

DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2021.11.3.025>  
УДК 617.735-002-02:616.379-008.64-005:612.124/127

Беляева О.А., Рыков С.А., Шаргородская И.В., Осадчая О.И., Крыжевский Е.Е., Жмурик Д.В.,  
Баринов Ю.В., Литвиненко С.С.  
Национальный университет здравоохранения Украины имени П.Л. Шупика, Киев, Украина

Bilyayeva O., Rykov S., Shargorodska I., Osadcha O., Kryzhevskiy Y., Zhmuryk D., Barinov Iu.,  
Litvinenko S.  
Shupyk National Healthcare University of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, Ukraine

## Роль оксида азота в развитии диабетической ретинопатии у пациентов с синдромом диабетической стопы

The Role of Nitric Oxide in the Development of Diabetic Retinopathy in Patients with Diabetic Foot Syndrome

### Резюме

По данным ВОЗ (2018), диабет является важной причиной слепоты, почечной недостаточности, ампутации нижних конечностей и других долгосрочных негативных последствий, которые существенно влияют на качество жизни пациентов. На протяжении 10–15 лет у пациентов с сахарным диабетом (СД) появляются признаки диабетической ретинопатии (ДР), и через 30 лет более 90% диабетиков приобретают такую патологию зрения. Проведено изучение определения показателей, характеризующих патогенетические механизмы развития сосудистой дисфункции, в частности ДР, и взаимосвязь этих изменений с оксидом азота. Под наблюдением находилось 2114 пациентов с различными хирургическими заболеваниями (из них 1073 пациента с гнойно-септическими заболеваниями мягких тканей), среди которых с СД 2-го типа было 193 пациента, с синдромом диабетической стопы (СДС) 2–5-й стадий по Wagner и ДР – 134 пациента основной группы (268 глаз). В группу сравнения вошли 59 пациентов (118 глаз) с СД соответствующего возраста без СДС и ДР. Обе группы были одинаковы по возрасту и полу. Установлена зависимость между ДР и содержанием конечных продуктов метаболизма оксида азота в периферической крови. Повышение их уровня в 1,78 раза ( $p < 0,01$ ). Получено снижение активности супероксиддисмутазы (СОД) у пациентов с ДР в 1,56 раза ( $p < 0,01$ ) по сравнению с группой сравнения. Анализ содержания ТБК-активных продуктов в периферической крови показал повышение показателя в основной группе в 1,58 раза ( $p < 0,01$ ) относительно референтных значений пациентов без ДР. Кроме того, при определении содержания S-нитрозотиолов нами установлено повышение этих показателей в основной группе в 2,38 раза ( $p < 0,01$ ). Также у пациентов основной группы с ДР получено повышение концентрации гомоцистеина (ГЦ) в периферической крови в 5,13 раза ( $p < 0,001$ ). Следует помнить, что оксид азота (NO) может иметь как положительные, так и вредные эффекты в зависимости от его концентрации. С одной стороны, NO вызывает расслабление кровеносных сосудов, снижая кровяное давление, предотвращает агрегацию и адгезию тромбоцитов, ограничивает окисления холестерина ЛПНП, подавляет пролиферацию клеток гладких мышц и снижает экспрессию генов провоспалительных цитокинов, которые связаны с атерогенезом. С другой стороны, NO взаимодействует с  $O_2^-$ , приводя к инактивации NO и продукции пероксинитрита, который посттранскрипционно модифицирует белки и негативно влияет на их функцию.

Это может способствовать эндотелиальной дисфункции, стимулируя выработку медиаторов воспаления и перекисное окисление липидов и таким образом увеличивая проницаемость клеток. В результате проведенных исследований нами установлено, что у пациентов с СД, осложненным ретинопатией и СДС, определяется значительное повышение содержания оксида азота в периферической крови, причиной которого является гипергликемия. Использование межклеточного посредника (NO), который способствует физиологическому регулированию гемодинамики глаза, защищает эндотелиальные клетки сосудов от патогенных факторов ишемии, поможет клиницистам выбрать действенную фармакологическую терапию, подходящую для конкретного пациента и конкретного глаза.

