Процент мужчин и женщин, у которых повышен против нормы липидный профиль сыворотки крови: М – мужчин, Ж – женщин

Но у большей части мужчин и женщин индивидуальные показатели содержания в сыворотке крови ЛПНП превысили верхнюю границу референтных величин, указывая на ухудшение функционального статуса организма (см. рис. 3.7).

По данным литературы ЛПВП крови являются своеобразной защитой организма от различных сердечных осложнений (инсульта, тахикардии, хронической артериальной недостаточности, ревмокардита, тромбоза глубоких вен и др.). Они обеспечивают транспорт плохо растворимых в воде липидов, в том числе холестерина в печень, где он включается в биохимические процессы с окислением до желчных кислот, которые, как компоненты желчи, выводятся в кишечник и далее с каловыми массами удаляются из него. Не менее значимым является и тот факт, что ЛПВП отвечают за нормальное функционирование эндотелия, уменьшает воспаление, защищает от окисления липопротеидов низкой плотности и положительно влияет на свертываемость крови [Аруин, 1987].

3.6. Результаты исследования показателей системы гемостаза и их анализ

Протромбиновый индекс (ПТИ) – число, отображающее процентное отношение протромбинового времени стандартной (контрольной) крови к протромбиновому времени крови обследуемого. Его значение отражает активность протромбина – II фактора свертывания крови. В печени образуется часть факторов системы гемостаза (витамина К и синтез большинства основных факторов свертывания), поэтому ее поражение приводит к развитию кровотечений и увеличению значений ПТИ.

Выявленные у мужчин и женщин средние значения ПТИ соответствовали референтным значениям, равным 80-100% (табл. 3.7).

Средние значения ПТИ и МНО на фоне гипергликемии

Группы обследованных	Показатели, ед. изм.	$M \pm m$	σ	Min	Max
Мужчины	ПТИ, %	90,64±1,56	9,76	64,3	109,8
	МНО	1,12±0,02	0,14	0,9	1,56
Женщины	ПТИ, %	94,64±1,79	11,17	60,9	105,5
	МНО	1,08±0,03	0,16	0,94	1,65

Международное нормализованное отношение (МНО) используется в качестве лабораторного показателя, оценивающего способности внешнего пути свертывания крови. Оно позволяет оценить степень гипокоагуляции крови с учетом того факта, что, чем выше уровень МНО, тем она выше и наоборот [Кишкун, 2012].

Референтные значения МНО равны 0,8-1,2. МНО дает значимую информацию для оценки коагуляции у лиц с повышенным риском развития массивного тромбообразования. Тест на определение МНО рекомендован ВОЗ как один из наиболее эффективных и достоверных методов для определения состояния свертывания крови.

Анализ соответствия у обследованных индивидуальных величин ПТИ и МНО референтным величинам показал, что у значительного процента лиц они отклоняются от нормы (рис. 3.8).

Среди обследованных индивидуальные значения ПТИ были повышены против указанных норм у 15,38% мужчин и 38,46% женщин (рис. 3.8).

Согласно данным литературы, повышение против нормы указывает на гиперкоагуляцию и склонность к тромбообразованию [Козинец, 2000].

Снижение против нормы у 17,95% мужчин и 7,69% женщин индивидуальных величин данного показателя указывает на гипокоагуляцию – склонность к кровотечениям.

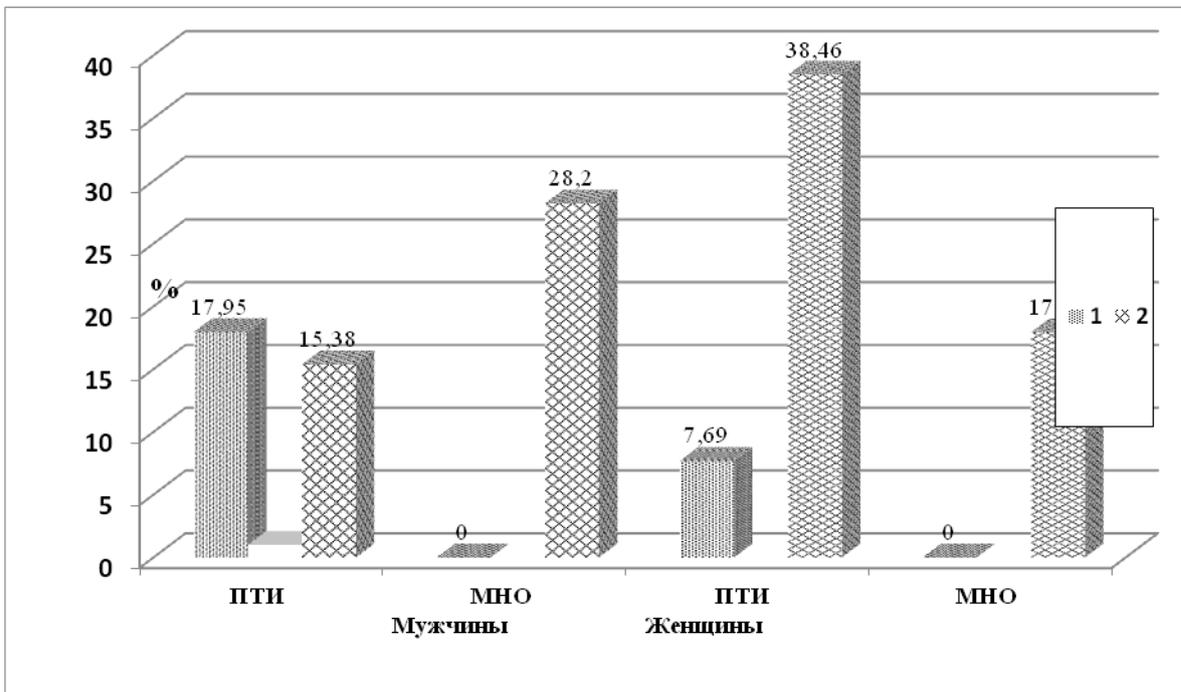


Рис. 3.8. Процент отклонения индивидуальных значений ПТИ и МНО на фоне гипергликемии от нормы у мужчин и женщин:
1 – ниже нормы, 2 – выше нормы

У большей части мужчин и женщин индивидуальные значения МНО соответствовали референтным нормам, но их значения у 28,2% мужчин и 17,9% женщин превысили их, указывая на высокий риск кровотечений.

