

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ІМЕНІ П. Л. ШУПІКА

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**БИХОВЕЦЬ МИХАЙЛО ЮРІЙОВИЧ**

УДК 616.735:577.112:577.115.3:616.36

**ДИСЕРТАЦІЯ**

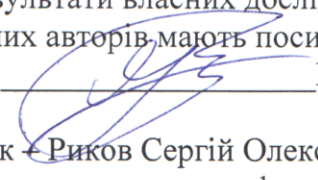
**ОПТИМІЗАЦІЯ ДІАГНОСТИКИ І ПРОФІЛАКТИКИ ДІАБЕТИЧНОЇ  
РЕТИНОПАТІЇ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ**

222 – Медицина

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів  
і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 М. Ю. Биховець

Науковий керівник – Риков Сергій Олександрович, доктор медичних наук,  
професор

Київ – 2021

## АНОТАЦІЯ

Биховець М. Ю. Оптимізація діагностики і профілактики діабетичної ретинопатій у хворих на цукровий діабет 2 типу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина (наукова спеціальність «Офтальмологія»). – Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України, Київ, 2021.

Дисертація присвячена вирішенню актуального завдання сучасної офтальмології – підвищенню ефективності прогнозування розвитку та прогресування діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу шляхом дослідження екзогенних впливів та ендогенної *L-FABP*-залежної внутрішньоклітинної регуляції ліпідного метаболізму і формування концепції генетично детермінованих порушень для обґрунтування напрямків персоніфікованої терапії.

Завдання дослідження:

1. Провести аналіз інформативності біохімічних маркерів оцінки порушення ліпідного метаболізму на тлі гіперглікемії у пацієнтів із ДР та ЦД2.
2. Вивчити особливості способу життя та жирнокислотного складу їжі, як факторів екзогенного впливу на прогресування ДР у хворих на ЦД2.
3. Вивчити вміст печінкової форми (Liver) ендогенного регуляторного протеїну FABP у пацієнтів із різними стадіями ДР на тлі ЦД2 та ступінь експресії протеїну в залежності від генотипу *PPARG*.
4. Дослідити *PPARG*-залежні поведінкові відмінності та особливості енергетичного субстрату у пацієнтів із різними стадіями ДР на тлі ЦД2.
5. Сформувати концепцію розвитку генетично детермінованих порушень внутрішньоклітинних *L-FABP*-залежних регуляторних механізмів ліпідного обміну, що обумовлюють прогресування ДР у пацієнтів, хворих на ЦД2, із різним *PPARG* генотипом.

Об'єкт дослідження: Діабетична ретинопатія (МКХ 10 – H36.0).

Предмет дослідження: офтальмологічний статус; генетичні й метаболічні фактори розвитку та прогресування діабетичної ретинопатії у хворих на ЦД2 (розподіл частоти алелей і генотипів гена *PPARG* в групах пацієнтів, *PPARG*-залежні поведінкові відмінності та особливості енергетичного субстрату, показники ліпідограми, сироватковий рівень L-FABP, дані анкетування про спосіб життя та харчування, стать, вік, ІМТ, схеми лікування тощо).

Методи дослідження: загальноклінічні (огляд, збір анамнезу, біоморфометрія), офтальмологічні (визначення гостроти зору, поля зору, внутрішньоочного тиску, авторефрактометрія, офтальмоскопія, оптична когерентна томографія з функцією ангиографії, біомікроскопія, гоніоскопія, фотографуванням очного дна за допомогою фундус-камери); біохімічні (спектрометричні для визначення показників ліпідограми; глюкозооксидазний — для глюкози крові, іонно-обмінної температурно незалежної хроматографії-спектрофотометрії для глікованого гемоглобіну); метод газово-рідинної хроматографії для вивчення ЖК; ПЛР-аналіз для вивчення SNP-поліморфізму гена *PPARG*; імуноферментний аналіз для визначення сироваткового рівня L-FABP, статистичні — критерій Шапіро-Уїлка для визначення відповідності закону Гауса, критерій  $\chi^2$  для порівняння даних у таблиці спряженості «k\*m», непараметричний критерій Крускала-Уолліса для порівняння незалежних вибірок.

У першому розділі дисертації проведено детальний аналіз сучасної літератури з досліджуваної проблеми. Виявлено, що залишається не з'ясованим, як експресуються регуляторні протеїни L-FABP у хворих на ЦД2, ускладнений ДР в залежності від поліморфізму гена *PPARG*. Ці дані можуть визначати персоніфіковані особливості порушення ліпідного метаболізму у хворих на ДР із ЦД2, що в свою чергу, відкриває нові шляхи запобігання розвитку ДР.

Другий розділ детально описує дизайн дослідження, клінічну характеристику груп порівняння, критерії включення і повний обсяг проведених офтальмологічних досліджень пацієнтів із різними стадіями ДР на тлі ЦД2. Наведений методологічний шлях лабораторних досліджень: біохімічних методів, дослідження

імуноферментного аналізу та молекулярно-генетичні. Показані методи анкетування та статистичної обробки отриманих даних.

Третій розділ присвячений вивченню інформативності біохімічних маркерів для оцінки порушення ліпідного метаболізму на тлі гіперглікемії у пацієнтів із діабетичною ретинопатією на тлі ЦД2. Показано, що стан ліпідного метаболізму характеризувався суттєвою різницею вмісту ЖК мембран еритроцитів у пацієнтів з ЦД2 та різними стадіями ДР (ДР-1, ДР-2, ДР-3) в порівнянні з групою здорових осіб. У групах ДР-1 та ДР-3 спостерігалось підвищення в 1,5–2 рази ( $P < 0,05$ ) вмісту насичених ЖК (НЖК) і відповідне зниження ненасичених ЖК (ННЖК) за рахунок поліненасичених ЖК, а в групі ДР-2 спостерігався практично рівний вміст НЖК та ННЖК.

Четвертий розділ присвячений вивченню особливості способу життя (СЖ) та жирнокислотного складу їжі, як факторів екзогенного впливу прогресування ДР у пацієнтів із ЦД2 у порівнянні із людьми тієї ж вікової групи без діабету, які склали контрольну групу (КГ). Особи із КГ виконували додаткові фізичні вправи в 9 разів більше ( $P < 0,05$ ), щоденно вживали 1,5–2 літри води в 4,6 рази більше ( $P < 0,05$ ), а фруктів та овочів в 2 рази більше ( $P < 0,05$ ).

У п'ятому розділі описано дослідження вмісту в плазмі крові ендogenous регуляторного протеїну L-FABP у пацієнтів із різними стадіями ДР на тлі ЦД2, а також проведено порівняння вмісту L-FABP в залежності від генотипу *PPARG*. Показано, у носіїв дикого генотипу *Pro12Pro* із прогресуванням ДР спостерігається поступове недостовірне підвищення протеїну L-FABP. У носіїв алелі *12Ala* виникнення ДР супроводжується 4-разовим підвищенням ( $P < 0,05$ ) протеїну, а прогресування ДР супроводжується поступовим зменшенням його вмісту.

У шостому розділі описані *PPARG*-залежні поведінкові відмінності та особливості вмісту ЖК мембран еритроцитів у пацієнтів із різною стадією ДР на тлі ЦД2. Показано, у носіїв *Pro12Pro* генотипу вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР підвищувався в 1,4 рази ( $P < 0,05$ ) відносно КГ, а з прогресуванням ДР — знижувався в 7,5 разів ( $P < 0,05$ ). У носіїв алелі *12Ala* вміст арахідонової ЖК

на початку розвитку ДР був в 2 рази меншим ніж в КГ ( $P < 0,05$ ) і ще поступово зменшувався із прогресуванням ДР.

У цьому розділі наводиться аналіз та узагальнення отриманих результатів, із власним поглядом на принципи циркуляції в клітині ЖК, зв'язаних із L-FABP, за класичним шляхом *PPARG*-залежного механізму та при його порушенні. Наочно продемонстрована різниця у патогенетичних механізмах розвитку та прогресування ДР у пацієнтів з різним генотипом гена *PPARG*, що стало підґрунтям створення концепції двох шляхів реалізації генетично детермінованих внутрішньоклітинних механізмів ліпідного обміну, які обумовлюють прогресування ДР у пацієнтів із ЦД2. На основі концепції рекомендовано впровадити в клінічну практику алгоритм підвищення ефективності прогнозування розвитку та прогресування ДР у хворих на ЦД2 із різним генотипом.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше був проведений аналіз рівня сироваткового L-FABP у пацієнтів з різною стадією ДР на тлі ЦД2, який показав, що шляхи розвитку ДР пов'язані із підвищенням вмісту регуляторного протеїну, але відрізняються залежно від генотипу. У носіїв *Pro12Pro* *PPARG* генотипу із прогресуванням ДР спостерігається поступове недостовірне підвищення протеїну L-FABP. У носіїв алелю *12Ala* виникнення ДР супроводжується 4-разовим кратним підвищенням ( $P < 0,05$ ) протеїну, а прогресування ДР — поступовим зниженням його вмісту.

У хворих з різною стадією ДР та ЦД2 вперше було виявлено, що вміст ЖК еритроцитарних мембран, тригліцеридів та ЛПНЩ плазми достовірно відрізняється залежно від генотипу гена *PPARG*. У носіїв *Pro12Pro* генотипу вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР був підвищений в 1,4 рази ( $P < 0,05$ ) відносно КГ, а з прогресуванням ДР — знижений в 7,5 разів ( $P < 0,05$ ). У носіїв алелі *12Ala* вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР був в 2 рази нижчим ніж в КГ ( $P < 0,05$ ) і поступово знижувався з прогресуванням ДР.

Вперше у хворих із різною стадією ДР та ЦД2 були вивчені ендогенні фактори у вигляді поведінкових звичок, особливостей харчування, СЖ, схильності до корекції гіперглікемії та гіперліпідемії залежно від *PPARG*-генотипу. За

раціональністю харчування та СЖ носії *Pro12Pro* генотипу не відрізнялися від осіб КГ. Носіям алелі *12Ala* було притаманно на початку захворювання нехтування харчовими рекомендаціями, але з прогресуванням ДР свідомість у правильному харчуванні зростала в 2 рази ( $P < 0,05$ ), водночас, їхній СЖ був менш раціональним ніж у носіїв *Pro12Pro* генотипу, а поглиблення ДР ще в 2–3 рази знижувало ( $P < 0,05$ ) прагнення до здорового СЖ.

Вперше висловлена гіпотеза про можливий зв'язок відмінностей поведінкового характеру, схильності до вживання деяких продуктів та терапевтичної корекції із генетично обґрунтованими особливостями регуляції обміну речовин, механізмами забезпечення енергетичним субстратом печінки, скелетної мускулатури тощо.

Вперше сформована концепція реалізації генетично детермінованих внутрішньоклітинних L-FABP-залежних патофізіологічних механізмів ліпідного метаболізму, що обумовлюють прогресування ДР у пацієнтів із ЦД2 та різним *PPARG* генотипом. У носіїв *Pro12Pro* генотипу ДР, як ускладнення ЦД2, виникає в результаті хронічного запалення за рахунок *PPARG*-залежної транскрипції генів, експресії ферментів, що окислюють арахідонову ЖК, синтезу метаболітів, які впливають на стан ендотелію. У носіїв алелю *12Ala* гальмується *PPARG*-залежна транскрипція генів, і ЖК утилізуються в клітині за рахунок впливу інших L-FABP механізмів, що призводить до активації прямого пероксисомного окиснення, виникнення оксидативного стресу та пошкодження ендотелію активними формами кисню.

Практичне значення отриманих результатів. Вперше було обґрунтовано та рекомендовано в клінічну практику алгоритм підвищення ефективності прогнозування розвитку та прогресування ДР у хворих на ЦД2, який полягав в урахуванні генетично детермінованих механізмів при розробці та вдосконаленні терапевтичних схем, формуванні харчових та поведінкових рекомендацій.

При порівнянні інформативності біохімічних маркерів для оцінки порушення ліпідного метаболізму на тлі гіперглікемії у пацієнтів із різною стадією ДР та ЦД2, встановлено, що при оцінці ліпідного обміну найбільшу інформативність показав аналіз вмісту ЖК еритроцитарних мембран на відміну від загального холестерину,

тригліцеридів, ЛПНЩ, ЛПВЩ, які у пацієнтів з ДР не мали достовірної різниці в порівнянні зі здоровими особами.

Вперше був вивчений СЖ пацієнтів із ДР на тлі ЦД2 та людей тієї ж вікової групи без діабету. Для інтегральної кількісної оцінки показників СЖ в групах порівнянь були розраховані індекси (через кількість балів за відповіді в анкеті), які надають об'єктивні підстави сформулювати рекомендації для пацієнтів. Вперше був проаналізований раціон харчування пацієнтів із ДР за даними анкетування та опитування із визначенням показника «раціональності вживання ЖК» залежно від того, наскільки вірно, з точки зору рекомендацій харчування, людина вживає різні продукти-джерела ЖК.

Виявлено, що за звичками СЖ пацієнти із ЦД2 суттєво відрізнялися від людей тієї ж вікової групи без діабету. Особи КГ у порівнянні із пацієнтами виконували додаткові фізичні вправи в 9 разів більше ( $P < 0,05$ ), щоденно вживали 1,5–2 літри води, що в 4,6 рази більше ( $P < 0,05$ ), а фруктів та овочів в 2 рази більше ( $P < 0,05$ ). Недостатність вживання фруктів і овочів знаходиться в прямій залежності зі стадією прогресування ДР, на відміну від додаткових фізичних вправ та звички до щоденного вживання води, звичок, які не корелювали із поглибленням ДР. Вживання у їжу продуктів-джерел різних ЖК за розрахованим показником «раціональності вживання ЖК», що був отриманий при аналізі анкет харчування, суттєво не відрізнялося у осіб КГ та пацієнтів з різним ступенем ДР.

Ключові слова: діабетична ретинопатія, цукровий діабет 2-го типу, жирні кислоти, *PPARG*-генотип, *L-FABP*, спосіб життя, харчування, ліпідний метаболізм, діагностика, профілактика.

## Список публікацій здобувача за темою дисертації:

*Наукові праці в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:*

1. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Особливості способу життя як фактор ризику розвитку і прогресування діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2-го типу.» *Архів офтальмології України*, №7.1, 2019. сс. 54-61.
2. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Вплив експресії L-FABP та жирнокислотного складу їжі на стан ліпідного метаболізму хворих із різним ступенем діабетичної ретинопатії та цукрового діабету 2 типу.» *Архів офтальмології України*, №7.3, 2019, сс. 27-36.
3. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «PPARG-залежні відмінності енергетичного субстрату у пацієнтів із різними стадіями діабетичної ретинопатії хворих на цукровий діабет 2 типу.» *Офтальмологический журнал*, №6, 2019, сс. 7-14.
4. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Поведінкові та генетично детерміновані відмінності у хворих на цукровий діабет 2 типу, ускладнений ретинопатією із різним PPARG-залежним фенотипом» *Медицина України*, №15(3-4), 2019, сс. 39-47.
5. Натрус Л.В., Гайова Л.В., Биховець М.Ю., Осадчук Ю.С., Коновалов С.Е. «Значення регуляторних впливів на ліпідний метаболізм при ускладненому цукровому діабеті 2 типу.» *Фізіологічний журнал*, №66(1), 2020, сс. 25-34.
6. Bykhovets, Mykhailo «Effects of nutrition and controlled physical activity on pathogenesis of diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients». *Znanstvena misel journal*, №45, 2020, pp. 50-56. (Ljubljana, Slovenia).
7. Bykhovets Mykhailo. «Studying fatty acid content in red blood cell membranes in diabetic retinopathy of type 2 diabetes patients.» *Journal of Education, Health and Sport*, №10(10), 2020, pp. 51-60. (Toruń, Poland).

*Наукові праці які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

8. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Розрахунок кількісних критеріїв оцінки способу життя пацієнтів із діабетичною ретинопатією та цукровим

діабетом 2 типу. *«Філатовські читання - 2019»*, Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю 23-24 травня, Одеса, Чорномор'я, 2019, сс. 147-148.

9. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Вивчення порушення ліпідного обміну за рівнем L-FABP у пацієнтів із різним ступенем діабетичної ретинопатії. *«Шевальовські читання 19»*, науково-практична конференція офтальмологів України 20-21 червня 2019 року: збірник праць/ під редакцією професора Н.Г.Завгородньої, професора С.О.Рикова. Запоріжжя, 2019, сс. 43-44.
10. Биховець М.Ю. «Вплив харчових жирних кислот на стан енергетичного субстрату у хворих з діабетичною ретинопатією та цукровим діабетом 2 типу. *«Рефракційний пленер`19»* науково-практична конференція з міжнародною участю 17-19 жовтня 2019 року: збірник праць. під редакцією професора С.О.Рикова, Київ, 2019, сс. 13-15.
11. Дривинський В.В., Натрус Л.В., Биховець М.Ю., Вершута О.М. «Аналіз інформативності біохімічних маркерів для оцінки порушення ліпідного метаболізму у пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу.» *Сучасні питання молекулярно-біохімічних досліджень та лабораторного скринінгу у клінічній та експериментальній медицині, збірка тез Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю 05-06 березня*, Запоріжжя, 2020, сс. 20-21.  
*Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:*
12. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Роль метаболічних порушень та генотипу в розвитку діабетичної ретинопатії (огляд літератури).» *Архів офтальмології України*, №6.3, 2018, сс. 54-60.

## ANNOTATION

Bykhovets. M. Optimizing diagnostics and prevention of diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients. – Qualified research paper as a manuscript.

Thesis for a degree of Ph.D in the field of knowledge 22 "Health" by specialty 222 - Medicine. – Shupyk National University of Health of Ukraine of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2021.

Thesis is aimed at solving topical task of modern ophthalmology – improving efficiency in predicting the development and progression of diabetic retinopathy (DR) in type 2 diabetes (T2D) patients via researching exogenous effect and endogenous L-FABP-dependent intracellular regulation of lipid metabolism and formation of the concept of genetically determined defects to substantiate the directions of individualized therapy.

Study tasks:

1. Analyse the descriptiveness of the biochemical markers for the evaluation of lipid dysmetabolism secondary to hyperglycemia in patients with DR and T2D.

2. Research the aspects of lifestyle and fatty acid composition of food as the factors of exogenous effect on DR progression in T2D patients.

3. Research the content of the liver endogenous regulatory protein FABP in patients with different stages of DR secondary to T2D and the degree of protein expression depending on *PPARG* genotype.

4. Explore *PPARG*-dependent behavioural differences and patterns of energy substrate in the patients with different stages of DR secondary to T2D.

5. Evolve the concept of the development of genetically determined defects of intracellular L-FABP-dependent regulatory mechanisms of the lipid metabolism that stipulate DR progression in T2D patients with different *PPARG* genotypes.

Study object: Diabetic retinopathy (ICD 10 – H36.0).

Study topic: ophthalmologic status; genetic and metabolic factors of the development and progression of diabetic retinopathy in T2D patients (distribution of the rate of alleles and genotypes of *PPARG* in the groups of patients, *PPARG*-dependent behavioural differences and patterns of energy substrate, lipid profile parameters, serum L-FABP, results of survey on lifestyle and diet, gender, age, BMI, treatment regimens, etc.

Study methods: general clinical (check-up, medical history, biomorphometry), ophthalmological (visiometry, perimetry, tonometry, refractometry, bio microscopy, gonioscopy, ophthalmoscopy, optical coherence tomography angiography, fundoscopy with fundus photography); biochemical (spectrometry to measure lipid profile parameters; glucose oxidase – for blood glucose, ion-exchange temperature independent chromatography-spectrometry for glycosylated haemoglobin); gas-liquid chromatography to study FAs; PCR to study SNP polymorphism of *PPARG*; enzyme immunoassay to measure serum L-FABP, statistical – Shapiro-Wilk test to determine correspondence with Gaussian distribution,  $\chi^2$  to compare data in the contingency table “k\*m”, Kruskal-Wallis non-parametric test to compare independent samples.

The first section of the thesis analysis in detail the modern literature on the above topic. It was found that it has not been established yet, how L-FABP regulatory proteins are expressed in T2D complicated with DR depending on *PPARG* polymorphism. These data could determine individualized aspects of lipid dysmetabolism in T2D patients with DR that in turns opens new ways in preventing DR.

The second section describes in detail the design of study, clinical profile of the comparison groups, inclusion criteria and complete scope of ophthalmological exams conducted among patients with different stages of DR secondary to T2D. Methodological options of laboratory tests such as biochemical methods, enzyme immunoassay, molecular and genetic tests are proposed. Methods of survey and statistical processing of the results are provided.

The third section studies descriptiveness of the biochemical markers for the evaluation of lipid dysmetabolism secondary to hyperglycemia in patients with diabetic retinopathy secondary to T2D. It was shown that lipid metabolism status is characterized by a significant difference in red blood cell membrane fatty acid (FA) content in T2D patients with different DR stages (DR-1, DR-2, DR-3) compared to healthy subjects. Groups DR-1 and DR-3 have shown 1.5- to 2-fold ( $P < 0.05$ ) increase in saturated FA (SAFAs) content, appropriate decrease in unsaturated FA (USFAs) content due to polyunsaturated FAs, and group DR-2 has shown virtually equal content of SAFAs and USFAs.

The fourth section deals with studying the aspects of lifestyle (LS) and fatty acid composition as the factors of exogenous effect on DR progression in T2D patients compared with their diabetes-free age-mates in the control group (CG). Subjects in the CG had 9-fold higher physical activity ( $P < 0.05$ ), drank 1.5 to 2 liters of water daily that is 4.6-fold higher ( $P < 0.05$ ), and ate 2-fold higher amount of fruit and vegetables ( $P < 0.05$ ).

The fifth section describes the study of the plasma content of endogenous regulatory protein L-FABP in the patients with different stages of DR secondary to T2D and compares L-FABP content depending on *PPARG* genotype. The carriers of wild type gene *Pro12Pro* were shown to have a gradually insignificant increase in L-FABP protein level with DR progression. In the carriers of *12Ala*, onset of DR is accompanied with 4-fold increase ( $P < 0.05$ ) in protein level and DR progression is accompanied by gradual decrease in its content.

The sixth section describes *PPARG*-dependent behavioural differences and patterns of red blood cell membrane FA content in the patients with different stages of DR secondary to T2D. It was shown that carriers of *Pro12Pro* genotype had a 1.4-fold increase ( $P < 0.05$ ) in arachidonic FA content upon onset of DR compared to the CG, and DR progression resulted in its 7.5-fold decrease ( $P < 0.05$ ). In the carriers of *12Ala*, the content of arachidonic FA upon DR onset was 2-fold lower compared to the CG ( $P < 0.05$ ) and showed further reduction with DR progression.

The seventh section - analysis and summarization of the results with the personal opinion on the principles of L-FABP-bound FA circulation in the cells by the classical option of *PPARG*-dependent mechanism and in case of its impairment is provided. Difference in pathogenetic mechanisms of development and progression of DR in patients with different genotypes of *PPARG* was made clear during the discussion, and this created the basis to evolve the concept of two options of implementing genetically determined intracellular mechanisms of lipid metabolism that stipulate DR progression in T2D patients. This concept allowed to recommend the algorithm of improving efficiency for predicting development and progression of DR in T2D patients with different genotypes in clinical settings.

Scientific novelty of the results. Analysis of serum L-FABP level was conducted among patients with different stages of DR secondary to T2D for the first time. It has shown that the ways of developing DR are associated with increased content of regulatory protein, however, they differ depending on the genotype. In the carriers of *Pro12Pro* *PPARG* genotype, DR progression is accompanied with gradual insignificant increase in L-FABP protein. In the carriers of *12Ala*, DR onset is accompanied by a 4-fold increase ( $P < 0.05$ ) in protein level, and DR progression – by gradual decrease in its content.

In the patients with different stages of DR and T2D, it was established for the first time that red blood cell membrane FA, plasma triglyceride and LDL content significantly differed depending on the genotype of *PPARG* gene. The carriers of *Pro12Pro* genotype had a 1.4-fold increase ( $P < 0.05$ ) in arachidonic FA content upon onset of DR compared to the CG, and DR progression resulted in its 7.5-fold decrease ( $P < 0.05$ ). In the carriers of *12Ala*, the content of arachidonic FA upon DR onset was 2-fold lower compared to the CG ( $P < 0.05$ ) and showed further reduction with DR progression

Endogenous factors as behavioural habits, patterns of nutrition, LS, tendency towards hyperglycaemia and hyperlipidaemia correction depending on *PPARG* genotype was demonstrated for the first time in patients with different stages of DR and T2D. By the sustainability of nutrition and LS, *Pro12Pro* genotype carriers did not differ from the CG. It was typical for *12Ala* carriers to non-adhere dietary recommendations upon disease onset, however, with DR progression, their awareness in healthy eating improved 2 times ( $P < 0.05$ ). At the same time, their LS was less sustainable than in *Pro12Pro* genotype carriers, and progression of DR reduced the pursuance of the healthy LS 2-3 times more ( $P < 0.05$ ).

Hypothesis about possible association between differences in behaviour, tendency towards consuming some food, therapeutic correction and genetically substantiated patterns of metabolism regulation, mechanisms of provision of the liver, skeletal muscles etc. with energy substrate was expressed for the first time.

Concept of implementing genetically determined intracellular L-FABP-dependent pathophysiologic mechanisms of lipid metabolism that stipulate DR progression in T2D patients and different *PPARG* genotypes was evolved for the first time. In the carriers of

*Pro12Pro* genotype, DR, as a complication of T2D, develops as the result of chronic inflammation due to *PPARG*-dependent gene transcription, expression of arachidonic FA oxidizing enzymes, synthesis of metabolites affecting the state of endothelium. In *12Ala* carriers, *PPARG*-dependent gene transcription is blocked and FAs are recovered in the cells due to other L-FABP mechanisms that results in activation of direct peroxisomal oxidation, oxidative stress and damage of endothelium by reactive oxygen species.

Practical importance of the results. Algorithm for increasing efficiency to predict development and progression of DR in T2D patients that involves genetically determined mechanisms during development and improvement of therapeutic regimens, evolving dietary and behavioural recommendations, was substantiated and recommended for clinical settings for the first time.

Descriptiveness of the biochemical markers for the evaluation of lipid dysmetabolism secondary to hyperglycemia in patients with different stages of DR and T2D was compared. It was found that, when evaluating lipid metabolism in T2D patients complicated with DR, test for red blood cell membrane FA content was the most descriptive as opposed to total cholesterol, triglycerides, LDL, HDL that did not have significant difference in DR patients compared to the healthy subjects.

LS was for the first time studied in the patients with DR secondary to T2D and their diabetes-free age-mates. Indices (obtained via scores in the survey questionnaire) that give objective grounds to evolve the recommendations for patients were calculated for integral quantitative evaluation of the LS parameters in the comparison groups. Dietary regimen in DR patients was analysed for the first time using questioning and survey with determination of the parameter “sustainability of consuming FAs” depending on the fact, how properly a man consumes different sources of FAs from the standpoint of nutrition recommendations.

It was found that T2D patients significantly differed from their diabetes-free age-mates in terms of LS habits. Subjects in the CG had 9-fold higher physical activity ( $P < 0.05$ ), drank 1.5 to 2 liters of water daily that is 4.6-fold higher ( $P < 0.05$ ), and ate 2-fold higher amount of fruit and vegetables ( $P < 0.05$ ) compared to the patients.

Insufficient consumption of fruit and vegetables directly correlates with the stages of DR progression, as opposed to additional physical activities and a habit to drink water daily, habits that did not correlate with DR worsening. Consuming sources of different FAs under the calculated parameter “sustainability of consuming FAs”, obtained via analysis of nutrition questionnaires, did not significantly differ between the CG and patients with different stages of DR.

Key words: diabetic retinopathy, type 2 diabetes, fatty acids, *PPARG* genotype, L-FABP, lifestyle, nutrition, lipid metabolism, diagnostics, prevention.

## ЗМІСТ

|                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....                                                                                                                                           | 18 |
| ВСТУП.....                                                                                                                                                               | 20 |
| РОЗДІЛ 1. РОЛЬ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ТА ОСОБЛИВОСТЕЙ<br>ГЕНОТИПУ У ПАТОГЕНЕЗІ ТА РОЗВИТКУ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ<br>(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....                             | 29 |
| 1.1. Ожиріння та особливості способу життя, які сприяють розвитку інсулінової<br>резистентності.....                                                                     | 33 |
| 1.2. Сучасний погляд щодо геномних впливів на розвиток ЦД2 та його<br>ускладнень.....                                                                                    | 37 |
| 1.3. Роль дієтотерапії в профілактиці розвитку ДР, як ускладнення ЦД2 .....                                                                                              | 39 |
| 1.5. Потенційна роль протеїну L-FABP, як внутрішньоклітинного регулятора<br>ЖК.....                                                                                      | 50 |
| РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....                                                                                                                          | 54 |
| 2.1. Дизайн дослідження і клінічна характеристика хворих .....                                                                                                           | 54 |
| 2.3. Лабораторні дослідження біоматеріалу .....                                                                                                                          | 60 |
| 2.3.1. Біохімічні методики .....                                                                                                                                         | 61 |
| 2.3.2. Дослідження методом імуноферментного аналізу. ....                                                                                                                | 64 |
| 2.4. Опитування та анкетування .....                                                                                                                                     | 65 |
| 2.5. Статистичний аналіз .....                                                                                                                                           | 67 |
| РОЗДІЛ 3. ІНФОРМАТИВНІСТЬ БІОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ ДЛЯ ОЦІНКИ<br>ПОРУШЕННЯ ЛІПІДНОГО МЕТАБОЛІЗМУ НА ТЛІ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ У<br>ПАЦІЄНТІВ ІЗ ДІАБЕТИЧНОЮ РЕТИНОПАТІЄЮ ТА ЦД2..... | 68 |
| РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ СПОСОБУ ЖИТТЯ ТА ЖИРНОКИСЛОТНОГО<br>СКЛАДУ ЇЖІ, ЯК ФАКТОРІВ ЕКЗОГЕННОГО ВПЛИВУ ПРОГРЕСУВАННЯ<br>ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ НА ТЛІ ЦД2.....            | 83 |
| 4.1. Відмінності способу життя пацієнтів з різною стадією розвитку діабетичної<br>ретинопатії на тлі ЦД2 .....                                                           | 83 |
| 4.2. Відмінності жирнокислотного складу їжі пацієнтів з різною стадією<br>розвитку діабетичної ретинопатії на тлі ЦД2.....                                               | 90 |

|                                                                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| РОЗДІЛ 5. ЕКСПРЕСІЯ ЕНДОГЕННОГО РЕГУЛЯТОРНОГО ШАПЕРОНУ L-FABP У ПАЦІЄНТІВ ІЗ РІЗНИМИ СТАДІЯМИ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ, ХВОРИХ НА ЦД2 .....                  | 94  |
| РОЗДІЛ 6. PPARG-ЗАЛЕЖНІ ПОВЕДІНКОВІ ВІДМІННОСТІ ТА СКЛАД ЕНЕРГЕТИЧНОГО СУБСТРАТУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ РІЗНОЮ СТАДІЄЮ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ, ХВОРИХ НА ЦД2 ..... | 101 |
| РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ....                                                                                                  | 115 |
| ВИСНОВКИ.....                                                                                                                                               | 130 |
| ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....                                                                                                                                 | 133 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....                                                                                                                            | 135 |
| ДОДАТКИ.....                                                                                                                                                | 135 |

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

CG – control group  
DR – diabetic retinopathy  
ETDRS – Early Treatment Diabetic Retinopathy Study  
FA - fatty acid  
GLUT4 – транспортувальник глюкози  
GRS – генетичний показник ризику  
GWA – Genome-wide association  
HbA1 – глікований гемоглобін  
IDF – International Diabetes Federation  
IL-6 – інтерлейкін 6  
IRS-1 – інсуліновий рецептор-1  
L-FABP – Liver-Fatty Acid Binding Protein  
LS – aspects of lifestyle  
*PPARG* / *PPAR-γ* – peroxisome proliferator-activated receptor Gamma  
*Pro12Pro* – генотип *PPAR* гена, що вважається мажорним (диким)  
*Pro 2Ala* – мутація гена *PPAR* у вигляді поліморфізму  
SNP – однонуклеотидний поліморфізм  
T2D – type 2 diabetes  
TNF-α – фактор некрозу пухлин альфа  
VEGF – ендотеліальний фактор росту  
Me – медіана  
[QI÷QIII] – процентілі 25-й (P<sub>25</sub>) та 75-й (P<sub>75</sub>)  
АТ – артеріальний тиск  
ДК – дієнові кон'югати  
ДЛ-ПНЖК – довголанцюгова поліненасичена жирна кислота  
ДР – діабетична ретинопатія  
ЕКГ – електрокардіографія  
ЖК – жирні кислоти/ жирна кислота  
ІФА – імуноферментний аналіз

ІМТ – індекс маси тіла

ІР – інсулінорезистентність

КГ – контрольна група

ЛОГ – ліпооксигеназа

ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності

ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності

МЗ – метаболічний зсув

МС – метаболічний синдром

НЖК – насичена жирна кислота

ННЖК – ненасичена жирна кислота

НПДР – непроліферативна діабетична ретинопатія

ОС – оксидативний стрес

ПДР – проліферативна діабетична ретинопатія

ПНЖК – поліненасичена

СЖ – спосіб життя

ТТГ – тиреотропний гормон

ЦД2 – цукровий діабет 2 типу

ЦОГ – циклооксигеназа

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Діабетична ретинопатія – найчастіше ускладнення цукрового діабету, залишається провідною причиною втрати зору. У звіті Міжнародної федерації діабету (IDF) прогнозується значне збільшення випадків діабету, а до 2045 року очікується, що в світі 629 мільйонів дорослих будуть діабетиками. Прогнозоване зростанням пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу (ЦД2) робить ДР серйозним та поширеним захворюванням, що загрожує зору і є першою причиною сліпоти серед дорослих працездатного віку [62, 66,136-138,159,168].

Етіологія і патофізіологія ДР широко вивчаються, але досі бракує ефективних терапевтичних схем успішної корекції патологічного стану та запобігання його погіршення й прогресування [23,114, 170]. У патогенезі ДР, як і інших судинних ускладнень, що виникають на тлі гіперглікемії, дисфункція судинного ендотелію розглядається як важливий фактор ушкодження. Ендотеліальна дисфункція добре відома у пацієнтів з гіперхолестеринемією, а перекисне окислення ліпідів у судинній стінці призводить до локальної продукції активних форм радикалів, які опосередковують рекрутування макрофагів, клітинну активацію та проліферацію, а також хімічну модифікацію судинних білків за рахунок покращених кінцевих продуктів ліпоксидзації. Тому, гіперліпідемія за рахунок ендотеліальної дисфункції може сприяти розвитку ДР, макулярному набряку, порушенню гематоретинального бар'єру, що призводить до ексудації ліпідів і ліпопротеїдів сироватки. Водночас в літературі є суперечливі повідомлення про вплив ліпідного профілю на ретинопатію [28, 50, 51, 93, 104, 109, 117].

Нездоровий спосіб життя, недостатня фізична активність та надмірний вміст жиру у їжі, в тому числі рафінованих вуглеводів, асоційовано з підвищенням ризику появи ЦД2 через розвиток інсулінорезистентного (ІР) та подальшу недостатність функції β-клітин. Вивчаючи взаємозв'язок між ожирінням, інсулінорезистентністю та цукровим діабетом 2 типу, зроблено ряд відкриттів, що дали можливість для створення нової концепції прогресування цукрового діабету 2 типу, де важливе значення займає ожиріння, в основі якого лежить низькоінтенсивне хронічне

субклінічне системне запалення, яке в свою чергу поглиблює ЦД2 та є патофізіологічним підґрунтям розвитку мікроангіопатії, особливо ДР [9, 13, 68, 96, 105].

Вплив харчового жиру та жирних кислот (ЖК) у прогресуванні ЦД2 досліджувався протягом багато років, але отримані дані носять суперечливий характер [68, 96, 78, 65]. Вірогідно, не існує універсальної дієтичної стратегії запобігання діабету, оскільки проблема виникнення мікросудинних ускладнень на тлі гіперглікемії набагато глибша ніж дотримання відповідного харчового раціону, і включає як поведінкові особливості людини, так і генетично детерміновані механізми регуляції метаболізму.

Окислення ЖК є багатостадійним процесом, за допомогою якого вони розщеплюються різними тканинами для виробництва енергії [55]. Це включає в себе спочатку потрапляння ЖК в цитозоль, а потім її перенесення в мітохондрію, де відбувається  $\beta$ -окислення до  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$  із генерацією АТФ. Головним внутрішньоклітинним транспортером вважається білок, що зв'язує ЖК — FABP (англ., Fatty Acid Binding Protein), і направляє їх до відповідних сайтів внутрішньоклітинного видалення та окиснення (мітохондрії, пероксисоми) або накопичення (ендоплазматичний ретикулум, ліпідні краплі), і таким чином відіграє значну роль в попередженні токсичності, яку створюють підвищені рівні ЖК, [4,26]. За умов надмірного та постійного споживання висококалорійної їжі, зменшення енерговитрат, у сучасної людини компенсаторні FABP-механізми можуть бути недостатніми для підтримки метаболічного гомеостазу, і тоді їх присутність сприятиме формуванню ожиріння, діабету, дисліпідемії, атеросклерозу та невідповідних імунних реакцій [55].

Ядерний транскрипційний фактор *PPAR* (англ., Peroxisome Proliferator-Activated Reseptor) відноситься до сімейства ядерних гормональних рецепторів, які керують активністю генів ключових ферментів жирового та вуглеводного обміну і забезпечують зв'язок між факторами зовнішнього середовища та внутрішніми механізмами регуляції енергетичного гомеостазу. Останнім часом досліджується

вплив поліморфізмів гена *PPAR* на фенотипові ознаки енергетичного метаболізму [2, 37,45, 50,58, 71,75].

Є експериментальні дані про те, що тварини в стані ІР мають знижену експресію *PPAR*, що сприяє зменшенню кількості м'язових мітохондрій та знижує м'язову активність. Після фізичного навантаження була виявлена зміна експресії ряду протеїнів, в тому числі *PPAR* залежних, що призвело до посилення поглинання глюкози, покращення чутливості до інсуліну і зменшення гіперглікемії у щурів [39, 58, 76,142]. *PPARG* фізично взаємодіють із FABP, особливо із печінковою формою (liver, L-FABP) [50], і вважається, що L-FABP є коактиватором в регуляції генів, опосередкованих *PPAR*, тому здатність FABP модулювати ліпідну сигналізацію може бути використана для розробки ліків, вдосконалення терапевтичних чи профілактичних засобів метаболічних захворювань [41]. Але залишається не з'ясованим, як експресуються регуляторні протеїни L-FABP у хворих в залежності від їх поліморфізму гена *PPARG*, що визначає особливості порушення ліпідного метаболізму та відкриває шлях до його корекції.

Враховуючи викладене, є важливим вивчення екзогенних впливів та ендогенної L-FABP-залежної внутрішньоклітинної регуляції ліпідного метаболізму в патогенезі ДР у хворих на ЦД2 із різним *PPARG* генотипом для формування концепції генетично детермінованих порушень та обґрунтування напрямків персоніфікованої терапії, як актуальної задачі сучасної клінічної офтальмології.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом планової НДР кафедри офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л.Шупика «Клінічне та експериментальне обґрунтування, лікування та профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органа зору» № держреєстрації 0116U002821, 2016-2020 р.р., а також фрагментом прикладної НДР «Вивчити значення генетичних чинників та зовнішніх впливів у розвитку і прогресуванні мікроциркуляторних ускладнень при цукровому діабеті 2 типу» (керівник, професор Л.В.Натрус) № держреєстрації 0118U001214, термін виконання 2018-2020 р.р., яка виконується в Науково-дослідному інституті експериментальної

та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця згідно з договором про наукову співпрацю між НМУ імені О. О. Богомольця та НМАПО імені П. Л. Шупика від 01.04.2016 та технічним завданням від 09.02.2017 року.

**Мета дослідження:** оптимізувати діагностику і профілактику діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу шляхом дослідження екзогенних впливів та ендогенної L-FABP-залежної внутрішньоклітинної регуляції ліпідного метаболізму і формування концепції генетично детермінованих порушень для обґрунтування напрямків персоніфікованої терапії.

**Завдання дослідження:**

1. Провести аналіз інформативності біохімічних маркерів оцінки порушення ліпідного метаболізму на тлі гіперглікемії у пацієнтів із ДР та ЦД2.
2. Вивчити особливості способу життя та жирнокислотного складу їжі, як факторів екзогенного впливу на прогресування ДР у хворих на ЦД2.
3. Вивчити вміст печінкової форми (Liver) ендогенного регуляторного протеїну FABP у пацієнтів із різними стадіями ДР на тлі ЦД2 та ступінь експресії протеїну залежно від генотипу *PPARG*.
4. Дослідити *PPARG*-залежні поведінкові відмінності та особливості енергетичного субстрату у пацієнтів із різними стадіями ДР на тлі ЦД2.
5. Сформувати концепцію розвитку генетично детермінованих порушень внутрішньоклітинних L-FABP-залежних регуляторних механізмів ліпідного обміну, що обумовлюють прогресування ДР у хворих на ЦД2 із різним *PPARG* генотипом.

**Об'єкт дослідження:** Діабетична ретинопатія (МКХ 10 – H36.0).

**Предмет дослідження:** офтальмологічний статус; генетичні й метаболічні фактори розвитку та прогресування діабетичної ретинопатії у хворих на ЦД2 (розподіл частоти алелей і генотипів гена *PPARG* в групах пацієнтів, *PPARG*-залежні поведінкові відмінності та особливості енергетичного субстрату показники ліпідограми, сироватковий рівень L-FABP, дані анкетування про спосіб життя та харчування, стать, вік, ІМТ, схеми лікування тощо).

**Методи дослідження:** загальноклінічні (огляд, збір анамнезу, біоморфометрія), офтальмологічні (візометрія, периметрія, тонометрія, рефрактометрія, біомікроскопія, гоніоскопія, офтальмоскопія, оптична когерентна томографія з функцією ангиографії, фундускопія з фотографуванням очного дна); біохімічні (спектрометричні для визначення показників ліпідограми; глюкозооксидазний — для глюкози крові, іонно-обмінної температурно незалежної хроматографії-спектрофотометрії для глікованого гемоглобіну); метод газово-рідинної хроматографії для вивчення ЖК; ПЛР-аналіз для вивчення SNP-поліморфізму гена *PPARG*; імуноферментний аналіз для визначення сироваткового рівня L-FABP, статистичні — критерій Шапіро-Уїлка для визначення відповідності закону Гауса, критерій  $\chi^2$  для порівняння даних у таблиці спряженості «k\*m», непараметричний критерій Крускала-Уолліса для порівняння незалежних вибірок.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше у пацієнтів з різною стадією ДР на тлі ЦД2 був проведений аналіз рівня сироваткового L-FABP у дослідних групах, який показав, що розвиток ДР пов'язаний із підвищенням вмісту регуляторного протеїну і відрізняється залежно від генотипу. У носіїв *Pro12Pro PPARG* генотипу із прогресуванням ДР спостерігається поступове недостовірне підвищення протеїну L-FABP. У носіїв алелі *12Ala* виникнення ДР супроводжується 4-разовим підвищенням ( $P < 0,05$ ) протеїну, а прогресування ДР — поступовим зниженням його вмісту.

У хворих з різною стадією ДР та ЦД2 вперше було виявлене, що вміст ЖК в еритроцитарних мембранах, тригліцеридів та ЛПНЩ плазми достовірно відрізняється залежно від генотипу гена *PPARG*. У носіїв *Pro12Pro* генотипу вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР був підвищений в 1,4 рази ( $P < 0,05$ ) відносно КГ, а з прогресуванням ДР — знижений в 7,5 разів ( $P < 0,05$ ). У носіїв алелі *12Ala* вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР був в 2 рази нижчим ніж в КГ ( $P < 0,05$ ) і поступово знижувався із прогресуванням ДР.

Вперше у хворих з різною стадією ДР та ЦД2 були вивчені ендогенні фактори у вигляді поведінкових звичок, особливостей харчування, СЖ, схильності до корекції гіперглікемії та гіперліпідемії залежно від *PPARG*-генотипу. За раціональністю

харчування та СЖ носії *Pro12Pro* генотипу не відрізнялися від осіб КГ. Носіям алелі *12Ala* було притамано на початку захворювання нехтування харчовими рекомендаціями, але з прогресуванням ДР свідомість у правильному харчуванні зростала в 2 рази ( $P < 0,05$ ), водночас, їхній СЖ був менш раціональним ніж у носіїв *Pro12Pro* генотипу, а поглиблення ДР ще в 2–3 рази знижувало ( $P < 0,05$ ) прагнення до здорового СЖ.

Вперше висловлена гіпотеза про можливий зв'язок відмінностей поведінкового характеру, схильності до вживання деяких продуктів та терапевтичної корекції із генетично обґрунтованими особливостями регуляції обміну речовин, механізмами забезпечення енергетичним субстратом печінки, скелетної мускулатури тощо.

Вперше сформована концепція реалізації генетично детермінованих внутрішньоклітинних L-FABP-залежних патофізіологічних механізмів ліпідного метаболізму, що обумовлюють прогресування ДР у пацієнтів із ЦД2 та різним *PPARG* генотипом. У носіїв *Pro12Pro* генотипу ДР, як ускладнення ЦД2, виникає в результаті хронічного запалення за рахунок *PPARG*-залежної транскрипції генів, експресії ферментів, що окислюють арахідонову ЖК, синтезу метаболітів, які впливають на стан ендотелію. У носіїв алелі *12Ala* гальмується *PPARG*-залежна транскрипція генів, і ЖК утилізуються в клітині за рахунок впливу інших L-FABP механізмів, що призводить до активації прямого пероксисомного окиснення, виникнення оксидативного стресу та пошкодження ендотелію активними формами кисню.

**Практичне значення отриманих результатів.** Вперше було обґрунтовано та рекомендовано в клінічну практику алгоритм підвищення ефективності прогнозування розвитку та прогресування ДР у хворих на ЦД2, який полягав в урахуванні генетично детермінованих механізмів при розробці та вдосконаленні терапевтичних схем, формуванні харчових та поведінкових рекомендацій.

При порівнянні інформативності біохімічних маркерів для оцінки порушення ліпідного метаболізму на тлі гіперглікемії у пацієнтів із різною стадією ДР та ЦД2, встановлено, що при оцінці ліпідного обміну найбільшу інформативність показав аналіз вмісту ЖК еритроцитарних мембран на відміну від загального холестерину,

тригліцеридів, ЛПНЩ, ЛПВЩ, які у пацієнтів з ДР не мали достовірної різниці в порівнянні зі здоровими особами.

Вперше був вивчений СЖ пацієнтів з ДР на тлі ЦД2 та людей тієї ж вікової групи без діабету. Для інтегральної кількісної оцінки показників СЖ в групах порівнянь були розраховані індекси (через кількість балів за відповіді в анкеті), які надають об'єктивні підстави сформулювати рекомендації для пацієнтів. Вперше був проаналізований раціон харчування пацієнтів з ДР за даними анкетування та опитування із визначенням показника «раціональності вживання ЖК» залежно від того, наскільки вірно, з точки зору рекомендацій харчування людина вживає різні продукти-джерела ЖК.

Виявлено, що за звичками СЖ пацієнти із ЦД2 суттєво відрізнялися від людей тієї ж вікової групи без діабету. Особи КГ у порівнянні із пацієнтами виконували додаткові фізичні вправи в 9 разів більше ( $P < 0,05$ ), щоденно вживали 1,5–2 літри води в 4,6 рази більше ( $P < 0,05$ ), а фруктів та овочів в 2 рази більше ( $P < 0,05$ ). Недостатність вживання фруктів і овочів знаходиться в прямій залежності зі стадією прогресування ДР, на відміну від додаткових фізичних вправ та звички до щоденного вживання води, звичок, які не корелювали із поглибленням ДР. Вживання у їжу продуктів-джерел різних ЖК за розрахованим показником «раціональності вживання ЖК», що був отриманий при аналізі анкет харчування, суттєво не відрізнялося у осіб КГ та пацієнтів з різним ступенем ДР.

**Впровадження в практику.** Основні практичні положення дисертації впроваджені в практичну діяльність КНП «Чернігівська обласна лікарня», криворізького філіалу КП «Дніпропетровська обласна клінічна офтальмологічна лікарня», КНП «Чернігівська міська лікарня № 2», КНП «Чернігівська районна лікарня». Наукові і практичні положення дисертації були впроваджені в учбовий процес на кафедрі офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України, Дніпропетровської медичної академії МОЗ України, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Одеського національного медичного університету МОЗ України, на базі Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини

Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України, на кафедрі біологічної та біоорганічної хімії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертація є особистою науковою роботою здобувача.

Вибір теми дисертації, напрямок дослідження, формулювання завдань, методологія побудови роботи розроблені спільно з науковим керівником д.мед.н., професором С. О. Риковим.

Автор самостійно провів патентно-інформаційний пошук, аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури.

Підбір і рандомізацію хворих у групи, офтальмологічні, клінічні й антропометричні дослідження пацієнтів із ДР здобувач виконував самостійно на базі комунального некомерційного підприємства «Чернігівська обласна лікарня» у відділенні «Мікрохірургія ока».

Лабораторні дослідження біоматеріалу пацієнтів виконані в лабораторіях Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України.

Ряд методичних аспектів, інтерпретація молекулярно-генетичних досліджень, узагальнення й обговорення патогенетичних аспектів роботи та формування гіпотези роботи було виконано при консультативній допомозі співавтора публікацій, директора Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України, д.мед.н., професора Натрус Лариси Валентинівни, за що автор висловлює їй глибоку подяку.

Здобувачем виконана основна статистична обробка отриманих даних. Статистичні дослідження виконувалися в Науково-дослідному інституті експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України із використанням ліцензійного пакету SPSS, професора Натрус Лариси Валентинівни.