**Ключевые слова:** диабет, диабетическая ретинопатия, синдром диабетической стопы, оксид азота.

---

### Abstract

---

According to WHO (2018), diabetes is an important cause of blindness, renal failure, lower limb amputation and other long-term negative consequences that significantly affect the quality of life of patients. For 10–15 years, patients with diabetes mellitus (DM) show signs of diabetic retinopathy, and after 30 years, more than 90% of diabetics acquire this vision pathology. The study of the determination of indicators characterizing the pathogenetic mechanisms of the development of vascular dysfunction, in particular diabetic retinopathy (DR), and the relationship of these changes with nitric oxide was carried out. The study included 2114 patients with various surgical diseases (of which 1073 patients with purulent-septic diseases of soft tissues), among which there were 193 patients with type 2 diabetes mellitus and with Wagner stage 2–5 diabetic foot syndrome and 134 patients with diabetic retinopathy. Main group (268 eyes). The comparison group included 59 patients (118 eyes) with diabetes of the corresponding age without SDS and DR. Both groups were the same in age and gender. The relationship between DR and the content of end products of nitric oxide metabolism in peripheral blood has been established. An increase in their level by 1.78 times ( $p < 0.01$ ). A decrease in SOD activity was obtained in patients with DR by 1.56 times ( $p < 0.01$ ) compared with the comparison group. Analysis of the content of TBA-active products in peripheral blood showed an increase in the indicator in the main group by 1.58 times ( $p < 0.01$ ) relative to the reference values of patients without diabetic retinopathy. In addition, when determining the content of S-nitrosithiols, we found an increase in these indicators in the main group by 2.38 times ( $p < 0.01$ ). In addition, in patients of the main group with DR, the concentration of homocysteine in the peripheral blood increased by 5.13 times ( $p < 0.001$ ). It should be remembered that NO can have both positive and harmful effects depending on its concentration. On the one hand, NO induces relaxation of blood vessels, lowering blood pressure, preventing platelet aggregation and adhesion, restricting oxidation of LDL cholesterol, inhibiting smooth muscle cell proliferation, and decreasing the expression of pro-inflammatory genes that are associated with atherogenesis. On the other hand, NO interacts with O<sub>2</sub><sup>-</sup>, leading to NO inactivation and the production of peroxynitrite, which post-transcriptionally modifies proteins and negatively affects their function. It can contribute to endothelial dysfunction by stimulating the production of inflammatory mediators and lipid peroxidation, and thus increasing cell permeability. As a result, we found that in patients with diabetes mellitus complicated by retinopathy and SDS, a significant increase in the content of nitric oxide in the peripheral blood is determined, the cause of which is hyperglycemia. The use of an intercellular messenger (nitric oxide NO), which contributes to the physiological regulation of eye hemodynamics, protects vascular endothelial cells from pathogenic ischemic factors, will help clinicians choose an effective pharmacological therapy suitable for a specific patient and a specific eye.

**Keywords:** diabetes, diabetic retinopathy, diabetic foot syndrome, nitric oxide.

---

## ■ ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным Международной федерации диабета, сахарный диабет (СД) рассматривают как пандемию XXI столетия [1, 2]. Сегодня в мире проживает более 480 млн пациентов с СД и, по прогнозам экспертов, к 2030 г. их численность увеличится практически вдвое. Считается, что СД – одно из наиболее известных хронических и опасных заболеваний. Его распространенность среди взрослого населения составляет около 9,2% и неуклонно возрастает, особенно в странах со средним и низким уровнем дохода [3]. Следует отметить, что достижения в изучении и, в частности, лечении СД нередко преувеличиваются. На самом деле эта проблема еще далека от окончательного решения. По данным ВОЗ (2018), диабет является важной причиной слепоты, почечной недостаточности, ампутации нижних конечностей и других долгосрочных негативных последствий, которые существенно влияют на качество жизни пациентов [4].

Вследствие развития офтальмологических осложнений инвалидизация пациентов развивается в более короткие сроки [5]. Как правило, основной причиной инвалидизации вследствие диабетических поражений органа зрения у такой категории пациентов является развитие диабетической ретинопатии (ДР) и диабетической макулопатии, а потеря зрения происходит в результате развития диабетического макулярного отека (ДМО) [6]. Достаточно сказать, что на протяжении 10–15 лет у пациентов с СД появляются признаки диабетической ретинопатии, и через 30 лет более 90% диабетиков приобретают такую патологию зрения [7].

Известно, что в хирургической практике чаще всего встречается такое тяжелое осложнение СД, как синдром диабетической стопы (СДС), который в структуре хирургических заболеваний у пациентов с СД составляет 10–30% и проявляется в виде нарушений в микроциркуляции, поражения периферической нервной системы, изменений в костно-суставном аппарате, грозит появлением трофических нарушений в виде язв, и дальнейшим их нагноением, и иногда формированием гангрены стопы. Все это приводит к временной или стойкой утрате трудоспособности, высокой стоимости лечения [8] и часто заканчивается инвалидизирующими хирургическими вмешательствами, что влечет за собой тяжелые социально-экономические последствия [9, 10]. Даже при успешном лечении частота рецидивов СДС составляет 66% [8].

Кроме того, как показывают результаты исследований зарубежных и отечественных ученых, ДР – одно из наиболее распространенных и грозных осложнений органа зрения при СД – встречается у 25,3–56,3% пациентов с СД и является основной причиной слепоты среди людей трудоспособного возраста [11–16].

Несмотря на то, что MacKenzie (1879) впервые описал ДР более 150 лет назад, совершенных методов лечения ДР не существует, и проблема данной патологии остается актуальной и сегодня [17]. В 2010 г. было зарегистрировано 126 млн 600 тыс. пациентов с ДР, и, согласно прогнозам, к 2040 г. количество случаев СД возрастет до 642 млн (каждый 10-й человек), а ДР – до 200 млн [18].

Диабетическая ретинопатия – это неспецифическая микрососудистая патология, в результате которой происходит поражение сосудов

сетчатки с последующим образованием микроаневризм, кровоизлияний и, как следствие, у пациентов снижается острота зрения и развивается слепота [19, 20]. Пациенты с инсулинозависимым СД имеют более высокий риск развития сосудистых заболеваний, таких как гипертония, нефропатия и ДР. Следует отметить, что именно сосудистые заболевания являются наиболее частой причиной заболеваемости и смертности пациентов с инсулинозависимым диабетом. Частота развития ДР имеет прямую корреляционную связь со степенью тяжести СД и выступает основной причиной слепоты и нарушения зрения у пациентов данного профиля [18].

