

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

მედიცინის ფაკულტეტი

ტრანსლაციური და კლინიკური მედიცინა

ლელა ჩხიტაური

სისხლის რეოლოგიური მახასიათებლები ინსულინრეზისტენტობის, პრედიაბეტისა და  
შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი  
სადისერტაციო ნაშრომის ავტორეფერატი

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: პროფესორი ელენე გიორგაძე  
პროფესორი ქეთევან ასათიანი

სამეცნიერო კონსულტანტი: პროფესორი თამარ სანიკიძე

თბილისი

2023

## შესავალი

შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულთა სიცოცხლის გახანგრძლივებისთვის დიდი ძალისხმევის მიუხედავად შაქრიანი დიაბეტი კვლავ რჩება მსოფლიოში სიკვდილიანობის ერთ-ერთ ყველაზე ხშირ გამომწვევად (მე-5 ადგილზე). შაქრიანი დიაბეტი 1.6 მილიონი სიკვდილის უშუალო მიზეზს წარმოადგენს [Roglic G., et al, 2005; World Health Organization, 2016]. ცნობილია, რომ შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულ პაციენტებს აქვთ ნაადრევი სიკვდილის 15%-ით გაზრდილი რისკი და სიცოცხლის ხანგრძლივობა მცირდება დაახლოებით 10-20 წლით [Tancredi M., et al., 2010: Key Statistics on Diabetes. 2010]. დიაბეტის საერთაშორისო ფედერაციის (IDF) 2017 წლის სტატისტიკის მიხედვით, შაქრიანი დიაბეტის გლობალური გავრცელება 20-79 წლის ასაკობრივ ჯგუფში 8,8%-ია. გარდა ამისა, ყოველი 2 ადამიანიდან 1-მა არ იცის ამ მდგომარეობის შესახებ [International Diabetes Federation, 2017]. 2030 წლისთვის შაქრიანი დიაბეტით დაავადდება 439 მილიონი ზრდასრული ადამიანი, რაც წინა შეფასებით 366 მილიონს შეადგენდა [Wild S., et al., 2004; Shaw J., et al., 2010]. ასევე ცნობილია, რომ შაქრიანი დიაბეტი უფრო გავრცელებულია ურბანულ, ვიდრე სოფლის მოსახლეობაში და უფრო მეტად გვხვდება მამაკაცებში, ვიდრე ქალებში [Yang W., et al., 2010]. შაქრიანი დიაბეტი ნებისმიერს შეიძლება დაემართოს, მაგრამ მრავალი კვლევა, რომელიც ჯერ კიდევ 1969 წლით თარიღდება, აჩვენებს, რომ აზიელები შორეული აღმოსავლეთიდან, სამხრეთ-აღმოსავლეთ აზიიდან ან ინდოეთის ქვეკონტინენტიდან, განსაკუთრებით სამხრეთ აზიიდან, უფრო მიდრეკილნი არიან შაქრიანი დიაბეტის მიმართ, ვიდრე სხვა ეთნიკური წარმოშობის ადამიანები. [Marine N. et al., 1969; Goldberg M.D., et al., 1969; Jackson W., 1978; Cassidy J.T., 1967; Zimmet P., et al., 1983; Poon-King T., et al., 1968].

ზემოთ მოყვანილი მონაცემები მეტყველებს შაქრიანი დიაბეტის, როგორც ჯანმრთელობის მწვავე პრობლემის შესახებ, რომელიც დაუყოვნებლივ უნდა იქნეს მოგვარებული. მნიშვნელოვანია საზოგადოების ინფორმირება და ყურადღების მიქცევა შაქრიანი დიაბეტის არასასურველ ეფექტებზე, ასევე ახალი კვლევების ჩატარება შაქრიანი დიაბეტის დასაძლევად.