Положення наукової новизни та практичної значимості, висновки і практичні рекомендації обговорені та сформульовані спільно з науковим керівником д.мед.н., професором Риковим Сергієм Олександровичем.

У наукових працях, опублікованих за матеріалами дисертації, здобувачу належала провідна роль у формулюванні мети, завдань, методології дослідження, статистичній обробці та аналізі результатів.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення й результати роботи були представлені на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Філатовські читання» (23-24 травня 2019 р., м. Одеса), *науково-практичній конференції офтальмологів України «Шевальовські читання '19»* (20-21 червня 2019 р., м. Запоріжжя), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Рефракційний пленер '19» (17-19 жовтня 2019 р., м. Київ), всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні питання молекулярно-біохімічних досліджень та лабораторного скринінгу у клінічній та експериментальній медицині – 2020» (05-06 березня 2020 р. м. Запоріжжя).

**Публікації.** Основні результати дисертації викладені в 12 наукових публікаціях. Із них 5 робіт – статті в журналах відповідно до «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії», у тому числі 1 робота в журналі, що входить до наукометричної бази SCOPUS, 2 роботи – у міжнародних наукових періодичних виданнях в напрямку, з якого підготовлено дисертацію, 1 з них – у виданні держави, яка входить до Європейського союзу, 1 робота – аналітичний огляд літератури, 4 роботи – тези в матеріалах науково-практичних конференцій, у тому числі з міжнародною участю.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена українською мовою, на 134 сторінках друкарського тексту, складається зі вступу, 7 розділів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури та 2 додатків. Матеріали дисертації ілюстровано 9 таблицями і 27 рисунками. Список літератури займає 16 сторінок та включає 170 джерел (142 латиницею та 28 кирилицею).

## РОЗДІЛ 1

# РОЛЬ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ТА ОСОБЛИВОСТЕЙ ГЕНОТИПУ У ПАТОГЕНЕЗІ ТА РОЗВИТКУ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Всесвітня організація охорони здоров'я відносить цукровий діабет (ЦД) до основних медичних та соціальних проблем, які є важливим завданням для вирішення національною системою охорони здоров'я. Це пов'язано не тільки з підвищенням захворюваності ЦД, а також з високим рівнем смертності, інвалідності, втрати працездатності у хворих цією патологією.

Останніми роками, швидке збільшення захворюваності на ЦД набуває загрозливого масштабу світової епідемії. З 1990 до 2010 року, кількість пацієнтів з ЦД збільшилася приблизно у три рази. За узагальненими даними ВООЗ поширеність цукрового діабету коливається в межах 4–7 % населення. За даними Міжнародної діабетичної федерації (IDF) 7 Edition (2015) рівень захворюваності на ЦД складав в 2015 році 415 млн. осіб [10,62,136]. До 2040 р. кількість хворих на ЦД буде приблизно 642 млн. Поширеність ЦД, а також його ускладнення і асоційовані хвороби становлять найбільший виклик світовій охороні здоров'я. Переважно це пов'язано, на думку IDF, з фактом, що приблизно 46 % пацієнтів не підозрюють про своє захворювання. Така ж ситуація складається і в Україні, де відбувається неупинне зростання поширеності ЦД. В Україні щорічно кількість хворих на ЦД збільшується на 5–7 % [137,138]. Але також відомо, що ці дані не відображають існуючу епідеміологічну картину. У нашій країні, на жаль, існує проблема недостатнього та несвоєчасного рівня діагностики захворювання [166,168,169]. Особливу увагу треба приділяти поширенню і популяризації заходів виявлення ЦД на ранніх етапах, проводити профілактичний скринінг, особливу увагу треба приділити групам ризику: людей з надмірною вагою, підвищеним артеріальним тиском, людей старше 40, обтяжених спадковістю по ЦД, вагітних жінок. Також треба більш уважно працювати із пацієнтами, в яких вже виявлене захворювання.

Відсутність профілактики ускладнень, своєчасних лікарських підходів, дієти,

тощо призводить до погіршення стану, прогресування гіперглікемії і розвитку ускладнень [146]. Розвиток пізніх ускладнень обумовлює суттєве зниження якості життя, втрату працездатності, зменшення тривалості життя на 10–30 %, підвищення смертності хворих у 2–3 рази та значні витрати бюджету країн на їхнє лікування [138].

Діабетична ретинопатія (ДР) — це ускладнення цукрового діабету, яке зустрічається найчастіше і залишається провідною причиною втрати зору у всьому світі [143, 147, 148, 169]. Етіологія і патогенез ДР широко вивчаються протягом півстоліття, але досі бракує ефективних терапевтичних схем успішної корекції патологічного стану та запобігання його погіршення й прогресування [23, 82, 120]. ДР розглядається як наслідок патологічних змін у мікросудинному руслі центральної артерії сітківки у хворих на ЦД. Більш серйозним ускладненням, яке може виникнути на будь-якій стадії хвороби, є макулопатія, що призводить до зниження центрального зору [90, 147, 148].

Необхідно враховувати, що переважна більшість пацієнтів з діабетичними ураженнями сітківки — це хворі на ЦД 2 типу, з огляду на його значну поширеність. При наявності цукрового діабету 1 типу, ДР рідко виявляють в момент встановлення діагнозу. Але після двох десятиків років за спостереженнями дослідників, у більшості пацієнтів з'являються пошкодження сітківки, із них біля 2/3 з проліферативною стадією. У 1/3 осіб, що страждають на ЦД 2 типу, ретинопатію виявляють при встановленні діагнозу. Через двадцять років від початку захворювання приблизно у 2/3 хворих осіб буде діагностовано ДР, до того ж у п'ятій частині — у проліферативній стадії.

Важливо відзначити, що у 50 % хворих з проліферативною ретинопатією наявні фактори високого ризику щодо значної втрати зору (неоваскуляризація диску зорового нерва більше 1/3 його діаметра, неоваскуляризація сітківки більше 1/2 діаметру, преретинальні чи вітреальні геморагії). У середньому, за даними різних наукових шкіл, у пацієнтів із ЦД 1 типу різко зростає частота ДР через 6–10 років від початку захворювання (50–70 % порівняно з 10 % при тривалості ЦД менше 5 років) [153,156]. Далі частота діабетичної ретинопатії у цих пацієнтів підвищується,

збільшуючись до свого максимального значення (більше 90%) у проміжок часу до 30 років від встановлення діагнозу. Спостереження показують різницю в поширеності діабетичної ретинопатії у хворих цукровий діабет 2 типу, яким призначають різні види лікування. На ранніх стадіях цукрового діабету (до 5 років) діабетична ретинопатія виникає у 30 % пацієнтів, що споживають таблетовані цукрознижувальні ліки, і у 30–40 % пацієнтів, що проходять інсулінотерапію, то при збільшенні тривалості захворювання частота діабетичної ретинопатії підвищується, досягаючи максимальних значень у проміжок часу 11–20 років від старту захворювання (30–40 і 60–70 % відповідно).

Дослідження особливостей ДР у хворих на ЦД 2 типу [153] показали, що у більшості (2/3) хворих з ЦД2 мала місце ДР. Серед хворих з ДР частота зустрічаємості непроліферативної ДР (НПДР) та проліферативної ДР (ПДР) співвідносилася як 1:1; хворі з ПДР від загальної кількості обстежених склали понад 20 %. У цьому дослідженні серед даної категорії хворих переважали жінки. Зростання тривалості ЦД2 у групах хворих (на три роки) вказувало на послідовність розвитку патологічного процесу. З'ясовано, що, у середньому, через 5 років у хворих на ЦД2 ретинопатії ще нема, тоді як через 8 років виявляються ознаки НПДР, а через 11 років — ознаки ПДР. Гострота зору у хворих по групах поступово знижувалася, тоді як внутрішньоочний тиск підвищився, особливо у хворих з наявністю ДР. НПДР, а більшою мірою, ПДР характеризувалися потовщенням сітківки ока, що реалізувалося внаслідок розвитку патологічних процесів та прогресуванням її набряку [153].

За результатами досліджень інших авторів при вивченні динаміки поширеності ДР у дорослих хворих на ЦД були враховані тип і тривалість захворювання, стать і вік хворих, місце їхнього проживання (місто, село), ступінь компенсованості вуглеводного обміну, а також оцінка абсолютних і відносних ризиків розвитку ДР. Загальне число обстежених хворих, включених у проспективне дослідження, становило 2103 особи (ЦД 1-го типу — 861, ЦД 2-го типу — 1242). Обстеження хворих включає антропометричні дані (зріст, маса тіла), визначення артеріального тиску, глікованого гемоглобіну, біохімічний аналіз крові (креатинін, тригліцериди,

сечовина, загальний холестерин); визначення мікроальбумінурії, електрокардіографію (ЕКГ) у спокої; консультацію офтальмолога. Поширеність усіх стадій ДР вірогідно більше при ЦД 1-го ніж ЦД 2-го типу. Поширеність ДР збільшується з підвищенням тривалості ЦД, досягаючи максимальних показників (89,1 %) за наявності цукрового діабету 1-го типу більше 20 років і 67,4 % при цукровому діабеті 2-го типу протягом 15–20 років. При дослідженні ризиків розвитку діабетичної ретинопатії серед хворих дорослого населення на ЦД статистично значуща позитивна кореляція ДР отримана з тривалістю діабету, віком хворих, рівнями HbA1c, САТ і ДАТ, наявністю мікроальбумінурії. Статистично значуща позитивна асоціація ступеня вираженості ДР встановлена з тяжкістю діабетичної нефропатії [169].

Отже, попри підвищення ефективності лікувально-діагностичної допомоги хворим, залишається низка проблем у своєчасній і якісній діагностиці мікросудинних ускладнень та застосуванні профілактичних заходів, спрямованих на запобігання їх прогресуванню [21,152,168].

Дослідження патогенезу ДР продовжуються, постійно з'являються нові дані про клінічні ознаки захворювання, фактори ризику, особливості патології сітківки. Деякі з них виявилися досить прогресивні в розумінні патогенезу і призвели до створення нових терапевтичних методів. На основі експериментальних робіт та спостережень вже пропонуються для практичного застосування нові методи лікування різних форм ДР, наприклад введення стероїдів та судинних ендотеліальних інгібіторів фактору росту для лікування діабетичного макулярного набряку, але близько 50 % пацієнтів не реагують на такі втручання [120]. Крім того, для більшості пацієнтів з проліферативною формою ДР основною терапією залишається лазерна коагуляція, попри те, що за своєю природою це є деструктивна процедура.

Попри досягнуті значні успіхи в клінічній та експериментальній офтальмології, як і раніше існує нагальна необхідність для кращого розуміння основних механізмів, які дозволяють розробляти надійні засоби для виявлення пацієнтів із високим

ризиком розвитку ДР, а також для своєчасного ефективного втручання, перш ніж відбудеться погіршення та втрата зору [120].

### **1.1. Ожиріння та особливості способу життя, які сприяють розвитку інсулінової резистентності**

Розвиток ДР залежить від стажу захворювання діабетом 2 типу, глікемічного контролю та патогенезу. Дослідження механізмів взаємодії між ожирінням та розвитком інсулінової резистентності і цукрового діабету 2 типу, власне як і інших, асоційованих з ними хвороб, був зроблені відкриття, що допомогли створити нову концепцію патогенезу цукрового діабету 2 типу, де пріоритетним значенням є ожиріння, в основі якого лежить низькоінтенсивне хронічне субклінічне системне запалення, яке вважають тим станом, при якому виникає інсулінорезистентність як предиктор розвитку цукрового діабету 2 типу [44,47].

Надмірне ожиріння є основним фактором ризику діабету, і, отже, збереження здорової маси тіла та уникнення збільшення ваги у дорослому віці є наріжним каменем профілактики діабету. Але незалежно від маси тіла, при визначенні ризику діабету, більш важливим ніж кількість, є якість або тип харчового жиру та вуглеводів [3]. Більше споживання кави, цільного зерна, фруктів і горіхів пов'язане з меншим ризиком цукрового діабету, тоді як регулярне споживання рафінованих зерен, червоного та переробленого м'яса та підсолоджених напоїв, включаючи фруктові соки, пов'язано з підвищеним ризиком, навіть після коригування індексу маси тіла. Пліч-о-пліч із порушенням характеру харчування, яке призводить до розвитку ожиріння, вивчаються інші фактори ризику ЦД2. Епідеміологічні докази були зібрані у США з трьох великих когорт медичних працівників, які надали важливу інформацію про роль загальної дієти, окремих харчових продуктів та поживних речовин, геному, способу життя, фізичної активності тощо у розвитку ЦД2 [3].

Не менш цікавими є дослідження інших факторів способу життя, які сприяють розвитку ЦД2. Виявлено, що жінки, які працювали протягом тривалого періоду на позмінній роботі, мали більш високий ризик розвитку ЦД2 у порівнянні з жінками,

які не змінювали режим роботи, потенційно через дерегуляцію глюкози через порушення функції сну [87]. Виявлена пряма залежність між тривалістю робочої зміни та ризиком ЦД2, а частина випадків була опосередкована збільшенням ваги. Тривалість добового сну була пов'язана з підвищеним ризиком захворюваності на цукровий діабет. Підвищували ризик захворювання довгі (більше 9 годин на добу) або короткі (менше 5 годин на добу) періоди сну [6]. Крім того, зниження рівня секреції мелатоніну, індикатора порушення сну, було самостійно пов'язане з більш високим ризиком розвитку ЦД2 [80]. Передбачається, що хропіння підвищує резистентність до інсуліну, і це є сильним фактором ризику для ЦД2 та серцево-судинних захворювань [1].

У роботі автори посилаються на дослідження, в яких ризик розвитку ЦД2 підвищується факторами, пов'язаними зі здоров'ям, такими як прийом оральних контрацептивів, антигіпертензивних ліків, антидепресантів, синдром високої тривоги, низький рівень бікарбонатів плазми — як біомаркер метаболічного ацидозу, сімейний анамнез та етнічні особливості [3]. Виявлено, що ризик діабету помітно вище серед азіатів, латиноамериканців та чорношкірих ніж серед білих, до і після врахування розбіжностей в ІМТ. Збільшення маси особливо небезпечно для азіатів [3].

Заслужують уваги дослідження, які присвячені впливу фізичних навантажень на рівень глюкози в крові, ефективності та механізмів її поглинання тканинами [101]. Фізичні вправи, як важливий елемент в профілактиці та лікуванні цукрового діабету, демонструють швидкий або тривалий вплив на транспорт глюкози та пов'язані із ним запальні сигнальні шляхи. Вправи можуть стимулювати молекулярні сигнальні шляхи, що призводять до транспортування глюкози в клітину.

Крім того, фізичні вправи можуть модулювати запальні процеси, впливаючи на специфічні сигнальні шляхи, які можуть перешкоджати сигнальним шляхам поглинання глюкози [101]. Особливе значення у цьому механізмі автори надають регуляції обміну в адипоцитах за рахунок адипонектину. Адипонектин, який переважно виділяється білою жировою тканиною, є ключовим гравцем в

метаболізмі глюкози, принаймні у гризунів, тоді як його відповідність у людей є дещо менш зрозумілою. Секретований адипонектин зв'язується з його рецепторами AdipoR1 і AdipoR2 і активує активатори протеїнкінази — AMPK, p38 MAPK і пероксисомний проліфератор-активованій рецептор  $\alpha$  (PPARA) після вивільнення адаптованого протеїну 1 (APPL1) у скелетних м'язах та печінці [63,64]. У результаті адипонектин позитивно впливає на обмін речовин, збільшуючи окислення жирних кислот та поглинання глюкози в м'язах. Крім того, він відіграє вирішальну роль у перехресті між різними тканинами, що чутливі до інсуліну [139]. Рівень адипонектину знижується у хворих на цукровий діабет, а низький рівень адипонектину пов'язаний з інсулінорезистентністю та ожирінням [53]. Останні дослідження на мишах показали, що агоністи фармакологічного адипонектину покращують чутливість до інсуліну [86].

Автори також вивчали молекулярні механізми, що лежать в основі поглинання глюкози та пов'язаних із ними шляхів сигналізації після інтенсивних та тривалих фізичних навантажень, оскільки збільшений ризик ЦД2 ґрунтується на дефектах сигналізації інсуліну, пов'язаної з цим секреції інсуліну та запалення [101]. Інсулінорезистентний стан також пов'язаний зі змінами в імунологічному та гормональному перехресних розладах, що включають інтерлейкін 6 (IL-6), фактор некрозу пухлини альфа (TNF- $\alpha$ ) або адипонектин. Ці цитокіни та адипокіни є частиною запальних процесів та імунозахисту, а також можуть впливати на молекулярні сигнальні шляхи, що модулюють поглинання глюкози. Показано, що поведінкова активність, а також неструктуровані фізичні навантаження позитивно впливають на запальні процеси, що супроводжувалося поліпшенням поглинання глюкози [89].

Доведено, що в умовах відпочинку інсулін регулює транспортування глюкози в м'яз через активацію сигнального каскаду білка. Після зв'язування інсуліну з його рецептором, рецептор інсуліну аутофосфорилується. Субстрат інсулінового рецептора-1 (IRS-1) зв'язується з фосфорильованими залишками тирозину рецептора інсуліну і згодом фосфорилується тирозинкіназою рецептора інсуліну. У пацієнтів із ЦД2, попри нормальну кількість транспортувальників GLUT4 [142], інсулін

взагалі не здатний викликати адекватну сигналізацію, яка оцінюється за допомогою фосфорилування тирозину IRS-1 та транслокації GLUT4 до клітинної мембрани. Фізичне навантаження активізує сигнальні шляхи інсуліну, полегшуючи експресію GLUT4 та транслокацію до клітинної мембрани [102].

Зміни концентрації кальцію в клітинах скелетних м'язів призводять до активації сигнальних каскадів, які впливають на метаболізм клітин, включаючи поглинання глюкози [88]. При цукровому діабеті порушується кальцій-залежний шлях передачі сигналу, а потім поглинання глюкози. Геномні дослідження метилювання ДНК показали, що родичі першого ступеня хворих на ЦД також схильні до метилювання ДНК генів, що кодують білки, які задіяні в кальцій-залежній сигналізації порівняно зі здоровими особами. Проте метилювання ДНК знизилося через 6 місяців велосипедного та аеробного регулярного фізичного навантаження [84]. Таким чином, літературні дані вказують на високу ефективність інтенсивних фізичних вправ, що сприяють метаболічним покращенням [83, 101]. Проте для більш повного розуміння молекулярних механізмів, що сприяють поліпшенню метаболізму, необхідно провести подальші дослідження.

Головними фізіологічними регуляторами вмісту ЖК в плазмі є гормони: інсулін, адреналін і лептин. Після кожного прийому їжі рівень ЖК в плазмі падає, тому що інсулін пригнічує ліполіз в жирових клітинах. В умовах інсулінової резистентності в жировій тканині прискорюється ліполіз і печінка починає активно синтезувати ЖК, тригліцериди. Одна з важливих функцій лептину — це утримання тригліцеридів в адипоцитах і захист інших органів від накопичення жиру (судин, печінки, м'язів тощо). Лептин активує перенесення ЖК через мембрану мітохондрій і стимулює їх утилізацію —  $\beta$ -окислення. Хронічні стреси, гіперглікемія, гіподинамія викликають резистентність до лептину, відповідно збільшення кількості ЖК і їх хронічне підвищення.

Глюкокортикоїди, соматотропний гормон, тиреоїдні гормони також посилюють ліполіз в адипоцитах і підвищують рівень ЖК в крові, але процес поглинання ЖК в клітину проходить диференційовано. У клітинах вибірково активується синтез білків транспортерів ЖК від мембрани в цитозоль. Оскільки в цитоплазмі рівень ЖК

низький, вони відразу починають окислюватися і реципрочно інгібують окиснення глюкози. Таким чином, оцінка обміну ЖК може відображати реактивні зміни, але водночас віддзеркалює ефективність механізмів регуляції метаболізму ЖК — одного із важливих компонентів ліпідного обміну [15].

Проведення геномних досліджень в групах хворих на ЦД2 значною мірою сприяло відкриттю нових генетичних локусів [154] для ЦД2 та інших метаболічних ознак, хоча виявлені загальні варіанти пояснюють лише невелику частку схильності до діабету. Сьогодні пошук у цьому напрямку активно продовжується. Взагалі, ці дослідження забезпечили переконливі епідеміологічні докази того, що здорова дієта разом із регулярною фізичною активністю, підтримання здорової ваги, помірне споживання алкоголю, уникнення сидячої поведінки та паління запобігатимуть більшості випадків ЦД2 [3].

## **1.2. Сучасний погляд щодо геномних впливів на розвиток ЦД2 та його ускладнень**

Останнім часом більше уваги приділяється вивченням геномних впливів на розвиток ЦД2. Як ми вже вказували, є докази того, що збільшення маси особливо небезпечно для азіатів. Дослідники вказують, що зворотний зв'язок здорової дієти з ризиком ЦД2 більш сильний для азіатів, латиноамериканців та чорношкірих ніж для білих [113]. Ми ознайомилися із результатами широкомасштабних епідеміологічних досліджень, результати яких були оприлюднені протягом 2007-2009 років, та метааналізами даних про асоціацію геному та його реплікації для визначення додаткових локусів сприйнятливості для діабету 2 типу [81]. У дослідженні Genome-wide association (GWA) поєднуючи три сканування GWA, що включають 10 128 зразків та здійснення великомасштабної реплікації до 79 792 додаткових зразків, було виявлене шість додаткових локусів із геному людини, які, мабуть, містять генетичні варіанти, що впливають на сприйнятливість до ЦД2. Результати ілюструють значення подальших досліджень для отримання інформації про успадкування патогенетичних шляхів розвитку ЦД2. У дослідженні оцінка генетичного ризику (GRS) була розрахована на основі 10 поліморфізмів у 9 локусах

у 2809 пацієнтів із діабетом 2 типу та у 3501 здорового учасника епіднагляду європейського походження [31]. GRS поєднує інформацію з кількох генетичних варіантів, може бути корисним для виявлення підгруп з особливо високим ризиком діабету 2 типу. Дослідження зосереджувалося лише на особах європейського походження. Чи асоціюється GRS з діабетом 2 типу в інших етнічних групах, залишається невідомим.

Автори ще одного GWA проаналізували 386 731 випадків загального одонуклеотидного поліморфізму (SNP) у 1464 пацієнтів із ЦД2 та 1467 проб контрольної групи, кожен з яких характеризувався показниками обміну глюкози, ліпідів, ожиріння та артеріального тиску [110]. За допомогою великої кількості співавторів дослідження були ідентифіковані та підтвердили три локуси, пов'язані з ЦД2, в некодуючій області генів CDKN2A та CDKN2B, в інтроні IGF2BP2 та інтроні CDKAL1. Автори виявили та підтвердили зв'язок SNP в інтроні регуляторного білка глюकोкінази (GCKR) із рівнем сироваткових тригліцеридів. Виявлення асоційованих варіантів у непідтверджених генах та зовнішніх областях кодування показує здатність подібних геномних досліджень виявляти (або передбачати) потенційно важливі ділянки генів, що можуть мати відношення до розвитку патогенезу загальних захворювань.

Дослідження, яке спрямоване на оцінку прогностичної ефективності моделей генетичного ризику на основі локусів, що були ідентифіковані та/або підтверджені в усіх дослідженнях генома при цукровому діабеті 2 типу [7]. Попередній пошук літературних даних авторами здійснювався в електронних базах бібліотек PubMed/MEDLINE та EMBASE до квітня 2012 р. Потім були опубліковані дані про моделі ризику, що стосуються прогнозування ЦД2, заснованого на базі геномних асоціацій (GRM). Результати GRM показали низьку прогностичну ефективність ризику ЦД2, незалежно від дизайну дослідження, раси/етнічного походження учасників та кількості включених генетичних маркерів. До того ж додавання маркерів асоціації геномів у традиційні моделі ризику мало покращило прогнозовану ефективність. Цей систематичний огляд показує, що сукупний

показник генетичного ризику не дає додаткового прогнозування ЦД2 за винятком традиційних факторів ризику діабету.

Водночас автори підкреслюють, що ЦД2 — багатофакторне захворювання, в якому екологічні тригери взаємодіють із генетичними варіантами у схильності до хвороби [74]. У великому проспективному дослідженні автори демонструють, що варіанти генів *PPARG* та *CAPN10* передбачають розвиток ЦД2. Ми також впевнені, що генетичне тестування може стати майбутнім підходом для виявлення осіб, які мають ризик розвитку ЦД2.

Таким чином, попри велику кількість досліджень у напрямку вивчення ролі генетичних факторів у розвитку ЦД2 та його ускладнень, отримані дані досить суперечливі і немає єдиної думки про фактори, які значною мірою визначають схильність до розвитку захворювання та його прогресування.

Увага вчених знову повертається до сукупності факторів ризику розвитку ЦД2 та їх взаємодії. У дослідженні [95] за основу приймається поширена гіпотеза про те, що взаємодія між генетичною схильністю та стилем життя західного типу сприяє епідемії діабету ЦД2. Автори намагаються оцінити, наскільки генетичні варіанти змінюють вплив харчового навантаження при прогнозуванні ризику діабету. Дослідники визначили 10 поліморфізмів у 1196 діабетиків та 1337 осіб контрольної групи. Генетичний показник ризику GRS був сформований за допомогою методу підрахунку алелей. Особливості споживання продуктів було зібрано за допомогою анкетування. Аналізи були скориговані за віком, ІМТ, палінням, споживанням алкоголю, фізичною активністю, сімейним анамнезом діабету та загальними витратами енергії. Автори дійшли висновку, що генетична схильність може синергічно взаємодіяти із харчовими особливостями при визначенні ризику діабету у чоловіків.

### **1.3. Роль дієтотерапії в профілактиці розвитку ДР, як ускладнення ЦД2**

Склад харчування може відігравати важливу роль у підвищенні чутливості до інсуліну та зниженні ризику діабету та його ускладнень [78,100,106]. Вплив харчового жиру та жирних кислот (ЖК) у прогресуванні ЦД2 досліджувався

протягом багато років. Вважається, що Kinsell et al. першими повідомили про те, що споживання жиру, який відразу емульгується і, вже в ентероцитах розкладається на жирні кислоти (ЖК), може впливати на дію інсуліну у людей [67].

Ми щоденно вживаємо різні ЖК. Найпоширенішими харчовими ЖК є олеїнова кислота, ліолева кислота, пальмітинова кислота та стеаринова кислота. Після надходження в складі харчових продуктів, вони потрапляють в плазму, а потім вбудовуються в структуру тканинних ліпідів. Таким чином, вміст ЖК в харчових продуктах значною мірою визначає відносну доступність і зберігання ЖК в тканинах [38,55].

У дослідженні [98] провели аналіз ролі різних типів харчових жирів щодо чутливості до інсуліну та ризику діабету. Автори підкреслюють відсутність довгострокових рандомізованих досліджень щодо впливу якості жирної їжі на ризик діабету, тому використовують спостереження про вплив харчових ЖК на їх акцептори, на чутливість інсуліну. Також аналізують дані за результатами епідеміологічних та рандомізованих контрольованих досліджень співвідношення жирних продуктів при вживанні в їжу до частоти ЦД. При цьому автори відмічають, що аналіз вживання жиру відображає ізокалорійну їжу, але вона може відрізнятися якістю жиру, тобто складом ЖК [98]. Однак такі дослідження зазвичай невеликі та короткочасні, і, отже, можуть оцінювати лише проміжні акцептори, наприклад, чутливість до інсуліну. Склад ЖК в ліпідах сироватки крові або тканин відображає склад харчових ЖК, і вони можуть бути використані як об'єктивні та надійні біомаркери відносного ЖК вмісту їжі. При цьому найкращими біомаркерами є ті ЖК, які не можуть бути синтезовані ендогенно з вуглеводів. До них відносяться поліненасичені жирні кислоти, а саме ліолева кислота (омега-6) та  $\alpha$ -ліноленова кислота (омега-3), транс-жирні кислоти та непарні ЖК, наприклад, 15:0 та 17:0 [48]. Також на роль яскравих біомаркерів підходять довголанцюгові ЖК омега-3, які присутні в риб'ячому жирі. І навпаки, насичені ЖК (НЖК), за винятком НЖК з непарним числом атомів вуглецю, та мононенасичені жирні кислоти (МНЖК), вважаються слабкими біомаркерами, оскільки вони відображають не тільки споживання з їжею, але й ліпогенез *de novo*. Варто зазначити, що дані про вміст ЖК,

як біомаркерів ліпідного обміну, наводять у відсотках від загальних ЖК, а не в абсолютних величинах. Водночас популярним є розрахунок коефіцієнтів відношення продукту до прекурсора. Часто такі підходи використовують автори в ряді епідеміологічних досліджень. Як маркери для активності денатурації ферментів, а також як непрямі маркери споживання насиченого жиру використовують співвідношення, наприклад, 16:1n-7/16:0 [133]. Такі співвідношення можуть бути кращим показником споживання насиченого жиру ніж частка пальмітинової кислоти в сироватці крові.

Часто дослідники порівнюють споживання харчового жиру у пацієнтів із діабетом та здорових людей. Але треба враховувати, що при нещодавно діагностованому діабеті пацієнти мали вище відносне споживання загального жиру та НЖК з джерел тваринного походження в порівнянні зі здоровими контролем. Крім того, суб'єкти з недіагностованим діабетом 2 типу мали значно більше споживання насиченого жиру в порівнянні з контролем, оскільки ці суб'єкти не мали рекомендацій про необхідність дієтичного харчування [124].

Взагалі при інтерпретації даних щодо зв'язку між особливістю харчування в раціоні та переддіабетом треба враховувати інтерференцію кількох факторів, наприклад, зміни дієти внаслідок ожиріння, неможливість провести детальні коригування для ожиріння, фізичну активність тощо.

При дослідженні чутливості до інсуліну та складу ЖК в скелетних м'язах виявлений прямий зв'язок між вмістом довголанцюгових ПНЖК та дією інсуліну. Чим більше м'язова мембрана має НЖК, тим більш інсулінорезистентна людина [14, 134].

У довгостроковому (впродовж 35 років) дослідженні Uppsala Longitudinal Study of Adult Men (ULSAM) під спостереженням знаходилося 2 322 50-річних чоловіка, у яких кожні 10 років вимірюваннями показники метаболізму. Дані їхнього дослідження у віці 70 років демонструють, що склад

ЖК в ефірах холестерину сироватки та фосфоліпідів скелетних м'язів прямо пов'язаний з резистентністю до інсуліну та характеризується високими пропорціями

ЖК: пальмітинової (16:0),  $\gamma$ -ліноленової кислоти (20:3 омега-6) та низьким вмістом лінолевої кислоти (18:2 омега-6) [130].

Кілька досліджень показують, що предиктором ЦД2 є високий вміст насичених жирів і низький — лінолевої кислоти. Відмінності в сироватковому складі ЖК були дуже значущими у суб'єктів, які залишилися нормоглікемічними ( $n = 1\,753$ ) у порівнянні з тими, у кого пізніше розвивався ЦД2. Чоловіки, у яких розвинувся ЦД, мали вищу частку НЖК, пальмітинової та олеїнової ЖК, низьку частку лінолевої кислоти та відносно високий вміст 18:3 омега-6 та 20:3, омега-6 кислоти в ефірах холестерину в сироватці крові. Результат також був подібним після коригування розбіжності в індексі маси тіла (ІМТ) [107]. Відповідно до ULSAM не було асоціацій між омега-3 жирними кислотами в сироватці крові та частотою цукрового діабету під час спостереження.

У дослідженнях Melbourne Collaborative Cohort Study аналізували як споживання ЖК в харчових продуктах, так і вміст ЖК в фосфоліпідах плазми у 3737 дорослих з ЦД2 [54]. Загальний вміст НЖК в фосфоліпідах при споживанні із їжею був позитивно пов'язаний з захворюваністю на ЦД. Ліолева ЖК в плазмі була обернено пов'язана з захворюваністю на цукровий діабет, але споживання лінолевої кислоти з їжею показало позитивну асоціацію. Цей суперечливий результат може відображати помилку аналізу при повідомленні про особливості харчування при прийомі їжі. Оскільки відсутність контролю споживання їжі може призвести до похибок аналізу, необхідні подальші дослідження, щоб визначити, зменшення якої складової лінолевої кислоти у плазмі може відображати порушення метаболічної дисфункції.

Pereira et al. виявили, що серед молодих дорослих людей, які мали надмірну вагу в початковій стадії, споживання молока також було зворотним чином пов'язане з частотою метаболічних факторів, пов'язаних з резистентністю до інсуліну [92]. Дієта, багата на молочні продукти з низьким вмістом жиру, також була пов'язана з меншим ризиком ЦД2 у жінок середнього та старшого віку. Неясно, які компоненти молочних продуктів сприяють позитивному ефекту. Але виявлена міцна зворотна асоціація вживання молочних продуктів з низьким вмістом жиру або без жиру

означає, що молочний жир навряд чи матиме незалежний протективний ефект від діабету.

У іншому дослідженні [73], у 25 здорових пацієнтів, які перебували на дієті (продукти готувалися із чітким розрахунком калорій) протягом 4 тижнів, не було виявлено різниці в чутливості до інсуліну між споживачами дієти, багатої на НЖК, ННЖК або транс-жири. Проте в підгрупі суб'єктів з надлишковою вагою вживання НЖК знизило чутливість до інсуліну (на 24 %) у порівнянні з ННЖК. Хоча це зменшення не було статистично достовірним, можливо, через невелику кількість ( $n = 7$ ) суб'єктів у підгрупі, автори виказали припущення, що тип жиру може бути більш важливим у пацієнтів з «резистентним до інсуліну фенотипом». Але ця обставина потребує подальшого дослідження.

Основним висновком було те, що заміна насичених на ненасичені ЖК покращила чутливість до інсуліну, яка була порушена при вживанні НЖК, але не змінилася до показників споживачів дієти з ННЖК. Пацієнти, що вживали більше загального жиру (тобто  $> 37\%$  Е) не одержали корисного ефекту від ННЖК. Цей результат узгоджується з результатами про зміну чутливості до інсуліну лише у тих, хто отримував загальний вміст жиру нижче  $35,5\%$  від всього енергетичного складу продуктів [32]. Така потенційна взаємодія між якістю та кількістю жиру потребує подальшого вивчення, особливо тому, що загальні докази не свідчать про те, що об'єм споживання жирів відіграє важливу роль у визначенні чутливості до інсуліну.

Лінолева кислота — це найбагатша ПНЖК в раціоні. У рандомізованому дослідженні, проведеному Саммерсом та ін., дієта, багата на ПНЖК омега-6 (наприклад, лінолеву ЖК), покращила чутливість до інсуліну порівняно з дієтою, багатою на НЖК, лише через 5 тижнів. Варто зазначити, що більше половини учасників дослідження були із ожирінням або ЦД2. Іншим важливим висновком було зменшення вісцерального жиру при заміщенні НЖК на ПНЖК, але незрозуміло, чи було це зменшення опосередковане поліпшеною чутливістю до інсуліну [100,123].

Інше дослідження вказує на те, що зміна якості жиру може впливати на чутливість інсуліну протягом 4-5 тижнів [73]. Це також свідчить про те, що ЖК

можуть впливати на чутливість до інсуліну іншими механізмами (наприклад, експресією генів), а не змінами жирнокислотної композиції клітинної мембрани, що тягне за собою більш тривалий процес. Попри важливі довгострокові наслідки вживання ЖК щодо дії інсуліну, ми маємо ще мало рандомізованих клінічних випробувань з цього приводу.

Порушення дії інсуліну було тісно пов'язане з перекисним окисненням ліпідів індукованим, кон'югатами лінолевої кислоти та запаленням [99], механізмами накопичення ектопічного жиру та дизрегуляцією активності PPAR. Один із основних механізмів взаємозв'язку між харчовими ЖК та частотою ЦД залишається незрозумілим, однак традиційним є те, що якість жирності переважно впливає на композицію ЖК клітинної мембрани а, отже, функцію клітинної мембрани [60,121]. Вважається, що вміст ЖК клітинних мембран змінює кілька клітинних функцій, включаючи пластичність мембрани, проникність іонів та з'єднання з рецептором і спорідненість рецептора інсуліну. Такі зміни, у свою чергу, можуть впливати на чутливість тканин і всього організму до інсуліну [157].

Дані генетичних досліджень в експерименті вказують на наявність механізмів, які включають прямі регуляторні ефекти на експресію генів і активність ферментів [27]. НЖК і ННЖК, наприклад, мають мінімальний вплив на ліпогенну експресію генів, водночас ПНЖК (арахідонова - ейкозапентаєнова - докозагексаєнова > лінолева) пригнічують ліпогенну експресію *in vitro* [140]. Частково шляхом зв'язування і активації ядерних рецепторів, як-от PPAR $\gamma$  [42].

НЖК також впливають на активність ферментів, прозапальну експресію генів і фактори транскрипції, які можуть впливати на метаболізм глюкози [97]. Позитивний ефект лінолевої кислоти в запобіганні діабету може бути пов'язаний з його протизапальними ефектами. Ця гіпотеза вимагає подальшого дослідження в контрольних клінічних дослідженнях. Нарешті, дієта з високим вмістом ненасичених довголанцюгових омега-6 і омега-3 ЖК може пригнічувати печінковий ліпогенез і стимулюють печінкове окислення ЖК, яке може поліпшити чутливість до інсуліну в печінці [27].

Експерименти *in vitro* та експерименти на тваринах дозволяють припустити, що ЖК можуть діяти безпосередньо на тканини, чутливі до інсуліну [30, 99]. У декількох експериментах ПНЖК (наприклад, лінолева кислота та омега-3 ЖК) пригнічують експресію ліпогенних генів та покращують окисний метаболізм. І навпаки, НЖК, зокрема, пальмітинова, має протилежний ефект [119]. Останнім часом неестерифіковані або вільні жирні кислоти були ідентифіковані як ліганди для сироваткових рецепторів зв'язування G-білків (GPCRs), які також можуть опосередковувати деякі ефекти харчових ЖК на дію та секрецію інсуліну.

Було висловлено думку, що ВЖК відіграють вирішальну роль у фізіологічному гомеостазі глюкози [135]. Протеїни GPR40 та GPR120 активуються за допомогою середніх та довголанцюгових ЖК. Хоча перші, зокрема, можуть посередниками впливу ЖК на секрецію інсуліну, GPR41 та GPR43 можуть активуватися коротколанцюговими ВЖК [34]. Обидві групи ЖК присутні в молочних продуктах. Таким чином, GPCR є потенційно цікавими новими цілями для профілактики та лікування діабету.

Джерело ЖК в складі харчування традиційно оцінюють «харчовими» анкетами про особливості та тип продуктів з урахуванням частоти споживання. При інтерпретуванні вмісту ЖК в ліпідній фракції або тканині треба враховувати прийом ЖК з їжею. Хоча впливати на вміст ЖК також може активність ферментів денатурації та елонгації ЖК. Крім того, вміст ЖК в тканинах залежить від генетичних, гормональних впливів та способу життя [129]

Попри значну кількість досліджень, ряд позицій носять суперечливий вигляд, недостатньо даних про наслідки вживання різних типів харчового жиру в осіб з діабетом та їх ролі щодо погіршення стану пацієнта і розвитку мікросудинних ускладнень, як-от ДР [29,69,72]. Взагалі немає рекомендацій щодо харчування пацієнтів з ДР і оптимального вмісту в їхній дієті частки НЖК, МНЖК, ПНЖК.

Дієтотерапія, якщо вона розроблена і призначена на початкових етапах захворювання, може забезпечити величезну ефективність у порівнянні з існуючими методами лікування, до того ж дієта та харчові рекомендації можуть бути недорогим, легкодоступним аналогом ліків для запобігання ДР. Наразі оцінка стану

харчування вважається актуальною при різних захворюваннях, за винятком ДР. Індекс маси тіла відобразив неоднозначні результати у пацієнтів із ДР [114]. Але автори вважають, що дієтотерапія поряд з успішною харчовою стратегією може істотно знизити ризик розвитку ДР [114].

Дослідники активно пов'язують роль поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) в організмі із функцією нервових структур, особливо сітківки ока, враховуючи склад мієлінових оболонок, можливості ПНЖК відновлювати елементи глії і брати участь у нейротканинній регенерації. Так, ще у 2005 році була висунута гіпотеза, що довголанцюгові поліненасичені жирні кислоти (ДЛ-ПНЖК), проявляють захисну і цитотерапевтичну дію, що сприяє ряду антиангіогенних і нейропротекторних механізмів в сітківці. Омега-3 ДЛ-ПНЖК можуть моделювати процеси обміну речовин і тим самим послаблюють ефекти вазопроліферативних і нейродегенеративних захворювань сітківки, які виникають у відповідь на ішемію, окислювальний стрес, запалення, старіння тощо [18, 77, 108, 111]. Сукупність впливу ПНЖК призводить до вираженого захисного ефекту при ДР, підвищення рівня і тривалості життя при ЦД 2 типу. Ці дослідження показали, що дієтичні добавки з омега-3 жирними кислотами можуть стати безпечною, неінвазивною і ефективною стратегією профілактики ДР [125].

В огляді Sharma Y. та співавторів обговорюються терапевтичні і хірургічні підходи до лікування ДР [114]. Автори підкреслюють, що сучасні способи лікування, як-от лазерна коагуляційна терапія, інтравітреальне введення кортикостероїдів, ендотеліального фактору росту (VEGF) антисудинних агентів і вітреоретинальна хірургія є дорогі, високінвазивними і часто невиправданими методами при тривалому застосуванні і пізній стадії ДР, коли в сітківці вже існують незворотні структурні зміни. Харчові продукти (добавки), за своєю природною фізіологічною, біохімічною і молекулярною дією, можуть зберегти структуру і функції сітківки шляхом впливу на різні патологічні кроки, які погіршують стан сітківки при ДР. Ці речовини можуть мати центральну роль в лікуванні пацієнтів з ДР, які резистентні до традиційних терапевтичних схем [65, 114].

Вивчення ефекту низькожирової дієти на вагу, метаболізм та інсулінову чутливість завжди викликає зацікавлення [8]. Досліджувалася відповідь на харчування за дієтою в порівнянні із стандартним харчуванням для показників глюкози, інсуліну, тригліцеридів, неестерифікованих жирних кислот або GLP-1 [16]. Але не проводилися дослідження, які визначають наскільки суттєвий вплив має дієтотерапія у хворих на ЦД2 в залежності від генотипу пацієнта, хоча відомо, що особливості метаболічного обміну жировій тканини генетично детерміновані.

Потрібні майбутні дослідження для вивчення взаємозв'язку між кількістю дієтичних жирів та їх якістю, вмістом ЖК щодо дії інсуліну та регулювання метаболізму. Як ми вже казали, що склад ЖК в плазмі крові знаходиться в залежності від статі, віку, режиму харчування, зміни гормонального статусу.

Останніми роками досліджуються механізми регуляції окислення ЖК в мітохондріях, тобто їх внутрішньоклітинна утилізація. Було відкрито сімейство ядерних рецепторів активації проліферації пероксисом — *PPAR*, описано їх три ізоформи  $\alpha$  (*PPARA*),  $\gamma$  (*PPARG*) і  $\delta$  (*PPARD*), і найбільш вивчені властивості рецепторів *PPARA* і *PPARG*. Лігандами для рецепторів служать насичені, ненасичені і мононенасичені ЖК.

#### **1.4. Роль гена *PPAR* та рецепторів проліферації пероксисом в регуляції обміну ЖК**

Рецептори активації проліферації пероксисом відносяться до ліганд-індукованих факторів транскрипції, належать до родини ядерних гормональних рецепторів і відіграють головну роль у метаболізмі ліпідів [11,52]. Вони були ідентифіковані на початку 90-х років і описувались як ядерні рецептори для сполук, які індують проліферацію пероксисом, що і пояснює їх сучасну назву. Пероксисоми, за рахунок власної ензимної системи для генерації та утилізації пероксиду водню, а також інших вільнорадикальних частинок, задіяні у багатьох процесах, серед яких бета-окиснення ЖК, регуляція клітинного перекисного окислення тощо. Ці процеси ілюструють різноманітні ефекти стимуляції *PPAR* [24]. Вони вважаються «сенсорами» клітинного рівня ЖК та їх метаболітів, утворених у

ліпооксигеназному та циклооксигеназному метаболічних шляхах. Причому похідні ПНЖК характеризуються вищим афінітетом, порівняно з вільними кислотами, які активують усі ізоформи *PPAR* [39,40]. Кофактори взаємодіють безпосередньо з ядерними рецепторами і можуть інгібувати або підсилювати їхню транскрипційну активність. Молекулярні механізми модуляції ядерних рецепторів вивчені недостатньо. Вважається, що за відсутності будь-якого ліганду ядерний рецептор може зв'язуватися з корепресором, що інгібує його транскрипційну активність. Зв'язування з лігандом індукує конформаційні зміни рецептора, що спричиняє відповідне зв'язування з коактиватором. Комплекс рецептор-коактиватор може активувати генну транскрипцію [57]. Доведена взаємодія багатьох ймовірних кофакторів для *PPAR*, але їх чітка роль у регуляції транскрипційної активності *PPAR* встановлена не до кінця.

Залучення *PPARG* у розвиток метаболічних порушень робить їх цікавими мішенями для дизайну лікарських засобів [151]. Серед синтетичних лігандів, що активують зазначені рецептори, є агоністи *PPARG* — фібрати, що вже впродовж багатьох років застосовуються для лікування дисліпідемії, а також селективні агоністи *PPARG* — гіпоглікемічні тiazолідиндіони [151]. На сьогодні *PPARG* є найбільш вивченими, виділяють 2 ізоформи  $\gamma 1$  та  $\gamma 2$ . *PPARG2* знаходяться виключно в адипоцитах, тоді як *PPARG1* зустрічаються і в інших тканинах [63]. *PPARG2* є основними факторами транскрипції в регуляції експресії генів та диференціації адипоцитів [39]. *PPARG2* також відіграють важливу роль у контролі запальних реакцій та метаболізмі глюкози, збільшуючи чутливість до інсуліну. А головне, *PPARG2* є необхідним для експресії адипоцит-специфічного протеїну, що зв'язує ЖК. Тому, *PPARG2* розглядаються як генералізовані неспецифічні «сенсори» для ЖК, що об'єднують зміни концентрації ПНЖК із генами мішенями, асоційованими з гомеостазом ліпідів та глюкози.

*PPARG* експресується в адипоцитах і знижує секрецію ЖК в кров з жирової тканини. *PPARA* експресується в клітинах печінки, скелетних та серцевого м'язів і регулює процеси внутрішньоклітинного синтезу,  $\beta$ -окислення ЖК в мітохондріях і пероксисомах. *PPAR* стимулюються лептином, гормоном росту і інсуліном. Їх

експресія підпорядковується циркадному ритму, вони експресуються у відповідь на прийом їжі [112,118, 127]. Ці рецептори здійснюють внутрішньоклітинну регуляцію ЖК, підтримуючи стаціонарний рівень споживання енергії клітиною.

Сьогодні є докази протективної ролі поліморфізму Pro12Ala *PPARG*gamma2 у перебігу ЦД2. Одним з перших цей феномен описав Kadowaki T 2002. Він показав непередбачувану роль поліморфізму Pro12Ala, де заміна нуклеотиду призводить до зміни амінокислоти. Оскільки ця замісна амінокислота може призвести до зниження транскрипційної активності *PPARG*, цей поліморфізм може бути пов'язаний зі зниженням резистентності до інсуліну та зниженням ризику діабету 2 типу. Автори провели дослідження поліморфізму Pro12Ala гена *PPARG2* методом випадок-контроль. У групі, що страждає ожирінням, суб'єкти з Ala12 були більш чутливими до інсуліну ніж ті, у кого мутації немає. Частота Ala12 була значно нижчою в діабетичній групі, що свідчить про те, що цей поліморфізм нібито «захищає» від розвитку ЦД2. Водночас не ясно, як факт успадкування цього поліморфізму реалізований у хворих з ДР і головне, як може впливати на реалізацію захворювання спосіб життя пацієнта та його харчування, оскільки цей ген приймає активну участь в обміні ЖК. На наш погляд, це потребує уважного вивчення.

У цікавому огляді Cock et al. провели аналіз досліджень ефектів експресії *PPARG* від молекулярно-клітинного рівня до генетичних досліджень на тваринах, спостережень на людях разом із фармакологічним впливом та клінічними спостереженнями і дійшов висновку, що дійсно, *PPARG* є не тільки головним регулятором адипогенезу *in vivo*, але і рушійною силою гомеостазу глюкози та ліпідів, яка координує важливу адаптивну реакцію [5,28] ефективного збереження і накопичення енергії у вигляді жирової краплі в адипоциті [28]. Але цей еволюційно збережений селекцією механізм є вкрай корисним за умов рідкого епізодичного отримання висококалорійної їжі на тлі базового недоїдання, що спонукало наших пращурів до постійного пошуку їжі. Часи змінилися, і за умов заможного і часто малорухливого способу життя колись сприятлива реакція збереження енергії перетворилася у згубну, що сприяє дисліпідемії і пов'язаному із цим ожирінню, МС, ЦД2 [3,12].

Є дані про те, що IP люди мають знижену експресію *PPAR*, що сприяє зменшенню кількості м'язових мітохондрій та дисбалансу типів м'язових волокон 1 та 2 типу, що потенційно знижує м'язову масу [37,39]. Відомо, що фізичні навантаження справляють позитивний вплив на рівень глікемії при ЦД2, який частково опосередковується загальним метаболічним та молекулярним ремоделюванням скелетних м'язів у відповідь на вправу, але дія багатьох регуляторів скелетних м'язів залишаються незрозумілими. Дослідники вивчали вплив «гострих» фізичних вправ на транскрипційну активність генів скелетних м'язів у щурів на тлі гіперглікемії [101]. Після навантаження була виявлена зміна експресії ряду протеїнів, в тому числі *PPAR*-залежних, що призвело до посилення поглинання глюкози, покращення чутливості до інсуліну і зменшення гіперглікемії у щурів [55,139]. *PPARG* відіграє найважливішу роль у гомеостазі глюкози і є молекулярною мішенню класу інсуліночутливих препаратів, які широко застосовуються для лікування діабету 2 типу [50]. Активація *PPARG* у інсулінорезистентних (IP) тварин або людей призводить до підвищення чутливості як печінки до інсуліну, так і поглинання глюкози скелетними м'язами [142]. Цей вплив на сигнали інсуліну *in vivo* пояснюється комбінованою дією лігандів *PPARG* на жирову тканину, на печінку та скелетну мускулатуру, хоча тонкі механізми, що лежать в основі інсуліночутливої дії агоністів *PPARG*, є складними і не повністю зрозумілими.