Несмотря на продолжающиеся исследования, патогенез сосудистых заболеваний при диабете остается до конца неясным. В последние годы в поле зрения многих исследователей остается изучение роли релаксирующего фактора эндотелия оксида азота в развитии тяжелых состояний и осложнений СД [6, 8, 11]. Кроме того, есть сведения касательно изменений, способствующих окислительному и нитрозативному стрессу, включая повышенное образование оксида азота (NO) и супероксида, избыточную экспрессию различных изоформ синтазы оксида азота (NOS), нитрованных полей (АДФ-рибозы) белков, а также ингибирование антиоксидантных ферментов в патогенезе этого заболевания [4, 6, 11]. Существует мнение, и рассматривается возможная роль этих компонентов в развитии ДР, подчеркивается их значение в качестве терапевтических составляющих для снижения рисков ее развития [1, 18, 20].

Как показывает опыт зарубежных ученых, NO широко признан в качестве важного межклеточного посредника в сердечно-сосудистой и нервной системах, в иммунологических реакциях, в том числе и в глазах. Известно, что NO производится тремя изоформами NOS, которые в разной степени экспрессируются в сетчатке [21, 22]. Эндотелиальная (eNOS) изоформа находится в эндотелии сосудистого русла, миокардиоцитах и тромбоцитах, активность которых регулируется ионами  $Ca^{2+}$  и активируется агонистами  $Ca^{2+}$ , ацетилхолином и брадикинином. Нейрональная (nNOS) изоформа является конститутивной формой синтазы оксида азота и находится в нейронах. Ее также активируют градиентами  $Ca^{2+}$ . Индуцибельная (iNOS) (макрофагальная, иммунологическая) изоформа NO производит значительно больше молекул NO по сравнению с eNOS и nNOS и не регулируется уровнем внутриклеточного  $Ca^{2+}$ . Функциональной особенностью iNOS выступает ее роль в активации функции активированных макрофагов, продуцирующих значительно больше NO по сравнению с клеточным эндотелием сосудов. Следует отметить, что NO, который производится макрофагами, обладает цитотоксическим действием против клеток-мишеней (опухолей, бактерий, вирусов и др.) [21, 22]. Ряд исследований свидетельствуют, что NO иногда оказывается в биполярных клетках [23].

На физиологических уровнях эндотелиальный NO вызывает расширение сосудов, усиление кровотока, снижение сосудистого сопротивления, ингибирование агрегации и адгезии тромбоцитов, угнетение адгезии и трансмиграции лейкоцитов и снижение пролиферации гладких мышц. Кроме того, NO, полученный из nNOS, действует как нейромодулятор, или нейротрансмиттер, в нервной деятельности, такой как адаптация к свету/темноте. Известно, что NO, генерируемый iNOS,

регулирует иммунные реакции. eNOS и nNOS являются конститутивными ферментами. В то же время экспрессия iNOS индуцируется провоспалительными стимулами [21, 22].

В основном изоформы NO экспрессируются в эндотелиальных клетках, мозговых и периферических нервах и, соответственно, макрофагах [21, 23]. Установлено [23], что NO может производиться любым типом клеток сетчатки, и это важная сигнальная молекула, которая регулирует высвобождение нейротрансмиттеров и модулирует проходящие в сетчатке процессы. Кроме того, в сетчатке глаза производятся конститутивные NOS, eNOS и nNOS, которые способствуют регулированию нормальной гемодинамики, и жизнеспособности, и защите клеток сетчатки от оксидантных стрессов [24].

Однако существующие данные литературы, успехи в изучении патогенеза ДР не отвечают на все вопросы офтальмологов о возможностях прогнозирования развития ДР, ее осложненных форм и их профилактики. В основном прослеживается соответствующая комбинация всех условий, приводящих к развитию ДР [11]. Поэтому ранняя диагностика ДР как у детей, так и у взрослых играет особую роль. Следует отметить, что вопросы патогенеза и развития некоторых офтальмологических заболеваний, в том числе ДР, касаются пограничной области знаний и до настоящего времени остаются тяжелыми и малоизученными.

Таким образом, изучение возможной роли оксида азота в развитии ДР у пациентов с СДС имеет большое клиническое, практическое и научное значение.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Повысить эффективность диагностики и лечения осложнений СД путем определения показателей, характеризующих патогенетические механизмы развития сосудистой дисфункции, в частности ДР, и взаимосвязь этих изменений с оксидом азота.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в 2019–2020 гг. на клинических базах Национального университета здравоохранения Украины (НУОЗ) имени П.Л. Шупика МЗ Украины: кафедре общей и неотложной хирургии и кафедре офтальмологии.

Под наблюдением находилось 2114 пациентов с различными хирургическими заболеваниями (из них 1073 пациентов с гнойно-септическими заболеваниями мягких тканей), среди которых с СД 2-го типа было 193 пациента, а с СДС 2–5-й стадий по Wagner и ДР – 134 пациента.

В исследование были включены 134 пациента (268 глаз) с СДС и ДР, которые составили основную группу. Гендерная и возрастная характеристика основной группы: 85 мужчин – 63,4%, 49 женщин – 36,6%, средний возраст которых  $64,7 \pm 7,3$  года. В группу сравнения вошли 59 пациентов (118 глаз) с СД соответствующего возраста без СДС и ДР. Обе группы были одинаковы по возрасту и полу.