ტრიადა "ინსულინრეზისტენტობა, პრედიაბეტი, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2" არის ერთ-ერთი ყველაზე შესწავლილი და აქტუალური პათოფიზიოლოგიური საკითხი, რომელიც, ერთი მხრივ, წარმოადგენს უწყვეტ პროცესს, რომელიც ასახავს პათოფიზიოლოგიური მდგომარეობის დამძიმებასა და ერთი ეტაპიდან მეორეში გადასვლას (ინსულინრეზისტენტობა, პრედიაბეტი, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2) და, მეორე მხრივ, ეს არის სამი დამოუკიდებელი ნოზოლოგია მისთვის დამახასიათებელი ნიშნებითა და განვითარების მექანიზმებით. ტრიადის შემადგენელი კომპონენტების მსგავსება გამოიხატება ძირითადად იმაში, რომ თითოეულისთვის დამახასიათებელი მეტაბოლური, მაკრო და მიკროცირკულარული დარღვევები ნაყოფიერ ნიადაგს ქმნის ამ ტრიადის დაავადებების შემდგომი განვითარებისა და დამძიმებისთვის.

უჯრედებისთვის ენერჯის მიწოდების შესანარჩუნებლად, ყველა ორგანოსა და სისტემის ნორმალური ფუნქციონირების უზრუნველსაყოფად და სისხლში აუთვისებელი გლუკოზის დაგროვების თავიდან ასაცილებლად ცოცხალ ორგანიზმში აქტიურდება პანკრეასის  $\beta$ -უჯრედებიდან ინსულინის გამოყოფის გაძლიერების კომპენსაციური მექანიზმი, რასაც მოჰყვება ინსულინრეზისტენტობის განვითარება. ჰიპერინსულინემია იწვევს სისხლის პლაზმაში გლუკოზის შემცველობასთან შედარებით ინსულინის მაღალი კონცენტრაციით დაგროვებას და ორგანიზმის ინსულინზე ფიზიოლოგიური რეაქციის დარღვევას, მათ შორის, ცილებისა და ცხიმების მეტაბოლიზმისა და სისხლძარღვთა ენდოთელიუმის ფუნქციის დარღვევებს. ფილოგენეზის პროცესში ამ მეტაბოლურმა მექანიზმმა გამოიწვია საზოგადოებაში ინსულინრეზისტენტობის მნიშვნელოვანი გავრცელება: ინსულინრეზისტენტობა ვლინდება ყოველ მეოთხე პრაქტიკულად ჯანმრთელ ადამიანში. რამდენიმე ფიზიოლოგიური მდგომარეობა (სიბერე, ორსულობა, ფიზიკური აქტივობის შემცირება) ხელს უწყობს ინსულინრეზისტენტობის განვითარებას, თუმცა უფრო ხშირად ეს გამოწვეულია პათოლოგიური მდგომარეობით - გენეტიკური დეფექტებით, ჭარბი წონით, არტერიული ჰიპერტენზიით, დისლიპიდემიით, ინსულინის გადამტანი ცილების მოლეკულური დეფექტებით და ა.შ. [Wolosowicz M, et al., 2022]. ინსულინრეზისტენტობის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი მიზეზია ინსულინის რეცეპტორის ცილის, გლიკოგენ-სინთეზაზის, ჰორმონ-მგრძნო-

ბიარე ლიპაზის,  $\beta$ -3-ადრენერგული რეცეპტორების, სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის (TNF- $\alpha$ ) მუტაცია და ინსულინის გადამტანი ცილების მოლეკულური დეფექტები [Wolosowicz M, et al., 2022].

დაავადების პროგრესირების ტრადიციული განვითარება ინსულინრეზისტენტობის მქონე პაციენტებში ხშირად არის პრედიაბეტი, რასაც მოჰყვება შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის (T2DM) ჩამოყალიბება. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2 არის ქრონიკული, პროგრესირებადი მდგომარეობა, რომელიც იწვევს ჰიპერგლიკემიას წლების განმავლობაში  $\beta$ -უჯრედების ფუნქციის დაქვეითებისა და ქრონიკული ინსულინრეზისტენტობის შედეგად.