### **1.5. Потенційна роль протеїну L-FABP, як внутрішньоклітинного регулятора ЖК**

Окислення ЖК є багатостадійним процесом, за допомогою якого вони розщеплюються різними тканинами для виробництва енергії. Це включає в себе спочатку потрапляння ЖК в цитозоль, а потім її перенесення в мітохондрію, де відбувається  $\beta$ -окислення до  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$  із генерацією АТФ. Після вивільнення з хіломікронів або ліпопротеїнів дуже низької щільності, ЖК переважно надходять в клітину за допомогою транспортерів: транслоказ жирних кислот (FAT/CD36), специфічних білків транспорту жирних кислот (FATP) і білку, що зв'язує жирні

кислоти — Fatty Acid Binding Protein (L-FABP) [26]. Сімейство FABP нараховує 9 варіантів, які зустрічаються у людини і отримали свою назву від органу, де вони визначені в більшій кількості або були знайдені: L-FABP (1, печінковий), I-FABP – (2, кишковий), H-FABP (3, серцевий) та ін. [46]. L-FABP (FABP1) присутній в цитоплазмі печінки, але також експресується в декількох інших місцях, включаючи кишківник, підшлункову залозу, нирки, легені і шлунок [131], вивільняється при втраті цілісності мембрани ентероцитів і легко потрапляє в кровотік [26]. Крім того, L-FABP може нести ацил-кофермент А, ейкозаноїди, лізофосфоліпіди, канцерогени, антикоагулянти, як-от варфарин і гем, що робить його, ймовірно, найуніверсальнішим шапероном [4], який відіграє значну роль в попередженні токсичності, оскільки зв'язує вільні, потенційно токсичні молекули. Надмірний рівень ЖК є токсичним для клітин, і протеїн FABP розглядають як захисний механізм, що зв'язує довголанцюгові ЖК, а потім направляє їх до відповідних сайтів внутрішньоклітинного видалення та окиснення (мітохондрії, пероксисоми) або накопичення (ендоплазматичний ретикулум, ліпідні краплі).

Вважається, що за рахунок зв'язування ейкозаноїдів та окисних продуктів поліненасичених ЖК, L-FABP є антиоксидантом, а втрата L-FABP призводить до перенаправлення ЖК на зберігання в жирову тканину та індукує збільшення ваги/ожиріння, особливо у відповідь на дієту з високим вмістом жиру [55, 157]. На мишах показано, що абляція гена L-FABP збільшувала приріст маси тварин і на звичайній їжі і на дієті з високим вмістом глюкози, а у мишей дикого типу дієта з високим вмістом глюкози знижувала приріст маси тіла [4], при цьому у мишей з дефіцитом L-FABP не спостерігалось жодних змін у зовнішньому вигляді, патоморфологічній картині, життєздатності, але деякі метаболічні параметри під впливом дієти з високим вмістом жирів і холестерину відрізнялися. Дослідники розглядають такий механізм: абляція L-FABP інгібує поглинання ЖК, зменшує внутрішньоклітинний транспорт/дифузію ЖК, інгібує етерифікацію ЖК, інгібує окиснення ПНЖК та інгібує орієнтацію ПНЖК на ядро, таким чином, перенаправляючи харчову ПНЖК для зберігання в жирові краплі, що сприяє ожирінню [55,79].

Цікавою є клінічне спостереження про рівні білка L-FABP в сироватці крові, які позитивно корелюють з ожирінням і резистентністю до інсуліну у молодих китайців [131]. Автори, висловлюють думку що L-FABP може відігравати важливу роль у запобіганні вікового або аліментарного ожиріння [4], а «парадоксальне» підвищення рівня L-FABP в сироватці у пацієнтів з ожирінням може бути компенсаторним підвищенням активності організму для протидії метаболічному стресу, викликаному ожирінням [131]. Водночас, можливо, що ожиріння викликає стійкість до дії L-FABP, призводячи до його компенсаторного росту. Автори зазначають, що дизайн дослідження обмежує інтерпретацію його результатів, особливо щодо причинно-наслідкових взаємодій, оскільки, не було встановлено джерело сироваткового L-FABP. Хоча він в достатній кількості присутній в цитоплазмі печінки, але також експресується в декількох інших місцях, включаючи кишківник, підшлункову залозу, нирки, легкі і шлунок; специфічна функція L-FABP може бути пов'язана з його тканинним розподілом і внутрішньоклітинною локалізацією. І головне, дослідження було проведено серед молодих китайців, що живуть в східному районі. Залишається питання, як можуть бути екстрапольовані відмінності в експресії L-FABP із урахуванням генетичного фону на інших вибірках, що вимагає продовжувати подібні дослідження [157,131].

Ми вважаємо, що є актуальним вивчення спроможності кожного організму людини переносити до клітин ЖК в формі ліпідів, із врахуванням здібності активного поглинання клітиною ЖК і вмістом ЖК в складі раціону харчування, як основи раціональної дієтотерапії хворих з ЦД2. Це може стати патогенетичною основою профілактики мікросудинних ускладнень, перш за все ДР, а також важливим елементом патогенетичної спрямованої персоніфікованої терапії ДР у хворих на ЦД 2 типу.

## **Резюме до розділу 1**

Проведений аналіз сучасної літератури з досліджуваної проблеми встановив, що діабетична ретинопатія — найчастіше ускладнення ЦД2, є провідною причиною втрати зору. У розвитку та прогресуванні ДР пацієнтів з ЦД2 залишається

невизначеною роль екзогенних впливів у вигляді порушення харчового раціону, харчових звичок, способу життя та ендогенних механізмів, залежних від протеїну L-FABP — регулятору внутрішньоклітинного ліпідного метаболізму, які базуються на відмінностях генетично детермінованих механізмів. Для підвищення ефективності прогнозування розвитку та прогресування ДР у хворих на ЦД2, обґрунтування напрямків персоніфікованої терапії є актуальним вивчення експресії L-FABP в залежності від поліморфізму гена *PPARG*.

**Основні положення розділу опубліковано в роботах [167]:**

1. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Роль метаболічних порушень та генотипу в розвитку діабетичної ретинопатії (огляд літератури).» *Архів офтальмології України*, №6.3, 2018, сс. 54-60.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Дизайн дослідження і клінічна характеристика хворих

У дослідження було включено дані 161 особи. З них 101 хворий (101 око) — це хворі на ЦД2, у яких тривалість захворювання складала приблизно 16 років ( $Me=16,4$  років,  $QI-QIII$  9-20 р, Min-Max 4-39 років). Всі вони були пацієнтами спеціалізованої офтальмологічної клініки, де за результатами офтальмологічного обстеження виявлено різний ступінь ушкодження сітківки у вигляді ДР.

Усім хворим були виконані загальноприйняті офтальмологічні обстеження: візометрія, рефрактометрія, статична периметрія Humphrey, тонометрія, біомікроскопія, за необхідності — гоніоскопія, офтальмоскопія лінзою Goldman, оптична когерентна томографія на OCT Triton у режимі macula. Флуоресцентну ангіографію виконували за показаннями.

Обстеження сітківки проводилися фундус-камерою з фотографуванням очного дна у 7 перехресних полях згідно з протоколом Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) [166].

Для порівняння отриманих результатів використовували дані 60 відносно здорових осіб без ЦД2, які звернулися з метою профілактичного огляду в лабораторію клінічної лабораторної діагностики НМУ імені О. О. Богомольця і відповідно складали Контрольну групу (КГ).

Треба зауважити, що робота виконувалася поетапно, тому кількість досліджуваних осіб на кожному етапі дещо відрізнялася. Але кількість осіб в групах порівняння була достатньою, щоб отримувати статистично достовірні результати. Для планування мінімально достатньої вибірки в групах «п» ми використовували розрахунок з 80 % потужністю на 5 % рівні значущості через врахування стандартного відхилення ( $\sigma$ ) та клінічно-значущого ефекту ( $\Delta$ ). Розрахунок проводили через програму MedStat «Планування експерименту».

Розрахунки проводили на основі попереднього вимірювання у пацієнтів в різних клінічних станах вмісту насичених та ненасичених ЖК, арахідонової ЖК,

глюкози та глікованого гемоглобіну тощо. За результатами розрахунків дійшли висновку, що в кожній підгрупі мінімальна, але достатня кількість осіб дорівнює 18-20 осіб.

Згідно з запланованою методологією дослідження, проводилося вивчення інформативності біохімічних маркерів оцінки порушення ліпідного метаболізму на тлі гіперглікемії у пацієнтів із ДР. Дослідження виконувалося в 2 етапи. На першому в дослідження були включені 119 осіб, максимально співставні за віком і статтю (рис. 2.1).

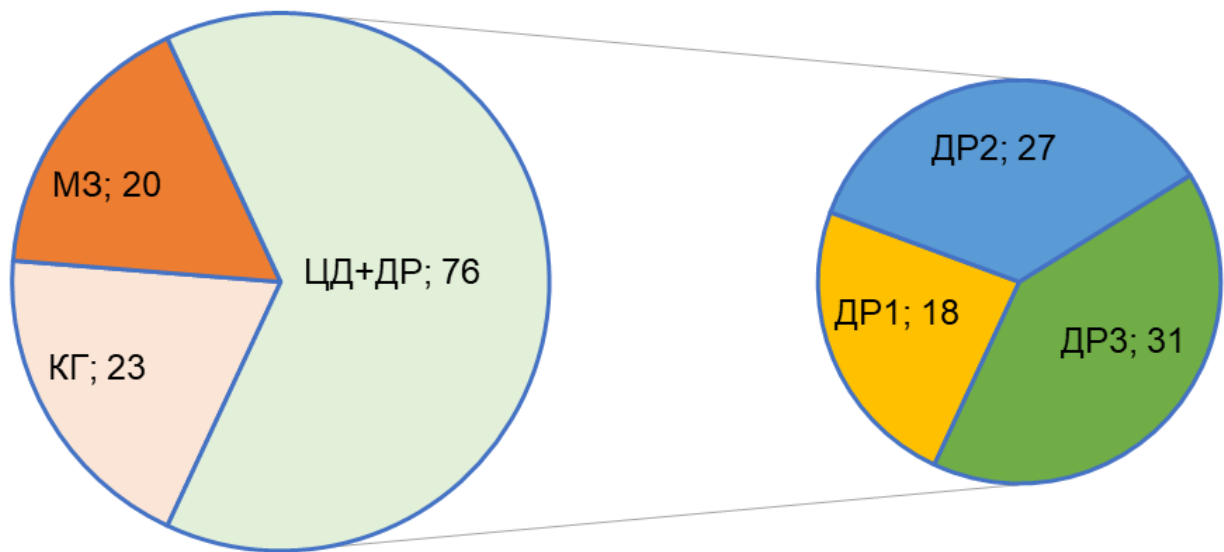


Рис. 2.1. Розподіл кількості досліджуваних осіб для вивчення інформативності біохімічних маркерів оцінки порушення ліпідного метаболізму на тлі гіперглікемії у пацієнтів із ДР та ЦД2

З них 76 хворих — група із діагностованим тривалим ЦД2 (Me=16,6 років, QI÷QIII 8,5-20,3 років, Min-Max 5-36 років), у яких за результатами офтальмологічного обстеження виявлено різний ступінь ушкодження сітківки у вигляді ДР. Ми визначили як «ЦД2+ДР». Інші 43 особи не мали діагностованих порушень метаболізму та скарг. З них у 20 осіб визначені метаболічні зміни за показниками ліпідного та вуглеводного обміну, групу визначили як «МЗ». Контрольну групу склали 23 особи, які не мали підвищеного рівня глюкози, глікованого гемоглобіну і холестерину. Характеристика груп порівняння наведена в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

**Характеристика груп порівняння в групах 1-го етапу дослідження**

| Показники                                            | КГ<br>n= 23              | МЗ<br>n= 20              | ЦД2+ДР<br>n= 76              | Значущість<br>відмінностей                                   |
|------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Вік, роки<br>Me; [QI÷QIII]<br>(Максимум-<br>Мінімум) | 57<br>[51–63]<br>(22–79) | 57<br>[50–65]<br>(22–78) | 63<br>[57,5–68,5]<br>(44–84) | $P_{к1-к2}>0,05$<br>$P_{к1-цд}=0,03^*$<br>$P_{к2-цд}=0,03^*$ |
| Стать,<br>жінки, %<br>Частка в групі                 | 65%<br>15(23)            | 70%<br>14(20)            | 55%<br>42(76)                | $\chi^2$<br>$P=0,34$                                         |

Примітка: Визначення статистичної значимості відмінностей проводили за допомогою критерію Крускала-Уолліса, параметр «стать» порівнювали в таблиці спряженості «k\*m», використовували критерій  $\chi^2$

На другому етапі роботи проводили порівняння показників ліпідного метаболізму у хворих на ДР із різним ступенем ушкодження сітківки відносно здорових осіб, що були виділені в КГ. Характеристика груп порівняння наведена в таблиці 2.2. Для проведення генетичних досліджень, зокрема вивчення впливу поліморфізму гена *PPARG* на фенотипові ознаки осіб досліджуваних груп, ми

**Характеристика груп порівняння в групах 2-го етапу дослідження**

| Показники                                            | КГ<br>n= 23              | ДР-1<br>n= 18                 | ДР-2<br>n= 27            | ДР-3<br>n= 31            | Значущість<br>відмінностей                                                                                                      |
|------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Вік, роки<br>Me; [QI÷QIII]<br>(Максимум-<br>Мінімум) | 58<br>[52–65]<br>(22–79) | 59,5<br>[56–76,25]<br>(44–81) | 63<br>[59–66]<br>(44–75) | 65<br>[58–73]<br>(50–84) | $P_{кг-др1}>0,05$<br>$P_{др1-др2}>0,05$<br>$P_{др2-др3}>0,05$<br>$P_{др1-др3}>0,05$<br>$P_{кг-др2}>0,05$<br>$P_{кг-др3}<0,05^*$ |
| Стать,<br>жінки, %<br>Частка в групі                 | 65%<br>15(23)            | 55%<br>10(18)                 | 55%<br>15(27)            | 54,8%<br>17(31)          | $\chi^2$<br><br>P=0,49                                                                                                          |

Примітка: визначення статистичної значимості відмінностей проводили за допомогою критерію Крускала-Уолліса, параметр «стать» порівнювали у таблиці спряженості «k\*m», використовували критерій  $\chi^2$

збільшили кількість пацієнтів до 101 людини та осіб контрольної групи (відносно здорових осіб без порушень метаболізму) до 40.

Таким чином, серед хворих визначили 3 групи спостереження, які відрізнялися ступенем ушкодження за шкалою ETDRS: ДР-1 група (30 хворих, 30 очей) в яку включили пацієнтів із початковою, помірною та тяжкою НПДР, ДР-2 групу (34 хворих, 34 ока) склали пацієнти з початковою та помірною ПДР та ДР-3 групу (37 хворих, 37 очей) склали пацієнти із ПДР високого ризику та прогресуючою ПДР.

Однак, збільшення кількості пацієнтів не спричинило суттєвої зміни загальних характеристик досліджуваних в дослідних групах (табл. 2.3).

**Характеристика груп порівняння за віком, статтю та тривалістю ЦД2 в  
групах 3-го етапу дослідження**

| Показники                                                             | КГ<br>n= 40                    | ДР-1<br>n= 30                | ДР-2<br>n= 34                | ДР-3<br>n= 37                    | Значущість<br>відмінностей                                                                                                      |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Вік, роки<br>Me;<br>[QI÷QIII]<br>(Максимум<br>-Мінімум)               | 57<br>[50–64,5]<br><br>(22–79) | 60<br>[56–76]<br><br>(44–81) | 63<br>[58–66]<br><br>(44–77) | 65<br>[60,5–73,0]<br><br>(50–84) | $P_{кг-др1}>0,05$<br>$P_{др1-др2}>0,05$<br>$P_{др2-др3}>0,05$<br>$P_{др1-др3}>0,05$<br>$P_{кг-др2}>0,05$<br>$P_{кг-др3}<0,05^*$ |
| Тривалість<br>ЦД2, роки<br>Me;<br>[QI÷QIII]<br>(Максимум<br>-Мінімум) | 0                              | 9,5<br>[4–17]<br><br>(4–37)  | 15<br>[10–20]<br><br>(4–30)  | 20<br>[14–25]<br><br>(3–35)      | $P_{др1-др2}<0,05^*$<br>$P_{др2-др3}>0,05$<br>$P_{др1-др3}<0,05^*$                                                              |
| Стать,<br>жінки, %<br>Частка в<br>групі                               | 65%<br><br>26(40)              | 56%<br><br>17(30)            | 55%<br><br>19(34)            | 56,7%<br><br>21(37)              | $\chi^2$<br><br>P= 0,974                                                                                                        |

Примітка: Визначення статистичної значимості відмінностей проводили за допомогою критерію Крускала-Уолліса, параметр «стать» порівнювали в таблиці спряженості «k\*m», використовували критерій  $\chi^2$

У всіх осіб досліджуваних груп збирали анамнез захворювання із зазначенням прийому препаратів, особливо форми та виду антидіабетичних ліків, статинів,

біодобавок, вимірювали антропометричні дані для розрахунку індексу маси тіла (ІМТ). Збирали анамнез життя, а особливу увагу приділяли визначенню особливостей способу життя, поведінки, відношенню до фізичних вправ, харчовим звичкам та способу приготування їжі, вживанню продуктів харчування, олій, жирів тощо.

Дослідження проводили з урахуванням біоетичних протоколів та відповідно до Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації (Сеул, 2008), відповідних наказів МОЗ України (№ 281 від 01.11.2000 № 355 від 25.09.2002 № 356 від 22.05.2009 р., в редакції наказу МОЗ України № 574 від 05.08.2009 р. № 1118 від 21.12.2012 р.). Пацієнти підписували інформовану згоду щодо використання інформації про їхній стан в протоколах первинної документації дослідника (протокол № 128 від 23.12.2019 р. Комісії з біоетики НМУ імені О. О. Богомольця).

У всіх пацієнтів був досліджуваний рівень тиреотропного гормону (ТТГ) та гормону щитоподібної залози Т4 для виключення наявності гормональних порушень.

Критеріями включення до дослідних груп були: наявність ЦД2 та ДР різної стадії розвитку, початкова непроліферативна діабетина ретинопатія (НПДР), помірна НПДР, тяжка НПДР, початкова проліферативна діабетична ретинопатія (ПДР), помірна ПДР, ПДР високого ризику, прогресуюча ПДР, популяція населення України.

Критеріями невиключення для дослідних та контрольних груп були наявність ендокринної патології та ендокринопатії, зокрема спадкових, ЦД 1 типу, гострих інфекційних захворювань, онкологічних захворювань (в т.ч. в анамнезі), декомпенсації супутньої патології, психічних розладів, прийом нейролептиків, антидепресантів, наявність протеїнурії, клінічно значущої макулопатії, пошкодження зорового нерву, глаукоми, міопії високого ступеня, офтальмологічне лікування, операції органа зору, травми органа зору, інфекційно-запальні захворювання органа зору.

Важливою умовою аналізу отриманих даних в дослідженні генетичних та негенетичних факторів розвитку та погіршення ДР на тлі ЦД2 було максимальне

співставлення груп дослідження за віком, статтю, ІМТ, способом життя, руховою активністю, поведінковими особливостями.

## **2.2. Офтальмологічні дослідження**

Офтальмологічне дослідження проводилося на базі відділення мікрохірургії ока, КНП «Чернігівська обласна лікарня».

Дослідження гостроти зору та суб'єктивної рефракції усім хворим було проведено за допомогою стандартних таблиць Головіна-Сівцева, а також адаптованої таблиці ETDRS [166].

Статична периметрія Humphrey проводилася для визначення полів зору.

Визначення внутрішньоочного тиску при попередньому огляді пацієнтів проводили за допомогою автоматичного пневмотонометра.

Біомікроскопію проводили щілинною лампою HS-500 виробництва Huvitz.

Огляд очного дна та кута передньої камери ока виконували контактним методом за допомогою трьохдзеркальної лінзи Goldman.

Оптичну когерентну томографію виконували на OCT Triton у режимі macula.

Обстеження сітківки проводилися фундус-камерою з фотографуванням очного дна у 7 перехресних полях згідно з протоколом Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS).

## **2.3. Лабораторні дослідження біоматеріалу**

У пацієнтів офтальмологічної клініки в умовах маніпуляційного кабінету забирали венозну кров для дослідження у стерильні вакуумні пробірки, маркували їх та транспортували із витримуванням холодового ланцюга до лабораторії в день забору крові. Використовували пробірки: з активатором згортання для отримання сироватки й дослідження біохімічних показників, гормонів та регуляторного протеїну, з антикоагулянтом K2EDTA для визначення глікованого гемоглобіну та виділення ДНК клітин крові, із цитратом натрію 5,5 водного 3,8% у співвідношенні кров : антикоагулянт – 9:1. для виділення еритроцитів.

Усі лабораторні методики виконували в атестованих лабораторіях Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (директор — проф. Натрус Л. В.) за стандартними уніфікованими методиками.

### 2.3.1. Біохімічні методики

Біохімічні методики проводили із використанням наборів «Diagnosticum Zrt», (Угорщина) на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі BS-3000M виробництва Sinnowa (Китай). Концентрацію глюкози (ммоль/л) в сироватці визначали ферментативним колориметричним методом (GOD/POD/PAP), набір «Diagnosticum Zrt».

Ліпідний обмін досліджували за допомогою біохімічних наборів для визначення: загального холестерину Cholesterol PAP, тригліцеридів — Triglycerides PAP, холестерину ліпопротеїдів високої: - HDL Cholesterol, та низької: - LDL Cholesterol щільності, виробництва Diagnosticum Zrt (Угорщина). Для дослідження брали сироватку крові після стандартного центрифугування. Згідно з інструкцією виробника змішували реагент з сироваткою крові у співвідношенні 1 мл реагенту: 10 мкл сироватки. Одночасно, в окремій пробірці, в аналогічних співвідношеннях змішували реагент з калібратором. Пробірки з реакційною сумішшю витримували 5 хвилин у термостаті за температури 37<sup>0</sup>С, після чого вимірювали на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі BS-3000M виробництва Sinnowa» (Китай) оптичну щільність (А) зразка та калібратора проти реагентного бланку за довжини хвилі 510 нм. Концентрацію (С) показника визначали за формулою (1).

$$C_{\text{показника}} = (A_{\text{зразка}} / A_{\text{калібратора}}) * C_{\text{калібратора}} \quad (1)$$

де С — Концентрація  
А — Оптична щільність

Контроль якості проводили з використанням контрольних сироваток виробництва Diagnosticum Zrt (Угорщина).

Рівень ліпопротеїдів (ЛП) високої та низької щільності також визначали згідно з інструкціями виробника. Змішували реагент R1 із сироваткою в співвідношенні 270 мкл : 3 мкл із додаванням дистильованої води (3 мл). В окремій пробірці, в аналогічних співвідношеннях, змішували реагент з калібратором. Пробірки з реакційною сумішшю витримували протягом 5 хвилин в термостаті за температури 37<sup>0</sup>С, після чого до всіх пробірок, включаючи реагентну, додавали реагент R2 у кількості 90 мкл, інкубували ще 5 хвилин за температури 37<sup>0</sup>С та визначали оптичну щільність (А) зразка й калібратора проти реагентного бланку (довжина хвилі — 620 нм). Концентрацію (С) ЛП визначали за формулою [І]. Контроль якості проводили, використовуючи контрольні сироватки виробництва «Diagnosicum Zrt» (Угорщина).

Концентрацію глікованого гемоглобіну (HbA1) визначали методом іонно-обмінної температурно незалежної хроматографії-спектрофотометрії за допомогою набору реагентів і мікроколонок виробництва Bio Systems (Іспанія). У пробірці змішували 50 мкл крові і 200 мкл реагенту для гемолізу (детергент рН 5,0 і фталат калію 50 ммоль/л) для отримання гемолізату крові. Потім його наносили на фільтр підготовленої колонки і згідно з інструкцією проводили заповнення колонки буфером. Елюат, який містив фракцію HbA1, збирали в пробірку і визначали оптичну щільність проти дистильованої води за довжини хвилі 415 нм на фотометрі КФК-2МП (Росія). Визначили оптичну щільність в гемолізаті розчину, який містить загальний гемоглобін (згідно з інструкцією). Отримані значення використовували для обчислення частки (%) фракції HbA1.

Дослідження складу ЖК в мембранах еритроцитів проводили методом газової хроматографії. Для цього спочатку виділяли еритроцити. У пробірку з осадом до верху доливали 0,9 % розчин натрію хлориду, перемішували її вміст і центрифугували протягом 5 хв при швидкості обертання ротора 1500 об/хв. Надосад зливали і двічі повторювали процедуру. Відмиті еритроцити із осаду використовували для дослідження.

Рідину із еритроцитами поміщали у пробірку об'ємом 10 мл із притертою пробкою, за правилом методу Фолча заливали хлороформ-метаноловою сумішшю (у

співвідношенні 2:1) і витримували у холодильнику протягом 30 хв. Потім, для екстракції — піпеткою Пастера відбирали нижню хлороформну фазу — повторювали двічі. Отримані хлороформні екстракти концентрували під струменем газоподібного азоту, на водяній бані за температури 45<sup>0</sup>С шляхом випаровування до об'єму однієї краплі. Потім додавали 5 мл 1 % розчину сірчаної кислоти H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> до сухого осаду ліпідів у метанолі. Розчин переносили у скляну ампулу ємністю 15 мл та запаювали її. Гідроліз та метилювання проводили за методом Синяка у термостаті за температури 85<sup>0</sup>С протягом 20 хвилин. Екстракцію етильованих ЖК проводили двічі гексан-ефірною сумішшю (у співвідношенні 1:1) у кількості 5 мл. Для розподілу фаз додавали 1 мл дистильованої води і відбирали піпеткою Пастера верхню фазу. Сухий осад розчиняли в 40–50 мкл чистого гексану та вносили у випарювач хроматографа «Цвет-500» (Росія) в кількості 5 мкл.

Газохроматографічний аналіз спектра ЖК ліпідів здійснювали з полум'яно-іонізаційним детектором в ізотермічному режимі за таких умов: скляна колонка (розміром 3 м \* 0,3 см), заповнена фазою 5 % поліетиленгліколю сукцинату на хроматоні N-AW-HMDS (зернистість — 0,125–0,160 мм), температура колонки +180<sup>0</sup>С, температура випарювача +250<sup>0</sup>С, витрати азоту та водню — 35 мл/хв, повітря — 300 мл/хв, швидкість діаграмної стрічки — 200 мм/год, чутливість шкали — 10<sup>-9</sup>А, тривалість аналізу — 20 хв. Об'єм проби складав 5 мкл.

На хроматограмі ідентифікували піки ЖК за певним часом утримування. Параметри піків, що отримали, порівнювали із піками стандартних чистих речовин з відомим якісним та кількісним складом. Для кількісної оцінки спектра ЖК проводили нормування площ піків ЖК та визначали їх склад у відсотках — при цьому всю суму визначали як 100 %. Вміст кожної ЖК визначали за розрахунком як частку від 1.

У спектрі ЖК ліпідів мембран еритроцитів було ідентифіковано 9 ЖК. Насичені (НЖК): міристинова C<sub>14:0</sub>, пентодеканова C<sub>15:0</sub>, пальмітинова C<sub>16:0</sub>, маргарінова C<sub>17:0</sub>, стеаринова C<sub>18:0</sub>. Ненасичені (ННЖК): олеїнова C<sub>18:1</sub>, лінолева C<sub>18:2</sub>, ліноленова C<sub>18:3</sub>, арахідонова C<sub>20:4</sub>. Три з ННЖ: лінолеву C<sub>18:2</sub>, ліноленову C<sub>18:3</sub>,

арахідонову  $C_{20:4}$  ЖК відносять до поліненасичених (ПНЖК) і вважають незамінними [145].

### 2.3.2. Дослідження методом імуноферментного аналізу

Дослідження гормонів та регуляторного протеїну L-FABP проводили у сироватці крові методом твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) на напівавтоматичному аналізаторі RT2100C (RAYTO) (Китай) із використанням інкубатора-шейкера для мікропланшетів PST-60HL-4 (BioSun) (Латвія) та автоматичного планшетного промивача — вошеру Bio-Rad PW40.

ТТГ визначали за допомогою набору «ТТГ-ИФА-БЕСТ», чутливість: 0,05 мМО/л, діапазон вимірювань: 0–16 мМО/л. Вільний Т4 визначали за допомогою набору «Т4 свободный- ИФА-БЕСТ», чутливість: 0,5 пмоль/л, діапазон вимірювань: 0–80 пмоль/л. Протеїн L-FABP визначали із використанням реагентів Human L-FABP Hycult Biotech чутливість 102 пг/мл, діапазон вимірювань від 102 до 25 000 пг/мл. За даними виробника, вміст в плазмі/сироватці здорової людини знаходиться в межах 12–16 нг/мл.

### 2.3.3. Генетичні дослідження

Для молекулярно-генетичного дослідження була використана венозна кров, забір якої проводили в стерильних умовах у пробірки що містили K2 EDTA (11,7 мМ) як антикоагулянт. Пробірки маркували та заморожували за температури -70°C. Для виділення геномної ДНК використовували набори PureLink® Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA, виробник INVITROGEN (США). На першому етапі проводили інкубацію з Digestion Buffer та протеїназою K і шляхом центрифугування позбавлялися від продуктів денатурації та лізису, з метою попередження контамінації додатково інкубували з РНК-азою. Для аналізу поліморфних ДНК-локусів використовували спеціальні уніфіковані тестові системи TaqMan Mutation Detection Assays Life-Technology (Unites States of America). Локалізація досліджуваного поліморфізму rs1801282 гена *PPARG* Chr.3:12393125 за NCBI Build 37. Послідовність ділянки, що аналізується —

AACTCTGGGAGATTCTCCTATTGAC[C/G]CAGAAAGCGATTCTTCACTGATAC, поліморфний кодон CCA/GCA. Такий поліморфізм представляє собою просту нуклеотидну заміну C на G, що призведе до заміни амінокислоти пролін на аланін у 12 положенні білка гамма-рецептору, який активує проліферацію пероксисом (PPARG). Алель C вважається «диною» алелю, а алель G мінорною, оскільки за даними MAF Source: 1000 Genomes (<http://www.1000genomes.org/node/506>) частота зустрічаємості цієї алелі складає  $T=0,0703/352$ . Інкубацію досліджуваного матеріалу з системою праймерів, які фланкують ділянки ДНК генів, що аналізуються, проводили в присутності термостійкої ДНК-полімерази в автоматичному ампліфікаторі Gene Amp® PCR System 7500 (Applied Biosystems, США). Одержані дані оброблялися за допомогою синхронізованої з ампліфікатором програми RealTime\_PCR.

## 2.4. Опитування та анкетування

Для вивчення СЖ нами була створена анкета, на питання якої пропонували відповісти всіх досліджуваних осіб. При створенні питань анкети та відповідей була врахована ідея харчової піраміди, розроблена Уолтером Вілетом у Гарвардській школі громадського харчування, в основі якої підкреслена роль фізичної активності, достатнє споживання рідини, переважно у вигляді мінеральної води та щоденного вживання овочів і фруктів.

Анкета складалася із двох частин. У першій — було запропоновано відповісти на запитання за допомогою обрання варіанту відповіді. Наприклад: на запитання анкети «Як багато на день ви маєте фізичного навантаження?» були запропоновані відповіді: «Намагаюся регулярно виконувати додаткові фізичні навантаження» із оцінкою відповіді А, «Регулярно ходжу на роботу, йду пішки на зупинку» відповідь ранжувалася як В, «Пересуваюся по дому, іноді виходжу на вулицю, в магазин» — С. На запитання «Як багато ви вживаєте води?» були запропоновані відповіді із ранжуванням: «Додатково до їжі вживаю воду не менш 1,5–2 літра на день» — А, «Між прийомами їжі вживаю чай, каву, соки» — В, «Тільки з першими стравами та

напоями» — С. У другій частині досліджуваним особам пропонували вибрати в опитувальнику найхарактерніший варіант частоти вживання продуктів харчування

| Продукти<br><br>Вкажіть  | Частота вживання протягом останнього місяця |              |            |          |             |             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------|------------|----------|-------------|-------------|
|                                                                                                           | Ніколи / край рідко                         | 1-3 в місяць | 1-2 рази   | 3-4 рази | кожного дня | 2-4 на день |
|                                                                                                           |                                             |              | на тиждень |          |             |             |
| Каші, необроблений рис, хліб грубого помолу                                                               |                                             |              |            |          |             |             |
| Макаронні вироби з цільнозернової муки,                                                                   |                                             |              |            |          |             |             |
| Горіхи, бобові, насіння соняшника, гарбуза, арахіс                                                        |                                             |              |            |          |             |             |
| Риба, морепродукти, ікра                                                                                  |                                             |              |            |          |             |             |
| М'ясо птиці                                                                                               |                                             |              |            |          |             |             |
| Свинина, яловичина                                                                                        |                                             |              |            |          |             |             |
| Яйце                                                                                                      |                                             |              |            |          |             |             |
| Молоко, молочні продукти, ряжанка                                                                         |                                             |              |            |          |             |             |
| Твердий сир                                                                                               |                                             |              |            |          |             |             |
| Майонез (1-2 стол ложки)                                                                                  |                                             |              |            |          |             |             |
| Паштети                                                                                                   |                                             |              |            |          |             |             |
| Сметана (20% жиру)                                                                                        |                                             |              |            |          |             |             |
| Ковбаси, копчені, домашні                                                                                 |                                             |              |            |          |             |             |
| Сало                                                                                                      |                                             |              |            |          |             |             |
| Масло вершкове (5-20 гр)                                                                                  |                                             |              |            |          |             |             |
| Тістечка, солодоші, випічка                                                                               |                                             |              |            |          |             |             |

Дякуємо! Ви нам дуже допомогли.

Бажаємо скорішого одужання і доброго здоров'я.

Рис. 2.2. Вид опитувальника анкети про частоту вживання продуктів

за схемою (рис. 2.2). Відповіді, згідно з всесвітніми авторитетними рекомендаціями та школами дієтології, ранжували у вигляді шкали: А — рекомендовано, Б — припустимо, В — не бажано, Г — не рекомендовано, Д — вкрай не рекомендовано. Далі, для кількісної оцінки результатів, варіантам відповідей призначали бали від 1 до 5, де А — «5», а Д — «1».

І в результаті пацієнт мав кількісну оцінку, в залежності від того, наскільки раціонально, з точки зору рекомендацій харчування він вживає різноманітну їжу із вмістом жирних кислот. Такий показник «раціональності вживання ЖК», як сума балів, в умовних одиницях ми визначили у кожного пацієнта, а потім і середній в групі.

## **2.5. Статистичний аналіз**

Статистичний аналіз даних виконувався за допомогою ліцензованого пакету IBM SPSS Statistics 23 та програми MedStat v 5.0. Перевірку розподілу кількісних показників по всій вибірці даних на відповідність закону Гауса виконували за допомогою одновибірочного критерію Шапіро-Уїлка. Більшість параметрів не відображали нормальний розподіл, тому використовували непараметричні критерії. Для опису даних в групах наводили значення медіани (Me) та процентилей 25-й ( $P_{25}$ ) та 75-й ( $P_{75}$ ), які визначали в таблицях [QI÷QIII]. Для інтервальної оцінки медіани розраховували 95% довірчий інтервал, який вказували при наведенні графічного матеріалу у вигляді діаграм або Box-plot-діаграм. Дані у групах порівнювали за допомогою рангового однофакторного аналізу за критерієм Крускала-Уолліса, для попарного порівняння використовували критерій Данна або Манна-Уїтні з урахуванням поправки Бонфероні. При аналізі таблиць спряженості «k\*m» використовували критерій  $\chi^2$ . Відмінності в групах вказували у вигляді P із зазначенням рівня значущості. Вважали, що дані відрізняються за  $P < 0,05$ .

### РОЗДІЛ 3

## ІНФОРМАТИВНІСТЬ БІОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ ДЛЯ ОЦІНКИ ПОРУШЕННЯ ЛІПІДНОГО МЕТАБОЛІЗМУ НА ТЛІ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ДІАБЕТИЧНОЮ РЕТИНОПАТІЄЮ ТА ЦД2

У патогенезі ДР та інших судинних ускладнень, що виникають на тлі гіперглікемії, дисфункція судинного ендотелію розглядається як важливий фактор ушкодження. Ендотеліальна дисфункція добре відома у пацієнтів з гіперхолестеринемією, а перекисне окислення ліпідів у судинній стінці призводить до локальної продукції активних форм радикалів, які опосередковують рекрутування макрофагів, клітинну активацію та проліферацію, а також хімічну модифікацію судинних білків за рахунок покращених кінцевих продуктів ліпоксидзації. Таким чином, гіперліпідемія, за рахунок ендотеліальної дисфункції, може сприяти розвитку ДР, макулярного набряку і порушенню гематоретинального бар'єру крові, що призводить до ексудації ліпідів і ліпопротеїдів сироватки [9].

Сьогодні доведено, що підвищення в плазмі вмісту вільних жирних кислот відіграє ключову роль в розвитку ЦД2, викликаючи інсулінорезистентність, тому є доцільним визначити найінформативніші біохімічні маркери, які відображають порушення ліпідного обміну і висвітлюють пріоритетні напрямки фармакологічної корекції і параметрів для моніторингу ефективності лікувальних схем [157].

У дослідження були включені 119 осіб, максимально співставних за віком і статтю (Розділ 2.1). З них 76 хворих — група із діагностованим тривалим ЦД2 (Me=16,4 років, QI÷QIII 9-20 р, Min-Max 5-36 років), у яких за результатами офтальмологічного обстеження виявлено різний ступінь ушкодження сітківки у вигляді ДР. Ми визначили як «ЦД2+ДР». Інші 43 особи звернулися з метою профілактичного огляду в лабораторію клінічної лабораторної діагностики НМУ імені О. О. Богомольця, не мали діагностованих порушень метаболізму та скарг. З них у 23 осіб визначені метаболічні зміни за показниками ліпідного та вуглеводного обміну, групу визначили як «МЗ». Особи, які не мали підвищеного рівня глюкози,

глікованого гемоглобіну і холестерину, склали КГ (n = 20). Характеристика груп порівняння наведена в таблиці.

Гендерні відмінності в масі тіла і ІМТ також були не достовірні (рис.3.1, табл.3.1). Перш за все ми провели в групах аналіз найпопулярніших «скринінгових» біохімічних показників, які використовуються в клініці (табл.3.1).

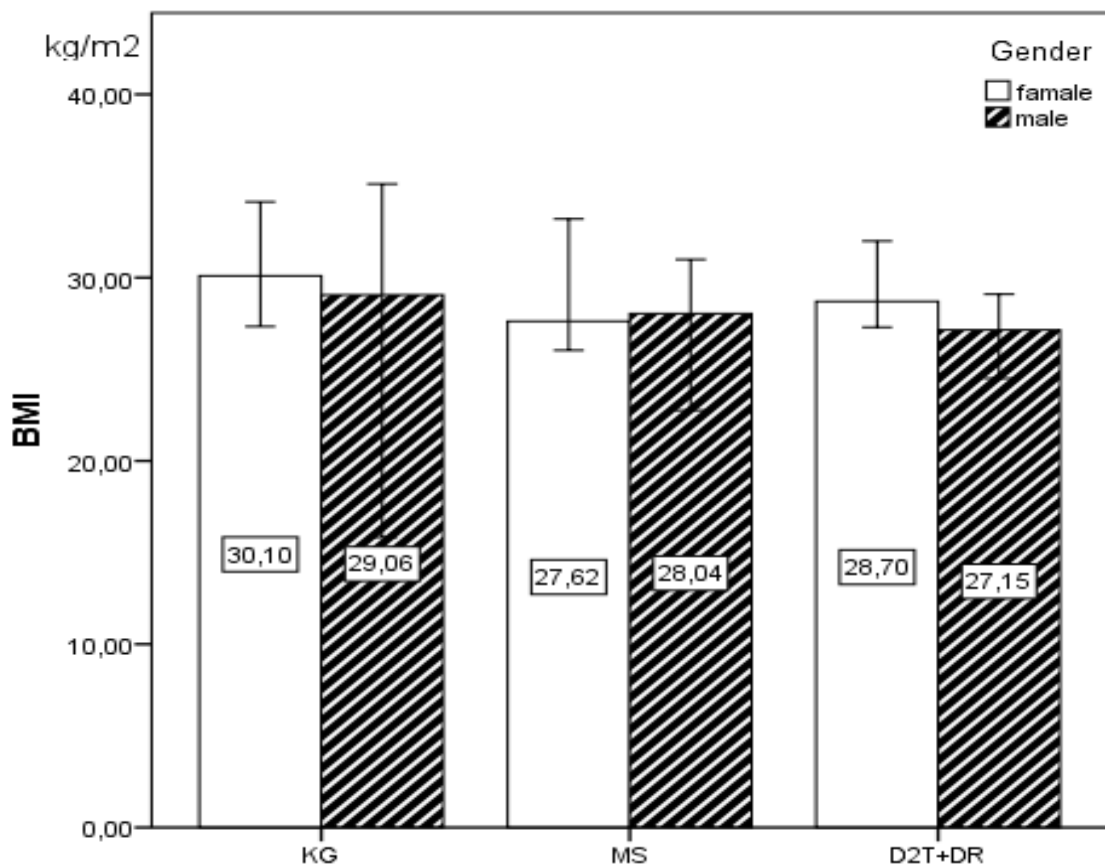


Рис. 3.1. Розподіл значення ІМТ в групах КГ, МЗ та пацієнтів з ЦД2+ДР в залежності від статі. Світлі стовпчики — жінки, темні — чоловіки

Особливий інтерес складало порівняння груп КГ та МЗ, які ми окреслили, як пацієнти без ЦД2. КГ складали особи, які попри вік і високу масу тіла (ІМТ = 29,41) не мали відхилень від референтних значень за основними показниками вуглеводного та ліпідного обміну. Групу МЗ склали особи, які не знаходилися на диспансерному обліку, не вважали себе хворими. Але у бесіді з кожними з них було виявлено, що під час періодичних профілактичних вимірювань біохімічних показників, вони мають деякі підвищенні значення. Як видно з таблиці, показник

глікованого гемоглобіну в групі МЗ був в 2,4 рази вище ( $P<0,05$ ) ніж в КГ, але глюкоза крові була незначно вище. Це зазвичай пояснюється транзиторним зниженням глюкози під час здачі крові за рахунок того, що людина, яка знає про коливання показника, може напередодні забезпечити цукрову депривацію.

Таблиця 3.1

**Показники пацієнтів досліджуваних груп та хворих на ЦД2  
(n, Me; [QI÷QIII])**

| Показники                    | КГ<br>n= 23          | МЗ<br>n= 20           | ЦД2+ДР<br>n= 76     | Значущість<br>відмінностей                                                          |
|------------------------------|----------------------|-----------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| ІМТ, кг/м <sup>2</sup>       | 29,41<br>[27,5–33,8] | 27,69<br>[26,4–30,72] | 28,05<br>[25,45–32] | $P_{\text{КГ-МЗ}}>0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}}>0,05$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}}>0,05$       |
| НbA1C (%)                    | 5,1<br>[4,9–5,5]     | 12,3<br>[7,0–13,8]    | 7,7<br>[6,6–9,5]    | $P_{\text{КГ-МЗ}}<0,05^*$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}}<0,05^*$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}}<0,05^*$ |
| Глюкоза<br>крові,<br>ммоль/л | 5,0<br>[4,4–5,4]     | 5,9<br>[5,0–7,6]      | 10,0<br>[7,5–12,0]  | $P_{\text{КГ-МЗ}}<0,05^*$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}}<0,05^*$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}}<0,05^*$ |
| Холестерин,<br>ммоль/л       | 4,2<br>[3,82–4,66]   | 5,4<br>[4,68–5,96]    | 4,5<br>[3,72–5,30]  | $P_{\text{КГ-МЗ}}<0,05^*$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}}<0,05^*$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}}>0,05$   |
| ЛПВЩ,<br>ммоль/л             | 0,82<br>[0,60–1,34]  | 1,16<br>[0,79–1,26]   | 1,15<br>[0,87–1,40] | $P_{\text{КГ-МЗ}}>0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}}>0,05$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}}>0,05$       |
| ЛПНЩ,<br>ммоль/л             | 2,63<br>[2,17–3,11]  | 3,38<br>[2,96–14,05]  | 2,6<br>[1,77–3,41]  | $P_{\text{КГ-МЗ}}<0,05^*$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}}<0,05^*$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}}>0,05$   |
| Тригліцерид<br>и ммоль/л     | 1,4<br>[1,04–1,75]   | 1,35<br>[1,12–1,85]   | 1,55<br>[1,18–2,01] | $P_{\text{КГ-МЗ}}>0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}}>0,05$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}}>0,05$       |

Примітка: Визначення статистичної значимості відмінностей проводили за допомогою критерію Крускала-Уолліса

Така ситуація лише підкреслює інформативність показника НbA1C, який сьогодні є «золотим стандартом» для визначення порушення стану вуглеводного обміну. Водночас, оскільки особи з групи МЗ не висловлювали скарг, типових для

значного порушення метаболізму, притаманних для ЦД2, ми аналізували їх як «умовно здорові».

Групу ЦД2 складали пацієнти, які перебувають на диспансерному обліку з приводу цукрового діабету, тривалість захворювання в середньому 16-20 років, обов'язково приймають лікування (таблетовану форму або ін'єкції), частина з них приймає статини. У всіх хворих на ЦД2 наявне судинне ускладнення у вигляді ДР, стадію якої визначали за шкалою ETDRS. Так у 30 хворих визначили початкову, помірну та тяжку непроліферативну ДР, у 34 хворих — початкову, помірну та високого ризику проліферативну ДР та 37 пацієнтів мали прогресуючу проліферативну ДР. Таким чином, в групі ЦД2 було наявне тривале порушення вуглеводного та ліпідного обміну.

Цікавим виявилось те, що групи КГ та МЗ достовірно відрізнялися за показником загального холестерину та ЛПНЩ, а пацієнти з ЦД2+ДР за вказаними показниками не відрізнялися від групи КГ. Показники ЛПВЩ та тригліцеридів взагалі не мали достовірної різниці в групах. Ми вважаємо, що відсутність різниці біохімічних показників в групі КГ та ЦД2+ДР відображає низьку інформативність вказаних параметрів для характеристики тривалих порушень метаболізму [157].

Тому, для вивчення особливостей обміну ЖК в організмі ми використовували аналіз жирнокислотного спектру мембран еритроцитів, якій виконували за допомогою газово-рідинної хроматографії. Кров є транспортним середовищем для ліпопротеїдів, тому визначення в плазмі ЖК відображає сумарне перебування хіломікронів, які циркулюють у різних напрямках до клітини і від неї, і таким чином, вимірювання ЖК в плазмі не надає повної інформації про використання жирних кислот клітинами організму. Мембрана еритроцита вважається найінформативнішою моделлю для аналізу ЖК спектру в організмі пацієнтів і віддзеркалює загальні особливості використання тканинами ЖК, їх вбудовування в мембрану клітини, так, як це відбувається в усіх клітинах організму.

Аналіз вмісту ЖК показав суттєву різницю між групами умовно здорових осіб та пацієнтів із ЦД2. При цьому в групах КГ та МЗ не було достовірних відмінностей за жодним вимірюванням (табл. 3.2).

**Вміст основних ЖК (%), визначених в мембранах еритроцитів пацієнтів  
досліджуваних груп та хворих на ЦД2+ДР (n, Me; [QI÷QIII])**

| <b>Жирна кислота</b>   | <b>КГ</b><br>n= 23  | <b>МЗ</b><br>n= 20  | <b>ЦД2+ДР</b><br>n= 76 | <b>Значущість<br/>відмінностей</b>                                                      |
|------------------------|---------------------|---------------------|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| С14:0<br>Міристинова   | 0,35<br>[0,3–0,6]   | 0,4<br>[0,3–0,5]    | 0,7<br>[0,4–1,2]       | $P_{\text{КГ-МЗ}} > 0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}} < 0,05^*$ |
| С15:0<br>Пентадеканова | 0,35<br>[0,3–0,6]   | 0,4<br>[0,3–0,5]    | 0,6<br>[0,4–1,0]       | $P_{\text{КГ-МЗ}} > 0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}} < 0,05^*$ |
| С16:0<br>Пальмітинова  | 24,7<br>[16,4–30,5] | 21,5<br>[13,2–23,4] | 39,1<br>[26,9–44,1]    | $P_{\text{КГ-МЗ}} > 0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}} < 0,05^*$ |
| С17:0<br>Маргарінова   | 0,35<br>[0,3–0,6]   | 0,4<br>[0,3–0,5]    | 0,6<br>[0,4–1,0]       | $P_{\text{КГ-МЗ}} > 0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}} < 0,05^*$ |
| С18:0<br>Стеаринова    | 12,3<br>[10,8–12,7] | 11,5<br>[10,3–12,4] | 11,3<br>[9,7–13,9]     | $P_{\text{КГ-МЗ}} > 0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}} > 0,05$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}} > 0,05$     |
| С18:1<br>Олеїнова      | 18,6<br>[17,1–20,4] | 18,0<br>[16,4–19,3] | 17,8<br>[16,2–20,3]    | $P_{\text{КГ-МЗ}} > 0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}} > 0,05$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}} > 0,05$     |
| С18:2<br>Лінолева      | 37,1<br>[31,0–41,6] | 40,1<br>[36,0–46,2] | 23,3<br>[17,0–32,4]    | $P_{\text{КГ-МЗ}} > 0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}} < 0,05^*$ |
| С18:3<br>Ліноленова    | 0,35<br>[0,3–0,6]   | 0,4<br>[0,3–0,5]    | 0,6<br>[0,4–1,0]       | $P_{\text{КГ-МЗ}} > 0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}} < 0,05^*$ |
| С20:4<br>Арахідонова   | 6,6<br>[3,2–9,3]    | 6,1<br>[4,4–8,4]    | 3,8<br>[1,8–8,7]       | $P_{\text{КГ-МЗ}} > 0,05$<br>$P_{\text{МЗ-ЦД}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{КГ-ЦД}} < 0,05^*$ |

Примітка: Визначення статистичної значимості відмінностей проводили за допомогою критерію Крускала-Уолліса

Лише дві ЖК — насичена стеаринова С18:0 та ненасичена олеїнова С18:1 — за відносним вмістом не відрізнялися в групах. В інших вимірюваннях була чітка тенденція: насичені ЖК у пацієнтів з ЦД2+ДР були вище практично в 1,5-2 рази, а ненасичені лінолева С18:2 та арахідонова С20:4 відповідно в 1,5-1,7 разів нижче.