У всех пациентов основной группы присутствовала сопутствующая патология: ишемическая болезнь сердца в 108 (80,6%) случаях, гипертоническая болезнь – 97 (72,4%), ДР – 53 (39,6%), острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе – 17 (12,7%), инфаркт миокарда

в анамнезе – 23 (17,2%), энцефалопатия – 29 (21,6%), хроническая почечная недостаточность – 16 (11,9%), варикозная болезнь нижних конечностей – 14 (10,5%). У 73 (54,5%) пациентов была установлена нейропатическая форма СДС и у 61 пациента (45,5%) – нейроишемическая форма СДС.

Все пациенты были информированы о ходе исследования. В каждом случае было оформлено информированное согласие на участие в нем. Срок динамического наблюдения за пациентами основной группы составил 4 года. Исследование было разрешено этическим комитетом НУОЗ Украины имени П.Л. Шупика.

Уровень метаболитов активных форм кислорода оценивали по содержанию ТБК-активных продуктов в плазме крови [25]. Состояние системы антиоксидантной защиты отражала активность супероксиддисмутазы (СОД) [26]. Продукцию оксида азота определяли по суммарному содержанию нитритов / нитратов в плазме крови с помощью реактива Грисса [27]. Содержание активных метаболитов оксида азота оценивали по содержанию S-нитрозотиолов [28]. Содержание ГЦ определяли иммунохимически с помощью анализатора ABBOTT Architect i2000 по хемилюминесцентной технологии Chemiflex.

Всем пациентам проводилось комплексное офтальмологическое обследование, включавшее: изучение анамнеза, визометрию, тонометрию (Торсон СТ-80), рефрактометрию (Humphrey-597, Hartinger), офтальмометрию (Торсон), эхобиометрию (Bio-meter AL-1000-Tomey), пахиметрию (OCT-Vizante, Carl Zeiss), кератометрию (Торсон), кератотопографию (Pentacam, Oculus), биомикроскопию (Торсон), гониоскопию (Торсон, Goldmann, van Beuningen), биомикроскопию сетчатки с асферическими линзами (Торсон, Volk, Ocular), прямую офтальмоскопию с оценкой параметров ДЗН и макулы (Carl Zeiss), периметрию (Humphrey HFA II-I, HFA II-750 и анализатор поля зрения Zeiss), оптическую когерентную томографию, в том числе в режиме Angio (Copernicus REVO, протокол Retina3D, RetinaRaster), фотографирование глазного дна фундус-камерой (Торсон TRS-NW7SF), флюоресцентную ангиографию (Торсон TRS-NW7SF).

В зависимости от характера распределения применялись соответствующие методы статистического анализа: статистического наблюдения, вариационной статистики, множественного сравнения, математического ожидания, корреляционного анализа, метод построения и анализа логистических моделей регрессии, метод пошагового исключения, метод построения кривых диагностических характеристик (ROC). Статистический материал был зашифрован, и сформирована база результатов для проведения их компьютерной обработки с использованием современных методов статистики SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), PASW Statistics (Predictive Analytics SoftWare) (SPSS: An IBM Company, Inc.), пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., USA), а также статистического пакета MedCalc (MedCalc Software's).

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты представлены в табл. 1–4.

Анализ пациентов основной группы с СД 2-го типа по наличию и отсутствию СДС и ДР представлен в табл. 1.

**Таблица 1****Характеристика пациентов с СД по наличию или отсутствию СДС и ДР, n=193**

Table 1

Characteristics of patients with diabetes mellitus by the presence or absence of diabetic foot syndrome and diabetic retinopathy, n=193

Показатель	Пациенты с СД без СДС, n=59	Пациенты с СД и СДС, n=134	Пациенты с СД, СДС без ДР, n=81	Пациенты с СД, СДС и ДР, n=53
Возраст, лет	59,2 (57,2–61,1)	64,7 (61,0–68,3)	62,6 (61,1–64,2)	65,6 (62,7–68,5)
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	32,5 (31,8–33,1)	35,8 (32,4–39,2)	34,3 (31,5–37,1)	36,5 (33,6–39,4)
Гликозилированный гемоглобин, Нb <sub>A1c</sub>	7,35 (7,2–7,5)	8,6 (7,9–9,3)	8,5 (7,8–9,2)	9,2 (8,6–9,8)
Длительность СД до 10 лет	64,1 (62,8–65,4)	26,3 (22,7–29,9)	14,5 (13,9–15,1)	19,7 (15,2–24,2)
Длительность СД более 10 лет	19,7 (18,3–21,1)	69,9 (61,4–78,4)	72,2 (60,5–83,9)	76,8 (72,3–81,3)
Наличие офтальмогипертензии, %	5,4 (4,8–6,0)	28,5 (25,1–31,9)	25,3 (22,7–27,9)	39,7 (32,3–47,1)
Наличие ишемической болезни сердца, %	38,9 (34,2–43,6)	80,6 (74,1–87,1)	85,3 (74,8–95,8)	91,4 (86,7–96,1)
Наличие гипертонической болезни, %	63,3 (57,0–69,3)	72,4 (64,4–80,4)	77,1 (63,9–90,3)	85,2 (81,3–89,1)
Наличие энцефалопатии, %	15,9 (14,1–17,7)	21,6 (20,7–22,5)	24,8 (20,4–29,2)	27,5 (24,3–30,7)
Наличие в анамнезе инфаркта миокарда, %	8,4 (8,1–8,7)	17,2 (16,6–17,8)	16,5 (15,9–17,1)	19,3 (17,3–21,3)
Наличие в анамнезе острого нарушения мозгового кровообращения, %	5,2 (4,7–5,7)	12,7 (10,4–15,0)	13,1 (11,9–14,3)	15,8 (14,2–17,4)
Наличие хронической почечной недостаточности, %	4,7 (4,5–4,9)	11,9 (10,8–13,0)	11,4 (11,1–11,7)	12,2 (11,5–12,9)
Наличие варикозной болезни нижних конечностей, %	4,6 (4,2–5,0)	10,5 (9,8–11,2)	11,9 (10,1–13,7)	13,6 (11,3–15,9)