3.7. Результаты исследования показателей системы красной крови на фоне гипергликемии

Выявленные в процессе работы показатели системы красной крови представлены в таблице 3.8. Они соответствовали физиологической норме и референтным их значениям количествам в единице объема крови, равные для мужчин – $(3,9-5,1) \times 10^{12}$ клеток/л, для женщин – $(3,7-4,9) \times 10^{12}$ клеток/л.

Этот результат показал, что дыхательная функция эритроцитов у мужчин и женщин не нарушена на фоне выраженной гипергликемии и соответственно более выраженной вязкости крови (табл. 3.8).

Таблица 3.8

Средние показатели красной системы крови на фоне гипергликемии

Показатели, ед. изм.	$M \pm m$	σ	Min	Max
Мужчины				
гемоглобин, г/л	152,8±1,54	11,07	127	183
Эритроциты, $\times 10^{12}$	4,84±0,06	0,40	4,11	6,04
СОЭ, мм/ч	14,0±1,24	8,95	1	35
Женщины				
гемоглобин, г/л	137,7±1,46	10,95	95	165
Эритроциты, $\times 10^{12}$	4,48±0,04	0,32	3,82	5,27
СОЭ, мм/ч	22,3±1,35	10,11	4	46

Анализ индивидуальных показателей содержания эритроцитов в крови показал, что среди обследованных мужчин и женщин выявлены лица с более высоким против нормы их содержанием, оно было повышено почти у 20% мужчин (рис. 3.9).

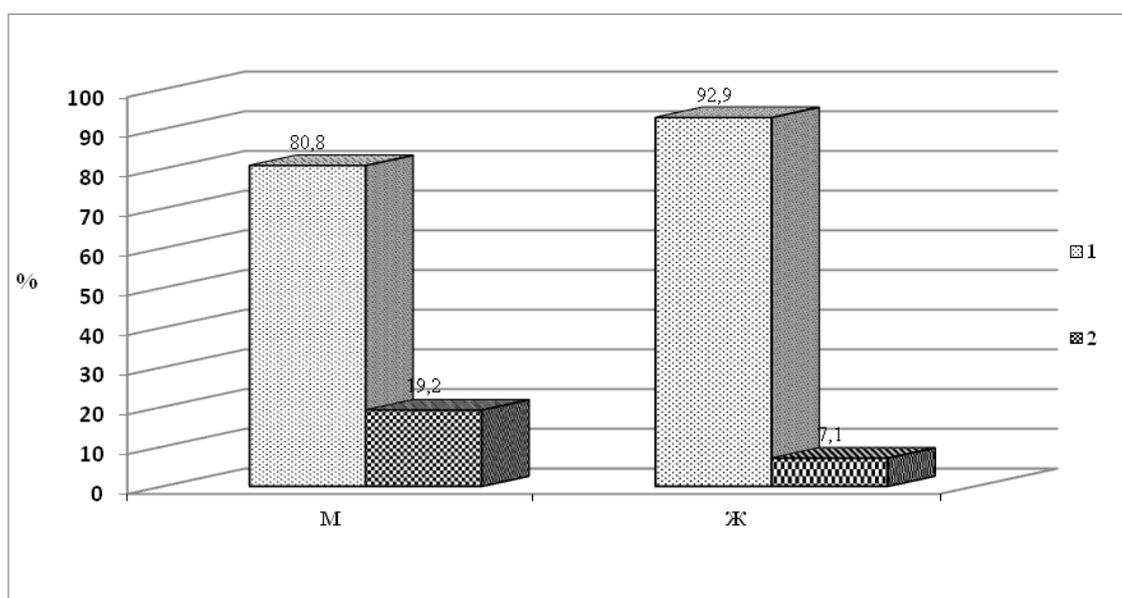


Рис. 3.9. Показатели отклонения индивидуальных значений содержания эритроцитов на фоне гипергликемии: М – мужчины, Ж – женщины: 1 – ниже нормы, 2 – выше нормы

Полагаем, что повышение содержания у эритроцитов мужчин является компенсаторно-адаптивной реакцией направленной на улучшение функции дыхания – насыщенности крови организма кислородом.

СОЭ (скорость оседания эритроцитов) – зависит от огромного количества внутренних и внешних факторов и рассматривается как неспецифический тест, который отражает напряжение физиологических функций системы крови и наличии в организме воспалительных процессов. Референтные значения СОЭ для мужчин составляют 2-10 мм/ч, а у женщин – 2-15 мм/ч.

Повышенный уровень средних показателей СОЭ против референтных величин – выше на 40%, выявлен у мужчин и, особенно, у женщин, так как у последних он превысил норму на 48,7% (см. табл. 3.8).

Анализ индивидуальных показателей СОЭ показал, что их значения у большего процента мужчин и женщин соответствовали проявлению в организме воспалительного процесса, при котором в плазме крови повышается содержание белковых молекул (рис. 3.10).

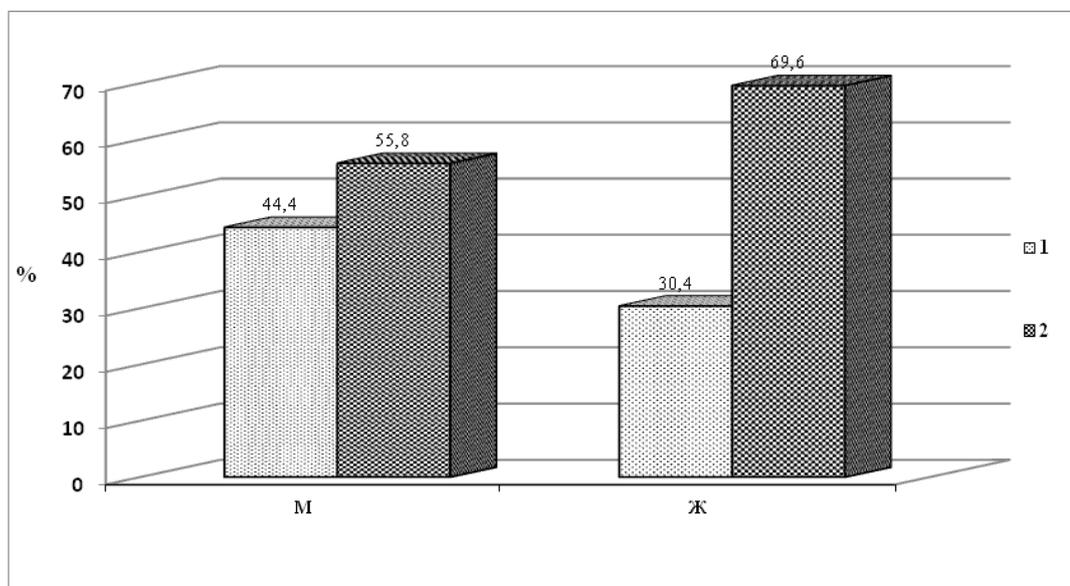


Рис. 3.10. Показатели отклонения индивидуальных значений СОЭ на фоне гипергликемии: М – мужчины, Ж – женщины:
1 – нормы, 2 – выше нормы