Виключення складала ненасичена ліноленова С18:3 ЖК, вміст якої у пацієнтів з ЦД2+ДР також зростає.

Традиційно, порівнюють суму НЖК, ПНЖК та ННЖК в групах спостереження (рис. 3.2). За показниками КГ, в нормі в мембранах переважає вміст ННЖК (63 %), що в 1,7 рази перевищує вміст НЖК (37 %). ПНЖК складають практично половину (43,1 %) ЖК мембрани. Наявність метаболічних зсувів за показниками біохімічних показників у вигляді підвищення глюкози крові та загального холестерину в групі МЗ супроводжується незначним недостовірним підвищенням ННЖК та ПНЖК і зменшенням НЖК відносно КГ. За умов тривалого ускладненого ЦД2 перерозподіл ЖК стає зовсім іншим: основний вміст ЖК мембрани — це НЖК (53,2 %), що в 1,4 рази більше ніж в нормі ( $P<0,05$ ). Частка ННЖК достовірно ( $P<0,05$ ) в 1,3 рази зменшена у порівнянні з КГ до 46,8 %. Частка ПНЖК зменшується до 1/3 ЖК мембрани (29,3 %), що в 1,5 рази ( $P<0,05$ ) менше ніж у КГ.

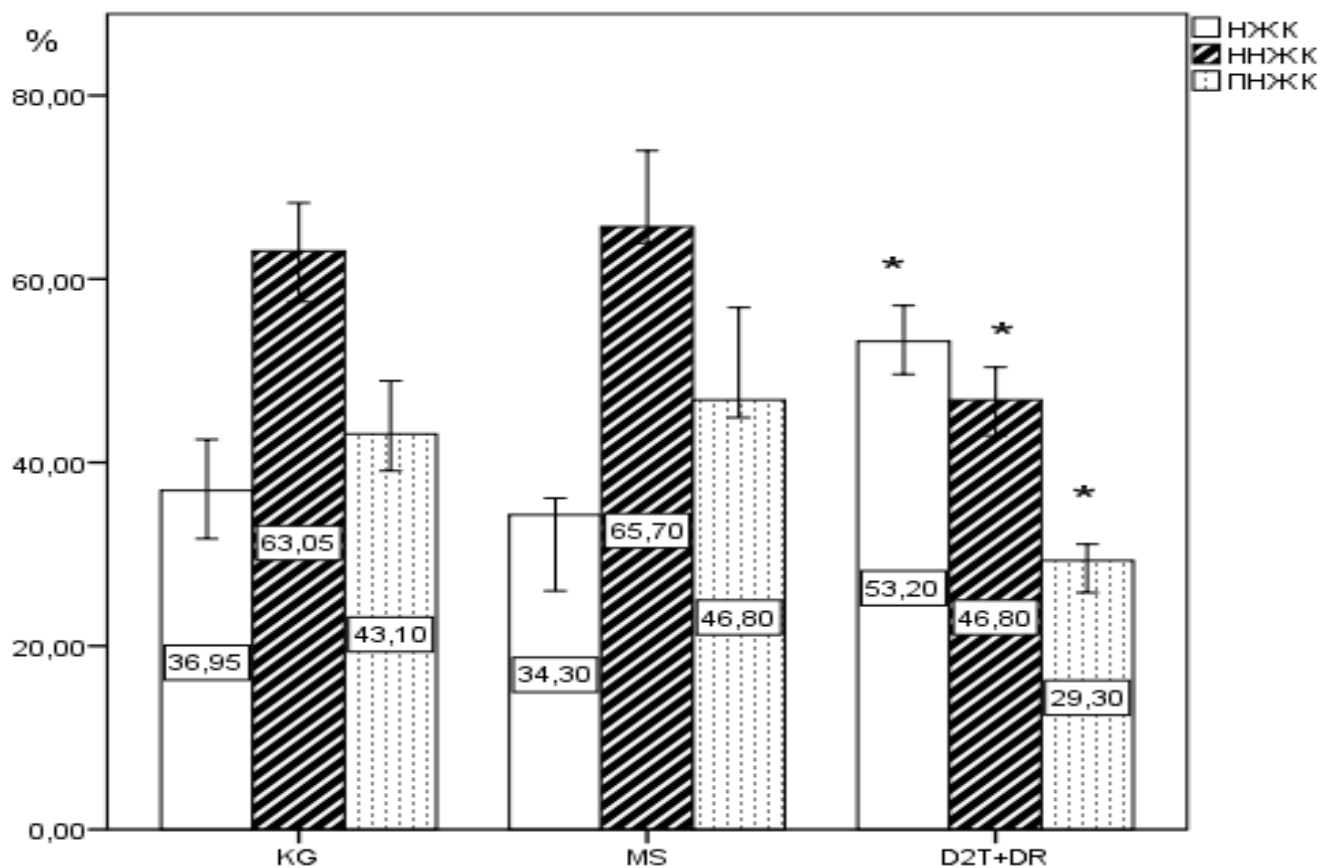


Рис. 3.2. Вміст суми різних видів ЖК (%), визначених в мембранах еритроцитів осіб досліджуваних груп. Світлі стовпчики — НЖК, смугасті — ННЖК, стовпчики в крапку — ПНЖК, де \* — відмінність з КГ ( $P<0,05$ )

Таким чином, ми виявили, що у пацієнтів із ЦД2, ускладненим ДР, показники загального холестерину, ЛПНЩ, ЛПВЩ та тригліцеридів не мали достовірної різниці у порівнянні зі здоровими особами.

Основна різниця обміну ліпідів у хворих з довготривалим ЦД2 та ускладненнями була відмінність розподілу ЖК в мембранах еритроцитів у вигляді підвищення «насиченості». Вміст насичених ЖК у пацієнтів з ДР був вище ніж в КГ: пальмітинової (C:16) в 1,5 рази, міристинової (C:14), пентадеканової (C:15) та маргаринової (C:17) в 2 рази ( $P < 0,05$ ). Вміст насиченої стеаринової (C:18) ЖК достовірно не змінювався.

Вміст ненасичених ЖК змінювався різнонаправлено: зменшувався вміст лінолевої (C18:2) та арахідонової (C20:4) відповідно в 1,5-1,7 рази. Вміст ліноленової (C18:3) підвищувався в 2 рази, а ЖК, вміст олеїнової (C18:1) достовірно не змінювався.

Наявність метаболічних зсувів у вигляді підвищення загального холестерину і ЛПНЩ на тлі гіперглікемії, але без розвитку ЦД2 та його ускладнення, навпаки характеризуються незначним підвищенням ННЖК та ПНЖК в складі клітинних мембран, що вірогідно є протекторним механізмом поглиблення та ускладнення метаболічних порушень, оскільки ЖК є сильними природними стимуляторами неушкоджених  $\beta$ -клітин підшлункової залози, що запобігає розвитку резистентності до інсуліну. Вивчення коливання рівнів ЖК в організмі пацієнтів відіграє ключову роль в розвитку резистентності до інсуліну, ЦД2 та його мікросудинних ускладнень, що робить їх привабливою терапевтичною стратегією.

На другому етапі роботи провели порівняння показників ліпідного метаболізму у хворих на ДР, які були поділені на 3 групи відповідно до тяжкості ушкодження сітківки за шкалою ETDRS відносно здорових осіб, що були виділені в КГ (див. Розділ 2).

У всіх пацієнтів був досліджуваний рівень тиреотропного гормону (ТТГ) та гормону щитоподібної залози Т4 для виключення наявності гормональних порушень (Рис.3.3, 3.4). Референтні межі за даними виробника набору складають для ТТГ 0,4–4,0 мМО/л, для Т4 — 9,0–22,2 пмоль/л.

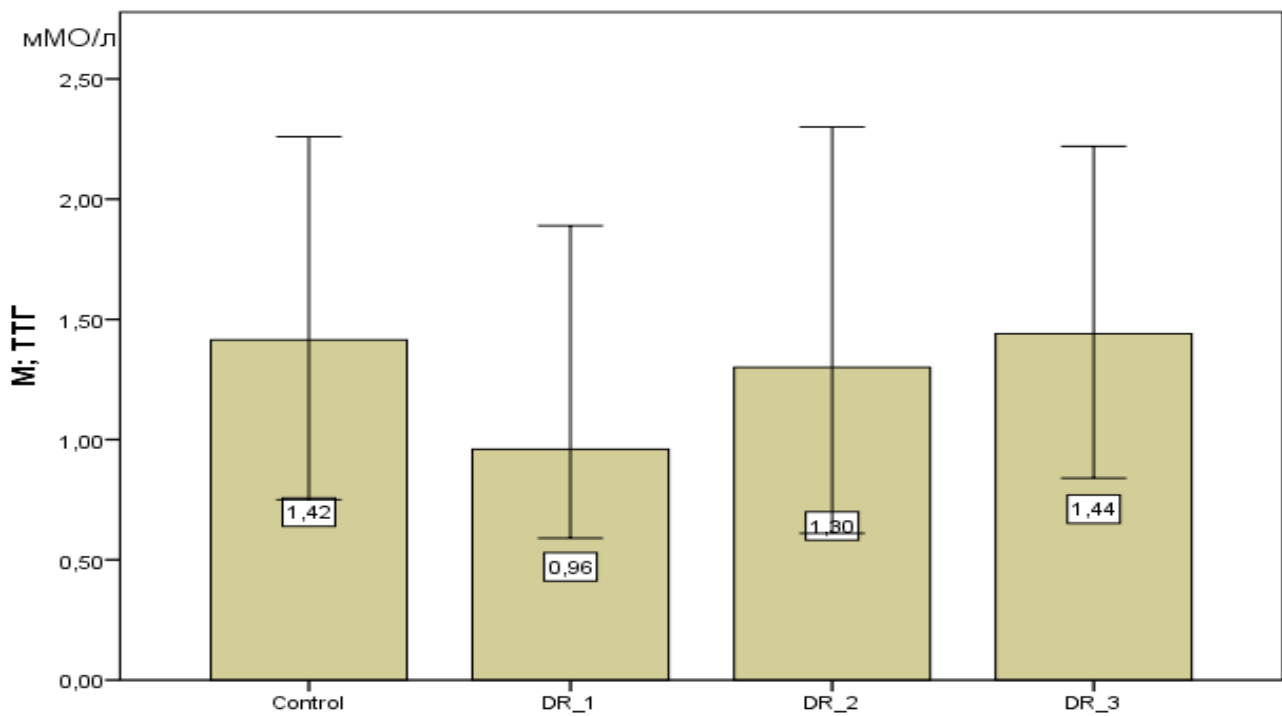


Рис. 3.3. Значення тиреотропного гормону у осіб дослідних груп

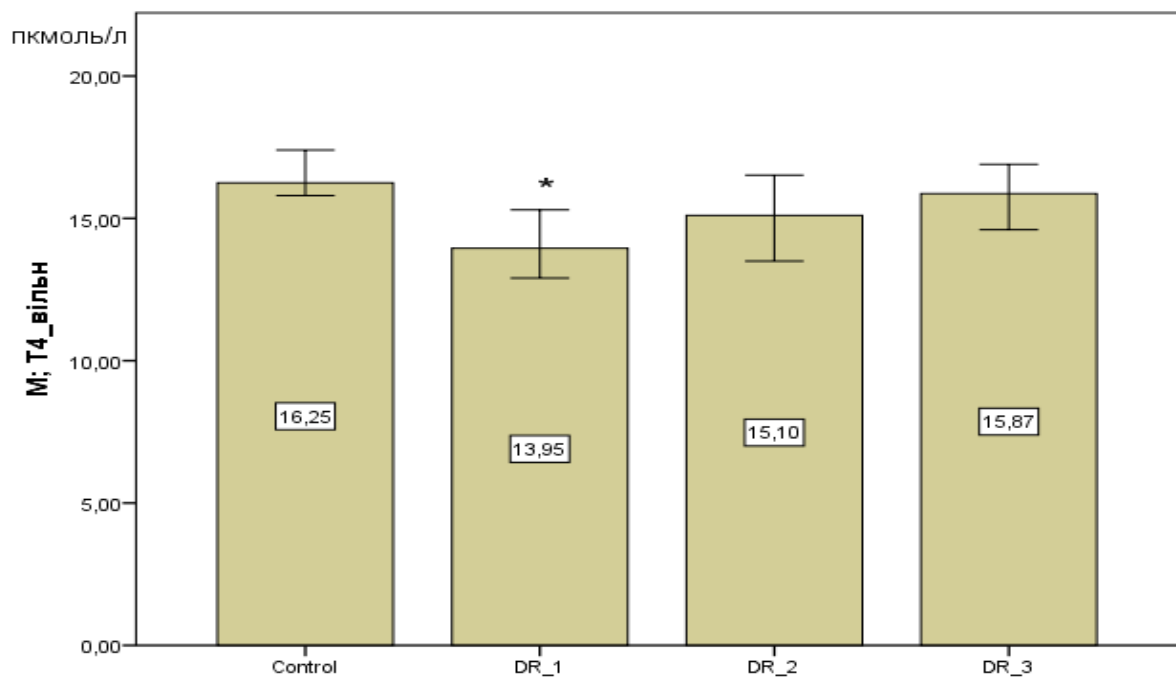


Рис. 3.4. Значення вільного Т4 у осіб дослідних груп.

\*— відмінність від значень КГ  $P < 0,05$

За нашими спостереженнями, показники гормону щитоподібної залози в групі ДР1 були достовірно нижче ніж в КГ, і ми вважаємо це природньо, оскільки зниження гормону відбувається внаслідок зниження сигналу мозку у вигляді ТТГ, який також є зниженим у групі цих осіб, але недостовірно ( $P = 0,178$ ). Водночас, усі

показники пацієнтів не виходять за межі референтних значень. Таким чином, в групі досліджених осіб не виявлені хворі із тиреоїдною ендокринопатією.

Порівняння гендерного складу груп і визначення в них ІМТ показало переважання жінок у КГ та ДР-1 і ДР-2, але вірогідних відмінностей у групах обстежуваних не було виявлено. У групах ДР-1 та ДР-3 виявлені достовірні відмінності показника ІМТ за гендерною ознакою із переважанням ваги у жінок (рис. 3.5).

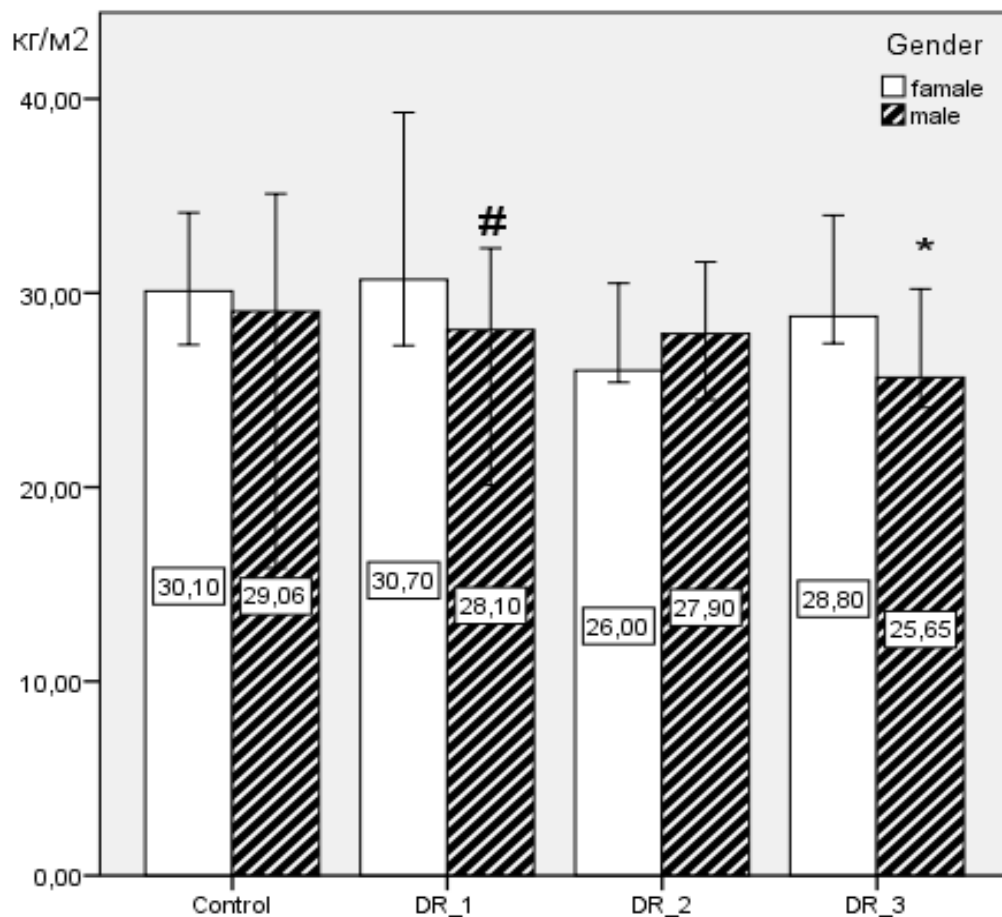


Рис. 3.5. Розподіл значення ІМТ (медіана) у осіб КГ та пацієнтів із різною стадією ДР залежно від статі. Світлі стовпчики — жінки, темні — чоловіки. # — відмінність в групі у порівнянні із жінками, \* —  $P < 0,05$

З метою визначення ролі екзогенних впливів на ліпідний обмін організму людини ми провели в групах аналіз найпопулярніших біохімічних показників, що використовуються в клініці (табл. 3.3). Варто підкреслити, що усі пацієнти

знаходилися на диспансерному обліку у ендокринолога, отримували поради про корекцію порушеного метаболічного стану і приймали відповідну терапію.

Таблиця 3.3

**Біохімічні показники осіб КГ та пацієнтів із ЦД2 та різною стадією ДР  
(n, Me; [QI÷QIII])**

| Показники              | КГ<br>n= 23         | ДР-1<br>n= 18       | ДР-2<br>n= 27       | ДР-3<br>n= 31       | Значущість відмінностей                                                                      |                                                                                             |
|------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| НbA1c (%)              | 5,1<br>[4,9–5,5]    | 7,7<br>[6,7–10,1]   | 7,9<br>[6,4–9,2]    | 7,5<br>[6,1–8,4]    | $P_{\text{кг-др1}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{кг-др2}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{кг-др3}} < 0,05^*$ | $P_{\text{др1-др2}} > 0,05$<br>$P_{\text{др2-др3}} > 0,05$<br>$P_{\text{др1-др3}} > 0,05$   |
| Глюкоза крові, ммоль/л | 5,0<br>[4,4–5,4]    | 10,0<br>[7,8–11,8]  | 11,0<br>[7,4–12,6]  | 10,1<br>[7,6–12,1]  | $P_{\text{кг-др1}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{кг-др2}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{кг-др3}} < 0,05^*$ | $P_{\text{др1-др2}} > 0,05$<br>$P_{\text{др2-др3}} > 0,05$<br>$P_{\text{др1-др3}} > 0,05$   |
| Холестерин, ммоль/л    | 4,2<br>[3,82–4,66]  | 4,0<br>[3,4–4,6]    | 4,9<br>[4,3–5,7]    | 4,5<br>[3,7–5,2]    | $P_{\text{кг-др1}} > 0,05$<br>$P_{\text{кг-др2}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{кг-др3}} > 0,05$     | $P_{\text{др1-др2}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{др2-др3}} > 0,05$<br>$P_{\text{др1-др3}} > 0,05$ |
| ЛПВЩ, ммоль/л          | 0,82<br>[0,60–1,34] | 1,18<br>[1,0–1,44]  | 1,15<br>[0,74–1,44] | 1,01<br>[0,71–1,37] | $P_{\text{кг-др1}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{кг-др2}} > 0,05$<br>$P_{\text{кг-др3}} > 0,05$     | $P_{\text{др1-др2}} > 0,05$<br>$P_{\text{др2-др3}} > 0,05$<br>$P_{\text{др1-др3}} > 0,05$   |
| ЛПНЩ, ммоль/л          | 2,63<br>[2,17–3,11] | 1,82<br>[1,42–2,87] | 3,21<br>[2,61–3,47] | 2,56<br>[2,1–3,42]  | $P_{\text{кг-др1}} > 0,05$<br>$P_{\text{кг-др2}} > 0,05$<br>$P_{\text{кг-др3}} > 0,05$       | $P_{\text{др1-др2}} < 0,05^*$<br>$P_{\text{др2-др3}} > 0,05$<br>$P_{\text{др1-др3}} > 0,05$ |
| Тригліцериди ммоль/л   | 1,4<br>[1,04–1,75]  | 1,49<br>[1,19–1,85] | 1,55<br>[1,16–2,28] | 1,6<br>[1,15–1,99]  | $P_{\text{кг-др1}} > 0,05$<br>$P_{\text{кг-др2}} > 0,05$<br>$P_{\text{кг-др3}} > 0,05$       | $P_{\text{др1-др2}} > 0,05$<br>$P_{\text{др2-др3}} > 0,05$<br>$P_{\text{др1-др3}} > 0,05$   |

Примітка: визначення статистичної значимості відмінностей проводили за допомогою критерію Крускала-Уолліса

Як видно з таблиці, чітка різниця виявлена за показниками вуглеводного обміну і відображає притаманну для ЦД2 гіперглікемію. У групах пацієнтів з різною

стадією ДР показники не відрізнялися, але видно, що в групі ДР-2 спостерігалось незначне підвищення HbA1C та глюкози крові.

За показниками ліпідного обміну не виявлено чіткої різниці між групою відносно здорових осіб та пацієнтів, особливо за показниками тригліцеридів та ЛПНЩ. Це не було несподіванкою, оскільки в літературі є суперечливі повідомлення про вплив ліпідного профілю на ретинопатію. Середній рівень глюкози у крові значно корелював із загальним холестерином. HbA1c корелював із загальним холестерином і тригліцеридами. Також виявлено кореляцію глюкози крові із холестерином ( $r=0,253$ ,  $P<0,05$ ).

Наступним етапом ми провели аналіз ефективності фармакологічної корекції метаболічних порушень у пацієнтів з ДР і ЦД2. За даними медичної карти ми оцінили зміну показників вуглеводного та ліпідного обміну залежно від прийому препаратів (рис.3.6).

Ефективність корекції таблетованими препаратами була кращою і відображалася меншим показником HbA1C (також глюкози крові) у всіх пацієнтів, а в групі ДР-1 відмінність була достовірною. У цій роботі ми не аналізуємо дози та групи препаратів і причини низької ефективності корекції, а лише обмежуємося фактом наведеного вище аналізу. Прийом статинів з метою корекції викликав очікувані зниження загального холестерину, хоча різниця в групах була не достовірною.

Враховуючи той факт, що усі пацієнти з ДР мали об'єктивно доведені ушкодження сітківки на тлі тривалого ЦД2 і отримували корекцію метаболічних розладів, що була не завжди ефективною, ми можемо стверджувати про наявність у пацієнтів стійких порушень ліпідного обміну. Відсутність чіткої кореляції біохімічних показників, що ми навели із наявністю ЦД2, і ступенем ушкодження очей, на нашу думку, лише підкреслює низьку інформативність наведених показників для характеристики тривалих порушень метаболізму. З цієї причини для характеристики обміну ЖК в організмі ми використовували аналіз жирнокислотного спектру мембран еритроцитів, який визначали за допомогою газорідинної хроматографії. Кров є транспортним середовищем для ліпопротеїдів, тому

визначення у плазмі ЖК відображає сумарне перебування хіломікронів, що циркулюють у різних напрямках до клітини і від неї, і, таким чином, вимірювання ЖК у плазмі не надає інформації про використання жирних кислот клітинами організму. мембрана еритроцита вважається найінформативнішою моделлю для аналізу ЖК спектру в організмі пацієнтів та віддзеркалює загальні особливості використання тканинами ЖК, їх вбудовування в мембрану клітини, оскільки це відбувається в усіх клітинах організму.

Аналіз вмісту ЖК показав суттєву різницю між КГ та пацієнтами із ДР.

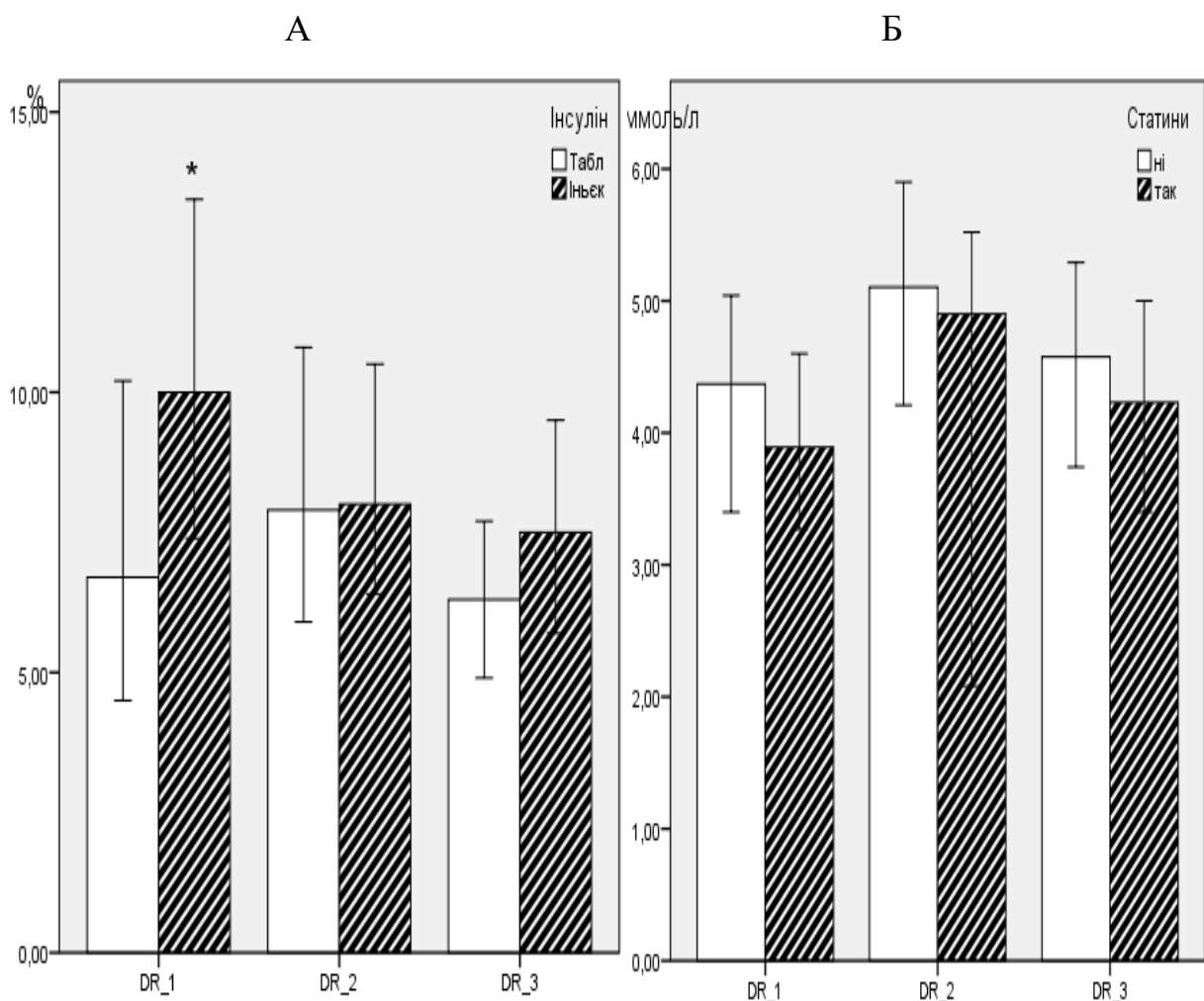


Рис. 3.6. Показники HbA1C (А) пацієнтів з різною стадією ДР на тлі ЦД2 залежно від форми цукрознижувальної терапії, світлі стовпчики — таблетована форма, темні — ін'єкції. Показник холестерину (Б) пацієнтів з різною стадією ДР залежно від прийому статинів для корекції гіперхолестеринемії; світлі стовпчики — не приймає, темні — приймає. \* відмінність в групі  $P < 0,05$

**Вміст основних ЖК (%), визначених у мембранах осіб КГ та пацієнтів на ЦД2 із різною стадією ДР (n, Me; [QI÷QIII])**

| <b>Жирна кислота</b>   | <b>КГ</b><br>n= 23      | <b>ДР-1</b><br>n= 18     | <b>ДР-2</b><br>n= 27    | <b>ДР-3</b><br>n= 31    | <b>Значущість відмінностей</b>                                          |                                                                      |
|------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| С14:0<br>Міристинова   | 0,35<br>[0,3–<br>0,6]   | 0,8<br>[0,5–<br>3,2]     | 0,7<br>[0,4–<br>1,3]    | 0,6<br>[0,4–<br>0,9]    | $P_{кг-др1} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др2} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др3} < 0,05^*$ | $P_{др1-др2} > 0,05$<br>$P_{др2-др3} > 0,05$<br>$P_{др1-др3} > 0,05$ |
| С15:0<br>Пентадеканова | 0,35<br>[0,3–<br>0,6]   | 0,6<br>[0,45–<br>0,85]   | 0,7<br>[0,4–<br>1,2]    | 0,5<br>[0,4–<br>0,8]    | $P_{кг-др1} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др2} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др3} > 0,05$   | $P_{др1-др2} > 0,05$<br>$P_{др2-др3} > 0,05$<br>$P_{др1-др3} > 0,05$ |
| С16:0<br>Пальмітинова  | 24,7<br>[16,4–<br>30,5] | 40,8<br>[36,0–<br>43,7]  | 34<br>[22,7–<br>48,6]   | 39,1<br>[26,9–<br>43,1] | $P_{кг-др1} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др2} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др3} < 0,05^*$ | $P_{др1-др2} > 0,05$<br>$P_{др2-др3} > 0,05$<br>$P_{др1-др3} > 0,05$ |
| С17:0<br>Маргарінова   | 0,35<br>[0,3–<br>0,6]   | 0,6<br>[0,40–<br>0,85]   | 0,7<br>[0,4–<br>1,2]    | 0,5<br>[0,4–<br>0,8]    | $P_{кг-др1} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др2} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др3} > 0,05$   | $P_{др1-др2} > 0,05$<br>$P_{др2-др3} > 0,05$<br>$P_{др1-др3} > 0,05$ |
| С18:0<br>Стеаринова    | 12,3<br>[10,8–<br>12,7] | 10,6<br>[9,05–<br>11,45] | 11,5<br>[9,7–<br>14,1]  | 12,2<br>[10,6–<br>14,0] | $P_{кг-др1} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др2} > 0,05$<br>$P_{кг-др3} > 0,05$     | $P_{др1-др2} > 0,05$<br>$P_{др2-др3} > 0,05$<br>$P_{др1-др3} > 0,05$ |
| С18:1<br>Олеїнова      | 18,6<br>[17,1–<br>20,4] | 16,6<br>[15,2–<br>17,1]  | 17,7<br>[16,2–<br>20,3] | 18,7<br>[17,3–<br>20,3] | $P_{кг-др1} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др2} > 0,05$<br>$P_{кг-др3} > 0,05$     | $P_{др1-др2} > 0,05$<br>$P_{др2-др3} > 0,05$<br>$P_{др1-др3} > 0,05$ |
| С18:2<br>Лінолева      | 37,1<br>[31,0–<br>41,6] | 21,1<br>[17,5–<br>24,5]  | 25,7<br>[14,6–<br>34,0] | 22,8<br>[19,8–<br>36,2] | $P_{кг-др1} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др2} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др3} < 0,05^*$ | $P_{др1-др2} > 0,05$<br>$P_{др2-др3} > 0,05$<br>$P_{др1-др3} > 0,05$ |
| С18:3<br>Ліноленова    | 0,35<br>[0,3–<br>0,6]   | 0,6<br>[0,4–<br>0,85]    | 0,7<br>[0,4–<br>1,2]    | 0,6<br>[0,4–<br>0,8]    | $P_{кг-др1} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др2} < 0,05^*$<br>$P_{кг-др3} < 0,05^*$ | $P_{др1-др2} > 0,05$<br>$P_{др2-др3} > 0,05$<br>$P_{др1-др3} > 0,05$ |
| С20:4<br>Арахідонова   | 6,6<br>[3,2–<br>9,3]    | 5,4<br>[3,7–<br>8,2]     | 3,9<br>[1,8–<br>11,5]   | 2,7<br>[1,5–<br>5,4]    | $P_{кг-др1} > 0,05$<br>$P_{кг-др2} > 0,05$<br>$P_{кг-др3} < 0,05^*$     | $P_{др1-др2} > 0,05$<br>$P_{др2-др3} > 0,05$<br>$P_{др1-др3} > 0,05$ |

Примітка: визначення статистичної значимості відмінностей проводили за допомогою критерію Крускала-Уолліса

Водночас у групах пацієнтів із різною стадією ДР не було достовірних відмінностей за жодним вимірюванням. Серед НЖК суттєва різниця спостерігалася за вмістом мінорних ЖК: вміст міристинової С14:0 в ДР був підвищений у 2-2,2 рази  $P < 0,05$ , із найбільшою різницею у групі ДР-1. Пентадеканова С15:0 та

маргаринова С17:0 ЖК також підвищувалися в 1,4-2 рази  $P < 0,05$ , але переважно у групі ДР-2. Вміст мажорних НЖК відрізнявся за рахунок пальмітинової С16:0, яка підвищувалася у групі ДР-1 та ДР-3 в 1,5 рази  $P < 0,05$  у порівнянні з КГ. Вміст стеаринової С18:0 ЖК у групі хворих був меншим, але недостовірно, із тенденцією до підвищення від групи ДР-1 до ДР-3.

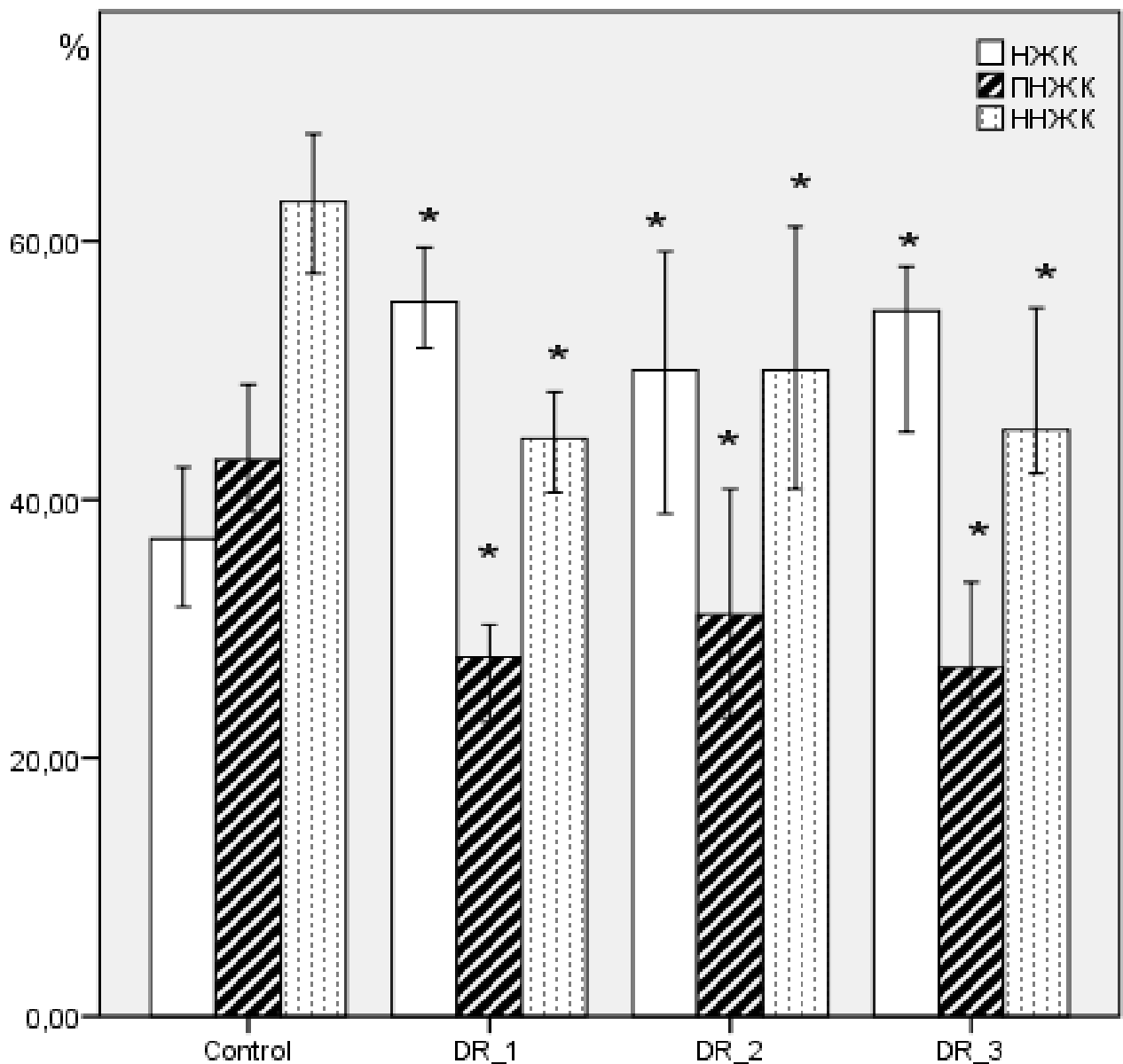


Рис. 3.7. Вміст суми різних видів ЖК (%), визначених у мембранах еритроцитів осіб КГ та пацієнтів із різною стадією ДР, де \* — відмінність із КГ. Світлі стовпчики — НЖК, смугасті — ПНЖК, стовпчики у крапку — ННЖК

### **Резюме до розділу 3**

Таким чином, на підставі аналізу отриманих результатів було встановлено, що у групах ДР-1 та ДР-3 спостерігалось підвищення в 1,5-2 рази ( $P<0,05$ ) вмісту НЖК і відповідне зниження ННЖК за рахунок поліненасичених ЖК, а в групі ДР-2 спостерігався практично рівний вміст НЖК та ННЖК.

Також було встановлено, що у пацієнтів з ДР та ЦД2 при оцінці ліпідного обміну найбільшу інформативність мав аналіз вмісту жирних кислот еритроцитарних мембран. Вміст насичених ЖК був вище ніж в КГ: пальмітинової (C:16) в 1,5 рази, міристинової (C:14), пентадеканової (C:15) та маргаринової (C:17) в 2 рази ( $P<0,05$ ). Вміст ненасичених ЖК змінювався різнонаправлено: зменшувався вміст лінолевої (C18:2) та арахідонової (C20:4) відповідно в 1,5-1,7 разів. Вміст ліноленової (C18:3) був підвищений в 2 рази. Показники загального холестерину, тригліцеридів, ЛПНЩ, ЛПВЩ не мали достовірної різниці у порівнянні зі здоровими особами.

### **Основні положення розділу опубліковано в роботах [17,157]:**

1. Bykhovets Mykhailo. «Studying fatty acid content in red blood cell membranes in diabetic retinopathy of type 2 diabetes patients.» *Journal of Education, Health and Sport*, №10(10), 2020, pp. 51-60.
2. Натрус Л.В., Гайова Л.В., Биховець М.Ю., та ін., «Роль регуляторних впливів на ліпідний метаболізм при ускладненому цукровому діабеті 2 типу» *Фізіологічний журнал*, №66(1), 2020, сс.25-34.

## РОЗДІЛ 4

# ОСОБЛИВОСТІ СПОСОБУ ЖИТТЯ ТА ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ЇЖИ, ЯК ФАКТОРІВ ЕКЗОГЕННОГО ВПЛИВУ ПРОГРЕСУВАННЯ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ НА ТЛІ ЦД2

### 4.1. Відмінності способу життя пацієнтів з різною стадією розвитку діабетичної ретинопатії на тлі ЦД2

Дослідження патогенезу ДР продовжуються, постійно з'являються нові дані щодо клінічних ознак захворювання, факторів ризику, особливостей патології сітківки. При дослідженні механізмів взаємодії між ожирінням, розвитком інсулінової резистентності (ІР) і ЦД2, власне як і інших, асоційованих з ними захворювань, був зроблений цілий ряд відкриттів, що сприяли створенню нової концепції патогенезу ЦД2, в якій пріоритетне значення має ожиріння, в основі якого лежить низькоінтенсивне хронічне субклінічне системне запалення, яке вважають тим станом, при якого виникає ІР як предиктор розвитку ЦД2. Пліч-о-пліч із порушенням характеру харчування, яке призводить до розвитку ожиріння, вивчалися фактори ризику ускладнень ЦД2, зокрема ДР.

На сьогодні активно вивчається роль загальної дієти, окремих харчових продуктів і поживних речовин, способу життя (СЖ), фізичної активності тощо у розвитку ускладнень ЦД2 та ДР в тому числі.

Головною рисою нашого дослідження було відібрати в контрольну групу (КГ) осіб які, були співставні за фенотиповими ознаками із групою досліджуваних пацієнтів. Ретельно проаналізовані параметри віку, статті, маси, ІМТ надають нам можливість аналізувати особливості СЖ хворих із ЦД2 та їх однолітків без діабету, щоб потенційно виявляти негенетичні фактори, які можуть впливати на розвиток ДР у хворих з ЦД2, а також аналізувати обставини, які можуть супроводжувати прогресування ДР.

Як і очікувалося, ми виявили високу кореляцію ( $R = 0,801$ ,  $p < 0,01$ ) тяжкості ДР за показником шкали ETDRS та тривалістю діабету. У групі ДР-1 середня

тривалість ЦД становила  $11,50 \pm 2,18$  років, в групі ДР-2 —  $15,59 \pm 1,26$  років, в групі ДР —  $18,77 \pm 1,40$  років.

Для вивчення СЖ нами була розроблена анкета, на запитання якої пропонували відповісти всіх досліджуваних осіб.

При оцінці СЖ перш за все у досліджуваних запитували, чи дотримуються вони дієти. Для пацієнтів із ЦД2 запитання ставилося відповідно дієти для діабетиків із відповідями «так/ні», а для пацієнтів КГ були надані варіанти відповіді: «Ні, на жаль, не вдається», «Так, дієта для схуднення», «Так, дієта із зменшенням солі», «Намагаюсь обмежувати кількість їжі», які розцінювалися як «так/ні».

Враховуючи той факт, що ІМТ, який ми визначили у досліджуваних осіб КГ, відображає надмірну вагу, ми вважали, що для них буде корисним дотримуватися певних обмежень. Тому під час відповіді на запитання анкети найбільш раціональним ми оцінювали відповіді: «Дієта для схуднення» або «Намагаюсь обмежувати кількість їжі».

За результатами опитування ми виявили, що в КГ біля 60 % намагаються стримувати себе у кількості їжі, а 42 % осіб КГ не дотримуються жодних обмежень у харчуванні, попри надмірну вагу (рис. 4.1).

Щодо пацієнтів із ЦД2, то практично 90 % хворих дотримуються дієти для діабетиків, але пацієнти допускають погрішності, то цей факт не корелює прямо із тяжкістю стану і розвитком ДР. Вірогідно, таку тенденцію можна пояснити наступним чином: на перших роках виникнення ЦД пацієнти намагаються дотримуватися рекомендацій харчування, з часом допускають певні вольності, але погіршення стану й ускладнення захворювання знову змушують пацієнтів більш ретельно виконувати рекомендації лікарів.

При складанні переліку запитань анкети та варіантів відповідей була врахована ідея піраміди харчування, розроблена Уолтером Вілетом у Гарвардській школі громадського харчування, в основі якої підкреслена роль фізичної активності, достатнє споживання рідини, переважно у вигляді мінеральної води та щоденного вживання овочів і фруктів [157].

Після заповнення анкети відповіді були оброблені за оригінальним алгоритмом,

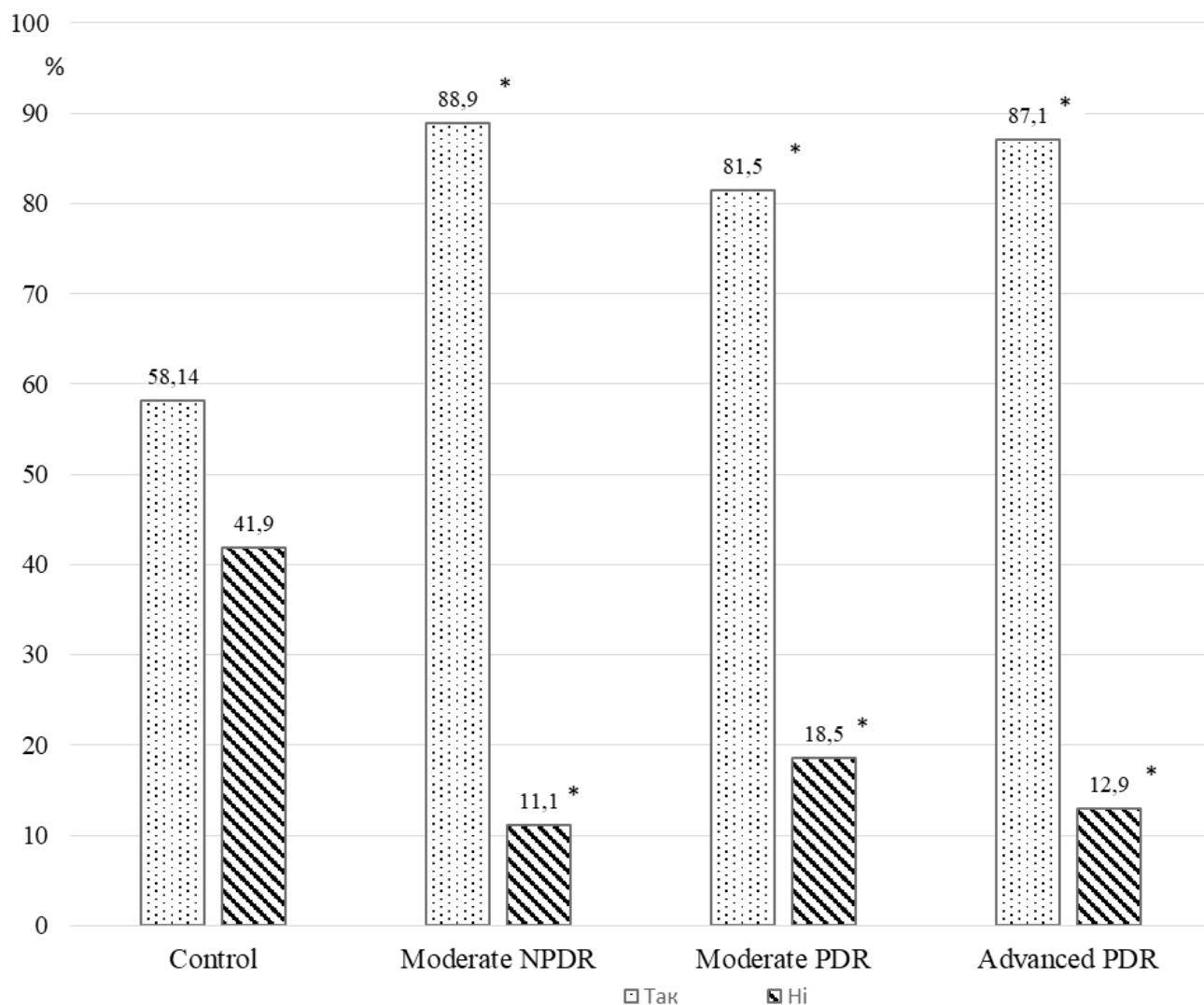


Рис.4.1. Відносна кількість відповідей щодо дотримання дієти у групах порівняння.

\* — відрізняється від показника контрольної групи на рівні  $p=0,015$ .

для виявлення відхилень від рекомендацій або їх дотримання. Кожний варіант відповіді на запитання анкети був сформульований таким чином, щоб його можна було легко ранжувати у вигляді шкали: А — рекомендовано, В — припустимо, С — не рекомендовано. Із метою порівняння результатів анкетування в різних групах пацієнтів були розраховані індекси, які використовувалися як інтегральні кількісні критерії. Найбільш вдалим варіантом індексу виявилось відношення кількості відповідей А/С, який був інтерпретований як Індекс раціональності (ІР), і він розраховувався для кожного показника окремо. Таким чином, ми могли аналізувати відповіді не тільки в описовому, але й порівнювати інтегральний показник групи.

На запитання анкети «Як багато на день ви маєте фізичного навантаження?» були запропоновані відповіді: «Намагаюся регулярно виконувати додаткові фізичні навантаження» із оцінкою відповіді А, «Регулярно ходжу на роботу, йду пішки на зупинку» відповідь ранжувалася як В, «Пересуваюсь по дому, іноді виходжу на вулицю, в магазин» — С.