Как показали исследования, риск развития ДР у пациентов с СД и СДС был выше при длительности диабета более 10 лет, гликозилированном гемоглобине более 9,2 и индексе массы тела более 36,5. Кроме того, в 91,4% случаев эти пациенты имели ишемическую болезнь сердца, в 85,2% – гипертоническую болезнь, в 27,5% – энцефалопатию, в 12,2% – хроническую почечную недостаточность, в 13,6% – варикозную болезнь нижних конечностей и в 39,7% случаев у таких пациентов кроме ДР уже присутствовала вторичная офтальмогипертензия.

Анализ пациентов основной группы с СДС и ДР по степени тяжести ДР представлен в табл. 2.

Как видно из табл. 2, среди 53 пациентов с СД (106 глаз), имеющих СДС и ДР, 13,2% пациентов (14 глаз) имели непролиферативную ДР легкой степени, у 39,6% пациентов (42 глаза) была диагностирована непролиферативная ДР средней степени тяжести, 18,9% (20 глаз) имели непролиферативную ДР тяжелой степени, 16,3% (18 глаз) – пролиферативную ДР и у 11,4% пациентов (на 12 глазах) был ДМО.

У пациентов основной и группы сравнения на протяжении исследования определяли содержание конечных продуктов метаболизма

**Таблица 2**

**Характеристика пациентов основной группы с СДС и ДР по степени тяжести ДР, n=53**

**Table 2**

**Characteristics of patients of the main group with diabetic foot syndrome and diabetic retinopathy according to the severity of diabetic retinopathy, n=53**

Показатель, степень сложности ДР	Пациенты с СД, имеющие СДС и ДР, n=53
Непролиферативная ДР легкой степени, %	13,2 (12,7–13,7)
Непролиферативная ДР средней степени, %	39,6 (31,2–48,0)
Непролиферативная ДР тяжелой степени, %	18,9 (14,4–23,4)
Пролиферативная ДР, %	16,9 (12,2–21,6)
Диабетический макулярный отек, %	11,4 (10,7–12,1)

оксида азота в периферической крови. Как видно из табл. 3, у пациентов с ДР установлено повышение уровня конечных продуктов метаболизма оксида азота в периферической крови в 1,78 раза ( $p<0,01$ ) по сравнению с пациентами без ДР.

В результате определения активности СОД периферической крови нами установлено снижение ее активности у пациентов с ДР в 1,56 раза ( $p<0,01$ ) относительно группы сравнения (табл. 3).

Анализ содержания ТБК-активных продуктов в периферической крови показал повышение показателя в основной группе в 1,58 раза ( $p<0,01$ ) относительно референтных значений пациентов без ДР (табл. 3).

Кроме того, при определении содержания S-нитрозотиолов нами установлено повышение этих показателей в основной группе в 2,38 раза ( $p<0,01$ ) (табл. 3).

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют о том, что у пациентов с СД, осложненным ретинопатией, определяется повышение содержания конечных продуктов метаболизма оксида азота в периферической крови (табл. 3). Полученные результаты согласуются с мнением зарубежных коллег, которые путем экспериментальных исследований установили, что гипергликемия может увеличивать продукцию NO или снижать его биоактивность, что приводит к увеличению образования супероксида [29]. Результаты наших исследований демонстрируют этот факт – повышение активности СОД периферической крови (табл. 3) у пациентов с СД и ДР.

**Таблица 3**

**Анализ содержания конечных продуктов метаболизма оксида азота в периферической крови пациентов основной и группы сравнения, n=193**

**Table 3**

**Analysis of the content of end products of nitric oxide metabolism in the peripheral blood of patients in the main and comparison group, n=193**

Исследуемые показатели	Основная группа (ДР и СДС)	Референтные значения группы сравнения
Содержание нитрат / нитрит, нмоль/л	8,34±0,21*	4,67±0,34
Активность СОД, ед/мг белка	0,16±0,007*	0,25±0,02
ТБК-активные продукты кислорода, мкмоль/мл	1,61±0,06*	1,01±0,02
S-нитрозотиолы, нмоль/мл	1,91±0,04*	0,857±0,142

Примечание: \* достоверно в сравнении с референтными показателями.



При этом нами установлено, что у обследованных пациентов с ДР определяется повышение в плазме крови S-нитрозотиолов и ТБК-активных форм кислорода на фоне значительного снижения активности антиоксидантной системы СОД (табл. 3).

Следует помнить, что NO может иметь как положительные, так и вредные эффекты в зависимости от его концентрации [18]. С одной стороны, NO вызывает расслабление кровеносных сосудов, снижая кровяное давление, предотвращает агрегацию и адгезию тромбоцитов, ограничивает окисления холестерина ЛПНП, подавляет пролиферацию клеток гладких мышц и снижает экспрессию генов провоспалительных цитокинов, которые связаны с атерогенезом.