В процессе оседания эритроцитов различают 3 фазы. В 1 фазе под действием силы тяжести эритроциты медленно оседают отдельными клетками. Через некоторый период времени они образуют агломераты, монетные столбики, оседание которых происходит значительно быстрее, чем единичных клеток. Агломерация эритроцитов является основным феноменом реакции оседания эритроцитов. В 3 фазе оседание вновь замедляется: агломераты эритроцитов располагаются так густо, что дальнейшее их оседание затруднено, поэтому оно постепенно прекращается. В связи с этим увеличение СОЭ наблюдается при различных воспалительных процессах, интоксикациях, острых и хронических инфекциях, при инфаркте миокарда, опухолях, после кровопотери, оперативных вмешательств.

У мужчин и женщин средние показатели концентрации гемоглобина в крови соответствовали референтным значениям для мужчин, равным 140-160 г/л, и у женщин – 120-140 г/л, но проявлялись они в пределах верхних границ нормы (см. табл. 3.8). Анализ индивидуальных показателей концентрации гемоглобина в крови показал, что среди женщин выше процент лиц с более высокой концентрацией гемоглобина в крови (рис. 3.11).

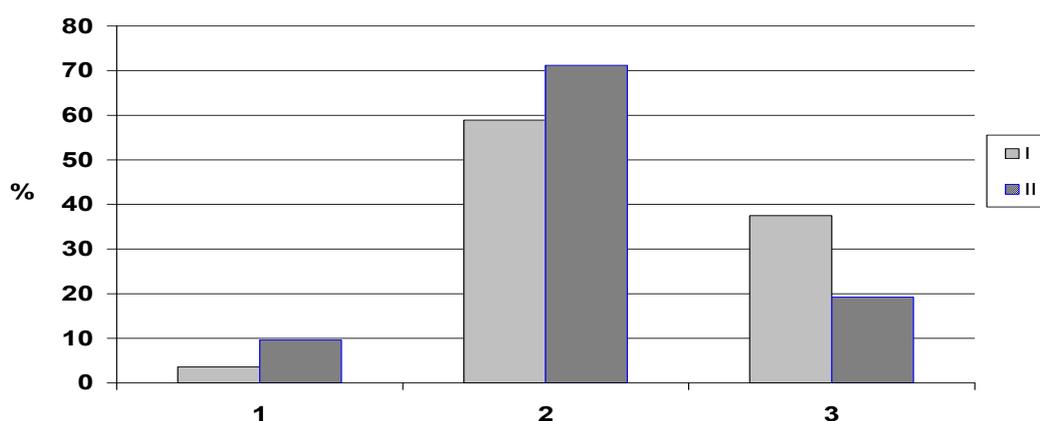


Рис. 3.11. Индивидуальные значения концентрации гемоглобина в крови на фоне гипергликемии: I – женщины, II – мужчины; 1- ниже нормы, 2 – норма, 3 – выше нормы содержание гемоглобина

Полагаем, у них более тяжело, то есть с большими затратами энергии протекает процесс приспособления организма к гипергликемии. Известно, что рост концентрации гемоглобина наблюдается при симптоматических эритроцитозах, эритремии, наследственных эритроцитозах, снижении объема плазмы [Камышников, 2015].

Согласно референтным значениям среднее содержание гемоглобина (МСН) в эритроците равно 29 ± 2 пг у взрослого человека. Полученные значения МСН в эритроците у мужчин и женщин представлены в таблице 3.9.

Таблица 3.9

Средние показатели содержания и концентрации гемоглобина в одном эритроците на фоне гипергликемии

Показатели, ед. изм.	$M \pm m$	σ	Min	Max
Мужчины				
Среднее содержание Нб в эритроците, пг	$31,6 \pm 0,20$	1,46	26,5	35,7
средняя концентрация Нб в эритроците, г/л	$368,6 \pm 1,09$	7,85	347	387
Женщины				
среднее содержание Нб в эритроците, пг	$30,9 \pm 0,32$	2,39	18	34,6
средняя концентрация Нб в эритроците, г/л	$366,2 \pm 1,19$	8,79	337	383

Представленные в таблице средние показания МСН в эритроците были более выраженными у мужчин, чем у женщин, что, полагаем, обусловлено изменением кровотока, то есть ухудшением процессов микроциркуляции в периферических тканях и органах из-за повышения вязкости крови, на что указывают повышенные против нормы показатели СОЭ (см. рис. 3.10). Этот результат оцениваем, как проявление адаптивно-компенсаторной реакции красной крови за счет более высокого насыщения её эритроцитов гемоглобином и стабилизации энергетических возможностей организма.

По данным литературы высокий уровень МСН наблюдается при мегалобластных анемиях, лейкозах, тяжелых анемиях, лечении цитостатиками. [Камышников, 2015].

Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (МСНС), характеризует количество его граммов, которое находится в 100 мл эритроцитов. Она представляет отношение массы к объему эритроцитов. Референтные значения МСНС составляют 340 ± 20 г/л. Полученные средние значения МСНС у мужчин и женщин оказались близкими по значению и превысили референтную величину на 8,2%.

Результаты индивидуального анализа МНС и МСНС у мужчин и женщин представлены на рисунке 3.12.