На запитання «Як багато ви вживаєте води?» були запропоновані відповіді із ранжуванням: «Додатково до їжі вживаю воду не менш 1,5–2 літра на день» — А, «Між прийомами їжі вживаю чай, каву, соки» — В, «Тільки з першими стравами та напоями» — С.

На запитання про вживання фруктів «Скільки фруктів в день ви з'їдаєте?» пропонувалися відповіді: «Намагаюся не менше 2–3» — А, «Один на день» — В, «Інколи жодного не з'їдаю» — С. На запитання щодо вживання овочів було запитання «Скільки овочів (крім картоплі) в день ви з'їдаєте?» пропонувалися відповіді: «Намагаюся не менше 400–450 грамів» — А, «Небагато, але і відварні, й сирі» — В, «Інколи жодного не з'їдаю» — С.

У табл. 4.1. наведені дані щодо кількості відповідей, які були отримані від пацієнтів на вказані запитання. Після проведення статистичного аналізу за критерієм хі-квадрат у таблиці спряженості «k\*m» (MedStat) виявили, що розподіл відповідей А, В, С у групах статистично відрізняється. На запитання про фізичні навантаження між КГ та групами пацієнтів із різною стадією ДР відмінність була статистично значущою на рівні значимості  $p < 0,001$ . Але порівняння варіантів відповіді на це запитання між групами пацієнтів з ДР не виявило статистично вірогідної різниці.

На запитання щодо вживання додаткової кількості води в раціоні харчування між КГ та пацієнтами відмінність була на рівні значимості  $p = 0,014$ , а між групами з ДР різниці не було. Відповіді на запитання про вживання фруктів відрізнялися між КГ та пацієнтами з ДР на рівні значимості  $p < 0,001$ , і між групами пацієнтів із різною стадією ДР була виявлена різниця на рівні  $p = 0,006$ . Відмінність відповідей на запитання про вживання овочів у КГ та пацієнтами з ДР була на рівні  $p = 0,010$ , а між групами з ДР не було виявлено статистично вірогідної різниці.

**Кількість відповідей, які були отримані на запитання анкети із  
відповідним ранжуванням відповіді (А, В, С)**

| Групи     | Фізичне навантаження |            |           | Вживання води |            |           | Вживання фруктів |           |            | Вживання овочів |            |           |
|-----------|----------------------|------------|-----------|---------------|------------|-----------|------------------|-----------|------------|-----------------|------------|-----------|
|           | А                    | В          | С         | А             | В          | С         | А                | В         | С          | А               | В          | С         |
| ДР-1      | 2                    | 7          | 9         | 4             | 6          | 8         | 8#               | 4#        | 6#         | 5               | 9          | 4         |
| ДР-2      | 8                    | 2          | 17        | 4             | 16         | 7         | 6#               | 15#       | 6#         | 4               | 16         | 7         |
| ДР-3      | 6                    | 7          | 18        | 6             | 21         | 4         | 3#               | 24#       | 4#         | 8               | 10         | 13        |
| <b>КГ</b> | <b>10*</b>           | <b>30*</b> | <b>3*</b> | <b>17*</b>    | <b>21*</b> | <b>5*</b> | <b>23*</b>       | <b>8*</b> | <b>12*</b> | <b>6*</b>       | <b>33*</b> | <b>4*</b> |

Примітка: ранжування відповідей А — рекомендовано, В — припустимо, С — не рекомендовано. \* — достовірна відмінність від груп пацієнтів з ДР, # — достовірна відмінність між групами ДР-1, ДР-2, ДР-3

При аналізі ми отримали певну кількість відповідей, але порівнювати отриманий результат було зручніше через інтегральний ІР (рис. 4.2).

На рис. 4.2. наведено порівняння особливостей СЖ у пацієнтів з ДР та ЦД2 порівняно із КГ через розрахований ІР, який відображає відношення відповідей А до С, тобто «рекомендовано/не рекомендовано».

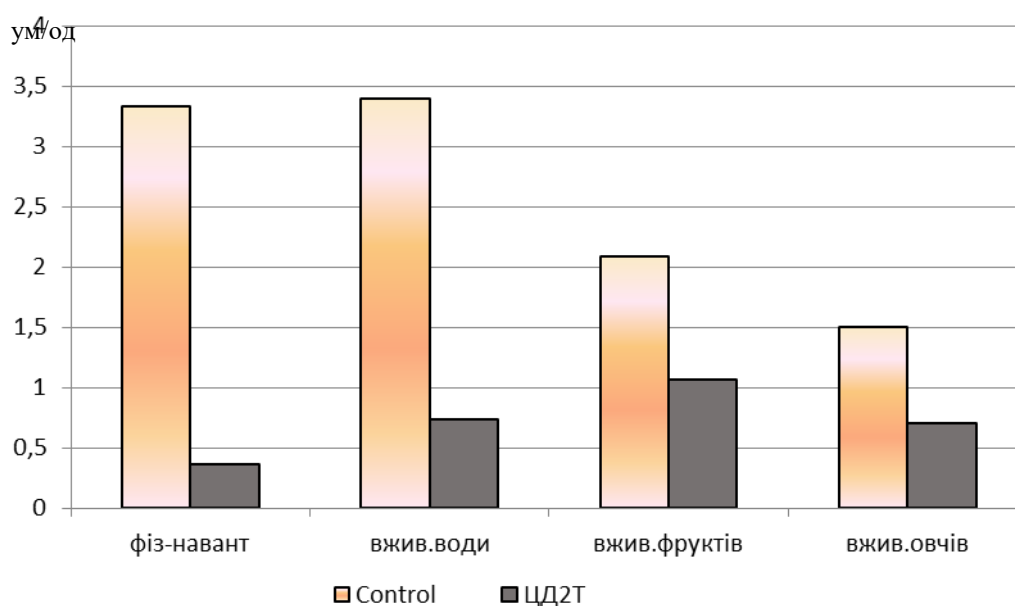


Рис. 4.2. Відображення особливостей СЖ в групах пацієнтів з ДР та ЦД2 при порівнянні з контрольною групою у вигляді розрахованих індексів раціональності

За ним ми можемо порівняти, наскільки особливості СЖ відрізняються у людей із ЦД та без нього і можуть бути фактором (обставиною), що відображає розвиток захворювання або його прогресування.

Відносно показника, що відображає фізичне навантаження, можна припустити, що саме наявність ЦД2 у пацієнтів так суттєво знижує фізичну активність через тяжкий загальний стан, низький рівень глюкози в клітинах, низький енергетичний стан у тканинах тощо, а головне — надмірну вагу, ожиріння, і на кінець — поганий зір за рахунок розвинутої ДР. Але ми вважаємо, що це припущення не може бути прийнято повністю. Перш за все пацієнти із ЦД2, яких ми спостерігали, і особи, які увійшли в КГ, були співставні за індексом маси тіла (див. Розділ 2), їхній вік та стать також були порівняні, статистична відмінність спостерігається лише у груп контролю та пацієнтів із розвинутою ПДР. Тому для обговорення фізичного навантаження, (а точніше його обмеження) як фактору, який може знаходитися в прямій залежності від стадії ДР, ми розглянули відмінності в групах із різною тяжкістю ДР. Так, в групі із помірною ПДР навпаки був виявлений найвищий відносний показник відповіді А (навіть вище КГ). Це означає, що пацієнти намагаються виконувати додаткові фізичні вправи. Таким чином, можна вважати, що обмежене фізичне навантаження є ознакою, яка суттєво відрізняє хворих із ЦД2 від людей тієї ж вікової групи без діабету, але не є достовірним фактором погіршення стану і посилення ускладнення у вигляді ДР.

Додаткове вживання води, як важливий компонент раціонального СЖ, за рекомендаціями дієтологів також було притаманне особам, які увійшли до КГ, хоча ми очікували виявити протилежну картину, за рахунок можливої полідипсії, як симптому ЦД. Але в розрізі груп пацієнтів із ЦД2 ми виявили відмінність в групах із максимальним значенням вживання води лише в групі із розвинутою ПДР (рис. 4.3). Ці пацієнти мали найбільший показник відповіді В, що означає припустиму рекомендацію — вживати напої між прийомами їжі. Таким чином, вірогідно, відсутність додаткового вживання води не є головним чинником розвитку ускладнення ЦД у вигляді ДР.

Вживання фруктів в щоденному раціоні показало найвиразнішу картину. За ІР була виявлена відмінність в групах КГ та ЦД, і також була відмінність (доведена статистично) в групах пацієнтів із різною стадією ДР (рис.4.3).

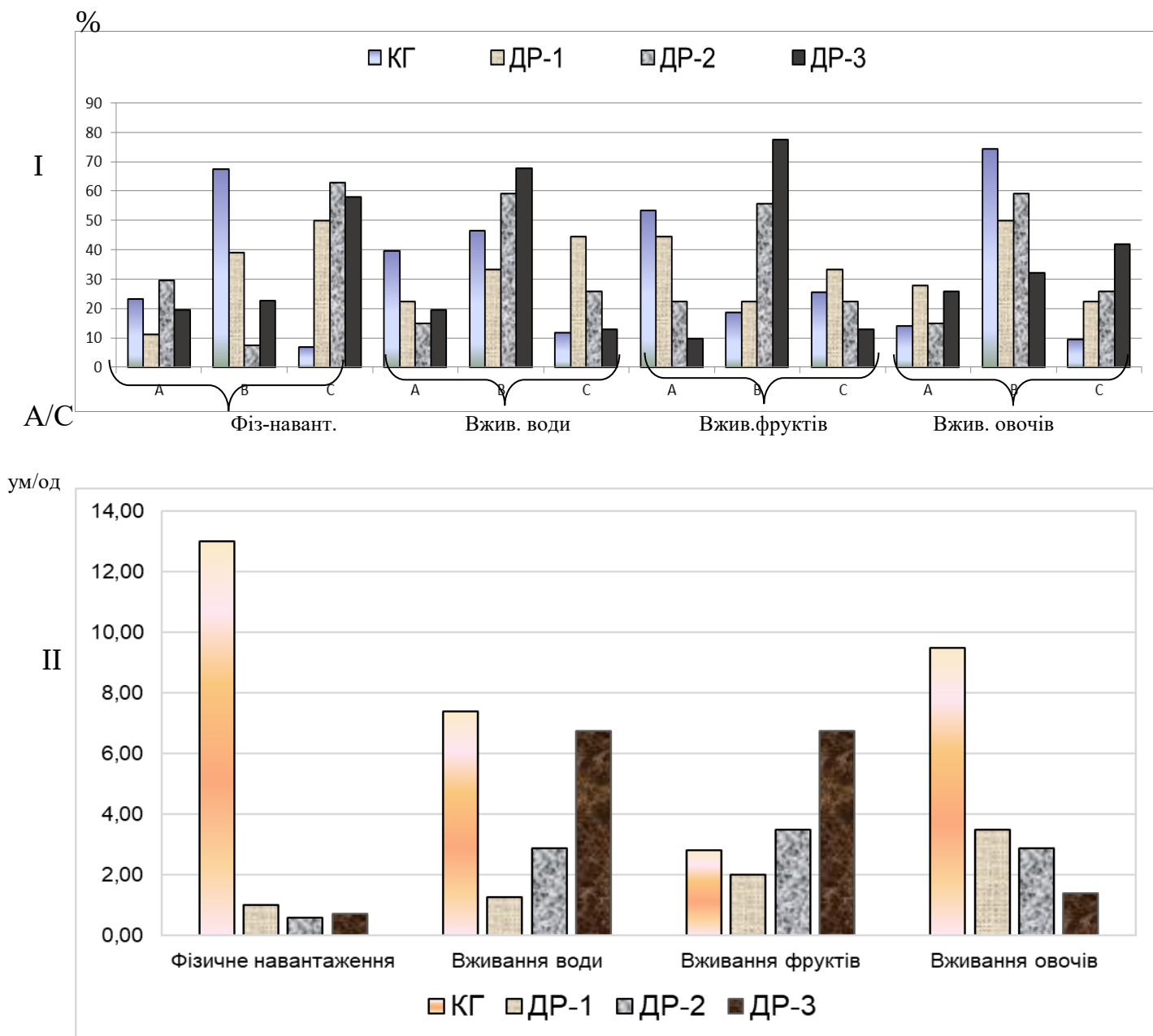


Рис. 4.3. Відображення особливостей СЖ в групах порівняння через відносну кількість відповідей анкети «А», «В», «С» (фрагмент I), співвідношення індексів раціональності, ум.од. (фрагмент II)

І хоча вживання одного фрукту на день є правилом багатьох хворих на ЦД, звичка збагачувати фруктами свій раціон зменшувалася прямо пропорційно від КГ до групи з найтяжкою формою ДР, що відповідно відображає найбільший ступінь

ускладнення ЦД. Таким чином, можна вважати, що саме цей параметр знаходиться в прямій залежності із захворюванням на ЦД, а також із його ускладненням у вигляді прогресування ДР. Аналіз вживання овочів виявив найменшу різницю між особами КГ та хворими на ЦД2. Усім досліджуваним було притаманно намагатися вживати овочі щоденно, але щодо рекомендації здорового харчування збагачувати свій раціон щоденно мінімум 400 грамами овочів, її дотримується найменша кількість опитуваних. І хоча не виявлено статистично достовірної відмінності відповідей в групах з ДР, можна визнати, що відмова від овочів прямо пропорційно корелює із тяжкістю ДР, тобто ускладненням ЦД2.

Таким чином, аналіз особливостей СЖ у пацієнтів із ЦД2 і осіб, які з ними співставні за основними фенотиповими ознаками, проведений на основі анкетування відповідно до всесвітніх рекомендацій здорового харчування та нутрицевтичних досліджень, дає підставу визначити, які звички та особливості взагалі притаманні нашому контингенту досліджуваних, і які обставини можна вважати в ролі факторів ризику метаболічних порушень, що супроводжують ЦД2.

Так, ми виявили, що 90 % хворих з ЦД2 дотримуються спеціальної дієти, але наявність погрішностей при дієтичному харчуванні не корелює прямо із тяжкістю стану і розвитком ДР. Додаткове фізичне навантаження, як і вживання додаткової кількості води в раціоні, є ознаками, які суттєво відрізняють хворих із ЦД2 людей тієї ж вікової групи без діабету, але відсутність додаткових фізичних вправ і невелика кількість рідини при щоденному вживанні не дозволили виявити кореляцію із погіршенням стану і посиленням ускладнення у вигляді ДР.

#### **4.2. Відмінності жирнокислотного складу їжі пацієнтів з різною стадією розвитку діабетичної ретинопатії на тлі ЦД2**

Склад харчування може відігравати важливу роль у підвищенні чутливості до інсуліну, зниженні ризику діабету та його ускладнень. Вплив харчового жиру та жирних кислот (ЖК) у прогресуванні ЦД2 досліджувався протягом багатьох років [67]. Людина щоденно вживає різні ЖК. Після надходження у складі харчових продуктів вони потрапляють в плазму, а потім вбудовуються в структуру тканинних

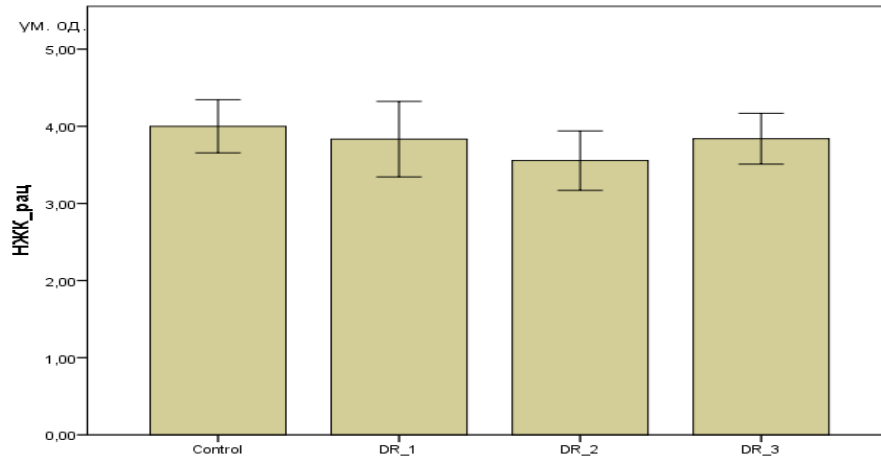
ліпідів. Таким чином, вміст ЖК у харчових продуктах значною мірою визначає відносну доступність і зберігання ЖК у тканинах.

Взагалі, при інтерпретації даних щодо зв'язку між особливістю харчування у раціоні та переддіабетом слід враховувати інтерференцію кількох факторів, наприклад, зміни дієти внаслідок ожиріння, неможливість провести детальні коригування для ожиріння, фізичну активність тощо.

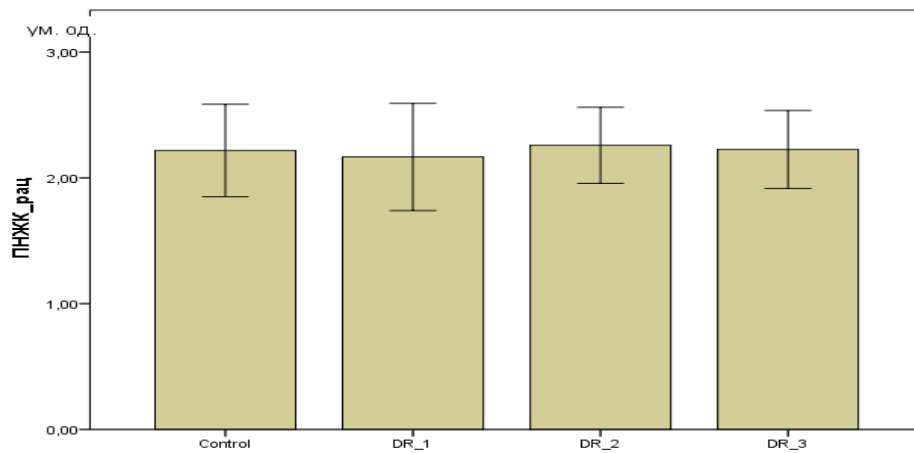
Ми провели аналіз результатів анкетування про особливості харчування усіх обстежених. Був розроблений підхід, який дає можливість кількісно порахувати ступінь надходження аліментарним шляхом продуктів в організм, як головних джерел ЖК, що ми вивчали в мембранах клітин. Кожний вид продуктів був обраний із урахуванням джерела ЖК, яким він є. Наприклад, НЖК виявляються переважно в продуктах тваринного походження, таких як масло, м'ясо, молочні продукти, сало і яловичий жир. Основними джерелами ПНЖК є холодноводні риби, наприклад, скумбрія, сардини, оселедець і лосось. Джерелами олеїнової кислоти та інших МНЖК є олива, авокадо і олійні (арахіс, волоські горіхи, мигдаль) [157].

Пацієнту, що відповідав на анкету, необхідно було вказати частоту вживання (кожного дня, 1-2 рази на тиждень, 1-2/3-4 рази на місяць, ніколи/ вкрай рідко тощо) вказаних продуктів при звичайному раціоні, наприклад за останні 2 місяці. Відповіді, згідно із всесвітніми авторитетними рекомендаціями та школами дієтології, ранжували у вигляді шкали: А — рекомендовано, Б — припустимо, В — не бажано, Г — не рекомендовано, Д — вкрай не рекомендовано. Далі, для кількісної оцінки результатів, варіантам відповідей призначали бали від 1 до 5, де А — «5», а Д — «1». Кожний хворий отримував кількість балів, залежно від того, наскільки раціонально, з погляду рекомендацій харчування, він вживає різні продукти із вмістом ЖК. Такий показник «раціональності вживання ЖК», як суму балів у вигляді умовних одиниць, ми визначили у кожного хворого, а потім і середній у групі. Такий аналіз надав нам можливість кількісно проаналізувати у групах особливості раціону всіх досліджуваних осіб із визначенням вживання різних видів ЖК (рис. 4.4.).

А



Б



В

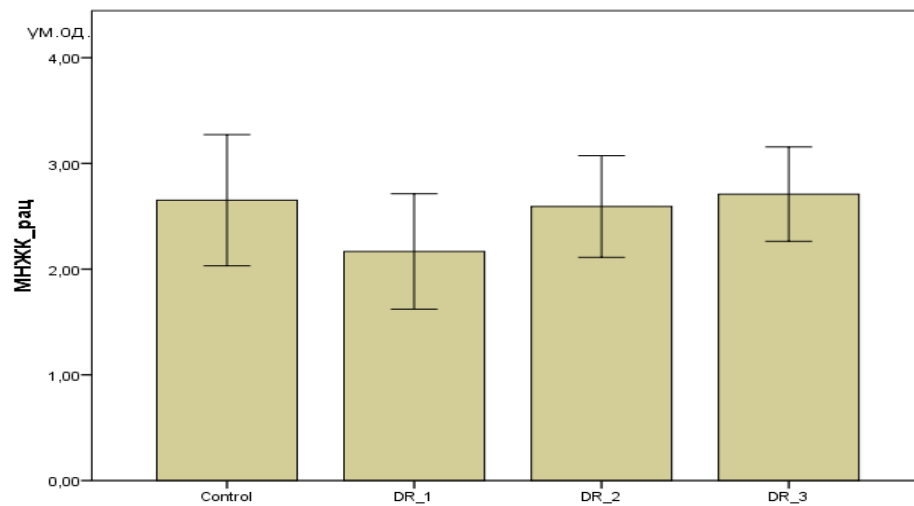


Рис.4.4. Показники «Рациональності вживання ЖК» в ум. од. у осіб КГ та пацієнтів з різною стадією ДР Фрагмент А — за вмістом НЖК, Б — ПНЖК, В — МНЖК

Як ми вже довели, вміст НЖК у хворих на ДР був достовірно підвищений у порівнянні із КГ, але у групах з різною стадією ДР достовірно не відрізнявся. У групі ДР-2 спостерігався менший вміст НЖК, ніж у групі ДР-1 та ДР-3, але різниця

була недостовірною. Проте, вживання продуктів-джерел НЖК у групах не відрізнялося. Аналогічно, відносно вмісту ПНЖК — виявлена різниця між групами КГ та ДР без суттєвих відмінностей між групами хворих із різною стадією ДР, але вживання продуктів з ПНЖК не відрізнялася у здорових осіб та пацієнтів з ЦД2 і ДР. Таким чином, ми виявили, що немає суттєвого впливу раціону харчування на вміст ЖК у складі мембран еритроцитів, і вживання харчових продуктів є однаковим у обстежених осіб.

#### **Резюме до розділу 4**

У результаті проведених досліджень було встановлено, що за звичками СЖ пацієнти із ЦД2 суттєво відрізнялися від людей тієї ж вікової групи без діабету. Особи КГ у порівнянні із пацієнтами виконували додаткові фізичні вправи в 9 разів більше ( $P < 0,05$ ), щоденно вживали 1,5-2 літри води в 4,6 рази більше ( $P < 0,05$ ), а фруктів та овочів в 2 рази більше ( $P < 0,05$ ). Недостатність вживання фруктів і овочів знаходиться в прямій залежності із стадією прогресування ДР, на відміну від додаткових фізичних вправ та звички до щоденного вживання води, звичок, які не корелювали із прогресуванням ДР. Вживання у їжу продуктів-джерел різних ЖК за розрахованим показником «раціональності споживання продуктів», що був отриманий при аналізі анкет харчування, суттєво не відрізнялося у осіб КГ та пацієнтів з різним ступенем ураження сітківки при ДР.

#### **Основні положення розділу опубліковано в роботах [144, 157]:**

1. Биховець М.Ю., Риков С.О., Натрус Л.В. «Особливості способу життя як фактор ризику розвитку і прогресування діабетичної ретинопатії у хворих на ЦД 2 типу.» *Архів офтальмології України*, №7(1), 2019, сс. 12-18.
2. Натрус Л.В., Гайова Л.В., Биховець М.Ю., Осадчук Ю.С., Коновалов С.Е. «Значення регуляторних впливів на ліпідний метаболізм при ускладненому цукровому діабеті 2 типу.» *Фізіологічний журнал*, №66(1), 2020, сс. 25-34.

## РОЗДІЛ 5

### ЕКСПРЕСІЯ ЕНДОГЕННОГО РЕГУЛЯТОРНОГО ШАПЕРОНУ L-FABP У ПАЦІЄНТІВ ІЗ РІЗНИМИ СТАДІЯМИ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ, ХВОРИХ НА ЦД2

Окислення ЖК є багатостадійним процесом, за допомогою якого вони розщеплюються різними тканинами для виробництва енергії. Це включає в себе спочатку потрапляння ЖК в цитозоль, а потім її перенесення в мітохондрію, де відбувається  $\beta$ -окислення до  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$  із генерацією АТФ. Після вивільнення з хіломікронів або ліпопротеїнів дуже низької щільності, ЖК переважно надходять в клітину за допомогою транспортерів: транслоказ жирних кислот (FAT/CD36), специфічних білків транспорту жирних кислот (FATP) і білку, що зв'язують жирні кислоти — Fatty Acid Binding Protein (L-FABP) [26]. Сімейство FABP нараховує 9 варіантів, які зустрічаються у людини і отримали свою назву від органу, де вони визначені в більшій кількості або були знайдені: L-FABP (1, печінковий), I-FABP — (2, кишковий), H-FABP (3, серцевий) тощо [46].

L-FABP (FABP1) присутній в цитоплазмі печінки, але також експресується в декількох інших місцях, включаючи кишківник, підшлункову залозу, нирки, легені і шлунок [131], вивільняється при втраті цілісності мембрани ентероцитів і легко потрапляє в кровотік [26]. Крім того, L-FABP може нести ацил-кофермент А, ейкозаноїди, лізофосфоліпіди, канцерогени, антикоагулянти, як-от варфарин і гем, що робить його, ймовірно, найуніверсальнішим шапероном [4], який відіграє значну роль в попередженні токсичності, оскільки зв'язує вільні, потенційно токсичні молекули. Надмірний рівень ЖК є токсичним для клітин, і протеїн FABP розглядають як захисний механізм що зв'язує довголанцюгові ЖК, а потім направляють їх до відповідних сайтів внутрішньоклітинного видалення та окиснення (мітохондрії, пероксисоми) або накопичення (ендоплазматичні ретикулум, ліпідні краплі). Вважається, що за рахунок зв'язування ейкозаноїдів та окисних продуктів поліненасичених ЖК, L-FABP є антиоксидантом, а втрата L-FABP приводить до перенаправлення ЖК на зберігання в жирову тканину та індукує

збільшення ваги/ожиріння, особливо у відповідь на дієту з високим вмістом жиру [55].

З метою вивчення особливостей накопичення ЖК у клітинних мембранах у нормі та за умов ЦД2, ми звернулися до визначення сироваткового рівня транспортного протеїну FABP, що є важливим учасником внутрішньоклітинного транспорту ЖК.

У дослідження були включені 119 осіб максимально співставні за віком і статтю (див. Розділ 2). З них 76 хворих із діагностованим тривалим ( $Me=16,5$  років,  $QI\div QIII$  10-20 р, Min-Max 4-37 років) ЦД2, у яких за результатами офтальмологічного обстеження виявлені мікросудинні ускладнення у вигляді ДР різної стадії. Інші 43 особи не мали діагностованих порушень метаболізму та скарг і звернулися з метою профілактичного огляду в лабораторію клінічної лабораторної діагностики НМУ імені О. О. Богомольця. З них у 20 осіб визначені метаболічні зміни за показниками ліпідного та вуглеводного обміну, групу визначили як «МЗ». Особи, які не мали підвищеного рівня глюкози, глікованого гемоглобіну і холестерину, склали КГ ( $n = 23$ ).

Визначення концентрації L-FABP в сироватці досліджуваних осіб (рис.5.1.). Ми виявили, що в КГ показник L-FABP [медіана,  $QI\div QIII$ ] складає 10,1 нг/мл [7,8–12,1], в МЗ показник менше 8,5 нг/мл [4,4–10,5], але не достовірно, в групі ЦД2 вміст L-FABP підвищений ( $P<0,05$ ) у порівнянні з КГ практично в 1,5-2 рази — 15,7 нг/мл [9,9–25,2].

Хоча сьогодні немає чіткої ясності щодо механізмів специфічного впливу FABP на клітинну біологію і ліпідний обмін в організмі людини, але є розуміння щодо потенційної ролі FABP в енергетичному обміні й ожирінні, і повні клінічні докази того, що рівні L-FABP в сироватці крові були позитивно пов'язані з ожирінням і ІР. У пацієнтів з ЦД2 виявили підвищення сироваткового протеїну L-FABP в 1,5 рази відносно здорових осіб ( $P<0,05$ ), що може служити маркером порушень ендогенного регуляторного механізму ліпідного обміну.

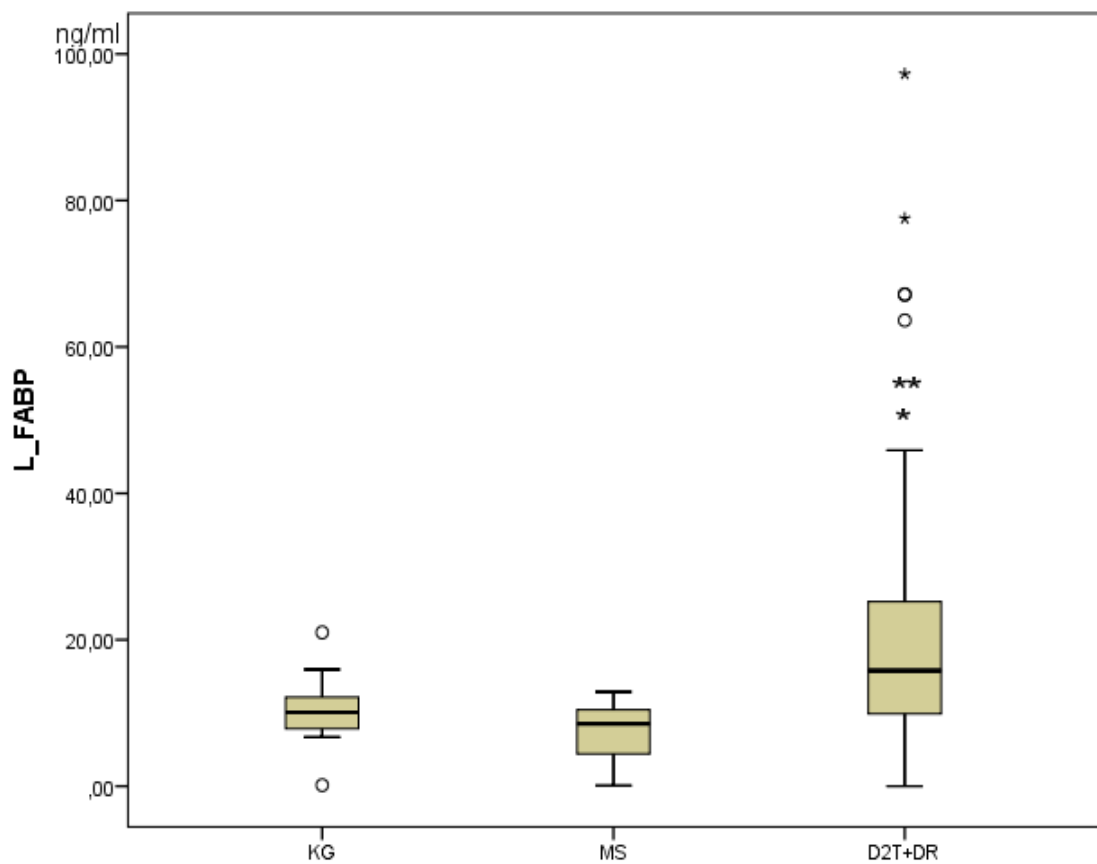


Рис. 5.1. Сироваткова концентрація L-FABP (нг/мл) в групах КГ, МЗ та пацієнтів з ЦД2, де \* — відмінність із КГ, \*\* — відмінність із МЗ

У групі осіб без діабету, але з підвищеними рівнями глюкози крові та холестерину, виявили зменшений показник ІМТ, незначне підвищення ПНЖК в мембранах еритроцитів та рівень сироваткового L-FABP в 1,2 рази менший ніж у відносно здорових осіб ( $P > 0,05$ ) і в 2 рази менший ніж у пацієнтів з ЦД2 ( $P < 0,05$ ). Можна припустити, що за певних умов, при наявності метаболічних зсувів, саме зменшення експресії L-FABP на тлі підвищення ПНЖК в клітинах запобігає розвитку ожиріння і діабету [157].

Проведене дослідження дає підставу припустити протекторну роль протеїну L-FABP, який регулює обмін ЖК в клітинах, забезпечує зв'язок ендогенної регуляції та екзогенних впливів, як важливих факторів, що впливають на метаболізм ліпідів організму. У розрізі груп пацієнтів із різним ступенем ДР (рис. 5.2) і тривалим ЦД2 ми виявили, що, у порівнянні з показником КГ [медіана,  $QI \div QIII$ ], де L-FABP було 10,1 нг/мл [7,8–12,1], у групі ДР-1 виявили достовірне підвищення в 1,5 рази, що

складало 15,5 нг/мл [11,42–52,88]. У групі ДР-2 спостерігали зменшення показника до 13,1 нг/мл [8,9–18,6], а у групі ДР-3 знову підвищення в 1,7 рази ( $P<0,05$ ) відносно КГ до 17,0 нг/мл [9,9–24,4].

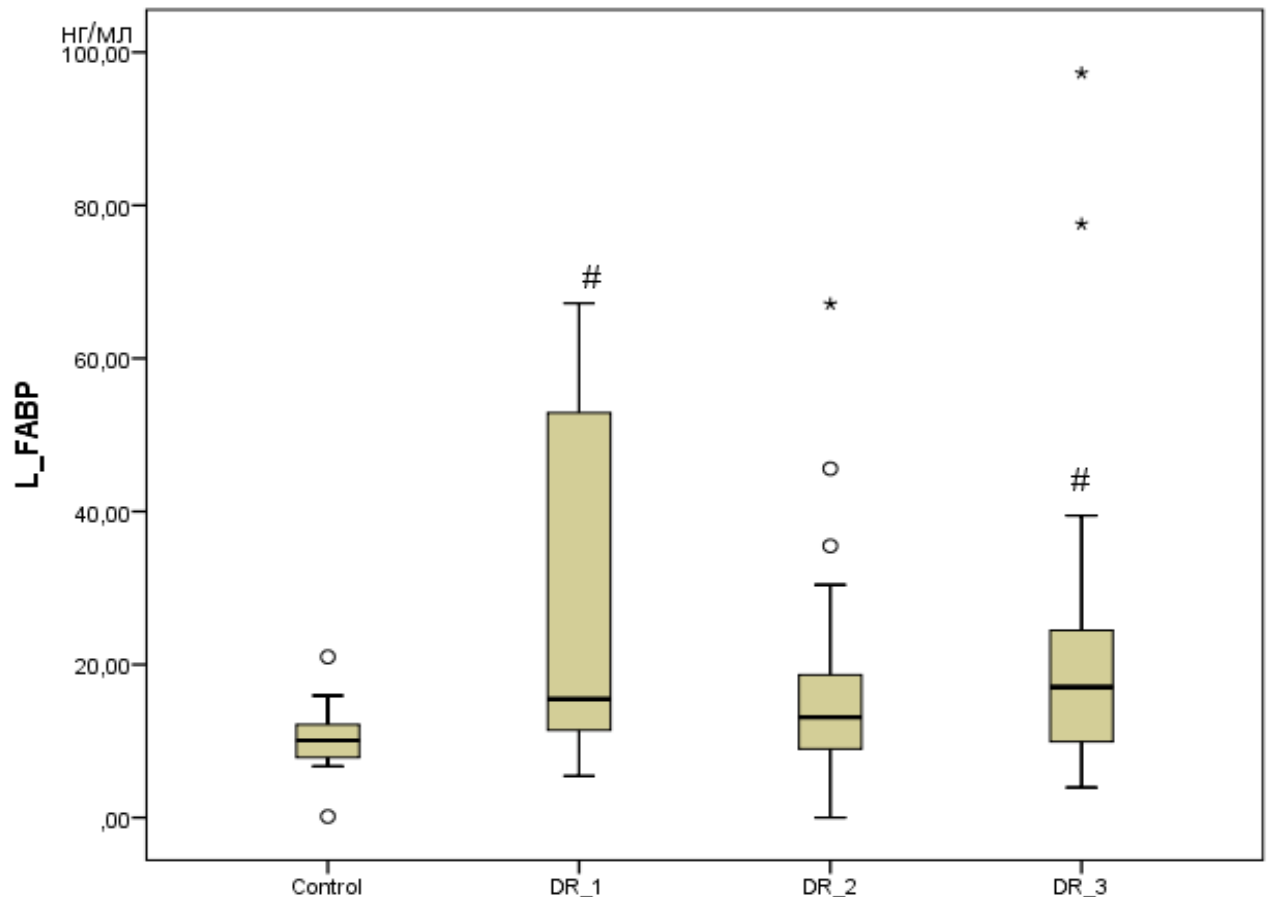


Рис. 5.2. Сироваткова концентрація L-FABP (нг/мл) у групах КГ та пацієнтів з різним ступенем ДР. Box-plot, де # — відмінність з КГ

У пацієнтів із ДР і тривалим ЦД2 було встановлено достовірне підвищення сироваткового рівня L-FABP. У групі ДР-1 L-FABP був в 1,5 рази ( $P<0,05$ ) вище ніж у КГ. У групі ДР-2 спостерігали незначне зменшення показника, але він залишався в 1,3 рази більше КГ, а у групі ДР-3 знову виявили підвищення відносно КГ в 1,7 рази. Можна припустити, що зменшення експресії L-FABP у групі ДР-2 відображає адаптацію організму до високого рівня ЖК плазми та має стримуючий вплив на розвиток і прогресування ДР. Проведене дослідження відображає регуляторну роль L-FABP як важливого чинника ендогенної регуляції ліпідного гомеостазу на тлі відсутності суттєвих екзогенних впливів харчового навантаження на метаболізм

ліпідів організму. Оскільки *PPARG* фізично взаємодіють із FABP, особливо із печінковою формою і вважається, що L-FABP є коактиватором в регуляції генів, опосередкованих *PPAR*, тому здатність FABP модулювати ліпідну сигналізацію може бути використана для розробки ліків, вдосконалення терапевтичних чи профілактичних засобів метаболічних захворювань, а також для контролю активності їх мішеней, таких як рецептори ядерних гормонів. Але залишається не з'ясованим, як експресуються регуляторні протеїни L-FABP у хворих в залежності від їх поліморфізму гена *PPARG*, що визначає особливості порушення ліпідного метаболізму та відкриває шлях до його корекції.

Оскільки у пацієнтів із тривалим ЦД2, ускладненим ДР, було виявлено достовірне підвищення сироваткового рівня L-FABP, ми висловили думку, що зменшення експресії L-FABP в групі ДР-2 відображає адаптацію організму до високого рівня ЖК плазми і має стримуючий вплив на розвиток і прогресування ДР.

За нашими даними (див. Розділ 6), в КГ носіями алелі *12Ala* були 18 осіб (45 %), з них 3 (7,5 %) — носії гомозиготи. Серед хворих на ЦД2 носіїв алелі *12Ala* було 33 особи (33 %), із них лише у 1 (1 %) виявлена мінорна гомозигота.

Аналіз розподілу частоти зустрічаємості алелей і генотипів гена *PPARG* в групах пацієнтів із різною стадією ДР також показав зменшення носіїв поліморфізму гена в групі ДР-1 та ДР-2 відносно КГ, але достовірна різниця виявлена лише між КГ та ДР-3.

Виявлено 73,75 % носіїв алелі «С» в КГ, у групі ДР-1 — 81,67 %; ДР-2 — 79,41; ДР-3 — 89,19. Відповідно, було 26,25 % носіїв алелі «G» серед осіб КГ; серед пацієнтів групи ДР-1 — 18,33 %, ДР-2 — 20,59 %; ДР-3 — 10,81 %.

Визначення зв'язку вмісту L-FABP із генотипом *PPARG* (рис.5.3) показало, що серед носіїв дикого генотипу хворих на ЦД2 із прогресуванням ДР спостерігається поступове недостовірне підвищення протеїну. І навпаки, у носіїв алелі *12Ala* виникнення ДР супроводжується 4-разовим підвищенням ( $P<0,05$ ) шаперону, а прогресування ДР супроводжується поступовим зменшенням його вмісту, хоча не досягає значень КГ. У осіб КГ носії поліморфізму мали меншу концентрацію L-FABP ( $P>0,05$ ) порівняно із носіями дикого генотипу.

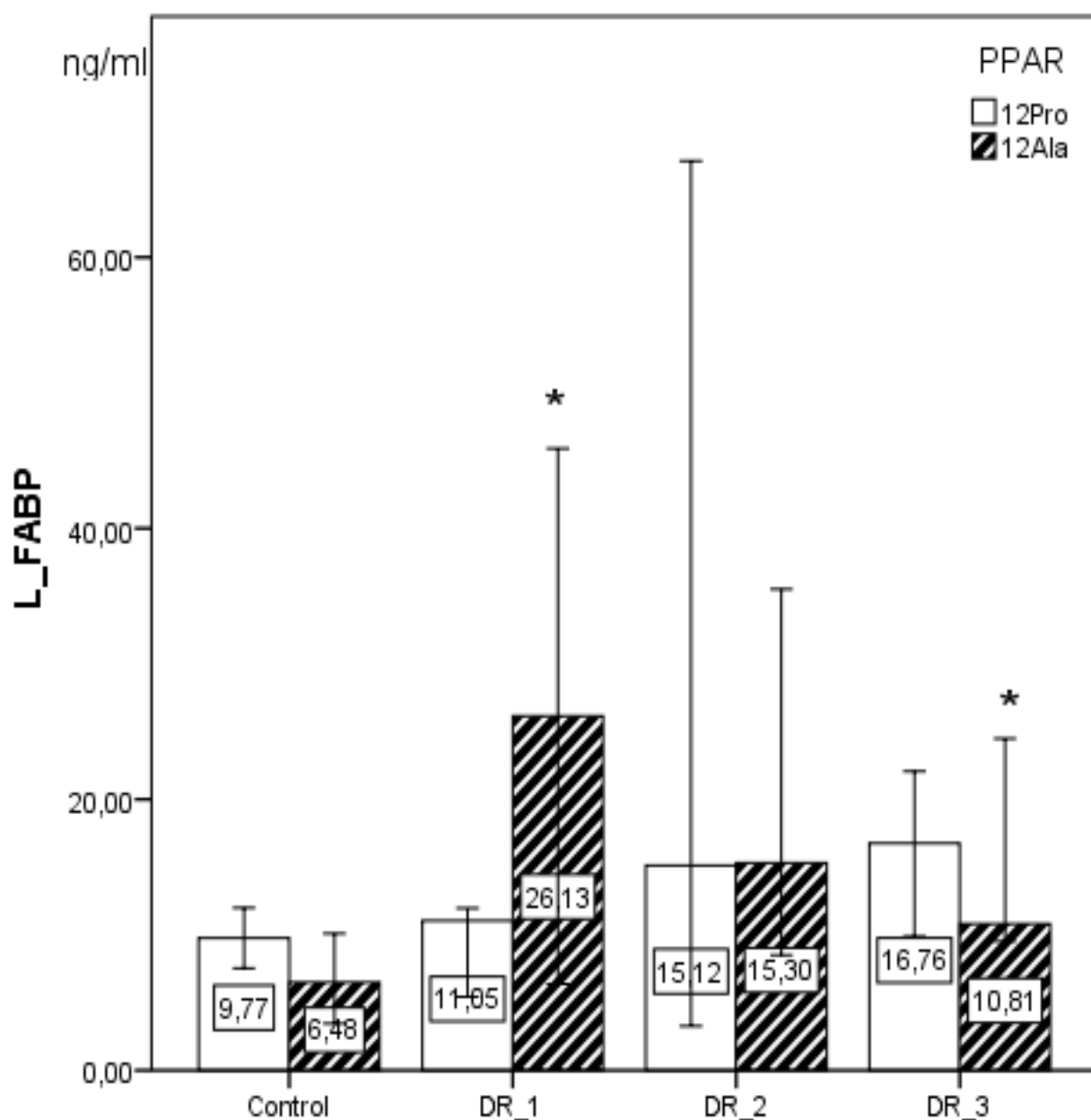


Рис. 5.3. Порівняння вмісту протеїну L-FABP в КГ в плазмі крові осіб КГ та пацієнтів з ДР різної стадії в залежності від генотипу *PPARG* (світлі стовпчики — носії генотипу *Pro12Pro*, темні — носії алелі *12Ala*).

\* — відмінність в групі ( $P < 0,05$ )

### Резюме до розділу 5

Таким чином, проведені дослідження у пацієнтів із ДР та ЦД2 встановили достовірне підвищення сироваткового рівня L-FABP. У групі ДР-1 вміст протеїну був в 1,5 рази вище ( $P < 0,05$ ) ніж у КГ, в групі ДР-2 в 1,3 рази, а в групі ДР-3 в 1,7 разів вище ( $P < 0,05$ ) КГ. У носіїв *Pro12Pro* *PPARG* генотипу із прогресуванням ДР

спостерігалось поступове підвищення протеїну L-FABP. У носіїв алелі 12Ala виникнення ДР супроводжувалося 4-разовим підвищенням ( $P<0,05$ ) шаперону, а прогресування ДР супроводжувалося поступовим зменшенням його вмісту.

**Основні положення розділу опубліковано в роботах [162,164]:**

1. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «PPARG-залежні відмінності енергетичного субстрату у пацієнтів із різними стадіями діабетичної ретинопатії хворих на цукровий діабет 2 типу.» *Офтальмологический журнал*, №6, 2019, сс. 7-14.
2. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Вплив експресії L-FABP та жирнокислотного складу їжі на стан ліпідного метаболізму хворих із різним ступенем діабетичної ретинопатії та цукрового діабету 2 типу.» *Архів офтальмології України*, №7(3), 2019, сс.27-36.

## РОЗДІЛ 6

### ***PPARG*-ЗАЛЕЖНІ ПОВЕДІНКОВІ ВІДМІННОСТІ ТА СКЛАД ЕНЕРГЕТИЧНОГО СУБСТРАТУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ РІЗНОЮ СТАДІЄЮ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ, ХВОРИХ НА ЦД2**

*PPARG* відіграє найважливішу роль у гомеостазі глюкози і є молекулярною мішенню класу інсуліночутливих препаратів, які широко застосовуються для лікування діабету 2 типу [37]. Активація *PPARG* у інсулінорезистентних (ІР) тварин або людей призводить до підвищення чутливості як печінки до інсуліну, так і поглинання глюкози скелетними м'язами [142]. Цей вплив *in vivo* на сигнали інсуліну пояснюється комбінованою дією лігандів *PPARG* на жирову тканину, на печінку та скелетну мускулатуру, хоча тонкі механізми, що лежать в основі інсуліночутливої дії агоністів *PPARG*, є складними і не повністю зрозумілими.

Окрім свого впливу на вуглеводний обмін, ліганди *PPARG* також сприятливо впливають на ліпіди плазми. *PPARG* експресується в жировій тканині і є центральним регулятором експресії та диференціювання генів адипоцитів. Останнім часом інтенсивно досліджується вплив поліморфізмів гена *PPAR* на фенотипові ознаки енергетичного метаболізму.

При інтерпретації даних щодо зв'язку між особливістю харчування в раціоні та переддіабетом треба враховувати інтерференцію кількох факторів: зміни дієти внаслідок ожиріння, неможливість провести детальні коригування для ожиріння, фізичну активність тощо. Попри значну кількість досліджень, ряд позицій носять суперечливий вигляд. Вірогідно, не існує універсальної дієтичної стратегії запобігання діабету, оскільки проблема виникнення мікросудинних ускладнень на тлі гіперглікемії набагато глибша ніж дотримання відповідного харчового раціону, вона включає як поведінкові особливості людини, так і генетично детерміновані механізми метаболізму. За нашими даними (табл.1), в КГ носіями алелі *12Ala* були 18 осіб (45 %), з них 3 (7,5 %) — носії гомозиготи. Серед хворих на ЦД2 носіїв алелі *12Ala* було 33 особи (33 %), із них лише у 1 (1 %) виявлена мінорна гомозигота.