დაავადებათა კონტროლის ევროპული ცენტრის მონაცემებით ყოველი ათიდან ერთ ევროპელს, სავარაუდოდ, აქვს პრედიაბეტი. თითქმის 88 მილიონ ზრდასრულ ამერიკელს აქვს პრედიაბეტი და 84%-ზე მეტმა არ იცის ამის შესახებ. პრედიაბეტი ზრდის შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის განვითარების რისკს. განვითარებულ ქვეყნებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2 რჩება სიკვდილისა და ინვალიდობის ერთ-ერთ მთავარ მიზეზად. მსოფლიოში მოზრდილთა დაახლოებით 9.3%-ს აქვს შაქრიანი დიაბეტი. ინდოეთი მიჩნეულია როგორც შაქრიანი დიაბეტის ყველაზე მაღალი გავრცელების ქვეყანა მსოფლიოში, ჩინეთი მეორე ადგილზეა. შაქრიანი დიაბეტით დაავადებულთა 50%-ზე მეტი არ არის დიაგნოსტირებული და ნამკურნალები, რაც იწვევს სხვადასხვა გართულებების რისკის (გულის დაავადებები, ინსულტი, პერიფერიულ სისხლძარღვთა დაავადებები და მიკროსისხლძარღვთა პრობლემები) ზრდას [Alberti K., 2002]. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის ადრეულ ეტაპზეც კი შეინიშნება გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების გართულებისა და სიკვდილიანობის გაზრდილი რისკი [Alberti K., 2002].

შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის თავიდან ასაცილებლად აუცილებელია ინსულინრეზისტენტობის პათოგენეზური მექანიზმების ბლოკირება  $\beta$ -უჯრედების დისფუნქციის შენელებით ან შეჩერებით. კლინიკურ პრაქტიკაში ადრეული დიაგნოსტიკის ახალი მეთოდების დანერგვა შესაძლებელს გახდის შაქრიანი დიაბეტის ქრონიკული გართულებებისა და ათეროსკლეროზთან დაკავშირებული გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების პრევენციას [The DECODE Study Group, 2001]. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის

ადრეული დიაგნოსტიკა და პროფილაქტიკა არის ყველაზე ეფექტური და ეკონომიკურად მიზანშეწონილი სტრატეგია მიკრო და მაკროვასკულური გართულებების პრევენციისა და მათ მიერ გამოწვეული სიკვდილიანობის შემცირებისთვის [Prevention or Delay of Type 2 Diabetes, 2018].

ავადობის მაღალი პროცენტული მაჩვენებლის, თანმხლები დაავადებების გამწვავების, აგრეთვე გულ-სისხლძარღვთა, ნევროლოგიური, ინფექციური და სხვა დაავადებების განვითარების მაღალი რისკის გამო განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია იმ პარამეტრების მონიტორინგი და შესწავლა, რომლებიც ჯერ არაა ჩართული გლუკოზის მეტაბოლიზმის გართულებების დიაგნოსტიკის რუტინული კვლევების ნუსხაში.

ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენს სისხლის რეოლოგიური თვისებების შესწავლა ინსულინრეზისტენტობის, პრედიაბეტისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში.

კვლევის მიზნის მისაღწევად დასახულია შემდეგი ამოცანები:

1. ინსულინრეზისტენტობის, პრედიაბეტისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში სისხლის რეოლოგიური მაჩვენებლების (ერიტროციტების აგრეგაციის ინდექსი (EAI), ერიტროციტების ფარდობითი დეფორმაციის ინდექსი (ERDI), სისხლის პლაზმის სიბლანტე) შესწავლა;
2. ინსულინრეზისტენტობის, პრედიაბეტისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში ერიტროციტების ოსმოსური რეზისტენტობის შესწავლა;
3. ინსულინრეზისტენტობის, პრედიაბეტისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში ერიტროციტულ მემბრანაში მე-3 ზოლის ცილის (Band 3 protein) ექსპრესიის განსაზღვრა;
4. ინსულინრეზისტენტობის, პრედიაბეტისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტების სისხლის საერთო არაფერმენტული ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის განსაზღვრა;

5. ინსულინრეზისტენტობის, პრედიაბეტისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტების სისხლში აზოტის ოქსიდის (NO) შემცველობის განსაზღვრა;
6. შესწავლილ პარამეტრებს შორის კორელაციის დადგენა, მიღებული შედეგების გაანალიზება და ნახშირწყლოვანი მეტაბოლიზმის დარღვევის პროგრესირების მარკერების გამოვლენა.