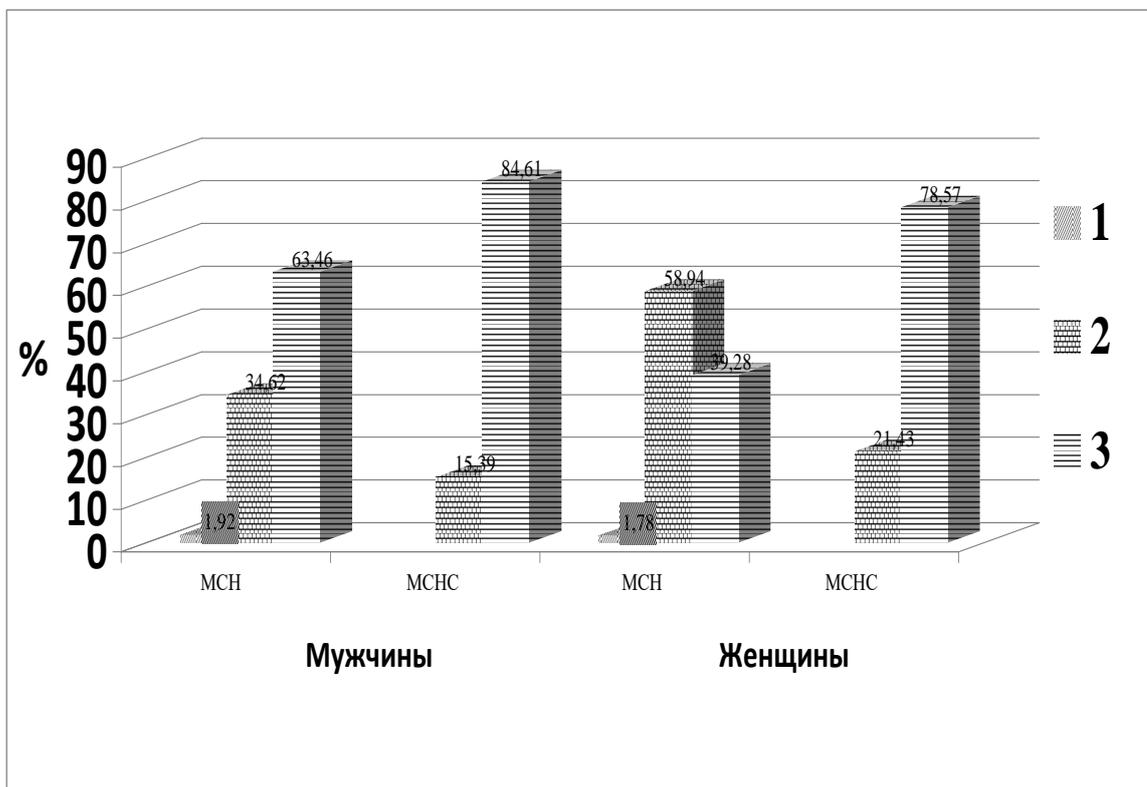


Рис. 3.12. Индивидуальные значения МСН в эритроците и МСНС в крови на фоне гипергликемии: I – женщины, II – мужчины; 1- ниже нормы, 2 – норма, 3 – выше нормы

При анализе функционального состояния системы красной по показателю МСНС следует учитывать, что он является наиболее стабильным показателем, так как предельная загрузка эритроцитов гемоглобином равна

36 г/100 мл при нормальном объеме клетки. Это параметр может быть использован как индикатор ошибки при подготовке пробы к анализу или в процессе работы прибора.

Увеличение МСНС свидетельствует о технических погрешностях, снижение МСНС свидетельствует о нарушении синтеза гемоглобина и сопровождается хронических инфекциях, онкологических и системных заболеваниях.

ВЫВОДЫ

1. Высокий уровень гипергликемии, равный в пределах 10 ммоль/л, стимулирует включение компенсаторно-адаптивных механизмов систем регуляции обменных процессов в организме, направленных на использование в качестве источников энергии триглицеридов и белков. Анализ индивидуальных показателей проявления у мужчин и женщин глюкозурии и кетонурии подтверждает их использование клетками в качестве источников энергии.

2. Повышенный у 38% мужчин и 19% женщин уровень содержания ферментов АЛТ против АСТ в крови указывает на нарушение у них функций печени – цитолиза гепатоцитов. Индивидуальные значения ПТИ у 15,4% мужчин и 38,5% женщин превысили физиологические нормы, указывая на гиперкоагуляцию и склонность к тромбообразованию.

3. Повышение средних показателей МСН и МСНС против физиологической нормы способствует проявлению адаптивно-компенсаторной реакции красного костного мозга, направленной на стабилизацию энергетических возможностей системы крови и организма в целом.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанян Н.А., Тель Л.З., Циркин В.И., Чеснокова С.А. Физиология человека. – М.: Медицинская книга; Н. Новгород: Издательство НГМА, 2001. – 526 с.
2. Аметов А.С. Ермакова Е.А. Сахарный диабет 2 типа и сердечно-сосудистые риски. // Сахарный диабет 2 типа. Проблемы и решения: учебное пособие. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – Т. 1. – 352 с.
3. Анатомия человека. / Под ред. М.Г. Привес, Н.К. Лысенков, В.И. Бушкович. – М.: «Медицина», 1985. – 672 с.
4. Аруин Л.И., Бабаев А.Г., Гельфанд В.Б. и др. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций: Руководство / Под ред. Д.С. Саркисова. – М.: Медицина, 1987. – 448 с.
5. Ахметов А.С., Балаболкин М.И., Моисеев В.С. Сахарный диабет 2 типа: метаболический аспект и сосудистые осложнения // Клиническая фармакология и терапия. – 1994. – №3. – с. 64-65.
6. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М. Роль инсулинрезистентности в патогенезе сахарного диабета второго типа. – Москва, 2003. – 206 с.
7. Беленок В.А. К характеристике моноцитов у больных с сахарным диабетом. // Терапевтический архив, 1997. – №2. – С. 59-62.
8. Бирюкова Е.В. Сахарный диабет 2 типа: от сахароснижающей терапии к предотвращению развития осложнений. // Эффективная фармакотерапия, 2014. – №46. – С. 16-21.
9. Благосклонная Я.В., Красильникова Е.И. Сахарный диабет. – Санкт-Петербург, 2004. – 326 с.
10. Бондарь Т.П. Морфологический и биохимический анализ эритроцитов у больных сахарным диабетом. Клиническая лабораторная диагностика. – М.: Медицина, 2003. – № 8. – С. 37-40.