Аналіз розподілу частоти зустрічаємості алелей і генотипів гена *PPARG* в

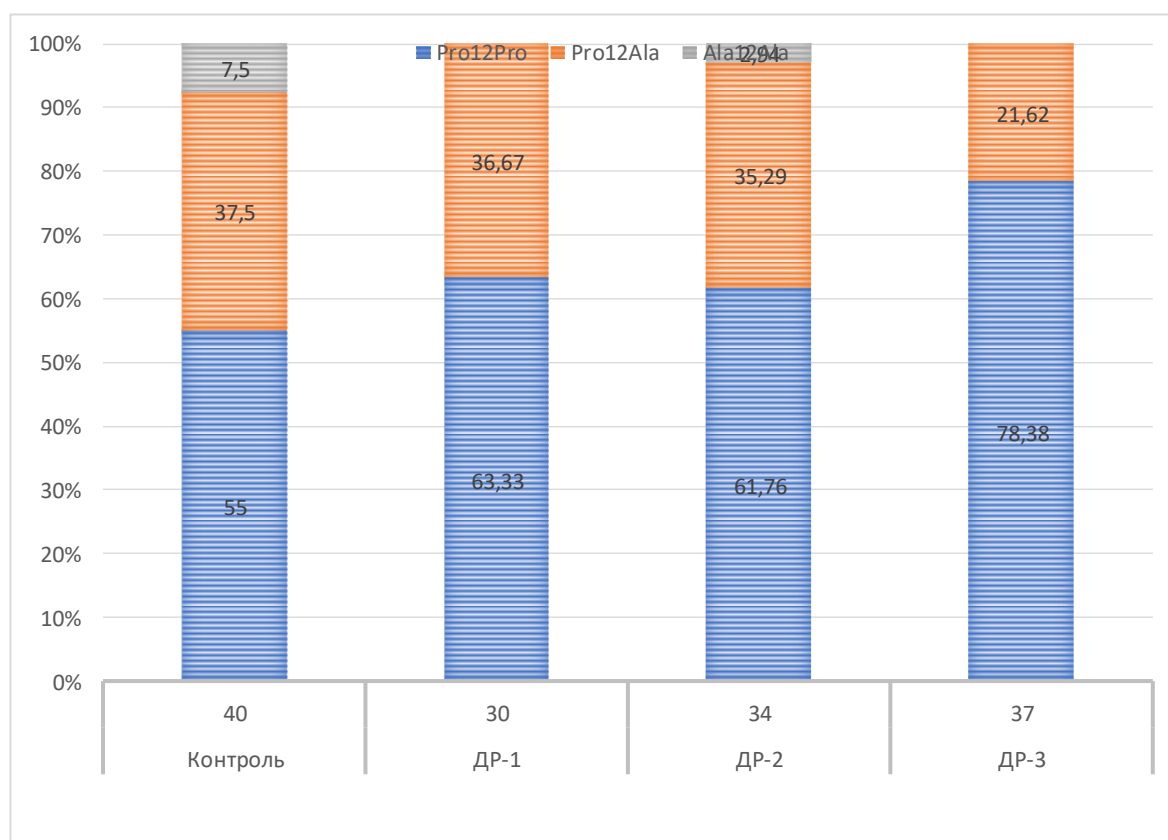
Таблиця 6.1

**Аналіз розподілу частоти зустрічаємості алелей і генотипів гена *PPARG* в дослідних групах, % (кількість осіб)**

| Генетичний маркер/група | КГ<br>n= 40 | ДР-1<br>n= 30 | ДР-2<br>n= 34 | ДР-3<br>n= 37 |
|-------------------------|-------------|---------------|---------------|---------------|
| C/C                     | 55 (22)     | 63,3 (19)     | 61,76 (21)    | 78,38 (23)    |
| C/G                     | 37,5 (15)   | 36,67 (11)    | 35,29 (12)    | 21,62 (8)     |
| G/G                     | 7,5 (3)     | 0             | 2,94 (1)      | 0             |
| C                       | 73,75 (59)  | 81,67 (49)    | 79,41 (54)    | 89,19 (66)    |
| G                       | 26,25 (21)  | 18,33 (11)    | 20,59 (14)    | 10,81 (8)*    |

\* — відмінність із відповідним показником КГ ( $P < 0,05$ )

групах пацієнтів із різною стадією ДР (рис.6.1) також показав, зменшення носіїв поліморфізму гена в групі ДР-1 та ДР-2 відносно КГ, але достовірна різниця виявлена лише між КГ та ДР-3.



**Рис. 6.1. Розподіл частоти зустрічаємості генотипів гена *PPARG* в групах пацієнтів із різною стадією ДР**

Для вивчення факторів, які можуть впливати на розвиток ЦД2 і прогресування ДР, були порівняні параметри віку, статті, маси, індексу маси тіла (ІМТ) хворих із ЦД2 та їх однолітків без діабету (див. Розділ 2).

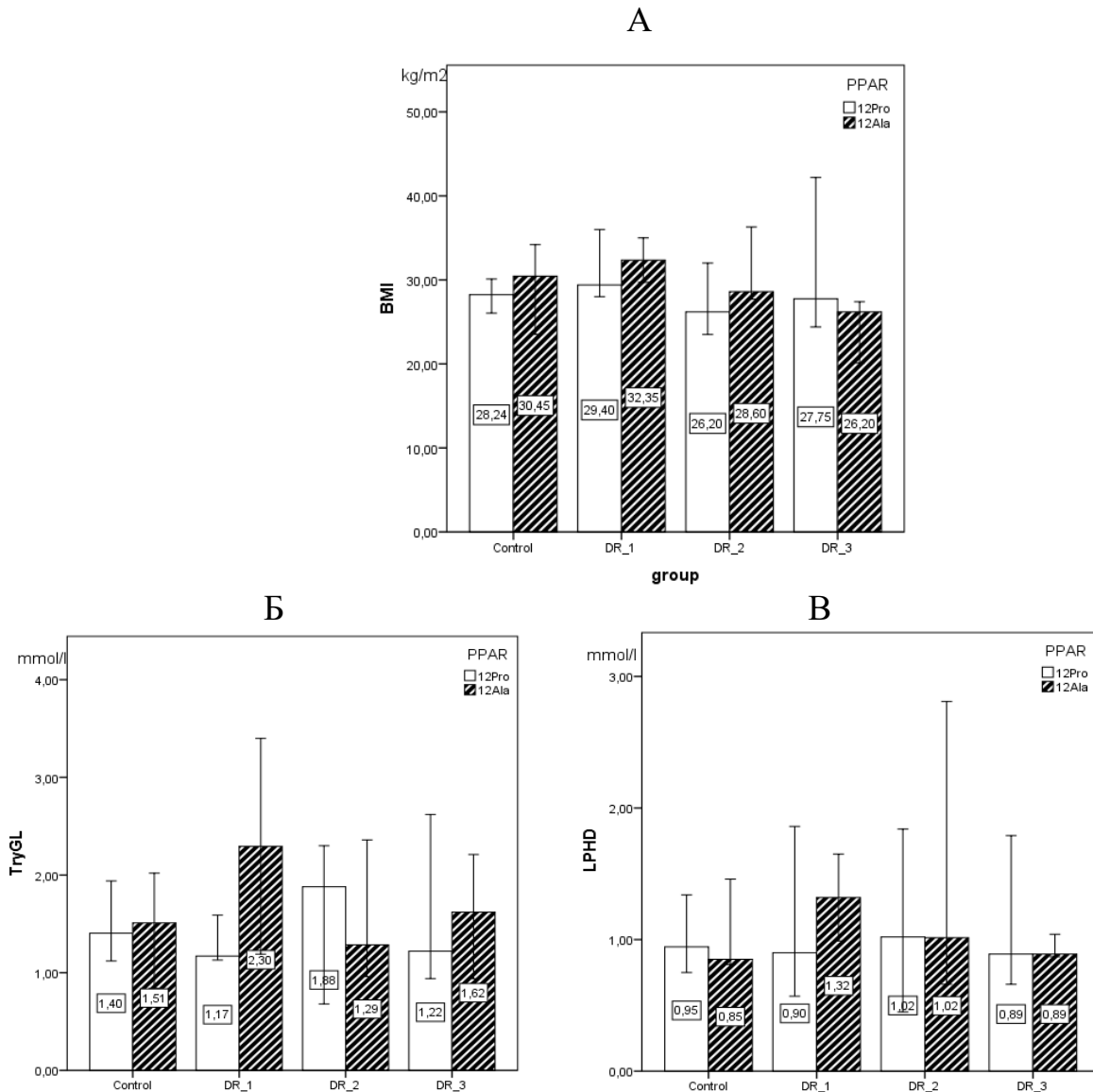


Рис. 6.2. Показники ІМТ (А), тригліцеридів (Б), ЛПВЩ (В) в досліджуваних групах: Контроль, ДР-1, ДР-2, ДР-3 в залежності від генотипу *PPARG* (світлі стовпчики — носії генотипу *Pro12Pro*, темні — носії алелі *12Ala*)

Як вже було вказано, аналіз ІМТ (рис. 6.2) у пацієнтів та осіб КГ не виявив очікуваної суттєвої відмінності показника в групі КГ та пацієнтів з ЦД2 і особливо у хворих із різною стадією ДР у бік зростання тривалості і тяжкості ЦД2 та ожиріння, навпаки, найбільший показник ми спостерігали в групі ДР-1 — 29,3 кг/м<sup>2</sup> [37,2–32,3]

із поступовим зменшенням. У КГ ми також виявили високий ІМТ, але ми навмисно не прийняли критерієм виключення  $ІМТ \geq 25 \text{ кг/м}^2$  для більш достовірного порівняння впливів на метаболічний стан осіб за віком, видом діяльності та способом життя.

Аналіз генетичної гетерогенності показав, що ІМТ у носіїв алелі *12Ala* був вищим і в КГ і у пацієнтів з ЦД, хоча відмінності недостовірні. Виключення складали пацієнти групи ДР-3, де носії поліморфізму мали меншу вагу. *PPARG*-залежний аналіз лабораторних показників ліпідограми в розрізі відмінностей стадій ДР був різнонаправленим, але не показав достовірних коливань. У попередніх розділах ми вказували на відсутність достовірної різниці ліпідограми в групах із різною стадією ДР, але в розрізі генетичної гетерогенності є деякі розбіжності.

Однакову динаміку відобразили тригліцериди та ЛПВЩ. У групі ДР-1 вказані показники підвищувалися лише у носіїв алелі *12Ala*, хоча без достовірної різниці. Вірогідно, на початку розвитку ЦД2 більшу реактивність до порушення виявляють саме транспортери жирних кислот плазми, і наявність мутації є більш вразливою ланкою пошкодження.

Усі хворі на ЦД2, ускладнений ДР, отримували лікування для компенсації гіперглікемії у вигляді відповідно розрахованої дози інсуліну, який пацієнти отримували у вигляді ін'єкцій або таблетованої форми. Як видно з діаграми (рис. 6.3.), більш стійкий рівень компенсації ЦД2 (за даними глікованого гемоглобіну) був притаманний носіям алелі *12Ala*, а у носіїв дикого генотипу в плазмі виявлені суттєві коливання глюкози, серед них в групі ДР-2 рівень HbA1C був в 1,7 рази вищим ( $P < 0,05$ ) ніж у пацієнтів із поліморфізмом гена.

За нашими даними, ефективнішою формою зниження рівня глюкози плазми виявилось вживання таблеток ніж ін'єкції, особливо на початку розвитку захворювання, хоча достовірної різниці не виявлено (рис. 6.3).

Оцінка ліпідного обміну за показником загального холестерину у досліджуваних групах не виявила суттєвої різниці показника у пацієнтів із різним *PPARG*-залежним фенотипом (рис. 6.4). Найбільшу різницю виявили в групі ДР-2, де у носіїв дикого генотипу холестерин був вищим у 1,2 рази ніж у носіїв

поліморфізму. За даними опитування та медичної документації, пацієнтам були призначені препарати (стати́ни). Прийом препаратів в усіх пацієнтів незалежно від фенотипу успішно зменшував гіперхолестеринемію (рис. 6.4).

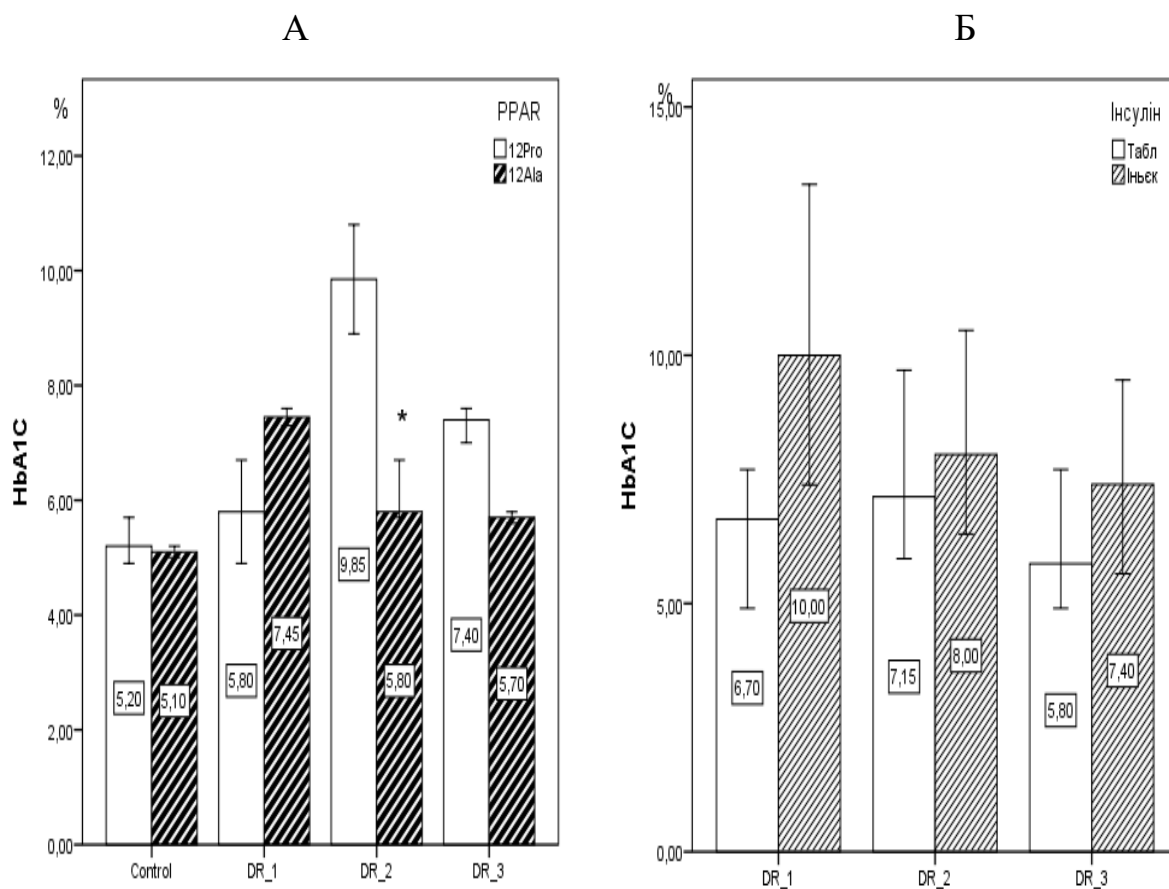


Рис. 6.3. Рівень глікованого гемоглобіну в досліджених групах в залежності: А — від генотипу *PPARG* (світлі стовпчики — носії генотипу *Pro12Pro*, темні — носії алелі *12Ala*), Б — від форми отримання лікувальної дози інсуліну (світлі стовпчики — таблетки, темні — ін'єкції). \* — відмінність в групі ( $P < 0,05$ )

Одним із інформативних підходів оцінки ліпідного статусу організму є оцінка жирнокислотного складу еритроцитарних мембран. У попередніх розділах ми провели ретельний аналіз 9-ти ЖК в групах хворих із різною стадією ДР у порівняння із групою здорових осіб. Аналіз показав, що стан ліпідного метаболізму у пацієнтів характеризувався суттєвою різницею із достовірним підвищенням ступеню «насиченості». Це є ознакою патологічного процесу, оскільки накопичення насичених ЖК в клітині, особливо мембрані, суттєво змінює її властивості, пластичність, спроможність до ендоцитозу, реактивності до акцепції ліганду,

латерального пересування рецепторних рафтів та інтегральних протеїнів, що зменшує відповідь на цитокіни та загальну міжклітинну взаємодію.

У групах ДР-1 та ДР-3 спостерігалось підвищення в 1,5-2 рази ( $P < 0,05$ ) вмісту насичених ЖК (НЖК) і відповідне зниження ненасичених ЖК (ННЖК) за рахунок поліненасичених ЖК, а в групі ДР-2 спостерігався практично рівний вміст НЖК та ННЖК. Із прогресуванням ДР виявлена тенденція до зниження вмісту міристинової і арахідонової ЖК, та підвищення стеаринової і олеїнової ЖК.

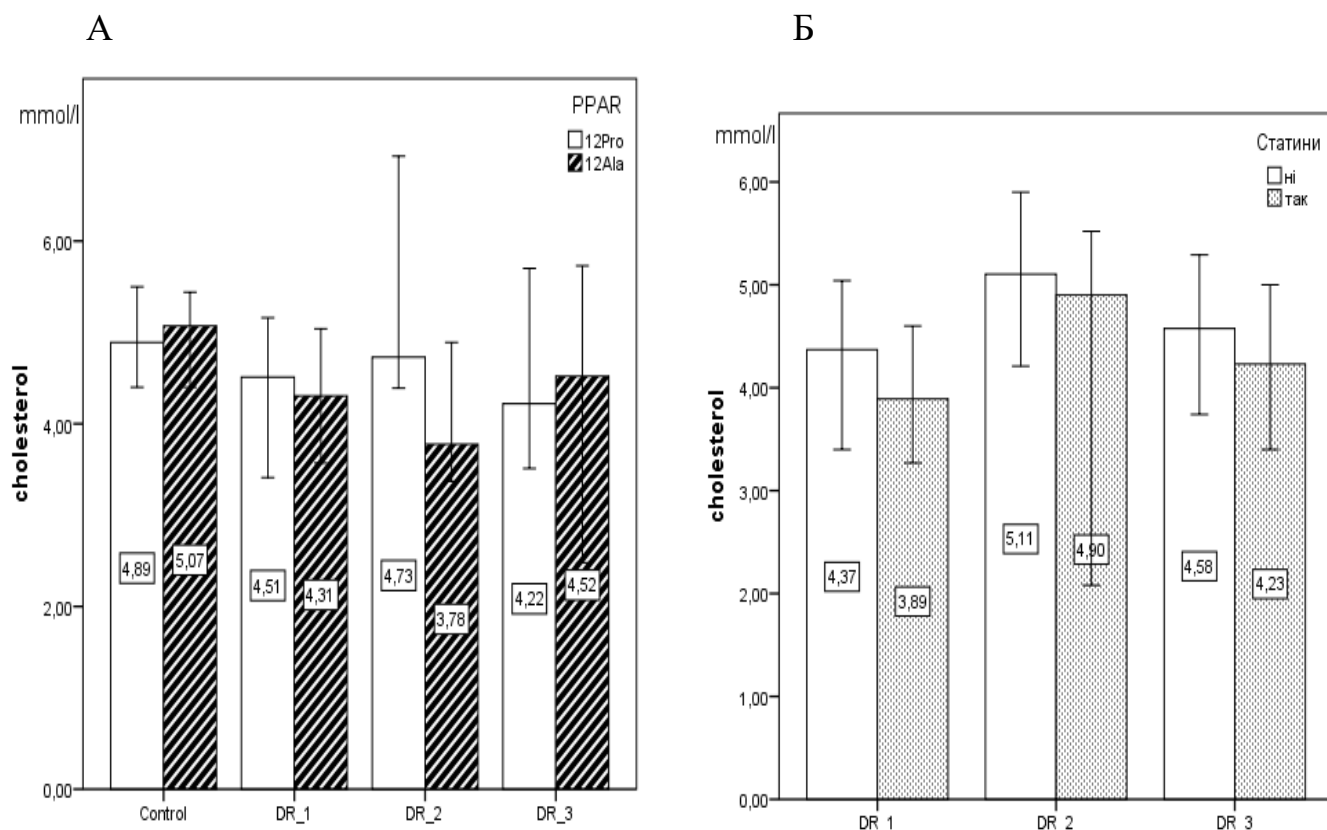


Рис. 6.4. Рівень загального холестерину плазми в досліджених групах в залежності: А — від генотипу *PPARG* (світлі стовпчики — носії генотипу *Pro12Pro*, темні — носії алелі *12Ala*), Б — від прийому статинів (світлі стовпчики — не приймали, темні — приймали)

Відповідний аналіз вмісту ЖК в мембранах еритроцитів в залежності від *PPARG*-залежного фенотипу показав ряд відмінностей у пацієнтів з ДР та КГ (рис.6.5). У КГ вміст ЖК практично не відрізнявся в залежності від генотипу, лише в складі ненасичених виявилася тенденція ( $P > 0,05$ ) серед носіїв алелі *12Ala* до підвищення лінолевої ЖК за рахунок зниження вмісту олеїнової та арахідонової ЖК. На відміну від КГ, у пацієнтів усі мінорні насичені ЖК (міристинова С 14:0, пентадеканова С 15:0, маргарина С 17:0) достовірно переважали, максимально в

групі ДР-1 і поступово зменшувалися в групі ДР-3, але стійке підвищення відбулося за рахунок носіїв поліморфізму.

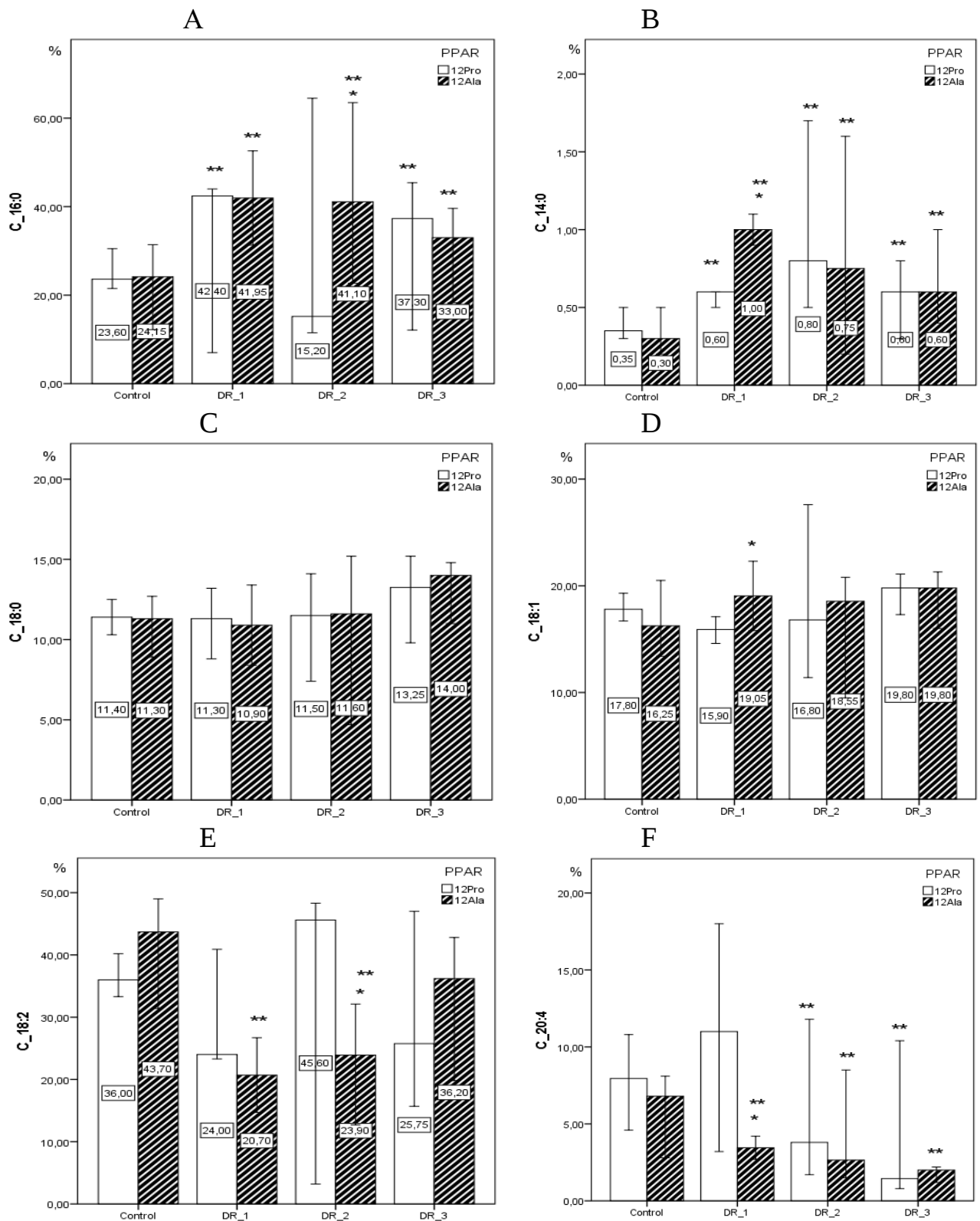


Рис. 6.5. Показники відносного вмісту ЖК в мембранах еритроцитів пацієнтів: пальмітинової (А), міристинової (В), стеаринової (С), олеїнової (D), лінолевої (Е), арахідонової (F) в досліджуваних групах: Контроль, ДР-1, ДР-2, ДР-3 в залежності від генотипу *PPARG* (світлі стовпчики — носії генотипу *Pro12Pro*, темні — носії алелі *12Ala*). \* — відмінність в групі ( $P < 0,05$ ), \*\* — відмінність із відповідним показником КГ ( $P < 0,05$ )

У групі ДР-1 підвищення мінорних насичених ЖК в групі носіїв алелі *12Ala* було в 1,6 разів ( $P<0,05$ ) більше ніж у носіїв дикого генотипу *Pro12Pro* та в 3 рази більше ( $P<0,05$ ) ніж в КГ. У складі мажорних НЖК достовірна різниця спостерігалася у вмісті пальмітинової С 16:0 ЖК в групі ДР-2, де у носіїв поліморфізму спостерігалася перевищення ЖК в 2,7 рази ( $P<0,05$ ) у порівнянні із пацієнтами з диким генотипом, вміст стеаринової ЖК суттєво не відрізнявся.

Вміст олеїнової С 18:1 ЖК у пацієнтів характеризувався коливанням, але воно було притаманним лише носіям генотипу *Pro12Pro*, у яких вміст олеїнової ЖК був найменшим в групі ДР-1 і найбільшим в групі ДР-3, а у носіїв поліморфізму вміст олеїнової ЖК характеризувався стійким підвищенням незалежно від розвитку ускладнення ЦД2. Визначалося суттєве коливання вмісту лінолевої С 18:2 ЖК, особливо у носіїв дикого генотипу. У групі ДР-1 та ДР-3 вміст С 18:2 був меншим ніж в КГ, а в ДР-2 більшим ніж в КГ. У групі ДР-2 вміст лінолевої ЖК в 2 рази ( $P<0,05$ ) відрізнявся в залежності від генотипу. У носіїв алелі *12Ala* вміст лінолевої ЖК поступово підвищувався від групи ДР-1 до ДР-3. Спостерігали значну різницю вмісту арахідонової ЖК. Як ми визначили раніше, із прогресуванням ДР виявлено зниження вмісту С 20:4, але як видно з діаграми, у носіїв дикого генотипу загальний вміст арахідонової ЖК в групі ДР-1 підвищувався відносно КГ в 1,4 рази, в групі ДР-2 знижувався в 2 рази відносно КГ ( $P<0,05$ ), а в групі ДР-3 був в 4,5 рази нижчим ніж в КГ ( $P<0,05$ ). У носіїв поліморфізму також визначена чітка тенденція до зниження С 20:4 від групи ДР-1 до ДР-3, але не така критична і без підвищення в групі ДР-1.

Традиційно при аналізі ЖК порівнюють співвідношення НЖК до ННЖК, оскільки його підвищення є ознакою патологічного процесу, а накопичення насичених ЖК в клітині, особливо в мембрані, суттєво змінює її властивості, пластичність, спроможність до ендоцитозу, реактивності до акцепції ліганду, латерального пересування рецепторних рафтів та інтегральних протеїнів, що зменшує відповідь на цитокіни та загальну міжклітинну взаємодію.

Також інформативним підходом до аналізу ліпідного метаболізму є порівняння співвідношення вмісту арахідонової ЖК до лінолевої, оскільки перетворення С18:2

у С20:4 є важливим біологічним процесом. Метаболіти арахідонової кислоти — це міриади біологічно активних сполук, як-от ейкозаноїди, простагландини і лейкотрієни, ендогенні ліганди канабіноїдних рецепторів, які є важливими міжклітинними регуляторами, але при надлишковому виділенні вони сприяють ряду хронічних захворювань. Організм людини може самостійно синтезувати арахідонову ЖК з незамінної омега-6-ненасиченої лінолевої кислоти, але лише з її природної цис-форми. Якщо в організмі підвищений вміст С 18:2 у вигляді синтетичної форми транс-жирів, то лінолева ЖК «застряє» і витрачає спроможність переходити в арахідонову, і визначається підвищення С 18:2.

За нашими даними, виявлене у хворих на ЦД2 стійке переважання вмісту насичених ЖК в складі мембран еритроцитів (рис. 6.6, А) було притаманне носіям алелі *12Ala*, у яких цей показник був більшим ніж в КГ, особливо він відрізнявся в 2,5 рази в групі ДР-1 та в 2,3 рази в групі ДР-2, хоча з прогресуванням ДР спостерігалось поступове зменшення «насиченості» мембран.

У носіїв генотипу *Pro12Pro* показник мав суттєву розбіжність як в групах так і між групами, а в групі ДР-2 показав критичне зменшення відношення НЖК/ННЖК. Співвідношення 18:2/20:4 дивно відрізнялось у носіїв різних генотипів (рис. 6.6, Б). Так, у хворих на ЦД2 носіїв поліморфізму цей показник був однаковим із КГ, із підвищенням в 2 рази лише в групі ДР-3. А серед носіїв дикого генотипу спостерігалось початкове зниження в групі ДР-1 в 2 рази відносно КГ і поступове підвищення в групі ДР-3, практично в 3 рази ( $P < 0,05$ ).

Оцінка поведінкової складової, яка може впливати на стан ліпідного та вуглеводного обміну проводилася за даними анкетування і подальшого розрахунку індексів. Для аналізу складу їжі ми розробили питання, що були присвячені вживанню у звичайному раціоні харчових продуктів та їх частоти. Кожний вид продуктів був обраний із урахуванням джерела ЖК, яким він є. Респонденту необхідно було вказати частоту вживання вказаних продуктів при звичайному раціоні, наприклад, за останні 2 місяці. Відповіді, згідно із всесвітніми авторитетними рекомендаціями та школами дієтології, ранжували у вигляді шкали:

А - рекомендовано, Б - припустимо, В - не бажано, Г - не рекомендовано, Д - вкрай не рекомендовано.

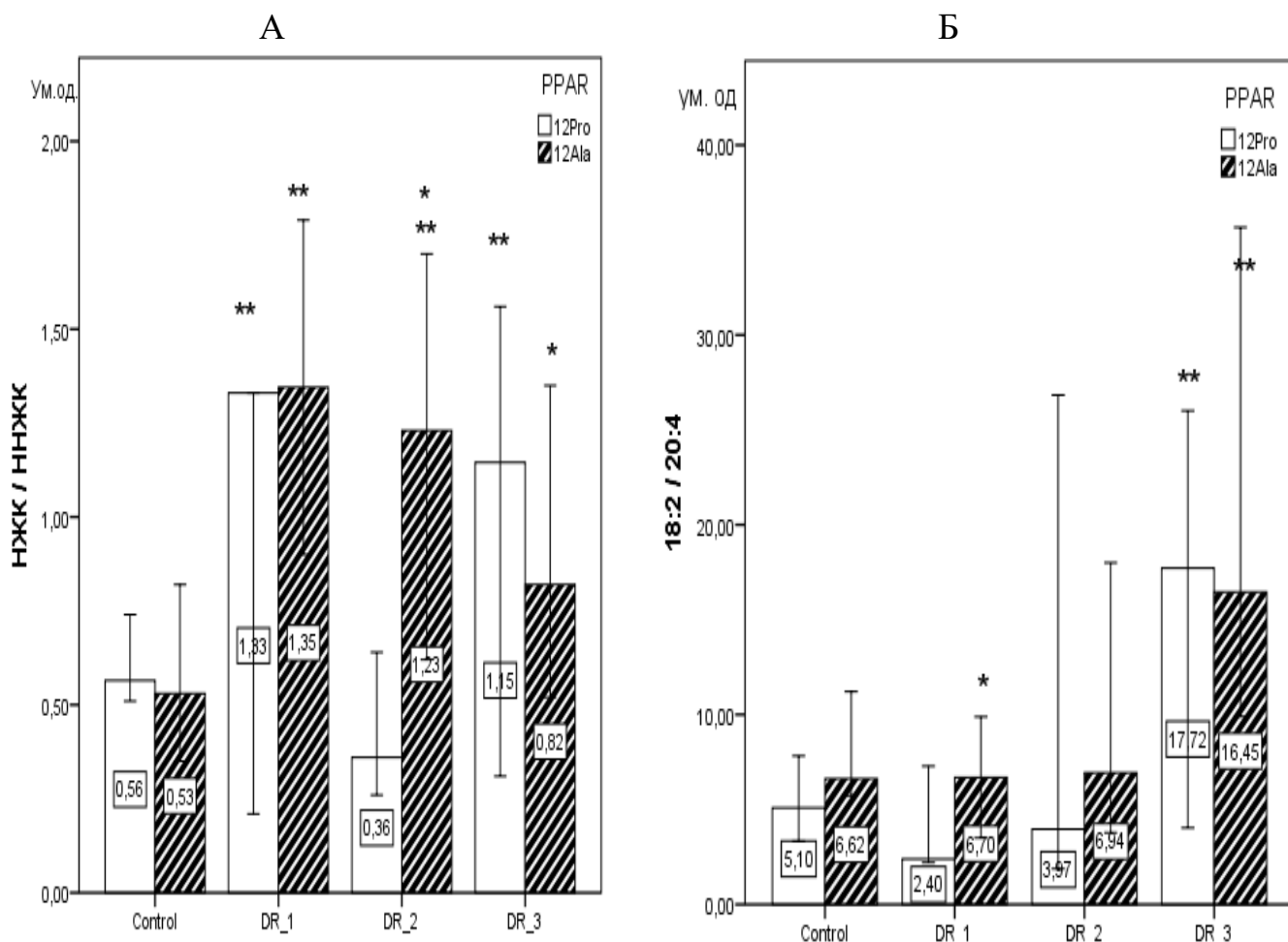


Рис. 6.6. Порівняння співвідношення НЖК/ННЖК (А) та С18:2/С20:4 (Б) в мембранах еритроцитів пацієнтів досліджених груп в залежності від генотипу *PPARG* (світлі стовпчики — носії генотипу *Pro12Pro*, темні — носії алелі *12Ala*),  
\* — відмінність в групі ( $P < 0,05$ ),  
\*\* — відмінність із відповідним показником КГ ( $P < 0,05$ )

Далі, для кількісної оцінки результатів, варіантам відповідей призначали бали від 1 до 5, де А — «5», а Д — «1». Таким чином, кожний пацієнт отримував кількісний бал, залежно від того, наскільки раціонально, з погляду рекомендацій харчування, він вживає різні продукти із вмістом ЖК. Сума балів визначалася як показник «раціональності вживання ЖК» в умовних одиницях у кожного пацієнта, а потім і середній у групі. Такий аналіз надав нам можливість кількісно проаналізувати у групах особливості раціону всіх досліджуваних осіб із визначенням вживання різних видів ЖК (рис. 6.7).

За отриманими даними (рис. 6.7) у носіїв дикого генотипу раціональність вживання їжі не відрізнялася в КГ та у хворих на ЦД2. Серед носіїв алелі *12Ala* цей показник відрізнявся від КГ та в залежності від стадії ДР. У групі ДР-1 був найнижчим, а із розвитком ДР підвищувався і в групі ДР-3 був вищим в 2 рази ( $P < 0,05$ ). Така динаміка відображує, що із перебігом ЦД2 та розвитком ускладнень, пацієнти підвищують свою свідомість, щоб дотримуватися рекомендацій харчування. Найцікавішим, з нашої точки зору, є факт, що таке прагнення виявилось лише у хворих носіїв поліморфізму гена *PPARG*.

У попередньому розділі ми проводили аналіз показників способу життя (СЖ): дотримання дієти, фізичного навантаження, вживання води, фруктів та овочів у пацієнтів із ЦД2 і осіб, які з ними співставні за основними фенотиповими ознаками, проведений на основі анкетування відповідно до всесвітніх рекомендацій здорового харчування та нутрицевтичних досліджень. Ми дійшли висновку, що звичка до додаткового фізичного навантаження і вживання 1,5-2 л води достовірно вище у осіб без ЦД. Недостатнє вживання фруктів та овочів в щоденному раціоні харчування знаходиться в прямій залежності із захворюванням на ЦД, із його ускладненням у вигляді прогресування ДР.

Із метою порівняння результатів анкетування про спосіб життя в різних групах пацієнтів були розраховані індекси, які використовувалися як інтегральні кількісні критерії. У цій роботі наведений коефіцієнт «раціональності СЖ», який розраховували як відношення суми відповідей А+Б до В+Г+Д, і його зростання відображає найбільш раціональні звички. Аналіз коефіцієнта в групах показав (рис. 6.7), що у носіїв дикого генотипу СЖ не відрізнявся у пацієнтів із ЦД2, як у порівнянні із КГ, так і в залежності від розвитку ДР. У носіїв поліморфізму коефіцієнт раціональності СЖ був взагалі нижчим ніж у носіїв дикого поліморфізму, а в групі ДР-1 та ДР-3 достовірно відрізнявся 3,7 та 1,8 рази ( $P < 0,05$ ) відповідно. Таким чином, ми виявили відмінність в харчовому раціоні та поведінкових звичках у пацієнтів з ЦД2 із різною стадією ДР і різним *PPARG*-залежним фенотипом. Наявність відмінностей поведінкового характеру у осіб із різним *PPARG*-залежним фенотипом може бути пояснена генетично

детермінованими особливостями регуляції обміну речовин, схильністю до вживання деяких продуктів, відмінністю регуляторних впливів на жирову тканину, механізмами забезпечення енергетичним субстратом печінки та скелетної мускулатури. Вказані фактори можуть впливати на особливості поведінки хворих, їх адаптацію до лікування і схем корекції. Ці особливості необхідно враховувати для

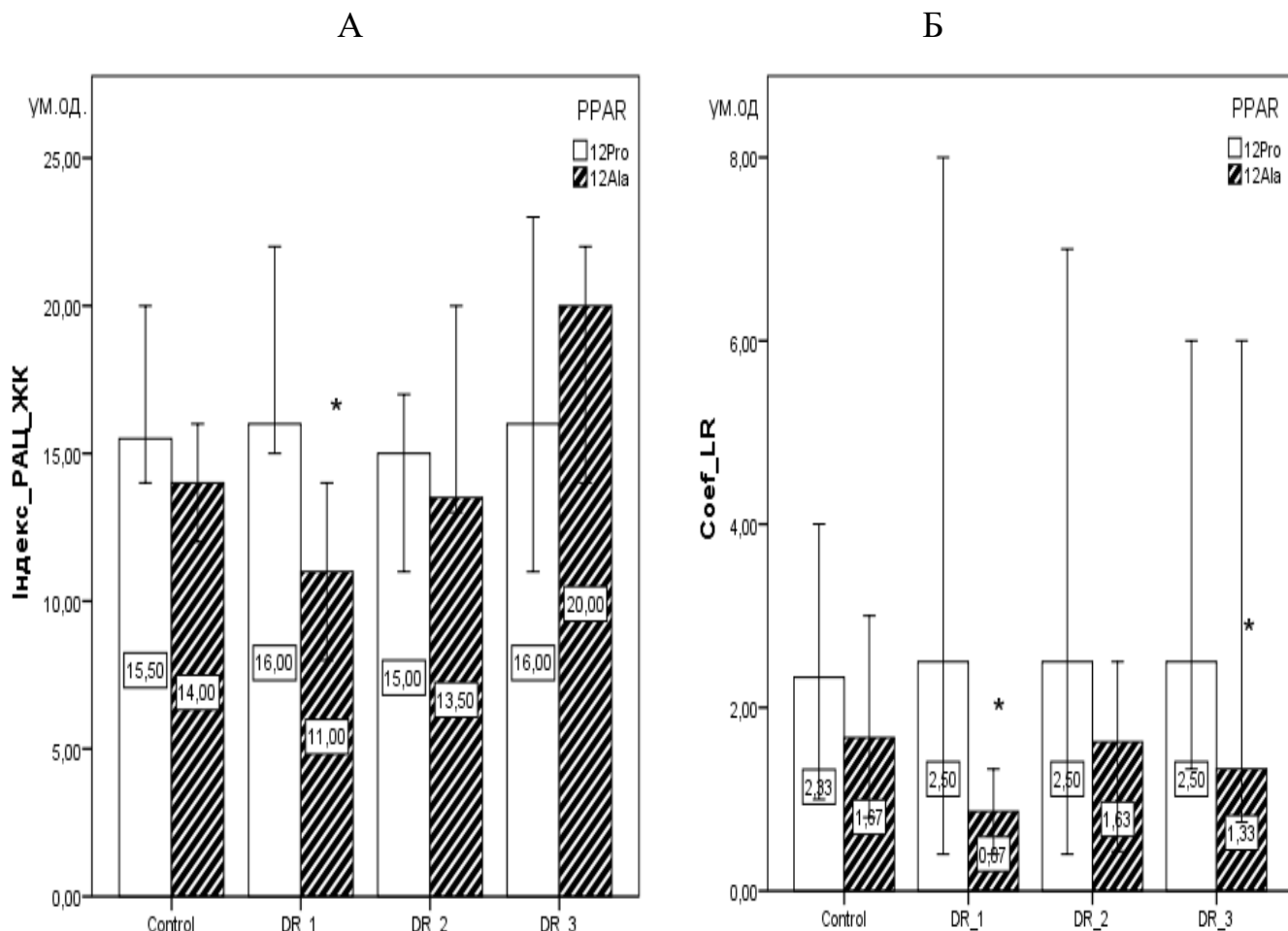


Рис.6.7. Порівняння показника «раціональності вживання ЖК» (А) та коефіцієнта раціональності способу життя (Б) в досліджених групах в залежності від генотипу *PPARG* (світлі стовпчики — носії генотипу *Pro12Pro*, темні — носії алелі *12Ala*),  
\* — відмінність в групі ( $P < 0,05$ )

розробки ефективних схем лікування не тільки в групах із різним ступенем ушкодження сітківки та тривалістю ЦД2, а також в залежності від поліморфізмів генів ключових ферментів жирового та вуглеводного обміну і забезпечують зв'язок між факторами зовнішнього середовища та внутрішніми механізмами регуляції енергетичного гомеостазу.

## Резюме до розділу 6

У результаті проведених досліджень у пацієнтів з ДР та ЦД2 було встановлено, що найефективнішим шляхом корекції гіперглікемії на всіх стадіях розвитку ДР було застосування інсуліну в таблетованих формах; більшу стабільність у досягненні цільового рівня глюкози крові виявлено у носіїв алелі *12Ala* гена *PPARG*. За раціональністю харчування та СЖ, носії *Pro12Pro* генотипу не відрізнялися від осіб КГ. Носіям алелі *12Ala* було притаманно на початку захворювання нехтування харчовими рекомендаціями, але із прогресуванням ДР свідомість у правильному харчуванні зростала в 2 рази ( $P < 0,05$ ), водночас їхній СЖ був менш раціональним ніж у носіїв *Pro12Pro* генотипу, а тривалість ЦД2 і розвиток ДР ще в 2-3 рази знижували ( $P < 0,05$ ) прагнення до здорового СЖ.

Також встановлено, що у пацієнтів з ЦД2 і різним *PPARG*-залежним фенотипом виявлене достовірне коливання вмісту ЖК в складі мембран еритроцитів. У носіїв *Pro12Pro* генотипу вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР був підвищений в 1,4 рази ( $P < 0,05$ ) відносно КГ, а із прогресуванням ДР знижувався в 7,5 разів ( $P < 0,05$ ). У носіїв алелі *12Ala* вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР був в 2 рази меншим ніж в КГ ( $P < 0,05$ ) і поступово зменшувався із прогресуванням ДР.

Найефективнішим шляхом розробки терапевтичних схем, харчових та поведінкових рекомендацій для запобігання прогресуванню ДР у пацієнтів з ЦД2 є вивчення фенотипових особливостей, які базуються на специфічності генетично детермінованих механізмів. Відмінності поведінкового характеру у осіб із різним *PPARG*-залежним фенотипом можуть бути пояснені генетично обґрунтованими особливостями регуляції обміну речовин, схильністю до вживання деяких продуктів, відмінністю регуляторних впливів на жирову тканину, механізмами забезпечення енергетичним субстратом печінки та скелетної мускулатури.

### Основні положення розділу опубліковано в роботах [162, 165]:

1. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «*PPARG*-залежні відмінності енергетичного субстрату у пацієнтів із різними стадіями діабетичної ретинопатії

хворих на цукровий діабет 2 типу.» *Офтальмологический журнал*, №6, 2019, сс. 7-14.

2. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Поведінкові та генетично детерміновані відмінності у хворих на цукровий діабет 2 типу, ускладнений ретинопатією із різним *PPARG*-залежним фенотипом.» *Медична наука України*, №15(3-4), 2019, С.39-47.

## РОЗДІЛ 7

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я ЦД2 складає біля 90% всіх випадків цукрового діабету і входить в число 10 провідних причин смерті в усьому світі. У звіті Міжнародної федерації діабету (IDF) прогнозується значне збільшення випадків діабету, а до 2045 року очікується, що загалом 629 мільйонів дорослих будуть діабетиками [136,62].

Діабетична ретинопатія (ДР) – це ускладнення цукрового діабету, що зустрічається найчастіше і залишається провідною причиною втрати зору [170]. Етіологія і патофізіологія ДР широко вивчаються протягом півстоліття, але досі бракує ефективних терапевтичних схем успішної корекції патологічного стану та запобігання його погіршення й прогресування [23]. Переважна більшість пацієнтів з діабетичними ураженнями сітківки — це хворі на ЦД 2-го типу (ЦД2). У пацієнтів хворих на ЦД 1 типу дуже рідко виявляються діабетичні зміни сітківки під час встановлення діагнозу. Але після двох десятиріч років за спостереженнями дослідників, у більшості пацієнтів з'являються пошкодження сітківки, із них біля 2/3 з проліферативною стадією. Дослідження щодо особливостей мікросудинних ускладнень у хворих на ЦД2 показали, що у більшості (2/3) хворих із ЦД2 мала місце ДР [153]. Серед хворих із ДР частота зустрічальності непроліферативної ДР (НПДР) та проліферативної ДР (ПДР) співвідносилися як 1 : 1. Серед цієї категорії хворих переважали жінки. Зростання тривалості ЦД2 у групах хворих вказувало на послідовність розвитку патологічного процесу. З'ясовано, що в середньому через 5 років у хворих на ЦД2 ретинопатії ще нема, тоді як через 8 років виявляються ознаки НПДР, а через 11 років – ознаки ПДР. Гострота зору у хворих за групами поступово знижувалася, тоді як внутрішньоочний тиск підвищився, особливо у хворих із наявністю ДР. НПДР, а більшою мірою ПДР характеризувалися потовщенням сітківки ока, що реалізувалося внаслідок розвитку патологічних процесів і прогресуванням її набряку [153].

У патогенезі ДР та інших судинних ускладнень, що виникають на тлі гіперглікемії, дисфункція судинного ендотелію розглядається як важливий фактор ушкодження. Ендотеліальна дисфункція добре відома у пацієнтів з гіперхолестеринемією, а перекисне окислення ліпідів у судинній стінці призводить до локальної продукції активних форм радикалів, які опосередковують рекрутування макрофагів, клітинну активацію та проліферацію, а також хімічну модифікацію судинних білків за рахунок кінцевих продуктів ліпоксидзації.

Таким чином, гіперліпідемія за рахунок ендотеліальної дисфункції може сприяти розвитку ДР, макулярному набряку і порушенню гематоретинального бар'єру крові, що призводить до ексудації ліпідів і ліпопротеїдів сироватки [9,22]. Водночас в літературі є суперечливі повідомлення про вплив ліпідного профілю на ретинопатію або макулопатію.

У дослідженні виявили значну кореляцію між HbA1c і загальним холестерином, але не було жодної асоціації між сироватковими ліпідами і ДР [20]. Відсутність асоціації ліпідного профілю з тяжкістю ДР в цьому дослідженні, як і з даними багатонаціонального дослідження атеросклерозу, не виявляють зв'язок між ДР та сироватковими ліпідами, перебігом діабету, ожирінням та способом життя [9]. Навпаки, Rema et al. у дослідженні Chennai Urban Rural Epidemiology Study, показали, що середні рівні холестерину, тригліцеридів і ЛПНЩ були вищими у пацієнтів з ДР порівняно з тими, які не мали ДР. Однак достовірна кореляція була виявлена лише із вмістом тригліцеридів [96].

За нашими даними, у пацієнтів, які не мали діагностованого ЦД2, але в них виявлені метаболічні розлади у вигляді достовірного підвищення глюкози, глікованого гемоглобіну, тригліцеридів, холестерину, ЛПНЩ тощо, виявлено лише незначне коливання жирнокислотного спектру мембран еритроцитів у вигляді підвищення ННЖК та ПНЖК. У пацієнтів із розвинутим ЦД2, ускладненим ДР навпаки показники загального холестерину, ЛПНЩ, ЛПВЩ та тригліцеридів не мали достовірної різниці у порівнянні зі здоровими особами. Основною відмінністю ліпідного обміну пацієнтів з ускладненим тривалим ЦД2 та здорових осіб була суттєва різниця перерозподілу вмісту ЖК в мембранах еритроцитів у вигляді

підвищення «насиченості». Вміст насичених ЖК (НЖК) у пацієнтів з ДР був вище ніж в КГ: пальмітинової (C:16) в 1,5 рази, міристинової (C:14), пентадеканової (C:15) та маргаринової (C:17) в 2 рази ( $P < 0,05$ ). Вміст насиченої стеаринової (C:18) ЖК достовірно не змінювався. Вміст ненасичених ЖК (ННЖК) змінювався різнонаправлено: зменшився вміст лінолевої (C18:2) та арахідонової (C20:4) відповідно в 1,5-1,7 разів. Вміст ліноленової (C18:3) підвищувався в 2 рази, а вміст олеїнової (C18:1) достовірно не змінювався [157].

Ми вважаємо, що незначне підвищенням ННЖК та поліненасичених ЖК в складі клітинних мембран, можна розглядати як певний протекторний механізм щодо поглиблення та ускладнення метаболічних порушень, оскільки ЖК є сильними природними стимуляторами неушкоджених  $\beta$ -клітин підшлункової залози, що запобігає розвитку резистентності до інсуліну.