მიღებული შედეგების მეცნიერული სიახლე:

- პაციენტებში გამოვლენილია სისხლის პლაზმის სიბლანტის მომატება.
- პირველად დადგენილია გარკვეული ურთიერთდამოკიდებულება სისხლის რეოლოგიურ პარამეტრებსა და ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობას შორის ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის სხვადასხვა ხარისხის დარღვევის (ინსულინრეზისტენტობა, პრედიაბეტი და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2) მქონე პაციენტებში. ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაცია შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს მიჩნეულია დაავადების დამძიმების შესაძლო მარკერად.
- დადგენილია კორელაცია ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის სხვადასხვა ხარისხის დარღვევის (ინსულინრეზისტენტობა, პრედიაბეტი და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2) მქონე პაციენტების სისხლში ერითროციტების ოსმოსურ რეზისტენტობასა და ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევას შორის.
- პირველად გამოვლენილია ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის მქონე პაციენტების ერითროციტებში მემბრანული მე-3 ზოლის ცილის ოლიგომერიზაცია. დადგენილია, რომ მე-3 ზოლის ცილის კლასტერიზაცია-ოლიგომერიზაციის პროცესში ჩართულია ჰიპერგლიკემიისა და ოქსიდაციური სტრესის მექანიზმები. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის ადრეულ სტადიებზე (პრედიაბეტი) მე-3 ზოლის ცილის ოლიგომერიზაციაში პრევალირებს ოქსიდაციური მექანიზმები, ხოლო დამძიმებისას (შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2) ჭარბობს გლიკოლიზირების მექანიზმი.

- პირველად დადგენილია, რომ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს ჰემოგლობინის გლიკოლიზირება ზღუდავს მე-3 ზოლის ცილის კლასტერიზაციას, მაგრამ გავლენას ახდენს მის კავშირზე ციტოჩონჩხის ცილებთან და იწვევს ერთროციტების ოსმოსური რეზისტენტობისა და დეფორმაციის მკვეთრ დაქვეითებას.
- დადგენილია, რომ ერთროციტების ოსმოსური რეზისტენტობისა და დეფორმაციის დაქვეითება ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის შედეგია და ეს პარამეტრი შეიძლება გამოყენებულ იქნეს როგორც მგრძნობიარე მარკერი ჰიპერგლიკემიის (პრედიაბეტი) ადრეული სტადიების გამოსავლენად.
- პირველად დადგენილია, რომ ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის დროს პაციენტების სისხლის შრატში აზოტის ოქსიდის შემცველობის ცვლილებები ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციის, აზოტის ოქსიდის ოქსიდაციური დეგრადაციის, პეროქსინიტრიტად გარდაქმნისა და ერთროციტების გაზრდილი აგრეგაციის პირობებში ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას დისფუნქციით არის განპირობებული.

დასაცავად გამოსატანი დებულებები:

1. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის სხვადასხვა ხარისხის დარღვევის (ინსულინ-რეზისტენტობა, პრედიაბეტი და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2) დროს პაციენტების სისხლის რეოლოგიური თვისებების ცვლილებები ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციასთან და ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევასთან არის დაკავშირებული.
2. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის დროს პაციენტების ერთროციტებში მემბრანული მე-3 ზოლის ცილის კლასტერიზაცია-ოლიგომერიზაციის პროცესში ჩართულია ჰიპერგლიკემიისა და ოქსიდაციური სტრესის მექანიზმები - ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის ადრეულ სტადიებზე (პრედიაბეტი) ოქსიდაციური მექანიზმები, ხოლო მისი დამძიმებისას (შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2) ჭარბობს გლიკოლიზირების მექანიზმი.

3. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს ჰემოგლობინის გლიკოლიზირება გავლენას ახდენს მე-3 ზოლის ცილის ციტოჩონჩხის ცილებთან კავშირზე და ერთროციტების ოსმოსური რეზისტენტობისა და დეფორმაციის მკვეთრ დაქვეითებას იწვევს.
4. ერთროციტების ოსმოსური რეზისტენტობისა და დეფორმაციის დაქვეითება ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის შედეგია და ეს პარამეტრი შეიძლება გამოყენებულ იქნეს, როგორც მგრძნობიარე მარკერი ჰიპერგლიკემიის (პრე-დიაბეტი) ადრეული სტადიების გამოსავლენად.
5. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის დროს პაციენტების სისხლის შრატში აზოტის ოქსიდის შემცველობის ცვლილებები ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციის, აზოტის ოქსიდის ოქსიდაციური დეგრადაციის, პეროქსინიტრიტად გარდაქმნის და ერთროციტების გაზრდილი აგრეგაციის პირობებში ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას დისფუნქციის შედეგს წარმოადგენს, რაც, თავის მხრივ, სისხლის მიმოქცევის სისტემაში ნაკადის ინტენსივობის დაქვეითებასა და შაქრიან დიაბეტთან დაკავშირებული გართულებების განვითარებას იწვევს.

ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება:

1. კვლევის შედეგად დადგენილი კანონზომიერებანი (ერთროციტების ოსმოსური რეზისტენტობისა და დეფორმაციის დაქვეითება ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის დროს) შეიძლება იყოს გამოყენებული ჰიპერგლიკემიის ადრეული სტადიების (პრედიაბეტი) გამოსავლენად და მისი დამძიმების პროფილაქტიკისთვის.
2. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის დროს სისხლის რეოლოგიურ ცვლილებებში ოქსიდაციური სტრესის მნიშვნელოვანი როლის გათვალისწინებით შაქრიანი დიაბეტის გართულებების განვითარების პროფილაქტიკისთვის ნახშირ-



წყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის მაკორეგირებელ პრეპარატებთან ერთად შესაძლებელია ანტიოქსიდანტების გამოყენება.

## მასალა და მეთოდები

კვლევა ჩატარებულია პაციენტებზე, რომლებიც გადიოდნენ მკურნალობას ენდოკრინოლოგიის ეროვნული ინსტიტუტის (საქართველო) ბაზაზე 2021 წლის აპრილიდან 2022 წლის მარტამდე. კვლევის პროტოკოლი დამტკიცებულ იქნა ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის მედიცინის ფაკულტეტისა და რეოლოგიის საზოგადოების მულტიდისციპლინარული უმაღლესი სკოლის ეთიკის კომიტეტის მიერ.

პაციენტების კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმები: ინსულინრეზისტენტობა, პრე-დიაბეტი, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2 (T2DM).

პაციენტების კვლევიდან გამორიცხვის კრიტერიუმები: ვირუსული ჰეპატიტი, ნარკომანია, ალკოჰოლიზმი, ავთვისებიანი ონკოლოგია, სხივური/ქიმიოთერაპია.

შესწავლილი პაციენტები განაწილებულ იქნა სხვადასხვა ჯგუფში:

1. პაციენტები ინსულინრეზისტენტობით ( $n = 39$ , საშუალო ასაკი -  $36 \pm 3,4$  წელი);
2. პაციენტები პრედიაბეტით ( $n = 41$ , საშუალო ასაკი  $48 \pm 2,4$  წელი);
3. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტები ( $n = 47$ , საშუალო ასაკი  $55 \pm 5,5$  წელი), დაავადების ანამნეზი 1 წელზე ნაკლები.

## ლაბორატორიული კვლევები

ვსაზღვრავდით სისხლის რეოლოგიურ სტატუსს: ერთროციტების აგრეგაციის ინდექსს (EAI), ერთროციტების ფარდობითი დეფორმაციის ინდექსს (ERDI), სისხლის პლაზმის სიბლანტეს, ერთროციტების ოსმოსურ რეზისტენტობას, ერთროციტულ მემბრანაში მე-3 ზოლის ცილის შემცველობას, აგრეთვე ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობას (სისხლის შრატში მალონდიალდეჰიდის (MDA) შემცველობისა და საერთო არაფერმენტული ანტიოქსიდანტური აქტივობის (TAA) მიხედვით), აზოტის ოქსიდის შემცველობას.

## სტატისტიკური ანალიზი

ვარიაციული ანალიზი (ANOVA) (SPSS-12 for Windows) გამოყენებულ იყო მონაცემების შედარებითი ანალიზისთვის.