11. Бутрова С.А., Плохая А.А. Ожирение и сахарный диабет: общность этиологии и профилактики. // Сахарный диабет, 2005. – №3. – С. 45-50.
12. Внутренние болезни: Учебник. В 2 томах. Т.2. / Е. М. Тареев, А.В. Сумароков, Н.А. Мухин и др; под ред А.В. Сумарокова. – М.: Медицина, 1993. – 624 с.
13. Воложин А.И., Субботин Ю.К. Болезнь и здоровье: две стороны приспособления. – М.: Медицина, 1998. – 480 с.
14. Габдулвалеева Д.Х., Алиев Р.М., Хузиханов Ф.В. Пиелонефрит и сахарный диабет. // Международный студенческий научный вестник, 2015. – №2. – С. 21-22.
15. Галстян Г.Р. Хронические осложнения сахарного диабета: этиопатогенез, клиника, лечение. – Москва, 2002. – 351 с.
16. Гурьева И.В. Общее руководство международной диабетической федерации по сахарному диабету 2 типа (краткое изложение). // Сахарный диабет. 2007. – №4. – С. 54-56.
17. Дедов И.И. Сахарный диабет – опаснейший вызов мировому сообществу. // Вестник Российской академии медицинских наук, 2012. – №1. – С. 7-13.
18. Дедов И.И. Патогенез сахарного диабета. – Москва, 2006. – 275 с.
19. Дедов И. И., Кураев Т. К., Петеркова В. А. Сахарный диабет у детей и подростков. Руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 272 с.
20. Дедов И.И., Омеляновский В.В., Шестакова М.В. Сахарный диабет как экономическая проблема в Российской Федерации. // Сахарный диабет, 2016. – Вып. №1, Т. 19. – С. 30-43.
21. Дедов И.И., Суркова Е.В., Майоров А.Ю. Сахарный диабет 2 типа. Книга для пациентов / Москва, 2003. (издание первое).
22. Дронова Е.И., Кулигин О.В. Сахарный диабет – индивидуальная оценка социальной значимости заболевания. // Электронный научно-образовательный вестник Здоровье и образование в XXI веке, 2006. – Т. 8. №5. – С. 244.

23. Друк И.В., Нечаев Г.И. Снижение сердечно-сосудистых рисков при сахарном диабете 2 типа: новый класс сахароснижающих препаратов – новые перспективы. // Лечащий врач, 2015. – Вып. №12. – С.35-37.
24. Дуданов И.П., Пигаревский П.В., Коржевский Д.Э., Мальцева С.В., Чумасов Е.И. Атеросклероз, сахарный диабет и автономная иннервация органов сердечно-сосудистой системы. // Медицинский академический журнал, 2012. – Т. 12. №2. – С. 19-27.
25. Дудел Дж. Рюэгг И., Шмидт Р., Яниг В. Физиология человека. Т.3. / Пер. с англ.; под ред. Р. Шмидта, Г. Тевса. – М.: Мир, 1985. – 272 с.
26. Ефимов А.С., Скробонская Н.А. Клиническая диабетология. – Казань, 1998. – 320 с.
27. Захаров В.Н. Основные механизмы адаптации человека./ В.Н Захаров, З.К. Трушинский, Е.М. Бурцев и др. – М.: Наука, 1993. – 189 с.
28. Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации холестерина в сыворотке и плазме крови (CHOLESTEROL Sapphire 800 Liquid Reagent, Audit Diagnostics), 2015.
29. Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации креатинина в сыворотке и плазме крови (CREATININ ENZIMATIC Sapphire 800 Liquid Reagent, Audit Diagnostics), 2015.
30. Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации глюкозы в сыворотке и плазме крови (GLUCOSE PAP Sapphire 800 Liquid Reagent, Audit Diagnostics), 2015.
31. Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации ЛПВП в сыворотке и плазме крови (HDL-CHOLESTEROL DIRECT Sapphire 800 Liquid Reagent, Audit Diagnostics), 2015.
32. Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации ЛПНП в сыворотке и плазме крови (LDL-CHOLESTEROL DIRECT Sapphire 800 Liquid Reagent, Audit Diagnostics), 2015.

33. Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации триглицеридов в сыворотке и плазме крови (TRIGLYCERIDES Sapphire 800 Liquid Reagent, Audit Diagnostics), 2015.
34. Инструкция по применению набора реагентов для определения концентрации мочевины в сыворотке и плазме крови (UREA UV Sapphire 800 Liquid Reagent, Audit Diagnostics), 2015.
35. Инструкция по применению тест полосок URISCAN для определения одного и более параметров в моче (кровь, билирубин, уробилиноген, кетоновые тела, белок, нитриты, глюкоза, рН, удельный вес, лейкоциты и аскорбиновая кислота), 2015.
36. Инструкция по применению Тромбопластина (из головного мозга кролика) для определения протромбинового времени (Ренампластина), 2015.
37. Инструкция к прибору Helena С-4, версия ПО: С11.11b, 2013 – 57 с.
38. Калинин А.П., Котов С.В. Неврологические расстройства при эндокринных заболеваниях. – Москва, 2001. – 131 с.
39. Караченцев Ю.И., Левченко Т.П., Полторак В.В. Гестационный сахарный диабет. – Москва, 2001 – 163 с.
40. Кисляк О.А., Мышляева Т.О., Малышева Н.В. Сахарный диабет 2 типа, артериальная гипертензия и риск сердечно-сосудистых осложнений. // Сахарный диабет. 2008. – №1. – С. 45-49.
41. Кишкун А.А. Современная клиническая лабораторная диагностика, 2012. – 744 с.
42. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований): учеб. пособие / под ред. Профессора В.С. Камышникова. – М.: МЕДпресс-информ, 2015. – 720 с.
43. Клиническая эндокринология: Руководство. / Под ред. Н.Т. Старковой. – М.: Медицина, 1991. – 512 с.