Біохімічні зміни в мембранах еритроцитів відіграють ключову роль у патофізіології ЦД2 і ДР, оскільки вони змінюють проникність і в'язкопружні властивості мембран [71, 59, 116, 160]. Прямим наслідком цього є зменшення спроможності до деформації еритроцитів, що зменшує кровотік у мікрокапілярах [71]. Ця гіпотеза була підтверджена роботами про зв'язок між зниженою спроможністю еритроцитів до деформації і мікросудинними ускладненнями у хворих на цукровий діабет [25, 158]. Koehrer et al. вивчали особливості жирнокислотного спектру мембрани еритроцитів у пацієнтів із різним ступенем ушкодження сітківки. Автори показали, що в еритроцитах хворих на цукровий діабет з ДР або без неї спостерігалася значне зниження рівнів докозагексасенової кислоти та арахідонової кислоти [68].

ЦД2 супроводжується підвищенням рівню глюкози із-за некомпенсованого створення інсуліну та утилізації глюкози. Нездоровий спосіб життя, знижена фізична активність і продукти з надмірним вмістом жиру, в тому числі рафінованих вуглеводів, асоціюється з підвищеним ризиком розвитку ЦД2 через зниження чутливості клітин до інсуліну та подальшу недостатність функції  $\beta$ -клітин [12]. Хоча дотримання здорового способу життя, використання гіполіпідемічних і гіпоглікемічних препаратів залишається ефективним для зменшення

інсулінорезистентного (ІР) стану, зростаюча захворюваність на метаболічний синдром вимагає подальшого вивчення патологічних механізмів, залучених в розвиток ІР [157].

Пліч-о-пліч із порушенням характеру харчування, яке призводить до розвитку ожиріння, вивчалися інші фактори ризику ЦД2 та його ускладнень, і ДР в тому числі. Епідеміологічні докази були зібрані у США з трьох великих когорт медичних працівників, які надали важливу інформацію про роль загальної дієти, окремих харчових продуктів і поживних речовин, геному, способу життя, фізичної активності тощо у розвитку цих станів [3].

Не менш цікавими є дослідження інших факторів способу життя, що сприяють розвитку ускладнень ЦД2. Виявлено, що жінки, які працювали протягом тривалого періоду на позмінній роботі, мали вищий ризик розвитку ЦД2 порівняно з жінками, які не змінювали режим роботи, потенційно через deregulation глікози через порушення функції сну [87]. Виявлена пряма залежність між тривалістю робочої зміни та ризиком ЦД2, а частина випадків була опосередкована збільшенням маси тіла. Тривалість добового сну була пов'язана з підвищеним ризиком захворюваності на цукровий діабет.

Заслужують уваги дослідження, що присвячені впливу фізичних навантажень на рівень глікози в крові, ефективність і механізми її поглинання тканинами [101, 84]. Фізичні вправи, як важливий елемент профілактики та лікування цукрового діабету, відзначають швидкий або тривалий вплив на транспорт глікози та пов'язані із ним запальні сигнальні шляхи. Вправи можуть стимулювати молекулярні сигнальні шляхи, що призводять до транспортування глікози в клітину. [76].

Аналіз харчових звичок, який ми провели у пацієнтів з різною стадією ДР виявив, що недостатність вживання фруктів і відмова від збагачення їжі овочами знаходиться в прямій залежності із захворюванням на ЦД2, із його ускладненням у вигляді прогресування ДР. Отримані результати збігаються із думкою авторів широкомасштабного дослідження [49], які вивчали асоціацію харчового споживання флавонолу та флавону з ЦД2, біомаркерів ІР, системного запалення. Вчені виявили,

що жоден з загальних флавонолів та флавонів, кверцетин, кемпферол, мірицетин, апігенін та лютеолін не був суттєво пов'язаний з ризиком ЦД2. Але серед продуктів, багатих на флавоноїди, зменшене споживання яблук і чаю було пов'язане з ризиком діабету. Жінки, які споживали більше одного яблука в день, показали значне і достовірне зниження ризику розвитку ЦД2 на 28 % порівняно з тими, хто не споживав яблук. Споживання чаю також було зворотно пов'язане з ризиком діабету, але з меншою тенденцією ( $\geq 4$  чашки в день) [43].

Вплив харчового жиру у прогресуванні ЦД2 досліджувався протягом багато років. Kinsell et al. (1959) ймовірно, першими, повідомили про те, що споживання жиру може впливати на дію інсуліну у людей [67]. Найпоширенішими харчовими ЖК є олеїнова кислота, лінолева кислота, пальмітинова кислота та стеаринова кислота, саме вони у більшій мірі знаходяться в плазмі крові і в ліпідах тканин, як основні («мажорні»). Склад ЖК харчового раціону в значній мірі визначає відносну доступність і зберігання ЖК в клітинах тканин [78], що може мати важливу роль у збільшенні чутливості до інсуліну та зменшення прогресування діабету та ускладнень від нього [35, 36, 99,]. ЖК, які не можуть бути синтезовані ендогенно з вуглеводів, є найкращими біомаркерами. До них відносяться ПНЖК, як-от лінолева кислота (n-6) та  $\alpha$ -ліноленова кислота (n-3), а також транс-жирні кислоти та непарні номерні НЖК, наприклад, C15:0 та C17:0. І навпаки, насичені мононенасичені ЖК, як правило, вважаються слабкими біомаркерами, оскільки вони відображають не тільки споживання через їжу, але й ліпогенез *de novo*. Передбачається, що перехід від омега-3 до омега-6 ЖК під час діабетичної дисліпідемії, викликає підвищення рівня біологічно активних ліпідів і сприяє протизапальній відповіді, що спостерігається на ранніх стадіях ДР. Недавнє клінічне дослідження Prevención con Dieta Mediterránea (PREDIMED) продемонструвало, що вживання у їжу довголанцюгових ЖК омега-3 знижує ризик ДР у пацієнтів з ЦД2 [105].

Попри те, що існують дані про вплив продуктів (жиру або олії) у раціоні на експресію транскрипційних факторів, що беруть участь в ліпогенезі і окисленні жирних кислот, а також деяких цільових генів у печінці [126, 19], ми не виявили залежності між вмістом різних типів ЖК у мембранах клітин та особливостями

раціону харчування за даними опитування та анкет пацієнтів (рис. 7.1). За нашими даними, вживання продуктів харчування (джерел НЖК та ПНЖК) схоже у всіх обстежених осіб. Вважаємо, що особливості збігання харчових уподобань і однотипність харчування осіб без діабету та пацієнтів з ЦД2 пояснюються існуючими загальнонаціональними харчовими традиціями та звичками.

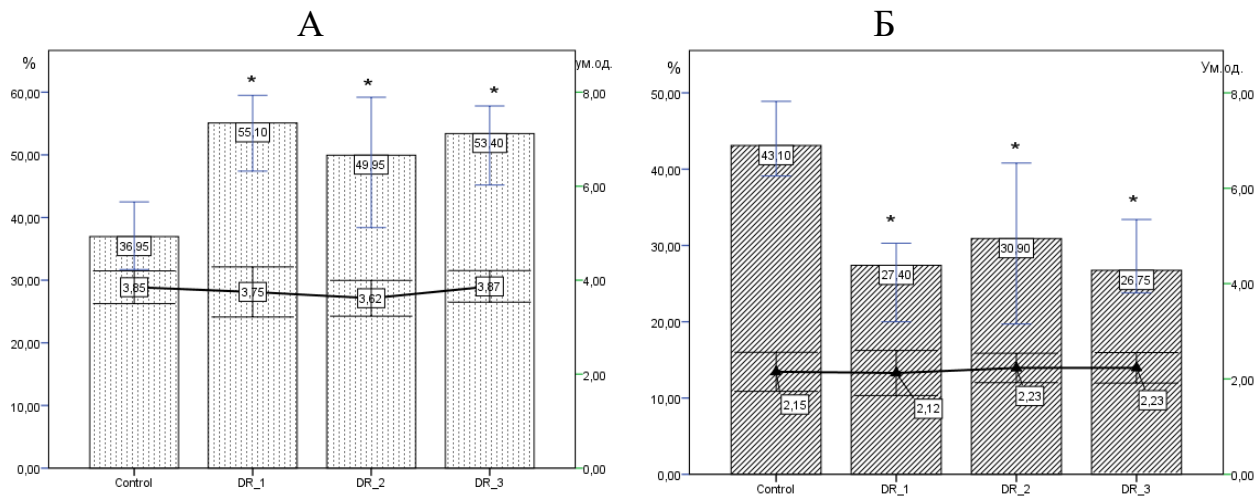


Рис. 7.1. Зіставлення вмісту ЖК (%) у мембранах еритроцитів (стовпчики, ліва шкала) з показником «раціональності вживання ЖК» (лінія, права шкала, ум. од.) у осіб без ЦД та хворих із різним ступенем ДР. Фрагмент А — за вмістом НЖК, Б — ПНЖК, де \* — відмінність з КГ

Взагалі при інтерпретації даних щодо зв'язку між особливістю харчування та діабетом треба враховувати інтерференцію кількох факторів: зміни дієти внаслідок ожиріння, неможливості провести детальні коригування для ожиріння, виключити вплив лікарських засобів, особливостей способу життя, професії, фізичної активності тощо. Попри значну кількість досліджень, ряд позицій носять суперечливий вигляд. Вірогідно, не існує універсальної дієтичної стратегії запобігання діабету, оскільки проблема виникнення мікросудинних ускладнень на тлі гіперглікемії набагато глибша ніж дотримання відповідного харчового раціону, вона включає як поведінкові особливості людини, так і генетично детерміновані механізми метаболізму [161, 163, 76].

Вивчення експресії L-FABP, як ендогенного фактору впливу на метаболізм ліпідів у пацієнтів з ЦД2 із ДР, підтверджує важливу регуляторну роль протеїну у

забезпеченні внутрішньоклітинних механізмів розподілу ЖК. Можна думати, що початок розвитку ЦД2 має чітку кореляцію із підвищенням рівня L-FABP, що виникає у відповідь на переключення клітин організму на інший вид енергетичного «палива» — ЖК, оскільки ІР зменшує можливість використання глюкози. За нашими даними, процес адаптації до зміни енергетичного метаболізму у групі ДР-1 супроводжується суттєвою дисперсією показників у пацієнтів, що вірогідно відображає їхні індивідуальні особливості. Подальше прогресування ЦД2 (у пацієнтів групи ДР-2 складала в середньому 15, а у ДР-3 — 18 років) вірогідно викликає адаптацію організму до гіперглікемії і використання ЖК як основних джерел енергії. Їх рівень дещо стабілізується і зменшується розбіжність у групі. Подібне зменшення L-FABP ми раніше виявили у відносно здорових осіб, які мали підвищення сироваткового рівня глюкози і ліпідів, але їхні метаболічні розлади не розвинулися до ЦД2.

Ми висловили думку, що вірогідно, за певних умов, при наявності метаболічних зсувів, саме зменшення експресії L-FABP запобігає розвитку ожиріння і діабету. Відносно досліджуваних груп пацієнтів з ДР, також можна припустити, що зменшення експресії L-FABP є стримуючим фактором для розвитку і прогресування ДР на тлі ЦД2. Однак, у групі ДР-3 із тяжкою прогресуючою формою ДР, як мікросудинного ускладнення ЦД2, рівень L-FABP знову підвищується без суттєвої дисперсії, і вірогідно, є підтвердженням токсичного впливу неетерифікованих довголанцюгових ЖК, що пов'язані з діабетом, і багатьох інших метаболітів ЖК: продуктів окиснення, простагландинів, ліпоксигеназ, ретиноїдів тощо [58, 29, 132].

Ядерний транскрипційний фактор *PPARG* (англ., peroxisome proliferator-activated receptor) викликає у дослідників найбільший інтерес, як приваблива терапевтична мішень для впливу на захворювання, важливим патогенетичним фактором яких є дисліпідемія та ІР, метаболічний синдром (МС), ЦД2, ожиріння тощо [2, 37, 50, 71, 94]. Існує багато епідеміологічних досліджень, відносно частоти зустрічаємості гетерозиготного та гомозиготного поліморфізму гена *PPARG* серед різних груп населення та асоціації їх із метаболічними порушеннями. За нашими даними, в КГ носіями алелі *12Ala* були 18 осіб (45 %), з них 3 (7,5 %) — носії

гомозиготи. Серед хворих на ЦД2 носіїв алелі *12Ala* було 33 особи (33 %), із них лише у 1 (1 %) виявлена мінорна гомозигота. За даними інших дослідників [149] також показано, що пацієнти із метаболічними розладами в українській популяції мають переважно дикий генотип *Pro12Pro*, і навіть висловлена думка про протекторну роль алелі *12Ala* у розвитку ЦД та МС. Аналіз розподілу частоти зустрічаємості алелей і генотипів гена *PPARG* в групах пацієнтів із різною стадією ДР також показав зменшення носіїв поліморфізму гена в групі ДР-1 та ДР-2 відносно КГ, але достовірна різниця виявлена лише між КГ та групою ДР-3. Проте, ми виявили у осіб із різним *PPARG*-залежним фенотипом і різною стадією ДР суттєву розбіжність вмісту ЖК в мембранах клітин, як основного енергетичного субстрату організму, а також важливого внутрішньоклітинного шаперону FABP. Цей факт орієнтує нас розглядати фактори, які впливають на особливість розвитку метаболічних порушень, зокрема ЦД2, а також генетично детерміновану схильність до розвитку ДР та інших мікросудинних ускладнень діабету.

*PPARG* фізично взаємодіють із FABP, особливо із печінковою формою (L-FABP), і вважається, що L-FABP є коактиватором регуляції генів, опосередкованих *PPAR*, тому здатність FABP модулювати ліпідну сигналізацію може бути використана для розробки ліків, вдосконалення терапевтичних чи профілактичних засобів метаболічних захворювань, а також для контролю активності їх мішеней, як-от рецептори ядерних гормонів [Petr 2018, Grimaldi, Furuhashi]. Але залишається нез'ясованим, як пов'язана експресія протеїнів L-FABP у хворих на ДР в залежності від їхнього *PPARG* генотипу, та механізми, які реалізуються на основі вказаних регуляторних ланок. І головне, як поглиблення вивчення тонких патогенетичних процесів порушення ліпідного метаболізму може відкрити шлях до розробки найбільш обґрунтованих терапевтичних стратегій.

Отримані результати надали нам підставу доповнити традиційну концепцію про низькоінтенсивне хронічне системне запалення на тлі ІР та ЦД2, що сприяє пошкодженню ендотелію та викликає мікросудинні ускладнення, зокрема ДР, новітнім поглядом щодо суттєвих відмінностей реалізації патогенетичних ланок у пацієнтів із різним генотипом гена *PPARG*.

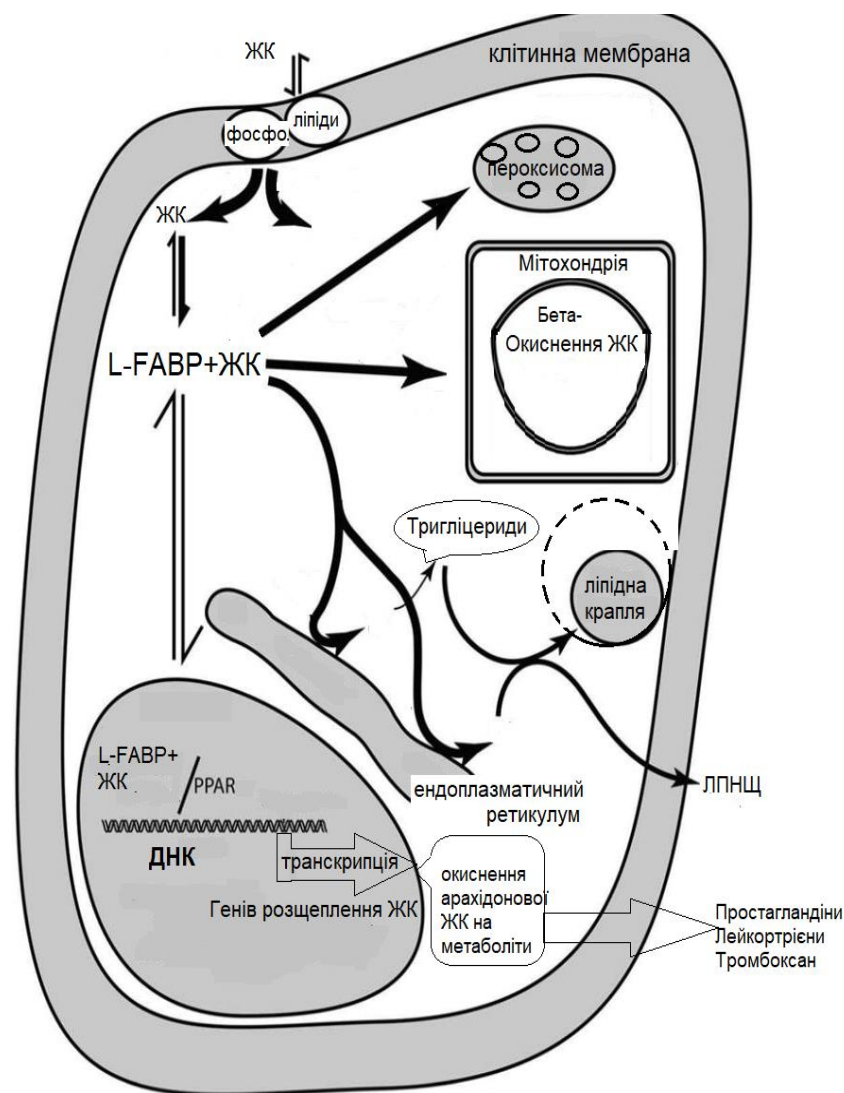


Рис. 7.2. Схема циркуляції в клітині ЖК, зв'язаних із L-FABP, за класичним шляхом *PPARG*-залежного механізму та при його порушенні. Пояснення в тексті.  
(перероблено та доповнено Atshaves et al, 2010 [4])

Класичний шлях використання ЖК (рис. 7.2), що надійшли до цитозолу клітини, в клітині реалізується через їх зв'язування із головним внутрішньоклітинним шапероном L-FABP. Протеїн розподіляє отриманий енергетичний субстрат по сайтах (мітохондріях, ендоплазматичному ретикулумі, пероксисомах та ліпідних краплях) [4]. Peng X.E. також показали позитивний зв'язок L-FABP у сироватці крові із рівні тригліцеридів у сироватці [91]. Але головний сигнал про наявність ЖК в клітині та необхідність їх утилізації надходить до ядра, оскільки L-FABP фізично пов'язаний із рецепторами *PPARG* для ініціації

транскрипції ділянок ДНК відповідних генів із подальшим синтезом в клітині протеїнів, які забезпечують метаболізм ЖК.

Для підтримання фізіологічного балансу ліпідного обміну, в організм надходить саме та кількість ЖК, яка йому потрібна, враховуючи енергетичні витрати. Однією із ознак перевантаження клітини ліпідами є підвищення окиснення арахідонової ЖК із зменшенням її в клітині і відповідним підвищенням рівня її метаболітів (простагландинів, лейкотрієнів тощо) в плазмі, які є маркером запалення [4, 132].

За умов виникнення певних метаболічних зсувів (наприклад у вигляді гіперглікемії), які не поглиблюються розвитком ЦД2, підвищується надходження ЖК до клітини. Водночас для компенсації дисбалансу і запобігання виникненню запалення зменшується експресія протеїну L-FABP. Класичний шлях транскрипції генів, білків-маркерів запалення пригнічується. І відбувається перетворення підвищеної кількості ЖК в інших органелах. Маркером цих змін є незначне підвищення холестерину, ЛПНЩ, тригліцеридів [91]. Вірогідно, в цьому механізмі зменшення L-FABP відіграє протекторну роль і запалення не виникає.

За умов розвитку ІР, коли в клітині тривалий час бракує глюкози, система змінює шлях енергопостачання на бета-окиснення і виникають умови підвищеного надходження ЖК в клітину. Звичайний харчовий раціон збагачений насиченими ЖК, особливо пальмітиною, яка є стимулятором експресії L-FABP, тому значно підвищується експресія шаперону L-FABP. Комплекс L-FABP+ЖК через взаємодію із рецепторами пероксисом активує *PPARG*-залежну транскрипцію в ядрі і клітина починає активно переробляти ЖК. Поясненням виявленого нами підвищення у хворих групи ДР-1 співвідношення С 20:4/18:2, і самої арахідонової ЖК ми вважаємо підвищення синтезу арахідонової ЖК із попередника — лінолевої ЖК (рис. 7.3). З часом спостерігається поглиблення ступеню ушкодження сітківки у хворих групи ДР-2 та ДР-3, що характеризується зменшенням вмісту арахідонової ЖК в мембрані клітини. Вірогідно, активація циклооксигеназного та ліпооксигеназного шляхів перетворення арахідонової ЖК призводить до

підвищення в плазмі простагландинів, лейкотрієнів, тромбоксану, а це, в свою чергу, поглиблює стан запалення, яке стає хронічним.

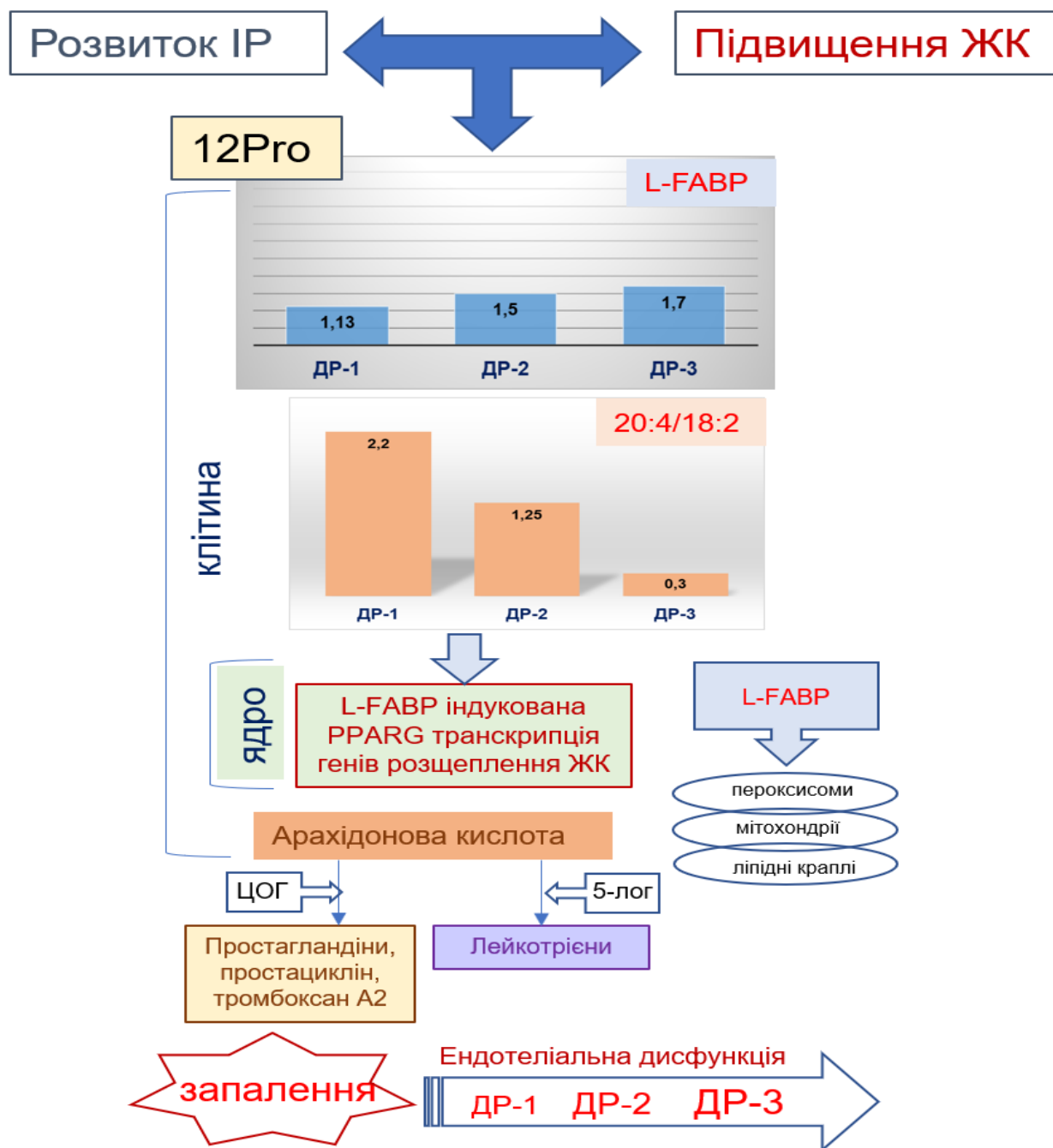


Рис. 7.3. Схема патогенетичних механізмів розвитку та прогресування ДР у пацієнтів з диким генотипом *PPARG* через класичний шлях *PPARG*-залежної транскрипції генів запалення. Примітка: В діаграмах вказаний ступінь зміни L-FABP та співвідношення 20:4/18:2 відносно відповідного показника КГ. ЦОГ — циклооксигеназа, ЛОГ — ліпооксигеназа

Вплив вказаних сполук на стан ендотелію описаний та доведено, що ушкодження мікроциркуляції виникає за рахунок вазоконстрикції, підвищення агрегації тромбоцитів та порушення властивостей стінки капілярів [128, 22, 155].

Ми вважаємо, що вказаний механізм активно реалізується у осіб, які мають дикий генотип *PPARG* гена (рис. 7.3). Тому, ми виявили у носіїв дикого поліморфізму різке збільшення арахідонової ЖК на стадії ДР-1 із поступовим її зменшенням із поглибленням ДР на тлі хронічного запалення. На схемі вказано співвідношення C20:4/18:2 у розрахунку відносно цього ж показника в КГ. Виявлено, що продукція арахідонової ЖК, як субстрату із її попередника лінолевої різко збільшується в 2,2 рази, а потім, з поглибленням ДР поступово зменшується. І на стадії ДР-3 співвідношення C20:4/18:2 є критично малим, як і вміст самої арахідонової ЖК, оскільки, відомо, що саме цей стан у хворих супроводжується тривалим хронічним запаленням та розвитком ендотеліальної дисфункції. Експресія L-FABP знаходиться у зворотному зв'язку із показником кількості арахідонової ЖК, оскільки, за нашою гіпотезою, протеїн активно використовується через комплекси L-FABP+ЖК, які активують транскрипційні процеси в ядрі. Поступово кількість субстрату у вигляді C 20:4, який клітина перетворює на метаболіти, зменшується, а кількість протеїну навпаки збільшується. Для носіїв поліморфізму (12Ala) гена *PPARG*, характерний інший «сценарій» (рис. 7.4).

За рахунок мутації, ступінь транскрипції відповідних генів на стимуляцію комплексу L-FABP+ЖК змінена, і вірогідно, механізм окиснення арахідонової ЖК суттєво зменшений. Ми виявили зменшення арахідонової ЖК у осіб з поліморфізмом у порівнянні із носіями дикого генотипу як в КГ, так і в групах хворих на ДР. Співвідношення C20:4/18:2 на стадії ДР-1, ДР-2 практично не відрізняється від показників КГ.

Водночас підвищене надходження ЖК викликає у носіїв поліморфізму підвищену експресію L-FABP та накопичення протеїну в клітині. На стадії ДР-1 експресія L-FABP підвищена в 4 рази. Вірогідно, інгібований *PPARG*-залежний механізм утилізації ЖК викликає активацію окислення ЖК в інших сайтах клітини. Так, у носіїв поліморфізму, хворих на ДР, ми виявили підвищення тригліцеридів та

**Розвиток ІР** ↔ **Підвищення ЖК**

**12Ala**

**L-FABP**

| Група | Висота стовпчика |
|-------|------------------|
| ДР-1  | 4                |
| ДР-2  | 2,36             |
| ДР-3  | 1,7              |

**20:4/18:2**

| Група | Висота стовпчика |
|-------|------------------|
| ДР-1  | 1,3              |
| ДР-2  | 1,2              |
| ДР-3  | 0,4              |

**клітина**

**L-FABP**

**пероксисоми**

**АФК**

**ЛПНЩ**

**Тригліцериди**

**Окисидативний стрес**

**Ендотеліальна дисфункція**

**ДР-1 ДР-2 ДР-3**

**ядро**

**L-FABP індукована PPARγ транскрипція генів розщеплення ЖК**

**Арахідонова кислота**

**ЦОГ**

**Простагландіни, простаглілін, тромбосан A2**

**5-лог**

**Лейкотрієни**

діальдегід та дієнові кон'югати), а також відкладення ЖК в ліпідних краплях [115, 132, 150, 156].

127

про малу значимість ОС, як патогенетичного фактору ЦД2 у людини [56]. Пізніше в дослідженні A.O. Odegaard і співавт. (2016) був підтверджений кореляційний зв'язок біомаркерів ОС (окислені ліпопротеїди низької щільності і ізопростан- $F_2$ ) з ЦД2 [85]. ОС в умовах глюकोліпотоксичності викликає реакції вільного радикального перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [122] з накопиченням первинних — дієнових кон'югатів (ДК) і вторинних — малонового діальдегід тощо, продуктів пероксидативного розщеплення фосфоліпідів [145, 167].

Отже, за нашими знахідками та аналізом літератури можна зробити висновок, що розвиток та поглиблення ендотеліальної дисфункції у пацієнтів з ДР на тлі ЦД2 має різні шляхи розвитку на рівні внутрішньоклітинних механізмів залежно від *PPARG*-генотипу.

У носіїв дикого *PPARG* генотипу ДР, як ускладнення ЦД2, виникає в результаті хронічного запалення за рахунок *PPARG*-залежної транскрипції генів, експресії ферментів, що окислюють арахідонову ЖК, синтезу метаболітів, які впливають на стан ендотелію, тромбоцитів, систему згортання крові тощо.

У пацієнтів носіїв поліморфізму гена *PPARG* гальмується *PPARG*-залежна транскрипція генів і ЖК утилізуються в клітині за рахунок впливу інших L-FABP механізмів, що призводить до активації прямого пероксисомного окиснення та поглиблення запалення через оксидативний стрес.

Таке уявлення про механізми розвитку ДР у пацієнтів з ЦД2 та різним *PPARG* генотипом суттєво поглиблює наше розуміння патогенезу мікроциркуляторних ускладнень, що виникають на тлі гіперглікемії, дисліпідемії за участю регуляторного шаперону L-FABP, який в комплексі із ЖК активує *PPARG*-залежну транскрипцію генів для утилізації ЖК внутрішньоклітинних ліпідів. Відомо, що хронічне запалення та ОС на тлі ЦД2 є важливими чинниками розвитку мікроциркуляторних ускладнень, але виявлена нами різниця у ступені впливу вказаних патогенетичних механізмів, їх послідовності та вираженості з часом у пацієнтів із різним *PPARG* генотипом дає підставу сформулювати найбільш раціональні персоніфіковані схеми ведення пацієнтів із різною стадією ДР і запобігати поглибленню ушкодження сітківки.

Вказані фактори можуть впливати на особливості поведінки хворих, їхню адаптацію до лікування і схем корекції. Ці особливості необхідно враховувати для розробки ефективних схем лікування не тільки в групах із різною стадією ДР, тривалістю ЦД2, а також в залежності від поліморфізмів генів ключових ферментів жирового та вуглеводного обміну і забезпечують зв'язок між факторами зовнішнього середовища та внутрішніми механізмами регуляції енергетичного гомеостазу. Таким чином, наявність відмінностей поведінкового характеру у осіб із різним *PPARG*-залежним фенотипом може бути пояснена генетично детермінованими особливостями регуляції обміну речовин, схильністю до вживання деяких продуктів, відмінністю регуляторних впливів на жирову тканину, механізмами забезпечення енергетичним субстратом печінки та скелетної мускулатури.

Вважаємо, що більш ефективним шляхом розробки терапевтичних схем, харчових та поведінкових рекомендацій для запобігання прогресуванню ДР є вивчення фенотипових особливостей пацієнтів які базуються на відмінностях генетично детермінованих механізмів.

Проведене нами дослідження дозволило сформулювати концепцію про відмінність основних внутрішньоклітинних механізмів, що сприяли ендотеліальній дисфункції та прогресуванню ДР у пацієнтів з ЦД2 залежно від *PPARG*-генотипу. У носіїв *Pro12Pro* генотипу ДР, як ускладнення ЦД2, виникла в результаті хронічного запалення за рахунок *PPARG*-залежної транскрипції генів, експресії ферментів, що окиснювали арахідонову ЖК, синтезу її метаболітів, які впливали на стан ендотелію, тромбоцитів, систему згортання крові тощо. У носіїв алелі *12Ala* гальмувалася *PPARG*-залежна транскрипція генів і ЖК утилізувалися в клітині за рахунок впливу інших L-FABP механізмів, що призводило до активації прямого пероксисомного окиснення, виникнення оксидативного стресу та пошкодження ендотелію активними формами кисню.

## ВИСНОВКИ

1. Діабетична ретинопатія — найчастіше ускладнення ЦД2, є провідною причиною втрати зору. У розвитку та прогресуванні ДР пацієнтів з ЦД2 залишається невизначеною роль екзогенних впливів у вигляді порушення харчового раціону, харчових звичок, способу життя та ендогенних механізмів, залежних від протеїну L-FABP — регулятору внутрішньоклітинного ліпідного метаболізму, які базуються на відмінностях генетично детермінованих механізмів. Для підвищення ефективності прогнозування розвитку та прогресування ДР у хворих на ЦД2, обґрунтування напрямків персоніфікованої терапії є актуальним вивчення експресії L-FABP в залежності від поліморфізму гена *PPARG*.

2. Встановлено, що у групах ДР-1 та ДР-3 спостерігалось підвищення в 1,5-2 рази ( $P<0,05$ ) вмісту НЖК і відповідне зниження ННЖК за рахунок поліненасичених ЖК, а в групі ДР-2 спостерігався практично рівний вміст НЖК та ННЖК. У пацієнтів з ДР та ЦД2 при оцінці ліпідного обміну найбільшу інформативність мав аналіз вмісту жирних кислот еритроцитарних мембран. Вміст насичених ЖК був вище ніж в КГ: пальмітинової (C:16) в 1,5 рази, міристинової (C:14), пентадеканової (C:15) та маргаринової (C:17) в 2 рази ( $P<0,05$ ). Вміст ненасичених ЖК змінювався різнонаправлено: зменшувався вміст лінолевої (C18:2) та арахідонової (C20:4) відповідно в 1,5-1,7 разів. Вміст ліноленової (C18:3) був підвищений в 2 рази. Показники загального холестерину, тригліцеридів, ЛПНЩ, ЛПВЩ не мали достовірної різниці у порівнянні зі здоровими особами.

3. За звичками СЖ пацієнти із ЦД2 суттєво відрізнялися від людей тієї ж вікової групи без діабету. Особи КГ у порівнянні із пацієнтами виконували додаткові фізичні вправи в 9 разів більше ( $P<0,05$ ), щоденно вживали 1,5-2 літри води в 4,6 рази більше ( $P<0,05$ ), а фруктів та овочів в 2 рази більше ( $P<0,05$ ). Недостатність вживання фруктів і овочів знаходиться в прямій залежності зі стадією прогресування ДР, на відміну від додаткових фізичних вправ та звички до щоденного вживання води, звичок, які не корелювали із прогресуванням ДР. Вживання у їжу продуктів-джерел різних ЖК за розрахованим показником

«раціональності споживання продуктів», що був отриманий при аналізі анкет харчування, суттєво не відрізнялося у осіб КГ та пацієнтів з різним ступенем ДР.

4. У пацієнтів із ДР та ЦД2 виявлено достовірне підвищення сироваткового рівня L-FABP. У групі ДР-1 вміст протеїну був в 1,5 рази вище ( $P < 0,05$ ) ніж у КГ, в групі ДР-2 в 1,3 рази, а в групі ДР-3 в 1,7 разів вище ( $P < 0,05$ ) КГ. У носіїв *Pro12Pro PPARG* генотипу із прогресуванням ДР спостерігалось поступове підвищення протеїну L-FABP. У носіїв алелі *12Ala* виникнення ДР супроводжувалося 4-разовим підвищенням ( $P < 0,05$ ) шаперону, а прогресування ДР супроводжувалося поступовим зменшенням його вмісту.

5. У пацієнтів з ДР та ЦД2 найбільш ефективним шляхом корекції гіперглікемії на всіх стадіях розвитку ДР виявився прийом інсуліну в таблетованих формах; більшу стабільність у досягненні цільового рівня глюкози крові виявлено у носіїв алелі *12Ala* гена *PPARG*. За раціональністю харчування та СЖ носії *Pro12Pro* генотипу не відрізнялися від осіб КГ. Носіям алелі *12Ala* було притаманно на початку захворювання нехтування харчовими рекомендаціями, але із прогресуванням ДР свідомість у правильному харчуванні зростала в 2 рази ( $P < 0,05$ ), водночас їхній СЖ був менш раціональним ніж у носіїв *Pro12Pro* генотипу, а тривалість ЦД2 і розвиток ДР ще в 2-3 рази знижувала ( $P < 0,05$ ) прагнення до здорового СЖ.

6. У пацієнтів з ЦД2 і різним *PPARG*-залежним фенотипом виявлене достовірне коливання вмісту ЖК в складі мембран еритроцитів. У носіїв *Pro12Pro* генотипу вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР був підвищений в 1,4 рази ( $P < 0,05$ ) відносно КГ, а із прогресуванням ДР знижувався в 7,5 разів ( $P < 0,05$ ). У носіїв алелі *12Ala* вміст арахідонової ЖК на початку розвитку ДР був в 2 рази нижчим ніж в КГ ( $P < 0,05$ ) і поступово знижувався із прогресуванням ДР.

7. Найефективнішим шляхом розробки терапевтичних схем, харчових та поведінкових рекомендацій для запобігання прогресуванню ДР у пацієнтів з ЦД2 є вивчення фенотипових особливостей, які базуються на специфічності генетично детермінованих механізмів. Відмінності поведінкового характеру у осіб із різним *PPARG*-залежним фенотипом можуть бути пояснені генетично обґрунтованими

особливостями регуляції обміну речовин, схильністю до вживання деяких продуктів, відмінністю регуляторних впливів на жирову тканину, механізмами забезпечення енергетичним субстратом печінки та скелетної мускулатури.

8. Основні практичні положення дисертації впроваджені в практичну діяльність КНП «Чернігівська обласна лікарня», криворізького філіалу КП «Дніпропетровська обласна клінічна офтальмологічна лікарня», КНП «Чернігівська міська лікарня № 2», КНП «Чернігівська районна лікарня». Наукові і практичні положення дисертації були впроваджені в учбовий процес на кафедрі офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України, Дніпропетровської медичної академії МОЗ України, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Одеського національного медичного університету МОЗ України, на базі Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України, на кафедрі біологічної та біоорганічної хімії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Рекомендується розроблення терапевтичних схем, харчових та поведінкових рекомендацій для запобігання прогресуванню ДР із урахуванням фенотипових особливостей пацієнтів з ЦД2, які базуються на відмінностях генетично детермінованих механізмів. У носіїв *Pro12Pro* генотипу ДР, як ускладнення ЦД2, виникає в результаті хронічного запалення за рахунок *PPARG*-залежної транскрипції генів, експресії ферментів, що окислюють арахідонову ЖК, синтезу її метаболітів, які впливають на стан ендотелію, тромбоцитів, систему згортання крові тощо. У носіїв алелі *12Ala* гальмується *PPARG*-залежна транскрипція генів і ЖК утилізуються в клітині за рахунок впливу інших L-FABP механізмів, що призводить до активації прямого пероксисомного окислення, виникнення оксидативного стресу та пошкодження ендотелію активними формами кисню.

2. Рекомендується при оцінці ліпідного обміну пацієнтів з ДР на тлі ЦД2 враховувати, що показники загального холестерину, ліпопротеїдів та тригліцеридів не мають достовірної різниці у порівнянні зі здоровими особами. Основною відмінністю ліпідного обміну пацієнтів з ускладненим тривалим ЦД2 та здорових осіб є суттєва різниця перерозподілу вмісту ЖК в мембранах еритроцитів у вигляді підвищення вмісту насичених ЖК. Зміна складу ЖК в клітинних мембранах визначає основні структурні пошкодження клітин при тривалому ЦД 2 типу і відображає ступінь порушення ліпідного обміну, навіть при незмінних показниках ліпідограми, що необхідно враховувати при розробці схем терапевтичного лікування хворих з ЦД.

3. Рекомендується для інтегральної кількісної оцінки показників СЖ пацієнтів з ДР на тлі ЦД2 розраховувати індекси через кількість балів, що призначаються за відповіді на запитання анкети. Для кожного досліджуваного складається таблиця відповідей. За сумою кількості відповідей А, Б, В, Г, Д і розраховується індекс раціональності способу життя (ІРСЖ) - як відношення кількості відповідей А до загальної кількості відповідей, і показник раціональності способу життя - як відношення «рекомендовано/не рекомендовано» через співвідношення суми

відповідей А та Б до суми відповідей В, Г, Д. Отримані дані дали можливість об'єктивно оцінити особливості СЖ пацієнтів з різним ступенем ДР та порівняти його із особливостями СЖ здорових добровольців.

4. Рекомендовано аналізувати раціон харчування пацієнтів з ДР на тлі ЦД2 за даними анкетування та опитування із визначенням показника «раціональності вживання ЖК» в залежності від того, наскільки раціонально, з точки зору рекомендацій харчування людина вживає різні продукти-джерела ЖК. Кожний вид продуктів обраний із урахуванням джерела ЖК, яким він є. Пацієнту необхідно вказати частоту вживання вказаних продуктів при звичайному раціоні, наприклад за останні 2 місяці. Відповіді, згідно із всесвітніми авторитетними рекомендаціями та школами дієтології, ранжують у вигляді шкали: А - рекомендовано, Б - припустимо, В - не бажано, Г - не рекомендовано, Д - вкрай не рекомендовано. Далі, для кількісної оцінки результатів, варіантам відповідей призначають бали від 1 до 5, де А - «5», а Д - «1». Таким чином, кожний пацієнт отримує кількісний бал, залежно від того, наскільки раціонально, з погляду рекомендацій харчування, він вживає різні продукти із вмістом ЖК. Сума балів визначається як показник «раціональності вживання ЖК» в умовних одиницях у кожного пацієнта, а потім і у середній групі. Такий аналіз надає можливість кількісно проаналізувати у групах особливості раціону всіх досліджуваних осіб із визначенням вживання різних видів ЖК.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Al-Delaimy W.K., Manson J.E., Willett W.C. et al. «Snoring as a risk factor for type II diabetes mellitus: a prospective study.» *Am J Epidemiol*, №155(5), 2002, pp. 387-93.
2. Altshuler D., Hirschhorn J.N., Klannemark M, et al. «The common *PPARG* Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes.» *Nat Genet* . №26, 2002, pp. 76-80.
3. Ardisson Korat A.V., Willett W.C., Hu F.B. «Diet, lifestyle, and genetic risk factors for type 2 diabetes: a review from the Nurses' Health Study, Nurses' Health Study 2, and Health Professionals' Follow-up Study.» *Nutr Rep*. №3(4), 2014, pp. 345-354.
4. Atshaves B.P., Martin G., Hostetler H.A. et al. «Liver Fatty Acid Binding Protein and Obesity.» *J Nutr Biochem*, №21(11), 2010, pp. 1015-1032.
5. Auwerx J. «*PPARG*Gamma, the ultimate thrifty gene.» *Diabetologia*, №42(9), 1999, pp. 1033-49.
6. Ayas N.T., White D.P, Al-Delaimy W.K., et al. «A prospective study of self-reported sleep duration and incident diabetes in women.» *Diabetes Care*, № 26(2), 2003, pp. 380-384.
7. Bao W., Hu F.B. Rong S, et al. «Predicting risk of type 2 diabetes mellitus with genetic risk models on the basis of established genome-wide association markers: a systematic review.» *Am J Epidemiol*, №178(8), 2013, pp. 1197-207.
8. Barnard N.D., Scialli AR, Turner-McGrievy G, et al. «The effects of a low-fat, plant-based dietary intervention on body weight, metabolism, and insulin sensitivity.» *Am J Med*, №118(9), 2005, pp. 991-997.
9. Benarous R., Sasongko M.B., Qureshi S., et al. «Differential association of serum lipids with diabetic retinopathy and diabetic macular edema.» *Invest Ophthalmol Vis Sci*, №52(10), 2011, pp. 7464-7469.
10. Benjamin S.M., Valdez R., Geiss L.S, Rolka D.B, Narayan K.M. «Estimated number of adults with prediabetes in the US in 2000: opportunities for prevention.»

*Diabetes Care*, №26, 2003, pp. 645-649.

11. Blaschke F., Takata Y., Caglayan E., et al. «Obesity, Peroxisome Proliferator-Activated Receptor, and Atherosclerosis in Type 2 Diabetes.» *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, №26, 2006, pp. 28-40.

12. Boden G., Chen X. and Iqbal N. «Acute lowering of plasma fatty acids lowers basal insulin secretion in diabetic and nondiabetic subjects.» *Diabetes*, №47(10), 1998, pp. 1609-1612.

13. Bykhovets Mykhailo / Effects of nutrition and controlled physical activity on pathogenesis of diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients //(2020), «Znanstvena misel journal» №45 p.50-56.

14. Borkman M., Storlien L.H., Pan D.A., et al. «The relation between insulin sensitivity and the fatty-acid composition of skeletal-muscle phospholipids.» *Engl J Med*, №328, 1993, pp. 238-244.

15. Brownlee M. «The pathobiology of diabetes complications: a unifying mechanism.» *Diabetes*, №54, 2005, pp. 1615-25.

16. Brynes A. E., Edwards C. M., Jadhav A. et al. «Diet-induced change in fatty acid composition of plasma triacylglycerols is not associated with change in glucagon-like peptide 1 or insulin sensitivity in people with type 2 diabetes.» *Am J Clin Nutr*, №72, 2000, pp. 1111-1118.

17. Bykhovets Mykhailo. «Studying fatty acid content in red blood cell membranes in diabetic retinopathy of type 2 diabetes patients.» *Journal of Education, Health and Sport*, №10(10), 2020, pp. 51-60.

18. Calder P.C. «Polyunsaturated fatty acids and inflammation.» *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, №75(3), 2006, pp. 197-202.

19. Camargo A., Meneses M.E., Pérez-Martínez P., et al. «Dietary fat modifies lipid metabolism in the adipose tissue of metabolic syndrome patients.» *Genes Nutr*, №9(4), 2014., pp. 409.

20. Cetin E.N., Bulgu Y., Ozdemir S., et al. «Association of serum lipid levels with diabetic retinopathy.» *Int J Ophthalmol*, №6(3), 2013, pp. 346-349.

21. Chakravarthy H., Navitskaya S., O'Reilly S. «Role of Acid Sphingomyelinase in Shifting the Balance Between Proinflammatory and Reparative Bone Marrow Cells in Diabetic Retinopathy.» *Stem Cells*, №34(4), 2016, pp. 972-983.
22. Chernobryvtsev O.P. «The endothelial dysfunction factors in diabetes mellitus 2 type.» *Journal of Education, Health and Sport formerly of Health Sciences*, №9(1), 2019, pp. 525-533.
23. Cheung N., Mitchell P., Wong T.Y. «Diabetic retinopathy.» *Lancet*. №376, 2010, pp. 124-136.
24. Chistiakov D.A. «The *PPARG*  $\gamma$  Pro12Ala variant is associated with insulin sensitivity in Russian normoglycaemic and type 2 diabetic subjects.» *Diab. Vasc. Dis. Res*, №7(1), 2010, pp. 56-62.
25. Cho Y.I., Mooney M.P., Cho D.J. «Hemorheological disorders in diabetes mellitus.» *J Diabetes Sci Technol*, №2(6), 2008, pp. 1130-1138.
26. Choromańska B., Myśliwiec P., Dadan J., Hady H.R., Chabowski A. «The clinical significance of fatty acid binding proteins.» *Postepy Hig Med Dosw*, №24(65), 2011, pp. 759-763.
27. Clarke S.D. «The multi-dimensional regulation of gene expression by fatty acids: polyunsaturated fats as nutrient sensors.» *Curr Opin Lipidol*, №15(1), 2004, pp. 13-18.
28. Cock T.A., Houten S.M., Auwerx J. «Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ : too much of a good thing causes harm» *EMBO Rep*, №5, 2004, pp. 142-147.
29. K.M, Giovanni J.P., Lofqvist C. «Increased dietary intake of  $\omega$ -3-polyunsaturated fatty acids reduces pathological retinal angiogenesis.» *Nat Med*, №13(7), 2007, pp. 868-873.
30. Cooper G. M. «The cell. A molecular approach.» *Sunderland : Boston Univ.* 2<sup>nd</sup> ed, 2000, p.739.
31. Cornelis M.C., Qi L. Zhang C., et al. «Joint effects of common genetic variants on the risk for type 2 diabetes in U.S. men and women of European ancestry.» *Ann Intern Med*, №150(8), 2009, pp. 541-550.
32. Corpeleijn E., Feskens E.J., Jansen E.H., et al. «Improvements in glucose tolerance and insulin sensitivity after lifestyle intervention are related to changes in serum fatty acid

profile and desaturase activities: the SLIM study.» *Diabetologia*, №49(10), 2006, pp. 2392-2401.

33. Costagliola C. «Oxidative state of glutathione in red blood cells and plasma of diabetic patients: in vivo and in vitro study.» *Clin. Physiol. Biochem*, №8(4), 1990, pp. 204-210.

34. Covington D.K., Briscoe C.A., Brown A.J., Jayawickreme C.K. «The G-protein-coupled receptor 40 family (GPR40-GPR43) and its role in nutrient sensing.» *Biochemical Society transactions*, №34, 2006, pp. 770-773.

35. Cundiff, D. K., & Nigg, C. R. «Diet and diabetic retinopathy: insights from the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT).» *MedGenMed : Medscape general medicine*, №7(1), 2005, p. 3.

36. De Koning L., Chiuve S.E., Fung T.T, et al. «Diet-quality scores and the risk of type 2 diabetes in men.» *Diabetes Care*, №34(5), 2011, pp. 1150-1156.