С другой стороны, NO взаимодействует с  $O_2^{\cdot -}$ , приводя к инаktivации NO и продукции пероксинитрита, который посттранскрипционно модифицирует белки и негативно влияет на их функцию [12, 17]. Это может способствовать эндотелиальной дисфункции, стимулируя выработку медиаторов воспаления и перекисное окисление липидов и таким образом увеличивая проницаемость клеток [28, 32].

Известно [30], что гипергликемия и другие стрессовые стимулы вызывают образование супероксида, который в избытке быстро реагирует с NO, производя сильный окислитель пероксинитрит. Помимо снижения биодоступности NO, пероксинитрит может реагировать с модифицированными остатками тирозина в белках с образованием нитротирозина (нитрование белка), стабильного конечного продукта, который приводит к повреждению тканей за счет инаktivации белков, перекисного окисления липидов и повреждения ДНК, что приводит к гибели клеток и нарушению функции тканей [30, 31]. Поскольку сетчатка богата полиненасыщенными липидными мембранами, она особенно чувствительна к действию активных форм кислорода и азота [31]. В патологических условиях нарушения производных от eNOS и nNOS NO или избыточная продукция NO под действием iNOS может привести к повреждению сетчатки, например к снижению жизнеспособности клеток, повышенной гибели клеток, лейкостазу, повышению проницаемости сосудов и нейродегенерации [21]. Следует отметить, что оксидативный стресс также превращает eNOS с NO-генерирующим ферментом в продуцент супероксида, процесс, который происходит за счет истощения кофактора или субстрата eNOS и других механизмов, включающих посттрансляционные модификации eNOS [32].

Кроме того, с другой стороны, как хроническая, так и острая гипергликемия связаны со снижением биодоступности NO и нарушением эндотелий-зависимой вазодилатации у пациентов с ДР.

Поэтому у пациентов основной группы мы также провели исследования содержания ГЦ в периферической крови. Результаты установили (табл. 4) повышение его концентрации в 5,13 раза ( $p < 0,001$ ) у пациентов основной группы с ДР относительно группы сравнения.

Гомоцистеин – серосодержащая аминокислота, и ее высокие уровни в крови рассматриваются как фактор риска для многих заболеваний, включая болезни сердца и офтальмологические осложнения СД [7, 9]. Считается, что умеренное увеличение циркулирующего ГЦ играет одну из ключевых ролей в развитии аномалий сетчатки, включая дисфункцию эндотелиальных клеток, ишемию, истончение слоев нервных

**Таблица 4**

**Анализ содержания ГЦ в периферической крови пациентов основной и группы сравнения, n=193**

**Table 4**

**Analysis of the content of homocysteine in the peripheral blood of patients in the main and comparison group, n=193**

<b>Исследуемые показатели</b>	<b>Основная группа (ДР и СДС)</b>	<b>Референтные значения группы сравнения</b>
ГЦ, мкмоль/мл	46,75±1,01*	9,02±0,33

Примечание: \* достоверно в сравнении с референтными показателями.

волокон, развитие неоваскуляризации и нарушения гемато-ретиального барьера. Многочисленные клинические исследования доказали значение этих факторов в механизмах развития ДР [2, 17, 22, 29].

Более того, в исследованиях зарубежных ученых [20–22] с использованием экспериментальных моделей показаны механизмы действия ГЦ, приводящие к нейродегенерации сетчатки. В работах *in vivo* и *in vitro* доказано, что ГЦ индуцирует апоптоз в ганглиозных клетках сетчатки и потерю ганглиозных клеток за счет нарушения регуляции митохондриальной динамики [20–22]. Активация рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDA) также была предложена в качестве возможного механизма индуцированной ГЦ гибели ганглиозных клеток сетчатки [29, 30, 32, 33]. В исследованиях других авторов показано, что ГЦ проявляет свой токсический эффект за счет активации механизмов воспалительного и окислительного стресса, что приводит к активации митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК), инфильтрации макрофагов и усилению продукции генов провоспалительных цитокинов [33]. Кроме того, ГЦ вызывает окислительный стресс и снижает биоактивность оксида азота, в конечном итоге приводит к дисфункции сосудов [33].

Таким образом, в результате проведенных исследований нами установлено, что у пациентов с СД, осложненным ретинопатией, определяется значительное повышение содержания оксида азота в периферической крови, причиной которого является гипергликемия. Данная ситуация протекает на фоне повышения активации продукции активных форм кислорода (ТБК-активные продукты) и пероксинитрита (S-нитрозотиолы) и значительного угнетения активности антиоксидантных систем крови (СОД). Данные тенденции приводят, с одной стороны, к развитию оксидантного стресса и прямого повреждения сетчатки, а с другой – к уменьшению биодоступности оксида азота в реализации реакций вазодилатации.

Вместе с этим избыточная продукция оксида азота у обследованных пациентов, которая имела негативные последствия, протекает вместе с повышением содержания в периферической крови пациентов с СД ГЦ, который является также мощным вазоконстриктором. Таким образом формируется патологический круг, который приводит к развитию сосудистой дисфункции сосудов в сетчатке глаза и является причиной значительных осложнений течения СД и коррелирует со степенью тяжести развития ДР.

Сегодня для лечения ДР используется большое количество различных терапевтических стратегий: нестероидные, стероидные

противовоспалительные препараты, антикоагулянты; моноклональные антитела к конкретным медиаторам, факторам, молекулам; панрети-нальная лазерная коагуляция сетчатки [11].