44. Кондратьева Л.В., Панафидина Т.А., Герасимова Е.В., Горбунова Ю.Н., Попкова Т.В., Насонов Е.Л. Сахарный диабет и гипергликемия у больных ревматоидным артритом. // Современная ревматология, 2014. – №3. – С. 23-27.
45. Корякина И.Ю., Эммануэль Ю.В. Лабораторные диагностики и мониторинг сахарного диабета. // Клиническая лабораторная диагностика. – М.: Медицина, 2002. – №5. – С. 25-35.
46. Космачева Е.Д., Петрик Г.Г. Сахарный диабет как протромбогенное состояние: пути профилактики.// Кардиология, 2013. – Т. 53. №4. – С. 80-87.
47. Кунцевич А.К., Мустафина С.В., Малютина С.К. Популяционное исследование питания городского населения при сахарном диабете 2 типа. // Сахарный диабет. – 2015. – Вып. №4, Т. 18. – С. 59-65.
48. Красюкова В.А., Чернов Ю.Н., Мубаракшина О.А. Сахарный диабет 2 типа и эластичность стенки сосудов. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2009. – Т. 8. №6. – С. 193-194.
49. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. / Под ред. М. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 298 с.
50. Левит Ш., Филиппов Ю.И., Горельшев А.С. Сахарный диабет 2 типа: время изменить концепцию. // Сахарный диабет, 2013. – №1(58). – С. 91-102.
51. Лимарева Л.В. Системный многофакторный анализ в оценке морфофункционального состояния лейкоцитов крови. Моделирование и прогнозирование заболеваний, процессов и объектов. – Самара, 1998. – 38 с.
52. Луговская С.А., Морозова В.Т., Почтарь М.Е., Долгов В.В. Лабораторная гематология. 3-е издание, исправленное и дополненное. – М.: Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2014. – 218 с.

53. Лякишев А.А. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. – Москва, 2004. – 354 с.
54. Мазовецкий А.Г., Великов В.К. Сахарный диабет. – М.: Медицина, 1987. – С. 5-30.
55. Мамедов М.Н. Особенности липидных нарушений у больных сахарным диабетом второго типа. – Москва, 2006. – 274 с.
56. Международная классификация болезней 10-го пересмотра, 1992.
57. Меньшиков В.В. Методики клинических лабораторных исследований. Т. 1. – Москва, 2009. – 303 с.
58. Микаелян н.П., Гурина А.Е., Смирнов В.В., Микаелян А.В., Терентьев А.А. Влияние оксидативного стресса на состояние инсулиносекреции и инсулинсвязывающей активности клеток крови при сахарном диабете и его осложнениях у детей. // Российский медицинский журнал, 2016. – Т. 22. – С. 38-41.
59. Михалкина О.П., Иванова В.С. Адаптация протокола обследования детей с сахарным диабетом // Клиническая лабораторная диагностика. – М.: Медицина, 2003. – № 9. – С. 11-12.
60. Молитвословова Н.А., Никонова Т.В. Сахарный диабет 2 типа, склонный к кетозу. // Сахарный диабет, 2009. – №3. – С. 65-69.
61. Мохорт Т.В. Гипогликемии и сахарный диабет 2-го типа: влияние на прогноз. // Медицинские новости, 2011. – №3. – С. 30-35.
62. Мухамеджанов Э.К., Есырев О.В. Сахарный диабет 2 типа: новые стороны патогенеза заболевания // Сахарный диабет, 2013. – №4. – С. 49-51.
63. Нечипасова Д.И., Зацепина Е.Е., Ивашев М.Н. Сахарный диабет 2-го типа или пандемия XXI века. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований, 2013. – №6. – С. 73-74.
64. Николаев С.В. Эндокринология. – Москва, 1987. – 935 с.

65. Огороков А.Н. Лечение болезней внутренних органов. М.: Медицинская литература, 2000. – 608 с.
66. Панова Е.И., Корнева К.Г. Сахарный диабет 2-го типа и прогностически неблагоприятные факторы. // Клиническая медицина, 2010. – Т. 88. №6. – С. 43-47.
67. Патология физиологии крови. Пер. с англ. – М.; СПб. «Издательство БИНОМ»-«Невский Диалект», 2000. – 448 с.
68. Парахонский А.П. Сахарный диабет у больных пожилого возраста. // Фундаментальные исследования. 2006. – №12. – С. 35-36.
69. Петрейкина Е.Е. Диагностика сахарного диабета. // Лечащий врач, 2005. – № 5. – С. 54-59.
70. Петрова М.М., Курумчина О.Б., Киричкова Г.А. Классификация сахарного диабета. // Вестник Клинической больницы №51, 2008. – Вып. №.1 – С. 3-7.
71. Потемкин В.В. Эндокринология. – М.: Медицина, 1999. – 608 с.
72. Потеряева О.Н, Панин Л.Е., Шевкопляс О.П. Липопротеины сыворотки крови при сахарном диабете второго типа. Т. 1. – Москва, 2003. – 485 с.
73. Пронина Е.А. Сахарный диабет второго типа в гериатрической практике. // Сибирское медицинское обозрение, 2013. – №6(84). – С. 92-97.
74. Размарин А.Дж. Лейкоциты. // Патология физиологии крови; пер. с англ. – М.: СПб. «Издательство БИНОМ»-«Невский Диалект», 2000. – 448 с.
75. Редькин Ю.А. Сахарный диабет: факторы, влияющие на эффективность самоконтроля. // Справочник поликлинического врача, 2012. – №1. – С. 26-30.
76. Роуз М.Дж., Берлинер Н. Эритроциты. / Патология физиологии крови; пер. с англ. – М.: СПб. «Издательство БИНОМ»-«Невский Диалект», 2000. – 448 с.