37. Deeb S.S., Fajas L., Nemoto M, Pihlajamaki J, et al., «Pro12Ala substitution in the human *PPARG2* is associated with decreased receptor activity, improved insulin sensitivity, and lowered body mass index.» *Nat Genet*, №20, 1998, pp. 284-287.

38. Dey D., Bhattacharya A., Roy S., Bhattacharya S. «Fatty acid represses insulin receptor gene expression by impairing HMGA1 through protein kinase Cepsilon.» *Biochem. Biophys. Res. Commun*, №357(2), 2007, pp. 474-479.

39. Ek J., Andersen G., Urhammer S.A, Hansen L., Carstensen B, et al. «Studies of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (*PPAR*-gamma2) gene in relation to insulin sensitivity among glucose tolerant caucasians.» *Diabetologia*, №44(9), 2001, pp. 1170-1176.

40. Enriquez Y.R., Giri M., Rottiers R., Christophe A. «Fatty acid composition of erythrocyte phospholipids is related to insulin levels, secretion and resistance in obese type 2 diabetics on Metformin.» *Clin. Chim. Acta*, №346(2), 2004, pp. 145-152.

41. Esteves A, Ehrlich R. «Invertebrate intracellular fatty acid binding proteins.» *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, №142(3-4), 2006, pp. 262-274.

42. Evans R.M. Barish G.D, Wang Y.X. «PPARS and the complex journey to obesity.» *Nat Med*, №10(4), 2004, pp. 355-361.

43. «Evidence-Based Nutrition Principles and Recommendations for the Treatment and Prevention of Diabetes and Related Complications/ American Diabetes Association.» *Diabetes Care*, №26, 2003, pp. 51-61.
44. Frota K. de M.G., Matias A.C.G., Arêas J.A.G. «Influence of food components on lipid metabolism: scenarios and perspective on the control and prevention of dyslipidemias.» *Food Science and Technology*. №30 supl.1, 2010, pp. 7-14.
45. Furuhashi M., Hotamisligil G.S. «Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets.» *Nat Rev Drug Discov*, №7(6), 2008, pp. 489.
46. Gajda A.M., Zhou Y.X., Agellon L.B. «Direct Comparison of Mice Null for Liver- or Intestinal Fatty Acid Binding Proteins Reveals Highly Divergent Phenotypic Responses to High-Fat Feeding.» *J Biol Chem*, №288 (42), 2013, pp. 30330-30344.
47. Gellert S., Schuchardt J.P., «Hahn A. Low long chain omega-3 fatty acid status in middle-aged women.» *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, №117, 2017, pp. 54-59.
48. Goris A.H., Westerterp-Plantenga M.S., Westerterp K.R. «Undereating and underreporting of habitual food intake in obese men: selective underreporting of fat intake.» *Am J Clin Nutr*, №71, 2000, pp. 130-134.
49. «Grading Diabetic Retinopathy from Stereoscopic Color Fundus Photographs - An Extension of the Modified Airlie House Classification.» *ETDRS Report Number 10. Ophthalmology*, №10, 1991, pp. 786-806.
50. Grimaldi P.A. «Peroxisome proliferator-activated receptors as sensors of fatty acids and derivatives.» *Cell Mol Life Sci*, №64(19-20), 2007, pp. 2459-2464.
51. Hammer S.S., Busik J.V. «The Role of Dyslipidemia in Diabetic Retinopathy.» *Vision Res*, №139, 2017, pp. 228-236.
52. Hara K., Yamauchi T., Kubota N., et al. «The role of *PPARG* in the onset of type 2 diabetes.» *Nihon Yakurigaku Zasshi*, №122(4), 2003, pp. 317-324.
53. Herder C., Carstensen M., Ouwens D.M. «Antiinflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes.» *Diabetes, Obesity and Metabolism*, №15(3), 2013, pp. 39-50.
54. Hodge A.M., English D.R., O'Dea K., et al. «Plasma phospholipid and dietary fatty acids as predictors of type 2 diabetes: interpreting the role of linoleic acid.» *Am J Clin Nutr*, №86(1), 2007, pp. 189-197.

55. Hodson L., Skeaff C.M., «Fielding B.A. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake.» *Prog Lipid Res.* №47(5), 2008, pp. 348-380.
56. Holvoet P., Lee D.H., Steffes M., Gross M. «Association between circulating oxidized low-density lipoprotein and incidence of the metabolic syndrome.» *JAMA*, №299, 2008, pp. 2287-2293.
57. Honka M.J., Vääntinen M., Iozzo P., Virtanen K.A., Lautamäki R, et al. «The Pro12Ala polymorphism of the *PPARG* gene is associated with hepatic glucose uptake during hyperinsulinemia in subjects with type 2 diabetes mellitus.» *Metabolism*, №58(4), 2009, pp. 541-546.
58. Hu E., Kim J.B, Sarraf P., Spiegelman B.M. «Inhibition of adipogenesis through MAP-kinase mediated phosphorylation of *PPARG*.» *Science* , №274, 1996, pp. 2100-2103.
59. Hussein J., Mostafa E., El-Waseef M. et al. «Effect of omega-3 fatty acids on erythrocyte membrane in diabetic rats.» *Maced. J. Med. Sci*, №4(3), 2011, pp. 234-239.
60. Hussein J.S. «Cell membrane fatty acids and health.» *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, №5(3), 2013, pp. 38-46.
61. Inoguchi T, Li P, Umeda F, et al. «High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells.» *Diabetes*, №49, 2000, pp. 1939-1945.
62. IDF annual report. *International Diabetes Federation*. 2015. [https://issuu.com/int.\\_diabetes\\_federation/docs/idf\\_annualreport\\_2015\\_print\\_version/7](https://issuu.com/int._diabetes_federation/docs/idf_annualreport_2015_print_version/7)
63. Kadowaki T, Hara K., Kubota N., et al. «The role of *PPARG* in high-fat diet-induced obesity and insulin resistance.» *J Diabetes Complications*, №16 (1), 2002, pp. 41-45.
64. Kadowaki T., Hara K., Yamauchi T. «Nagai, et al., Molecular mechanism of insulin resistance and obesity.» *Experimental Biology and Medicine*, №228(10), 2003, pp. 1111-1117.
65. Kamat S. G., Roy R. «Evaluation of fish oils in amelioration of diabetes-induced

tissue damages in mice (*Mus musculus*).» *South Asian J Exp Biol.*5, №1, 2015, pp. 32-40.

66. King H., Aubert R.E., Herman W.H. «Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections.» *Diabetes Care*, №21(9), 1998, pp. 1414-1431.

67. Kinsell L.W., Walker G., Michaels G.D., Olson F.N. «Dietary fats and the diabetic patient.» *Engl J Med*, №27(261), 1959, pp. 431-434.

68. Koehrer P, Saab S., Berdeaux O. «Erythrocyte Phospholipid and Polyunsaturated Fatty Acid Composition in Diabetic Retinopathy.» *Journal.pone*, 2014, pp. 1-7.

69. Kowluru R.A., Zhong Q., et al. «Beneficial effects of the nutritional supplements on the development of diabetic retinopathy.» *Nutr Metab (Lond)*, №11(1), 2014, p. 8.

70. Kuroki M., Voest E.E., Amano S., et al. «Reactive oxygen intermediates increase vascular endothelial growth factor expression in vitro and in vivo.» *J Clin Invest*, №98, 1996, pp. 1667-75

71. Lee AG. «How lipids affect the activities of integral membrane proteins» *Biochim Biophys Acta*, №1666(1-2), 2004, pp. 62-87.

72. Lombardo Y.B., Chicco A.G. «Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans.» A review. *J. Nutr. Biochem.* №17(1), 2006, pp. 1-13.

73. Lovejoy J.C., Smith S..R, Champagne C.M. et al. «Effects of diets enriched in saturated (palmitic), monounsaturated (oleic), or trans (elaidic) fatty acids on insulin sensitivity and substrate oxidation in healthy adults.» *Diabetes Care*, №25(8), 2002, pp. 1283-1288.

74. Lyssenko V., Almgren P., Anevski D., Orho-Melander M. et al. «Genetic prediction of future type 2 diabetes.» *Plos Med*, №2(12), 2005, p. 345.

75. Ma X., Wang D., Zhao W., and Xu L. «Deciphering the Roles of *PPARG* in Adipocytes via Dynamic Change of Transcription Complex.» *Front Endocrinol (Lausanne)*, №9, 2018, p.473.

76. Maciejewska-Karlowska A., Sawczuk M., Cieszczyk P., Zarebska A., & Sawczyn S. «Association between the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-

activated receptor gamma gene and strength athlete status.» *PloS one*, №8(6), 2013, pp. 1-5.

77. Malamas A., Chranioti A., Tsakalidis C., et al. «The omega-3 and retinopathy of prematurity relationship.» *Int J Ophthalmol*, №10(2), 2017, pp. 300-305.

78. Mann J.I. «Nutrition recommendations for the treatment and prevention of type 2 diabetes and the metabolic syndrome: an evidenced-based review.» *Nutr Rev*, №64(9), 2006, pp. 422-427.

79. McIntosha A.L., Barbara P., Martina A.G.G. «Effect of liver fatty acid binding protein (L-FABP) gene ablation on lipid metabolism in high glucose diet (HGD) pair-fed mice.» *Molecular and Cell Biology of Lipids*, №1864(7), 2019, pp. 985-1004.

80. McMullan C.J., Schernhammer E.S., Rimm E.B., et al. «Melatonin secretion and the incidence of type 2 diabetes.» *JAMA*, №309(13), 2013, pp. 1388-1396.

81. Zeggini E., Scott L.J., Saxena R., Voight BF et al. «Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes.» *Nat Genet*, №40(5), 2008, pp. 638-645.

82. Mizutani M., Kern T. S., Lorenzi M. «Accelerated death of retinal microvascular cells in human and experimental diabetic retinopathy.» *J Clin Invest*, №12 (97), 1996, p. 15.

83. Mohammad Asif. «The prevention and control the type-2 diabetes by changing lifestyle and dietary pattern.» *J Educ Health Promot Published online*, №3(1), 2014, pp. 1-8.

84. Nitert M.D., Dayeh T., Volkov P. et al., «Impact of an exercise intervention on DNA methylation in skeletal muscle from first degree relatives of patients with type 2 diabetes.» *Diabetes*, №61(12), 2012, pp. 3322-3332.

85. Odegaard A.O., Jacobs D.R., Sanchez O.A, et al. «Oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction and incidence of type 2 diabetes.» *CardiovascDiabetol*, №15, 2016, p.51.

86. Okada-Iwabu M., Yamauchi T., Iwabu M. et al., «A small molecule adipor agonist for type 2 diabetes and short life in obesity.» *Nature*, №503(7477), 2013, pp. 493-499.

87. Pan A, Schernhammer E.S, Sun Q., Hu F.B. «Rotating night shift work and risk of type 2 diabetes: two prospective cohort studies in women.» *PLoS Med*, №8(12), 2011, pp. 1-7.
88. Park D.R., Park K.H., Kim B.J., et al., «Exercise ameliorates insulin resistance via Ca<sup>2+</sup> signals distinct from those of insulin for GLUT4 translocation in skeletal muscles.» *Diabete*, №64(4), 2015, pp. 1224-1234.
89. Passos M.C.F., Goncalves M.C. «Regulation of insulin sensitivity by adiponectin and its receptors in response to physical exercise» *Hormone and Metabolic Research*, №46(9), 2014, pp. 603-608.
90. Peduzzi M., Melli M., Fonda S., Codeluppi L., Guerrieri F. «Comparative evaluation of blood viscosity in diabetic retinopathy.» *Int Ophthalmol*, №1(7), 1984, pp. 15-19.
91. Peng X., Wu Y., Zhu Y., Huang R. «Association of a Human FABP1 Gene Promoter Region Polymorphism with Altered Serum Triglyceride Levels.» *PLoS ONE* 10, №10, 2015, pp. 1-13.
92. Pereira M.A., Jacobs D.R.Jr, Van Horn L., et al. «Dairy consumption, obesity, and the insulin resistance syndrome in young adults: the CARDIA Study.» *JAMA*, №287(16), 2002, pp. 2081-2089.
93. «Persistent Effects of Intensive Glycemic Control on Retinopathy in Type 2 Diabetes in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) Follow-On Study. Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Follow-On (ACCORDION) Eye Study Group and the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Follow-On (ACCORDION) Study Group.» *Diabetes Care*, №39(7), 2016, pp. 1089-1100.
94. Petr M., Stastny P., Zajac A., et al., «The Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and Their Transcriptional Coactivators Gene Variations in Human Trainability: A Systematic Review.» *Int J Mol Sci*, №19 (5), 2018, pp. 1-14.
95. Qi L., Cornelis M.C., Zhang C., van Dam R.M., Hu F.B. «Genetic predisposition, Western dietary pattern, and the risk of type 2 diabetes in men.» *Am J Clin Nutr*, №89(5), 2009, pp. 1453-1458.

96. Rema M., Srivastava B.K., Anitha B., et al. «Association of serum lipids with diabetic retinopathy in urban South Indians - the Chennai Urban Rural Epidemiology Study (CURES) Eye Study-2.» *Diabet Med*, №23(9), 2006, pp. 1029-1036.
97. Rioux V. Legrand P. «Saturated fatty acids: simple molecular structures with complex cellular functions.» *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. №10(6), 2007, pp. 752-758.
98. Risérus U., Willett W.C., Hu F.B. «Dietary fats and prevention of type 2 diabetes» *Prog Lipid Res*, №48(1), 2009, pp. 44-51.
99. Risérus U. «Fatty acids and insulin sensitivity.» *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, №11(2), 2008, pp.100-105.
100. Rodrigues H.G., Vinolo M.A., Sato F.T. «Oral Administration of Linoleic Acid Induces New Vessel Formation and Improves Skin Wound Healing in Diabetic Rats.» *PLoS One*, №20(11), 2016, p. 10.
101. Röhling M. Herder C., Stemper T. Müssig K. «Influence of Acute and Chronic Exercise on Glucose Uptake.» *J Diabetes Res*, 2016, pp. 1-33.
102. Ryder J.W., Yang J., Galuska D., et al. «Use of a novel impermeable biotinylated photolabeling reagent to assess insulin and hypoxia-stimulated cell surface GLUT4 content in skeletal muscle from type 2 diabetic patients.» *Diabetes*, №49(4), 2000, pp. 647-654.
103. Rykov S.O., Natrus L.V., Bykhovets M.Iu. «PPARG-mediated differences in energy substrate among T2DM patients differing in the stages of diabetic retinopathy.» *Journal of ophthalmology*, №6, 2019, pp. 7-14. (Ukraine)
104. Sacks F.M., Hermans M.P., Fioretto P, et al. «Association between plasma triglycerides and high-density lipoprotein cholesterol and microvascular kidney disease and retinopathy in type 2 diabetes mellitus: a global case-control study in 13 countries.» *Circulation*, №129(9), 2014, pp. 999-1008.
105. Sala-Vila A., Díaz-López A., Valls-Pedret C. «Dietary Marine  $\omega$ -3 Fatty Acids and Incident Sight-Threatening Retinopathy in Middle-Aged and Older Individuals With Type 2 Diabetes: Prospective Investigation From the PREDIMED Trial.» *JAMA. Ophthalmol.*, №134(10), 2016, pp. 1142-1149.

106. Salmerón J., Hu F.B, Manson J.E. et al. «Dietary fat intake and risk of type 2 diabetes in women.» *Am J Clin Nutr*, №73(6), 2001, pp. 1019-1026.
107. Salomaa V., Ahola I., Tuomilehto J., et al. «Fatty acid composition of serum cholesterol esters in different degrees of glucose intolerance: a population-based study.» *Metabolism*, №39, 1990, pp. 1285-1291.
108. SanGiovanni J.P., Chew E.Y. «The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina.» *Prog Retin Eye Res*, №24(1), 2005, pp. 87-138.
109. Saremi L., Lotfipanah S., Mohammadi M, et al. «The Pro12Ala polymorphism in the *PPAR-γ2* gene is not associated with an increased risk of NAFLD in Iranian patients with type 2 diabetes mellitus.» *Cell Mol Biol Lett*, №24, 2019, p.12.
110. Saxena R., Voight B.F., Lyssenko V., et al., «Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels.» *Science*. №316(5829), 2007, pp. 1331-1336.
111. Schuchardt J.P., Köbe T., Witte V. «Genetic Variants of the FADS Gene Cluster Are Associated with Erythrocyte Membrane LC PUFA Levels in Patients with Mild Cognitive Impairment.» *J Nutr Health Aging*, №20(6), 2016, pp. 611-620.
112. Scott L.J. «A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants.» *Science*, №316(5829), 2007, pp. 1341 -1345.
113. Shai I., Jiang R., Manson J.E., et al. «Ethnicity, obesity, and risk of type 2 diabetes in women: a 20-year follow-up study.» *Diabetes Care*, №29(7), 2006, pp. 1585-1590.
114. Sharma, Y., Saxena, S., Mishra, A. et al. «Nutrition for diabetic retinopathy: plummeting the inevitable threat of diabetic vision loss.» *Eur J Nutr*. 2017, pp. 1-15.
115. Shi J., Zhang Y., Gu W., Cui B., Xu M., Yan Q., et al. «Serum liver fatty acid binding protein levels correlate positively with obesity and insulin resistance in Chinese young adults.» *PLoS ONE*, №7(11), 2012, p.1-6
116. Shin S., Ku Y., Babu N., Singh M. «Erythrocyte deformability and its variation in diabetes mellitus.» *Indian J Exp Biol*, №45(1), 2007, pp. 121-128.

117. Shiomi Y., Yamauchi T., Iwabu M, et al., «A Novel Peroxisome Proliferator-activated Receptor (*PPAR*)  $\alpha$  Agonist and *PPARG* Antagonist, Z-551, Ameliorates High-fat Diet-induced Obesity and Metabolic Disorders in Mice.» *The Journal of Biological Chemistry*, №290, 2015, pp. 14567-14581.
118. Song Y., Manson J. E., Buring J. E., et al., «Associations of Dietary Flavonoids with Risk of Type 2 Diabetes, and Markers of Insulin Resistance and Systemic Inflammation in Women: A Prospective Study and Cross-Sectional Analysis.» *Journal of the American College of Nutrition*, №24(5), 2005, pp. 376-384.
119. Staiger H., Staiger K., Haas C., et al. «Fatty acid-induced differential regulation of the genes encoding peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$  and -1 $\beta$  in human skeletal muscle cells that have been differentiated in vitro.» *Diabetologia*, №48(10), 2005, pp. 2115-2118.
120. Stitt A.W., Curtis T.M., Chen M. et al. «The progress in understanding and treatment of diabetic retinopathy.» *Progress in Retinal and Eye Research*, №51, 2016, pp. 156-186.
121. Storlien L.H., Pan D.A., Kriketos A.D., et al. «Skeletal muscle membrane lipids and insulin resistance.» *Lipids*, №31, 1996, pp. 261-265.
122. Su Y, Liu X.M., Sun Y.M., Jin H.B., Fu R., Wang Y.Y., et al. «The relationship between endothelial dysfunction and oxidative stress in diabetes and prediabetes.» *Int J Clin Pract*, №62, 2008, pp.877-882.
123. Summers L.K., Fielding B.A., Bradshaw H.A. et al. Substituting dietary saturated fat with polyunsaturated fat changes abdominal fat distribution and improves insulin sensitivity.» *Diabetologia*, №45, 2002, pp.369-377.
124. Thanopoulou A.C., Karamanos B.G, Angelico F.V. et al. «Dietary fat intake as risk factor for the development of diabetes: multinational, multicenter study of the Mediterranean Group for the Study of Diabetes (MGSD).» *Diabetes Care*, №26(2), 2003, pp. 302-307.
125. Tikhonenko M., Lydic T.A., Opreanu M, et al. «N-3 polyunsaturated Fatty acids prevent diabetic retinopathy by inhibition of retinal vascular damage and enhanced endothelial progenitor cell reparative function.» *PLoS One*, №8(1), 2013, pp.211-220.

126. Tovar A.R., Díaz-Villaseñor A., Cruz-Salazar N., et al. «Dietary type and amount of fat modulate lipid metabolism gene expression in liver and in adipose tissue in high-fat diet-fed rats.» *Arch Med Res*, №42(6), 2011, pp.540-553.
127. Van Dam R.M., Willett W.C., Rimm E.B. et al. «Dietary fat and meat intake in relation to risk of type 2 diabetes in men.» *Diabetes Care*; №25(3), 2002, pp.417-424.
128. Verma S., Anderson TJ. «Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist.» *Circulation*, №105, 2002, pp.546-549
129. Vessby B., Gustafsson I.B, Tengblad S., et al. «Desaturation and elongation of Fatty acids and insulin action.» *Ann N Y Acad Sci*, №967, 2002, pp.183-195.
130. Vessby B., Tengblad S., Lithell H. «Insulin sensitivity is related to the fatty acid composition of serum lipids and skeletal muscle phospholipids in 70-year-old men.» *Diabetologia*, №37(10), 1994, pp.1044-1050.
131. Wang Gu Qi, Bonkovsky H.L, de Lemos A. and Burczynski F.J. «Recent insights into the biological functions of liver fatty acid binding protein 1». *The Journal of Lipid Research*, №56, 2015, pp.2238-2247.
132. Wang, X., Cao, Y., Fu, Y. et al. «Liver fatty acid composition in mice with or without nonalcoholic fatty liver disease.» *Lipids Health Dis*, №10, 2011, pp.234 .
133. Warensjö E., Risérus U., Gustafsson I.B, et al. «Effects of saturated and unsaturated fatty acids on estimated desaturase activities during a controlled dietary intervention.» *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, №18(10), 2008, pp. 683-90.
134. Weijers Rob N.M. «Lipid Composition of Cell Membranes and Its Relevance in Type 2 Diabetes Mellitus.» *Curr Diabetes Rev*, №8(5), 2012, pp. 390-400.
135. Winzell M.S. Ahrén B. «G-protein-coupled receptors and islet function-implications for treatment of type 2 diabetes.» *Pharmacol Ther*, №116(3), 2007, pp.437-448.
136. David Kinshuck. Diabetic retinopathy progression.  
<http://www.diabeticretinopathy.org.uk/retinopathyprogression.htm>
137. How A Healthy Diet Can Reduce Your Risk of Diabetic Retinopathy.  
<https://www.eastcarolinaretina.com/patient-education-a-healthy-diet-and-reducing-the-risk-of-diabetic-retinopa>

138. Концепція Державної цільової соціальної програми «Цукровий діабет на період до 2018. Сайт Міністерства охорони здоров'я України. [www.moz.gov.ua](http://www.moz.gov.ua)
139. Yoon M.J., Lee G.Y., Chung J.J., et al., «Adiponectin increases fatty acid oxidation in skeletal muscle cells by sequential activation of AMP-activated protein kinase, p38 mitogen-activated protein kinase, and peroxisome proliferator-activated receptor alpha.» *Diabetes*, №55(9), 2006, pp. 2562-2570.
140. Yoshikawa T., Shimano H., Yahagi N., et al. «Polyunsaturated fatty acids suppress sterol regulatory element-binding protein 1c promoter activity by inhibition of liver X receptor (LXR) binding to LXR response elements.» *J Biol Chem*, №277(3), 2002, pp. 1705-1711.
141. Zeggini E. «Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes.» *Science*, №316(5829), 2007, pp. 1336-1341
142. Zierath J.R. Krook A., Wallberg-Henriksson H. «Insulin action and insulin resistance in human skeletal muscle.» *Diabetologi*, №43(7), 2000, pp. 821-835.
143. Астахов Ю.С., Лисочкина А.Б., Шадричев Ф.Е. «Современные направления медикаментозного лечения непролиферативной диабетической ретинопатии.» *Клин.офтальмология*, № 4(3), 2003, сс. 5-19.
144. Биховець М.Ю., Риков С.О., Натрус Л.В. «Особливості способу життя як фактор ризику розвитку і прогресування діабетичної ретинопатії у хворих на ЦД 2 типу.» *Архів офтальмології України*, №7(1), 2019, сс. 12-18.
145. Загайка А.Л., «Біохімія: підручник за загальною редакцією проф. Александрової К. В.». Вид-во «Форт», 2014, с.728.
146. Варивончик Д. В., Риков С. О., Гудзь А. С., Денисюк Л. І. «Наукове обґрунтування Національної стратегії боротьби зі сліпотою в Україні на період до 2030 року.» *Архів офтальмології України*, №3(2), 2015, с.6-13.
147. Гаджиев Р. В. «Диабетическая ретинопатия.» *«ЕЛМ»*, 1999, с. 71.
148. Ермакова Н.А. «Диабетическая ретинопатия. Клиника, диагностика, классификация, лечение.» *РМЖ «Клиническая Офтальмология»*, №.1, 2013, с.33.

149. Зяблицев С.В., Мокрій В.Я. «Асоціація алеля 12Pro поліморфізму rs1801282 гена *PPARG* з цукровим діабетом 2 типу.» *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*, №3(55), 2016, с.34-38
150. Ищенко И. А., Миленская Т. М. «Эффективность применения антиоксидантов в лечении диабетической ретинопатии.» *РМЖ «Клиническая Офтальмология»*, 2007, №3, с.97.
151. Камінський Д.В., Крищишин А.П., Лесик Р.Б. «Рецептори активації проліферації пероксисом як перспективні біомішені для раціонального дизайну інноваційних лікарських засобів.» *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*, №11, 2013. с.41.
152. Кондрацкая И. Н. Сахарный диабет 2 типа. «Критерии постановки диагноза. Принципы первичной антигипергликемической терапии» *Проблемы эндокрин. Патологии*, №2, 2015, сс. 119-122.
153. Могілевський С. Ю. Бушуєва О. В., Натрус Л. В. «Особенности диабетической ретинопатии у больных на сахарный диабет 2 типа.» *Архив офтальмологии Украины*, №1(7), 2017, сс. 37-44.
154. Могілевський С.Ю. Бушуєва О.В., Зяблицев С.В., Натрус Л.В. «Зв'язок поліморфізму rs759853 та rs9640883 гена *AKR1B1* з розвитком диабетичної ретинопатії.» *Офтальмологічний журнал*, №2, 2017, сс. 3-7
155. Могілевський С.Ю., Панченко Ю.О., Зяблицев С.В., Натрус Л.В. «Порушення агрегації тромбоцитів як фактор розвитку диабетичної макулопатії та диабетичного макулярного набряку у хворих на непроліферативну диабетичну ретинопатію при цукровому діабеті 2 типу.» *Архив офтальмологии Украины*, №6(3), 2018, сс. 26-31.
156. Мокрій В. Я., Зяблицев С. В. «Вплив поліморфізму Pro12Ala гена *PPARG* на процеси перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту у хворих на цукровий діабет 2 типу залежно від тривалості захворювання.» *Патология*, №2(37), 2016, сс. 52-57.
157. Натрус Л.В., Гайова Л.В., Биховець М.Ю., та ін., «Значення регуляторних впливів на ліпідний метаболізм при ускладненому цукровому діабеті 2

типу» *Фізіологічний журнал*, №66(1), 2020, сс.25-34.

158. Нгуен З. Х. «Липидный обмен при сахарном диабете и его осложнениях (экспер.-клин.исслед)» *Автореф. дис.* 2015, с. 25.

159. Пасечникова, Н. В. *Диабетическая макулопатия. Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения.* Киев. 2010. С.154

160. Петренко О.В., Натрус Л.В., Таварткиладзе К. «Особливості вмісту жирних кислот в клітинах крові у хворих на діабетичну ретинопатію.» *Архів офтальмології України*, №5(2), 2017, сс. 54-60.

161. Потапов В.А. «Поиск генетических маркеров, определяющих предрасположенность к сахарному диабету 2 типа» *автореф. дис. . канд. биол. наук: 03.01.03* , 2017, С. 24.

162. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «PPARG-залежні відмінності енергетичного субстрату у пацієнтів із різними стадіями діабетичної ретинопатії хворих на цукровий діабет 2 типу.» *Офтальмологический журнал*, №6, 2019, сс. 7-14 наукових

163. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Роль метаболічних порушень та генотипу в розвитку діабетичної ретинопатії (огляд літератури).» *Архів офтальмології України*, №6(3), 2018, сс.54-60.

164. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Вплив експресії L-FABP та жирнокислотного складу їжі на стан ліпідного метаболізму хворих із різним ступенем діабетичної ретинопатії та цукрового діабету 2 типу.» *Архів офтальмології України*, №7(3), 2019, сс.27-36.

165. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Поведінкові та генетично детерміновані відмінності у хворих на цукровий діабет 2 типу, ускладнений ретинопатією із різним PPARG-залежним фенотипом.» *Медична наука України*, №15(3-4), 2019, С.39-47.

166. Смирнова О.М. «Диабетическая ретинопатия. Результаты международных многоцентровых исследований.» *Доказательная диабетология*, №1, 2010, сс.82-87.

167. Трахтенберг Ю.А., Аметов А.С. и др. «Антиоксидантная терапия непролиферативной диабетической ретинопатии. Газета «Новости медицины и фармации» *Офтальмология*, 2011, с.363
168. Тронько М. Д., Соколова Л. К., Власенко М. В., Костюкевич А. А. «Досягнення цілей лікування пацієнтами із цукровим діабетом в Україні. Результати Міжнародного дослідження з вивчення практики ведення цукрового діабету (IDMPS).» *Ендокринологія*, №4(20), 2015, сс. 658-668.
169. Хуторська Л.А. «Динаміка поширеності та ризик розвитку діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет.» *Международный Эндокринологический журнал*, №51(3), 2013, сс. 35-40.
170. Шилова О. Г. «Новые аспекты патогенеза и лечения диабетической ретинопатии.» *Международный эндокринологический журнал*, №4(44), 2012, сс. 75-84.

## ДОДАТКИ

### Додаток № 1. Акти впровадження результатів роботи у науковій та практичній діяльності



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор  
Національної медичної  
академії післядипломної освіти  
імені П. Л. Шупика  
член-кор. НАМН України,  
професор Вдовиченко Ю. П.

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 р.

#### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Пропозиція для впровадження:** Оптимізація діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу

**Установа – розробник, автор:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології (завідувач д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович), автор – Биховець Михайло Юрійович

1. **Джерело інформації:** Bykhovets Mykhailo / Information value of biochemical markers for evaluation of lipid dysmetabolism secondary to hyperglycaemia in patients with diabetic retinopathy and type 2 diabetes mellitus//(2019), «East European Scientific Journal» #9(49) part1 p.19-25

2. Bykhovets Mykhailo / Effects of nutrition and controlled physical activity on pathogenesis of diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients //(2020), «Znanstvena misel journal» №45 p.50-56

2. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика.

3. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та при проведенні практичних занять, в лікувально-діагностичній роботі.

4. **Термін впровадження:** січень 2019 – квітень 2020 року.

**Зауваження та пропозиції:** впровадження дозволить підвищити ефективність лікування глаукоми; використання запропонованих методів діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу дозволило підвищити ефективність лікування хворих з діабетичною ретинопатією різного ступеня вираженості на фоні цукрового діабету 2 типу та зменшити випадки повторних звертань хворих з рецидивами.

5. **Протокол засідання кафедри №4 від 01 квітня 2020 року.**

Завідувач кафедри офтальмології  
д. мед. н., професор

Риков С. О.

## Продовження додатку 1

«Затверджую»

Проректор з наукової роботи та інновацій  
НМУ імені О.О. Богомольця  
д.мед.н., професор Земсков С.В.

“\_\_\_\_\_” 2020 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ результатів наукових досліджень

**1. Назва пропозиції:** Оптимізація діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу з урахуванням генетично детермінованих механізмів експресії L-FABP в залежності від поліморфізму гену PPARG та способу життя, жирнокислотного складу їжі при розробці та вдосконаленні терапевтичних, профілактичних схем, формуванні харчових та поведінкових рекомендацій.

**2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології (завідувач д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович), автор – Биховець Михайло Юрійович

**3. Джерело інформації:**

Л.В. Натрус, Л.В. Гайова, М.Ю. Биховець, Ю.С. Осадчук, С.Е. Коновалов. Значення регуляторних впливів на ліпідний метаболізм при ускладненому цукровому діабеті 2-го типу «Фізіологічний журнал», 2020, Т. 66, № 1 с.25-34.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра біологічної та біоорганічної хімії НМУ імені О.О. Богомольця

**5. Термін впровадження:** 2019-2020 р.

**6. Форма впровадження:** впроваджено у навчальний процес кафедри при читанні лекцій та проведенні практичних занять.

**7. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань з питань оптимізації діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу.

**8. Зауваження та пропозиції.**

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри біологічної та біоорганічної хімії НМУ імені О.О. Богомольця, протокол № 9 від 05.10.2020р

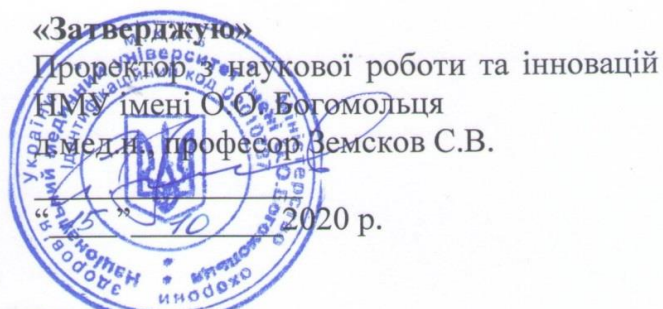
Завідувач кафедри біологічної та біоорганічної хімії

Національного медичного університету

імені О.О. Богомольця, д.мед.н., проф.

Гайова Л.В.

## Продовження додатку 1



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ результатів наукових досліджень

**1. Назва пропозиції:** Оптимізація діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу з урахуванням генетично детермінованих механізмів експресії L-FABP в залежності від поліморфізму гену PPARG та способу життя, жирнокислотного складу їжі при розробці та вдосконаленні терапевтичних, профілактичних схем, формуванні харчових та поведінкових рекомендацій.

**2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Національна медична академія післядипломної освіти мені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології (завідувач д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович), автор – Биховець Михайло Юрійович

**3. Джерело інформації:**

Натрус, Л., РиковС., & Биховець, М. (2019). Поведінкові та генетично детерміновані відмінності у хворих на цукровий діабет 2 типу, ускладнений ретинопатією із різним PPARG-залежним фенотипом. «Медична наука України» (НМУ), 15(3-4), 39-47.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Науково-дослідний інститут експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О.О. Богомольця

**5. Термін впровадження:** 2019-2020 р.

**6. Форма впровадження:** впроваджено у наукову діяльність та набуття досвіду інтерпретації результатів оцінки змін фенотипу на тлі поліморфізмів генів.

**7. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань з питань оптимізації діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу.

**8. Зауваження та пропозиції.**

Обговорено та затверджено на засіданні Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О.О. Богомольця, протокол № 3\_ від 27.08.2020 р.

Директор НДІ ЕКМ

Національного медичного університету  
імені О.О. Богомольця, д.мед.н., проф.

Натрус Л.В.

## Продовження додатку 1

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
В.о. ректора Одеського національного  
медичного університету МОЗ України,  
д. мед. н., професор  
Васстьянов Р.С.  
2020 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**I. Пропозиція для впровадження:** Оптимізація діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу з урахуванням генетично детермінованих механізмів експресії L-FABP в залежності від поліморфізму гену PPARG та способу життя, жирнокислотного складу їжі при розробці та вдосконаленні терапевтичних, профілактичних схем, формуванні харчових та поведінкових рекомендацій.

**II. Установа-розробник, автор:** Національна медична академія післядипломної освіти мені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології (завідувач д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович), автор – Биховець Михайло Юрійович.

**III. Джерело інформації:** Bykhovets Mykhailo / Information value of biochemical markers for evaluation of lipid dysmetabolism secondary to hyperglycaemia in patients with diabetic retinopathy and type 2 diabetes mellitus/(2019), «East European Scientific Journal» #9(49) part1 p.19-25.

**IV. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра офтальмології Одеського національного медичного університету МОЗ України

**V. Форми впровадження:** матеріали роботи використовувались в навчальному процесі та клінічній практиці при діагностиці, профілактиці та лікуванні діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу.

**VI. Термін впровадження:** з січня 2019 року по вересень 2020 року.

**VII. Ефективність провадження:** підвищення якості знань з питань оптимізації діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу

**VIII. Зауваження та пропозиції.**

Зауважень немає. Рекомендовано для застосування в учбовому процесі та клінічній практиці.

**Протокол засідання кафедри № 2 від 05.10.2020 року**

Зав. кафедри офтальмології ОНМедУ,  
д. мед. н., професор

 Л.В. Венгер

## Продовження додатку 1



### ЗАТВЕРДЖУЮ

Ректор Львівського національного  
медичного університету  
імені Данила Галицького  
академік НАМН України

*[Signature]* проф. Зіменковський Б.С.  
«13» 09 2019 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**I. Пропозиція для впровадження:** Оптимізація діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу з урахуванням генетично детермінованих механізмів експресії L-FABP в залежності від поліморфізму гену PPAR $\gamma$  та способу життя, жирнокислотного складу їжі при розробці та вдосконаленні терапевтичних, профілактичних схем, формуванні харчових та поведінкових рекомендацій.

**II. Установа-розробник, автор:** Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології (завідувач д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович), автор – Биховець Михайло Юрійович.

#### III. Джерело інформації.

Bykhovets Mykhailo. Information value of biochemical markers for evaluation of lipid dysmetabolism secondary to hyperglycaemia in patients with diabetic retinopathy and type 2 diabetes mellitus// (2019), «East European Scientific Journal» #9(49) part1 p. 19-25

**IV. Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра офтальмології ФПДО.

**V. Форми впровадження:** матеріали роботи використовувались в навчальній та клінічній практиці при діагностиці, профілактиці та лікуванні діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу.

**VI. Термін впровадження:** з 2019 навчального року.

**VII. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань з питань оптимізації діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу

#### VIII. Зауваження та пропозиції.

Зауважень немає. Рекомендовано для застосування у клінічній практиці.

Завідувач кафедри офтальмології ФПДО  
Львівського національного медичного  
університету імені Данила Галицького  
професор, д.мед.н.

*[Signature]*

Гудзь А.С.

## Продовження додатку 1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково- педагогічної роботи

ДЗ «Дніпропетровська медична академія

МОЗ України»

д. мед. н., професор

Науменко Л.Ю.

« 09 » 2019 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**I. Пропозиція для впровадження:** Оптимізація діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу з урахуванням генетично детермінованих механізмів експресії L-FABP в залежності від поліморфізму гену PPAR $\gamma$  та способу життя, жирнокислотного складу їжі при розробці та вдосконаленні терапевтичних, профілактичних схем, формуванні харчових та поведінкових рекомендацій.

**II. Установа-розробник, автор:** Національна медична академія післядипломної освіти мені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології (завідувач д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович), автор – Биховець Михайло Юрійович

**III. Джерело інформації.**

Bykhovets Mykhailo / Information value of biochemical markers for evaluation of lipid dysmetabolism secondary to hyperglycaemia in patients with diabetic retinopathy and type 2 diabetes mellitus//(2019), «East European Scientific Journal» #9(49) part1 p.19-25

**IV. Базова установа, яка проводить впровадження:** ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

**V. Форми впровадження:** матеріали роботи використовувались в навчальному процесі та клінічній практиці при діагностиці, профілактиці та лікуванні діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу.

**VI. Термін впровадження:** з 2019 навчального року.

**VII. Ефективність провадження:** підвищення якості знань з питань оптимізації діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу

**VIII. Зауваження та пропозиції.**

Зауважень немає. Рекомендовано для застосування в клінічній практиці.

Професор кафедри  
офтальмології  
д. мед. н., професор

В.М. Сакович

## Продовження додатку 1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Генеральний директор  
КНП «Чернігівська обласна лікарня»

Жиденко А.М.

«30» липня 2020р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

I. Пропозиція для впровадження.

Оптимізація діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу

II. Установа-розробник, автор.

Національна медична академія післядипломної освіти мені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології (завідувач д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович), автор – Биховець Михайло Юрійович

III. Джерело інформації.

1. Bykhovets Mykhailo / Information value of biochemical markers for evaluation of lipid dysmetabolism secondary to hyperglycaemia in patients with diabetic retinopathy and type 2 diabetes mellitus//(2019), «East European Scientific Journal» #9(49) part1 p.19-25

2. Bykhovets Mykhailo / Effects of nutrition and controlled physical activity on pathogenesis of diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients //(2020), «Znanstvena misel journal» №45 p.50-56

IV. Базова установа, яка проводить впровадження.

КНП «Чернігівська обласна лікарня».

V. Форми впровадження.

Матеріали роботи використовувались в клінічній практиці при діагностиці, профілактиці та лікуванні діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу.

VI. Термін впровадження.

02.2020-07.2020.

VII. Ефективність.

Використання запропонованих методів діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу дозволило підвищити ефективність лікування хворих з діабетичною ретинопатією різного ступеня вираженості на фоні цукрового діабету 2 типу та зменшити випадки повторних звертань хворих з рецидивами.

VIII. Зауваження та пропозиції.

Зауважень немає. Рекомендовано для застосування в клінічній практиці.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач відділення мікрохірургії ока

Биховець І.І.

## Продовження додатку 1



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. керівника КНП «Чернігівська Міська Лікарня № 2» Чернігівської Міської Ради

Якунін В.М.

«30» липня 2020р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

I. Пропозиція для впровадження: Оптимізація діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу з урахуванням генетично детермінованих механізмів експресії L-FABP в залежності від поліморфізму гену PPAR $\gamma$  та способу життя, жирнокислотного складу їжі при розробці та вдосконаленні терапевтичних, профілактичних схем, формуванні харчових та поведінкових рекомендацій.

II. Установа-розробник, автор.: Національна медична академія післядипломної освіти м.н. П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології (завідувач д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович), автор – Биховець Михайло Юрійович

III. Джерело інформації.

1. Bykhovets Mykhailo / Information value of biochemical markers for evaluation of lipid dysmetabolism secondary to hyperglycaemia in patients with diabetic retinopathy and type 2 diabetes mellitus//(2019), «East European Scientific Journal» #9(49) part 1 p.19-25

2. Bykhovets Mykhailo / Effects of nutrition and controlled physical activity on pathogenesis of diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients //(2020), «Znanstvena misel journal» №45 p.50-56

IV. Базова установа, яка проводить впровадження: Комунальне Некомерційне Підприємство "Чернігівська Міська Лікарня № 2" Чернігівської Міської Ради.

V. Форми впровадження: матеріали роботи використовувались в клінічній практиці при діагностиці, профілактиці та лікуванні діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу.

VI. Термін впровадження: 02.2020-07.2020.

VII. Ефективність провадження:

підвищення якості знань з питань оптимізації діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу

VIII. Зауваження та пропозиції.

Зауважень немає. Рекомендовано для застосування в клінічній практиці.

Відповідальний за впровадження:

Завідуюча відділенням офтальмології

Стратілат С. М.

## Продовження додатку 1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Генеральний директор

КНП "Чернігівська Центральна Районна

Лікарня

Руденко Дмитро Миколайович

«03» \_\_\_\_\_ 2020р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

I. Пропозиція для впровадження: Оптимізація діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу з урахуванням генетично детермінованих механізмів експресії L-FABP в залежності від поліморфізму гену PPAR $\gamma$  та способу життя, жирнокислотного складу їжі при розробці та вдосконаленні терапевтичних, профілактичних схем, формуванні харчових та поведінкових рекомендацій.

II. Установа-розробник, автор: Національна медична академія післядипломної освіти м.н. П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології (завідувач д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович), автор – Биховець Михайло Юрійович

III. Джерело інформації.

1. Bykhovets Mykhailo / Information value of biochemical markers for evaluation of lipid dysmetabolism secondary to hyperglycaemia in patients with diabetic retinopathy and type 2 diabetes mellitus //(2019), «East European Scientific Journal» #9(49) part 1 p.19-25

2. Bykhovets Mykhailo / Effects of nutrition and controlled physical activity on pathogenesis of diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients //(2020), «Znanstvena misel journal» №45 p.50-56

IV. Базова установа, яка проводить впровадження: КНП «Чернігівська Центральна Районна Лікарня»

V. Форми впровадження: матеріали роботи використовувались в клінічній практиці при діагностиці, профілактиці та лікуванні діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу.

VI. Термін впровадження: 02.2020-07.2020.

VII. Ефективність провадження:

підвищення якості знань з питань оптимізації діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу

VIII. Зауваження та пропозиції.

Зауважень немає. Рекомендовано для застосування в клінічній практиці.

Відповідальний за впровадження:

Завідуючий відділення офтальмології



Присяжнюк Юрій Євгенійович

## Продовження додатку 1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар

КФКП «ДОКОЛ»

Шевченко Н.Г.

« 02 » 09 2019 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

#### I. Пропозиція для впровадження.

Оптимізація діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу

#### II. Установа-розробник, автор.

Національна медична академія післядипломної освіти мені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), кафедра офтальмології (завідувач д.мед.н., професор Риков Сергій Олександрович), автор – Биховець Михайло Юрійович

#### III. Джерело інформації.

1. Bykhovets Mykhailo / Information value of biochemical markers for evaluation of lipid dysmetabolism secondary to hyperglycaemia in patients with diabetic retinopathy and type 2 diabetes mellitus //(2019), «East European Scientific Journal» #9(49) part1 p.19-25
2. Bykhovets Mykhailo / Effects of nutrition and controlled physical activity on pathogenesis of diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients //(2020), «Znanstvena misel journal» №45 p.50-56

#### IV. Базова установа, яка проводить впровадження.

Київська міська клінічна офтальмологічна лікарня «Центр мікрохірургії ока»

#### V. Форми впровадження.

Матеріали роботи використовувались в клінічній практиці при діагностиці, профілактиці та лікуванні діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу.

#### VI. Термін впровадження.

вересень 2019 - грудень 2019 року.

VII. Ефективність: використання запропонованих методів діагностики і профілактики діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2 типу дозволило підвищити ефективність лікування хворих з діабетичною ретинопатією різного ступеня вираженості на фоні цукрового діабету 2 типу та зменшити випадки повторних звертань хворих з рецидивами.

#### VIII. Зауваження та пропозиції.

Зауважень немає. Рекомендовано для застосування в клінічній практиці.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач відділенням мікрохірургії ока  
КФКП «ДОКОЛ»

А.В.Сердюк

## Додаток № 2. Список публікацій здобувача за темою дисертації.

*Наукові праці в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:*

1. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Особливості способу життя як фактор ризику розвитку і прогресування діабетичної ретинопатії у хворих на цукровий діабет 2-го типу.» *Архів офтальмології України*, №7.1, 2019. сс. 54-61.
2. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Вплив експресії L-FABP та жирнокислотного складу їжі на стан ліпідного метаболізму хворих із різним ступенем діабетичної ретинопатії та цукрового діабету 2 типу.» *Архів офтальмології України*, №7.3, 2019, сс. 27-36.
3. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «PPARG-залежні відмінності енергетичного субстрату у пацієнтів із різними стадіями діабетичної ретинопатії хворих на цукровий діабет 2 типу.» *Офтальмологический журнал*, №6, 2019, сс. 7-14.
4. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Поведінкові та генетично детерміновані відмінності у хворих на цукровий діабет 2 типу, ускладнений ретинопатією із різним PPARG-залежним фенотипом» *Медична наука України*, №15(3-4), 2019, сс. 39-47.
5. Натрус Л.В., Гайова Л.В., Биховець М.Ю., Осадчук Ю.С., Коновалов С.Е. «Значення регуляторних впливів на ліпідний метаболізм при ускладненому цукровому діабеті 2 типу.» *Фізіологічний журнал*, №66(1), 2020, сс. 25-34.
6. Bykhovets Mykhailo «Effects of nutrition and controlled physical activity on pathogenesis of diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients». *Znanstvena misel journal*, №45, 2020, pp. 50-56. (Ljubljana, Slovenia).
7. Bykhovets Mykhailo. «Studying fatty acid content in red blood cell membranes in diabetic retinopathy of type 2 diabetes patients.» *Journal of Education, Health and Sport*, №10(10), 2020, pp. 51-60. (Toruń, Poland).

*Наукові праці які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

8. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Розрахунок кількісних критеріїв

- оцінки способу життя пацієнтів із діабетичною ретинопатією та цукровим діабетом 2 типу. *«Філатовські читання - 2019»*, Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю 23-24 травня, Одеса, Чорномор'я, 2019, сс. 147-148. (Форма участі: публікація тез)
9. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Вивчення порушення ліпідного обміну за рівнем L-FABP у пацієнтів із різним ступенем діабетичної ретинопатії. *«Шевальовські читання 19»*, науково-практична конференція офтальмологів України 20-21 червня 2019 року: збірник праць/ під редакцією професора Н.Г.Завгородньої, професора С.О.Рикова. Запоріжжя, 2019, сс. 43-44. (Форма участі: стендова доповідь, публікація тез)
10. Биховець М.Ю. «Вплив харчових жирних кислот на стан енергетичного субстрату у хворих з діабетичною ретинопатією та цукровим діабетом 2 типу. *«Рефракційний пленер`19»* науково-практична конференція з міжнародною участю 17-19 жовтня 2019 року: збірник праць. під редакцією професора С.О.Рикова, Київ, 2019, сс. 13-15. (Форма участі: публікація тез)
11. Дривинський В.В., Натрус Л.В., Биховець М.Ю., Вершута О.М. «Аналіз інформативності біохімічних маркерів для оцінки порушення ліпідного метаболізму у пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу.» *Сучасні питання молекулярно-біохімічних досліджень та лабораторного скринінгу у клінічній та експериментальній медицині*, збірка тез Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю 05-06 березня, Запоріжжя, 2020, сс. 20-21. (Форма участі: стендова доповідь, публікація тез)  
*Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації*
12. Риков С.О., Биховець М.Ю., Натрус Л.В. «Роль метаболічних порушень та генотипу в розвитку діабетичної ретинопатії (огляд літератури).» *Архів офтальмології України*, №6.3, 2018, сс. 54-60.