## შედეგები და მათი განხილვა

ქრონიკული ჰიპერგლიკემია შაქრიანი დიაბეტის გართულებების განვითარების მთავარი აღიარებული ფაქტორია. ჩვეულებრივ, ინსულინრეზისტენტობა იწვევს ჰიპერგლიკემიას,  $\beta$ -უჯრედების ფუნქციის თანდათანობით შემცირებას (პრედიაბეტი) და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის განვითარებას.

გლუკოზის მომატებული დონე გავლენას ახდენს სისხლის ჰემორეოლოგიურ პარამეტრებზე (ჰემატოკრიტი, პლაზმის ცილები, სიბლანტე, ერთროციტების დეფორმაცია და ა.შ.), რასაც თან ახლავს მიკროცირკულაციის გენერალიზებული დარღვევა, ქსოვილთა პერფუზიის დაქვეითება და მძიმე ქრონიკული იშემიის განვითარება, რაც დიაბეტური რეტინოპათიის, ნეფროპათიის, კიდურებზე წყლულების გაჩენის მიზეზი შეიძლება გახდეს [Cho YI, et al., 2008].

გლუკოზა ერითროციტების ძირითადი სუბსტრატია. ხანგრძლივი ჰიპერგლიკემიის პირობებში ერითროციტების მორფოლოგია, მეტაბოლიზმი და ფუნქცია განიცდის რიგ ცვლილებებს, რაც გავლენას ახდენს ჰემორეოლოგიასა და მიკროცირკულაციაზე [Wang Y, et al., 2021].

რა პროცესები ვითარდება ერითროციტებში და რა უკუკავშირია ამ ცვლილებებსა და შაქრიანი დიაბეტის პროგრესირებას შორის? რა მნიშვნელობა აქვს ამ ცვლილებებს შაქრიანი დიაბეტის დიაგნოსტიკაში, მკურნალობასა და პროგნოზირებაში?

ამ სადისერტაციო ნაშრომში ჩვენ მიზნად დავისახეთ შეგვესწავლა ჰიპერგლიკემიის პროგრესირების ფონზე ერითროციტებში განვითარებული ცვლილებები და გამოგვევლინა ამ ცვლილებებთან დაკავშირებული ინდიკატორები, რომლებიც შეიძლება გამოყენებულ იქნეს ნახშირწყლოვანი მეტაბოლიზმის დარღვევასთან დაკავშირებული დაავადებების პროგრესირების მონიტორინგისთვის.

სისხლში ჭარბი დაგროვებისას გლუკოზა უკავშირდება ერითროციტების ჰემოგლობინს. გლიკოზირებული ჰემოგლობინი (HbA1c) არის ჰემოგლობინის არაფერმენტული გლიკოლიზაციის პროდუქტი და ასახავს სისხლში გლუკოზის საშუალო კონცენტრაციას ბოლო 3 თვის განმავლობაში. კლინიკურად გლიკოზირებული ჰემოგლობინი (HbA1c) ჩვეულებრივ გამოიყენება, როგორც შაქრიანი დიაბეტის მნიშვნელოვანი დიაგნოსტიკური მარკერი [American Diabetes Association, “Standards of medical care in diabetes–2012”. გლიკოზირებული ჰემოგლობინის (HbA1c) დონე მნიშვნელოვნად მაღალი იყო ჩვენ მიერ შესწავლილ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში ინსულინრეზისტობისა და პრედიამეტის ჯგუფების პაციენტებთან შედარებით.

გლიკოზირებულ ჰემოგლობინს აქვს O<sub>2</sub>-ის შეკავშირების გაძლიერებული უნარი. გლიკოზირებული ჰემოგლობინი ადვილად არ იშლება, ამიტომ მისი მაღალი კონცენტრაცია იწვევს უჯრედებში ჟანგბადის გათავისუფლების სირთულეებს და ერითროციტების ჟანგბადის მიმწოდებელი ფუნქციის შემცირებას [Weykamp C., 2013]. გახანგრძლივებული ჰიპერგლიკემია და ჰიპოქსია ხელს უწყობს ჟანგბადის რეაქტიული ნაერთების გაძლიერებულ წარმოქმნას [Fiorentino TV, et al., 2013; Debevec T., et al., 2017].