77. Руководство пользователя для биохимического анализатора DIRUI CS-300B, 2013. – 86 с.
78. Руководство пользователя для гематологического анализатора Medonic M-Series, 2012. – 90 с.
79. Руководство по эксплуатации анализатора мочи URISCAN PRO, 2007. – 52 с.
80. Руднева Л.Ф., Аскарлов А.Р. Сахарный диабет и артериальная гипертония. // Медицинская наука и образование Урала, 2008. – Т. 9. №6. – С. 122-125.
81. Сахарный диабет: этиология, патогенез, клиника, дифференциальный диагноз, принципы лечения. / Сост. М.Е. Стаценко, А.Ф. Косицына, С.В. Туркина, С.Л. Болотова. – Волгоград, 2002. – 64 с.
82. Силивончик Н.Н., Мараховский Ю.Х. Цирроз печени и сахарный диабет. // Медицинский журнал, 2003. – №2(4). – С. 81-85.
83. Смирнов В.В., Накула А.А. Сахарный диабет 1-го типа у детей и подростков: этиопатогенез, клиника, лечение. // Лечащий врач, 2015. – №6. – С. 55-58.
84. Смолянский Б.А., Лифляндский В.Г. Все о сахарном диабете (от А до Я). – Санкт-Петербург, 2006. – 529 с.
85. Спирина Л.В., Овчарникова. А.П. Чувствительность эритроцитов к глюкозе и инсулину при сахарном диабете у детей // Сб. ст.: Физиология человека в нормальном и экстремальных состояниях. – Томск, 2001. – С. 114-116.
86. Старкова, Н. Атеросклероз и диабет. //Диабет и образ жизни. – 1996. – № 3. – С. 15-25.
87. Судаков, К.В. Основные принципы общей теории функциональных систем. // Функциональные системы организма. – М.: Медицина, 1987. – С. 26-292.

88. Сунцов Ю.И., Болотская Л.Л., Маслова О.В., Казаков И.В. Эпидемиология сахарного диабета и прогноз его распространенности в Российской Федерации. // Сахарный диабет, 2011. – №1. – С. 15-18.
89. Татарченко И.П., Позднякова Н.В., Мордовина А.Г., Секерко С.А., Морозова О.И. Артериальная гипертензия и сахарный диабет 2-го типа: клиническая оценка гемодинамических показателей, возможности коррекции. // Клиническая медицина, 2009. – Т. 87. №10. – С. 21-25.
90. Тель Л.З. Валеология: Учение о здоровье, болезни и выздоровлении. В 3 т.– М.: ООО «Изд-во АСТ»; «Астрель», 2001. – Т. 2. – 480 с.
91. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Вводный курс. – Москва, 1989. – 656 с.
92. Терещенко С.Н., Косицына И.В., Голубев А.В. Сахарный диабет и ишемическая болезнь сердца. // Сердце: журнал для практикующих врачей. 2008. – Т. 7. №1. – С. 13-16.
93. Фадеев П.А. Сахарный диабет. – М.: ООО «Издательство Оникс», 2009. – 208 с.
94. Физиологические системы организма человека: справочное пособие. / Под ред. проф. Г.И. Козинца. – Триада-Х, 2000. – 336 с.
95. Халтурина Ю.В., Зенович П.А. Сахарный диабет, как осложнение панкреатита у пациентов с ожирением. // Научные стремления, 2013. – №3(7). – С. 96-98.
96. Шамхалова М.Ш., Клефортова И.И., Трубицина Н.П. и др. Поражение почек при сахарном диабете второго типа. – Москва, 2006. – 174 с.
97. Шарипов Р.А. Артериальная гипертензия и сахарный диабет. // Российский кардиологический журнал, 2008. – № 3 (71). – С. 71-75.
98. Шестакова М.В., Шамхалова М.Ш., Ярек-Мартынова И.Я. и др. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: достижения, нерешенные проблемы и перспективы лечения. // Сахарный диабет, 2011. – №1. – С. 81-88.

99. Эндокринология и метаболизм. Т. 2. Перевод с англ. / Под ред. Ф. Флеминга, Дж.Д. Бакстера, А.Е. Бродуса, Л.А. Фромена. М.: Медицина, 1985. – 416 с.
100. Эндокринология: национальное руководство. / Под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1072 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Методики исследований

1. Методика исследования глюкозы

Принцип метода: глюкозооксидаза катализирует окисление β -D-глюкозы кислородом воздуха с образованием эквимольных количеств глюколактона и перекиси водорода. Пероксидаза катализирует окисление хромогенных субстратов перекисью водорода в присутствии фенола с образованием окрашенного соединения, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации глюкозы в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 505 (480-520) нм

Таблица 1

Компоненты реакционной смеси для исследования
уровня глюкозы

Отмерить, мкл	Опытная проба
Сыворотка крови	3
Реагент 1	300

Пробы перемешать и инкубировать при температуре + 37 °С в течение 10 мин, а затем измерить оптическую плотность опытной пробы.

Референтные значения: 4,1-5,9 ммоль/л

2. Методика исследования мочевины

Принцип метода: уреазы катализируют гидролиз мочевины с образованием аммиака и углекислого газа. При взаимодействии аммиака с α -кетоглутаратом в присутствии глутаматдегидрогеназы происходит окисление НАДН. Скорость окисления НАДН прямо пропорциональна концентрации мочевины и измеряется фотометрически при длине волны 340 нм.

Проведение анализа:

Перед проведением анализа реагент 1 следует нагреть до температуры $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в течение 5 мин.

Таблица 2

Компоненты реакционной смеси для исследования мочевины

Отмерить, мкл	Опытная проба
Сыворотка крови	4
Реагент 1	250
Реагент 2	150

Референтные значения: 1,7-8,3ммоль/л

3. Методика исследования креатинина

Принцип метода: метод основан на реакции Яффе. Креатинин в щелочной среде взаимодействует с пикриновой кислотой с образованием окрашенного комплекса, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации креатинина в образце и измеряется фотометрически при длине волны 500 (490 - 510) нм.

Проведение анализа:

Перед проведением анализа реагент 1 следует нагреть до температуры $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ в течение 5 мин.

Таблица 3

Компоненты реакционной смеси для исследования креатинина

Отмерить, мкл	Опытная проба
Сыворотка крови	6
Реагент 1	250
Реагент 2	125

Референтные значения: : м 62-115 мкмоль/л ж 53-97 мкмоль/л

4. Методика исследования холестерина

Принцип метода: при гидролизе эфиров холестерина образуется свободный холестерин. Образовавшийся в результате гидролиза и имеющийся в пробе холестерин окисляется кислородом воздуха под действием холестеролоксидазы с образованием эквимольных количеств перекиси водорода. Под действием пероксидазы перекись водорода окисляет хромогенные субстраты с образованием окрашенного соединения, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации холестерина в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 500 (480-520) нм.

Таблица 4

Компоненты реакционной смеси для исследования холестерина

Отмерить, мкл	Опытная проба
Сыворотка крови	3
Реагент 1	250

Пробы перемешать и инкубировать при температуре + 37 °С в течение 10 мин, а затем измерить оптическую плотность опытной пробы.