Именно поэтому использование межклеточного посредника (NO), который способствует физиологическому регулированию гемодинамики глаза, защищает эндотелиальные клетки сосудов от патогенных факторов ишемии, поможет клиницистам выбрать действенную фармакологическую терапию, подходящую для конкретного пациента и конкретного глаза, актуально и своевременно.

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты наших исследований свидетельствуют, что поражение сосудов сетчатки и развитие ДР, причиной которой является гипергликемия, связаны с повышением содержания оксида азота и ГЦ в периферической крови и коррелируют со степенью тяжести ДР. Дальнейшее исследование возможности использования оксида азота как патогенетической терапии при лечении осложнений СД, в частности ДР и СДС, перспективно и актуально для современной медицины.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

В последние годы таргетная терапия продемонстрировала свои бесспорные преимущества, позволяющие получить максимально позитивный эффект при минимальных побочных действиях. Однако на современном этапе развития науки перспективными выступают лечение и профилактика ДР, дающие возможность изучать и модулировать воспаление именно на молекулярном уровне.

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Dedov I.I. (2013) Innovachionye tehnologii v lechenii i profilaktike saharnogo diabeta i ego oslozhneniy [Innovative technologies in the treatment and prevention of diabetes mellitus and its complications]. *Saharniy diabet*, vol. 16(3), pp. 4–10.
2. Dabir S.S., Das D., Nallatambi J., Mangalesh S. (2014) Differential systemic gene expression profile in patients with diabetic macular edema: responders versus nonresponders to standard treatment. *Indian J. Ophthalmol*, vol. 62(1), pp. 66–73.
3. Prokofyeva E., Zrenner E. (2012) Epidemiology of major eye diseases leading to blindness in Europe: a literature review. *Ophthalmic Res*, vol. 47(4), pp. 171–188.
4. Neroev V.V. (2012) Sovremennye aspekty lecheniya diabeticeskoy retinopatii I diabeticeskogo makulyarnogo oteka [Modern aspects of the treatment of diabetic retinopathy and diabetic macular edema]. *Vestnik Ros AMN*, vol. 1, pp. 61–65.
5. Pshenichnov M.V. (2010) *Faktori riska I zakonomernosti manifestatsii makulyarnogo oteka u bolnih saharnim diabetom II tipa* [Risk factors and patterns of manifestation of macular edema in patients with type II diabetes mellitus] (PhD Thesis). Krasnoyarsk, 22 p.
6. Veselovskaya N.N., Veselovskaya Z.F. (2015) Fundamentalnie issledovaniya v optalmologii – sovremennaya perspektiva novih podhodov k pervichnoy I vtorichnoy profilaktike sosudistih zabolevaniy organa zreniya [Basic research in ophthalmology – a modern perspective of new approaches to primary and secondary prevention of vascular diseases of the visual organ]. *Ophthalmology*, vol. 1(01), pp. 11–17.
7. Amorov A.N., Abdulaeva E.A., Minhuzina E.L. (2015) Diabeticheskiy makulyarniy otek; epidemiologiya, patogenez, diagnostika, klinicheskaya kartina, lechenie [Diabetic macular edema: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, clinical presentation, treatment]. *Kazanskiy med.zhurnal*, vol. 96(1), pp. 70–76.
8. Bilyaeva O.A., Krizhevskiy V.V., Rybanets L.I., Ulanovich L.I., Ivanchenko R.V. (2014) Optimizatsiya kompleksnogo lecheniya gnoyno nekroticheskikh prochesov u bolnykh sindromom diabeticeskoy stopi I finansovye aspekty [Optimization of complex treatment of purulent necrotic processes in patients with diabetic foot syndrome and financial aspects]. *Klinicheskaya hirurgiya*, vol. 11(3), pp. 3–7.
9. Pokydko A.A., Zhmur T.P., Zarezanko A.V., Funikov A.V., Yarmak O.A., Osadchiy A.V. (2019) Osoblivosti ranevogo prochesu pri gostriy rani ta u hvorih iz sindromom diabeticeskoy stopi [Features of the wound process in patients with hospital wounds and in patients with diabetic foot syndrome]. *Harkivska hirurgichna shkola*, vol. 2(95), pp. 214–218.
10. Prompers L., Huijberts M., Schaper N., Apelqvist J., Bakker K., Edmonds M., Holstein P., Jude E., Jirkovska A., Mauricio D., Piaggisi A., Reike H., Spraul M., Van Acker K., Van Baal S., Van Merode F., Uccioli L., Urbancic V., Ragnarson Tennval G. (2008) Resource utilisation and costs associated with the treatment of diabetic foot ulcers. Prospective data from the Eurodiale Study. *Diabetologia*, vol. 51, pp. 1826–1834.
11. Bezditko P.A., Klimenko V.V. (2017) Molekulyarni mehanizmi patogenezu dibetichnoi retinopatii [Molecular mechanisms of pathogenesis of diabetic retinopathy]. *Archiv ophthalmology*, vol. 5 (3), pp. 92–96.
12. Kertes P.J., Johnson T.M. (2007) Evidence Based Eye Care. *Lippincott Williams & Wilkins*, pp. 6964–6967.
13. Yau J.W. (2012) Meta-Analysis for Eye Disease (META-EYE) Study Group. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*, vol. 35 (3), pp. 556–564.