Референтные значения: 5,1-6,1ммоль/л

5. Методика исследования триглицеридов

Принцип метода: липаза катализирует реакцию гидролиза триглицеридов с образованием жирных кислот и эквимольного количества глицерина. Глицерин при наличии АТФ, гексокиназы и глицерофосфатоксидазы окисляется кислородом воздуха с образованием эквимольного количества перекиси водорода. Пероксидаза катализирует окисление хромогенных субстратов перекисью водорода в присутствии хлорфенола с образованием окрашенного продукта, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации триглицеридов в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 500 (480 - 520) нм.

Таблица 5

Компоненты реакционной смеси для исследования триглицеридов

Отмерить, мкл	Опытная проба
Сыворотка крови	3
Реагент 1	250

Пробы перемешать и инкубировать при температуре + 37 °С в течение 10 мин, а затем измерить оптическую плотность опытной пробы.

Референтные значения: 0-2,26 ммоль/л

6. Методика исследования Липопротеидов высокой плотности

Ранее определение ЛПВП-холестерина проводилось осадительными методами, требующими много времени.

ЛПВП-иммуно это гомогенный метод измерения ЛПВП-холестерина без шага центрифугирования. Антитела против человеческих липопротеинов используются для того, чтобы связать ЛПНП, ЛПОНП и хиломикроны в комплексы антиген–антитело, в то время как ЛПВП-холестерин селективно определяется ферментативным измерением холестерина.

Принцип метода:

ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП,

хиломикрон $\xrightarrow[\beta\text{-липопротеинам}]{\text{Антитела к человеческим}}$ ЛПВП + комплексы антиген–антитело

ЛПВП холестерин + H₂O + O₂ $\xrightarrow{\text{ХЭ \& ХО}}$ Холестенон + жирная кислота + H₂O₂

H₂O₂ + F-DAOS + 4-Аминоантипирин $\xrightarrow{\text{под}}$ Комплекс синего цвета + H₂O

Таблица 6

Компоненты реакционной смеси для исследования
липопротеидов высокой плотности

Отмерить, мкл	Опытная проба
Сыворотка крови	3
Реагент 1	270
Реагент 2	90

Референтные значения: м 30-63мг/дл ж 33-87мг/дл

7. Методика исследования Липопротеидов низкой плотности

Принцип метода: метод прямого измерения ЛПНП холестерина без осаждения. На первом этапе липопротеины, не относящиеся к ЛПНП, подвергаются воздействию ферментов, в то время как ЛПНП селективно защищены. На втором этапе ЛПНП освобождаются и селективно определяются с помощью цветной ферментативной реакции.

Таблица 7

Компоненты реакционной смеси для исследования
липопротеидов низкой плотности

Отмерить, мкл	Опытная проба
Сыворотка крови	3
Реагент 1	270
Реагент 2	90

Референтные значения: 0-130 мг/дл

8. Методика исследования общего билирубина

Принцип метода: при взаимодействии сульфаниловой кислоты с азотокислым натрием образуется диазофенилсульфоновая кислота, которая, реагируя со связанным билирубином сыворотки, дает розово-фиолетовое окрашивание. По интенсивности его судят о концентрации билирубина,

вступающего в прямую реакцию. При добавлении к сыворотке крови кофеинового реактив свободный билирубин переходит в растворимое диссоциированное состояние, благодаря чему он также вызывает розово-фиолетовое окрашивание раствора со смесью диазореактивов. По интенсивности последнего фотометрически определяют концентрацию общего билирубина.

Таблица 8

Компоненты реакционной смеси для исследования
уровня общего билирубина

Отмерить, мкл	Опытная проба
Сыворотка крови	0,5
Кофеиновый реактив	1,75
Диазосмесь	0,25

Референтные значения: 8,55-20,52 мкмоль/л

9. Методика исследование показателей системы свертывания крови

Определение Международного нормализованного отношения, при использовании тромбопластина, стандартизованного по МИЧ (Международный индекс чувствительности).

В настоящее время для проведения этого теста в мире используется около 30 тромбопластинов, которые получают из разных источников (кадаверный мозг человека, мозг быка, кролика или плацента человека), а также рекомбинантные, которые неодинаково чувствуют дефекты свертывания крови и в разной степени ингибируются белками, образованными после блокирования синтеза витамина К антикоагулянтами.

Выражение результатов исследования в единицах МНО позволяет сопоставлять результаты, полученные при анализе разными реагентами и на разных приборах.

1) определить ПВ свежего пула донорской плазмы или время свертывания контрольной нормальной плазмы ПВнп

2) рассчитать ПО плазмы пациента

$$\text{ПО} = \text{ПВпац}/\text{ПВнп}, \text{ где:}$$

ПВпац - протромбиновое время пациента в сек;

ПВнп протромбиновое время пула донорской (или контрольной нормальной) плазмы в сек;

3) рассчитать МНО для плазмы пациента, МИЧ указан в паспорте набора.

$$\text{МНО} = \text{ПО} \cdot \text{МИЧ}$$

Введение МНО позволяет сравнивать результаты измерений с различными тромбопластинами и использовать установленные в международных центрах стандартизации терапевтические границы необходимой и достаточной антикоагулянтной терапии. МИЧ более чувствительных реагентов близок к 1,0. МИЧ менее чувствительных составляет 2,0-2,8. Т.е, чем выше значение МИЧ, тем менее чувствителен тромбопластин к изменению содержания компонентов протромбинового комплекса и, следовательно, тем больше может быть ошибка результата ПТ.

Принцип метода: свертывании цитратной плазмы в присутствии тромбопластина и оптимальной концентрации ионов Ca^{+2} , отражает снижение большинства витамин К-зависимых прокоагулянтов (факторов II, X, VI). В роли тканевого фактора, запускающего каскад свертывания, используют частично очищенные экстракты тканей мозга человека, кролика, быка, экстракты легких или плаценты человека, получившие название тромбопластинов. Кальций плазмы, связанный цитратом натрия, заменяют на вносимый экзогенно стандартный раствор 0,025М хлористого кальция и проводят реакцию при постоянной температуре 37°C.

Референтные значения: в норме МНО = 0,8 - 1,15;