14. Okroyan V.P., Ibragimov T.R., Galimov O.V., Hanov V.O. (2018) Sovremenniy vzglyad na patogeneticheskiy podhod v hirurgicheskoy lechenii boljnih s sindromom diabeticheskoy stopi [Modern view of the pathogenetic approach in the surgical treatment of patients with diabetic foot syndrome]. *Permskiy medichinskiy zhurnal*, vol. 35 (1), pp. 12–20.
15. Krushinskaya Z.G., Uyzvenko T.U., Marchenko O.V. (2019) Vpliv etiologichnih i sotsialnykh chinnikov na razvitiye i perebig sindromu diabeticheskoy stopi [The influence of etiological and social factors on the development and course of diabetic foot syndrome]. *Endokrinologiya*, vol. 24(1), pp. 17–23.
16. Marchenko O.V. (2017) Analiz negativnykh rezultatov likuvannya sindromu diabeticheskoy stopi v ambulatornykh umovakh [Analysis of negative results of treatment of diabetic foot syndrome in an outpatient setting]. *Meghdunarodniy endokrinologicheskij zhurnal*, vol. 13(2), pp. 181–185.
17. Petrovski G., Kaarniranta K., Petrovic D. (2017) Oxidative stress, epigenetics, environment and epidemiology of diabetic retinopathy. *Journal of Diabetes Research*, vol. 2, pp. 1–3.
18. Zhao Y., Li Z., Zhang L., Zhang Y., Yang Y., Tang Y., Fu P. (2014) The TNF-alpha -308G/A polymorphism is associated with type 2 diabetes mellitus: an updated meta analysis. *Mol Biol Rep*, vol. 41(1), pp. 73–83.
19. Semeraro F., Cancarini A., dell’Omo R. (2015) Diabetic retinopathy: vascular and inflammatory disease. *Journal of Diabetes Research*, vol. 3, pp. 1–17.
20. Andersen N. [et al] (2016) The Danish Registry of Diabetic Retinopathy. *Clin Epidemiol*, vol. 8, pp. 613–619.
21. Toda N., Nakanishi – Toda M. (2007) Nitric oxide: ocular blood flow, glaucoma, and diabetic retinopathy. *Progress in Retinal and eye Research*, vol. 26 (3), pp. 205–238.
22. Vielma, J.P., Ahmed, S., Nemhauser, G. (2012) Mixed-integer models for nonseparable piecewise-linear optimization: unifying framework and extensions. *Operations Research*, vol. 58(2), pp. 303–315.
23. Mammadzada P., Gudmundsson J., Kvantta F., Andre H. (2016) Differential hypoxic response of human choroidal and retinal endothelial cells proposes tissue heterogeneity of ocular angiogenesis. *Acta Ophthalmologica*, vol. 94 (8), pp. 805–814.
24. Antonetti D.A. (2006) Diabetic retinopathy: seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes*, vol. 55 (9), pp. 2401–2411.
25. Seluytina S.N., Seluytin A.Yu., Palj A.I. (2000) Modificatsiya opredeleniya koncentracii TBK-aktivnykh produktov sivorotki krovi [Modification of the determination of the concentration of TBK-active products of blood serum]. *Klin. lab. diagnostika*, vol. 2, pp. 8–11.
26. Kostyuk V.A., Potapovich A.I., Kovakeva Zh.V. (1990) Prostoy i chuvstvitelnyy metod opredeleniya aktivnosti suoeroksiddismutazy, osnovennyi ne reakcii okisleniya kvarcetinina [A simple and sensitive method for determining the activity of superoxide dismutase, based on the oxidation reaction of quercetin]. *Voprosi med. himii*, vol. 36(2), pp. 88–91.
27. Grisham M.B., Dghonson G.G., Lankaster Dg.P. (1996) Kolichestvennoe opredelenie nitratov i nitritov vo vnekletochnykh ghdikostyakh [Quantification of nitrates and nitrites in extracellular fluids]. *Metodi Enzimol*, vol. 268, pp. 237–246.
28. Stamler J.S. (2004) S-nitrosothiols in blood: role, amount and methods of analysis. *Circ Res*, vol. 94 (4), pp. 414–417.
29. Adela P. (2015) Giperglikimiya uvelichivaet virabotku oksida azota pri diabete: issledpvanie pacientov Yuzhmoy Indii (2015) [Hyperglycemia Increases Nitric Oxide Production in Diabetes: A PLoS One Study of South Indian Patients]. *Plos One*, vol. 10(4), pp. 25–27.
30. Pacher P. (2006) The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy, *Pharmacol. Rev*, vol. 58, pp. 389–462.
31. Zheng L., Kern T. (2009) Role of nitric oxide, superoxide, peroxynitrite and PARP in diabetic retinopathy, *Front Biosci*, vol. 1(14), pp. 3974–3987.
32. Luo G., Zhang J., Guo W. (2014) The role of Sec3p in secretory vesicle targeting and exocyst complex assembly. *Mol Biol Cell*, vol. 25(23), pp. 3813–3822.
33. Noda K., Shintaro N., Susumu I., Tatsuro I. (2012) Leukocyte Adhesion Molecules in Diabetic Retinopathy. *Journal of Ophthalmology*, doi: 10.1155/2012/279037.

---

Подана/Submitted: 26.07.2021

Принята/Accepted: 17.09.2021

Контакты/Contacts: ishargorodskamd@hotmail.com