მრავალი ფერმენტული და არაფერმენტული ანტიოქსიდანტები წარმოქმნიან ანტიოქსიდანტურ სისტემას, რომელიც იცავს უჯრედებს ოქსიდაციური დაზიანებისაგან ჟანგბადის რეაქტიული ნაერთების მიერ. ჟანგბადის რეაქტიული ნაერთების გაძლიერებული წარმოქმნის პირობებში ეს მექანიზმები შეიძლება არასაკმარისი იყოს (დაქვეითების, განლევის შედეგად), რაც ხელს უწყობს ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციას. ოქსიდაციური სტრესის პირობებში სისხლძარღვების კედლებში აქტიურდება მრავალი რედოქ-მგრძობიარე მეტაბოლური გზები, რომლებიც პასუხისმგებელნი არიან მრავალი პროანთებითი ციტოკინების, ზრდის ფაქტორების, ადჰეზიური მოლეკულების, თავისუფალი აზოტის ოქსიდის (NO), პროათეროგენული გენების ექსპრესიაზე, სისხლძარღვების გლუვი კუნთების უჯრედების პროლიფერაციაზე, დიფერენციაციაზე, ზრდასა და მიგრაციაზე, სისხლძარღვთა რემოდელირებაზე და ენდოთელური უჯრედების აპოპტოზზე [Baskurt OK, et al., 1998].

კლინიკური და ექსპერიმენტული კვლევების მონაცემები მოწმობს, რომ ჟანგბადის რეაქტიული ნაერთების გამომუშავება იზრდება შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს და შაქრიანი დიაბეტის განვითარება დაკავშირებულია ოქსიდაციურ სტრესთან [Morabito R, et al., 2020]. ოქსიდაციური სტრესი იწვევს გლუკოზის შეწოვის დარღვევას კუნთოვან და ცხიმოვან უჯრედებში და ამცირებს ინსულინის სეკრეციას ბეტა უჯრედებიდან (Rudich A. et al., 1998; Maddux BA, et al., 2001).

ჩვენ შევისწავლეთ სისხლის შრატის საერთო არაფერმენტული ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობა (TAA) ინსულინრეზისტენტობის, პრედიაბეტისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში და გამოვავლინეთ მისი დაქვეითება ჯანმრთელი პირებისთვის დამახასიათებელ მაჩვენებელთან შედარებით. ამავდროულად ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის სხვადასხვა ხარისხის დარღვევის მქონე პაციენტების სისხლის შრატში დაფიქსირდა მალონის დიალდეჰიდის (MDA) მომატებული შემცველობა, რაც მემბრანული ლიპიდების პეროქსიდაციული პროცესების ინტენსიფიკაციაზე მიუთითებს.

ერიტროციტები ძალიან მგრძობიარეა ჟანგვითი დაზიანების მიმართ უჯრედში ჟანგვითი პროცესების პოტენციურად ძლიერი პრომოტორების, გარდამავალი ვალენ-

ტობის მქონე მეტალთა იონების (Fe), მოლეკულური ჟანგბადის და ოქსიჰემოგლობინის მაღალი შემცველობის გამო [Pandey KB, Rizvi SI. 2010].

როგორც ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, გლუკოზის მეტაბოლიზმის სხვადასხვა ხარისხის დარღვევების მქონე პაციენტების ყველა ჯგუფში (ინსულინრეზისტენტობა, პრედიაბეტი, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2) ერთროციტების ოსმოსური რეზისტენტობა შემცირებულია კონტროლთან შედარებით. ერთროციტების ოსმოსური რეზისტენტობის მაჩვენებელი კორელირებს ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის სიმძიმესთან და არის განსაკუთრებით დაბალი შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში. დადასტურებულია, რომ დაბალი ოსმოსური რეზისტენტობის მქონე ერთროციტებს ახასიათებთ მემბრანის დაქვეითებული დეფორმაცია [Orbach Am Zelig O, et al., 2017].

ჩვენი კვლევის შედეგები მიუთითებს სისხლის პლაზმის სიბლანტის მატებაზე გლუკოზის მეტაბოლიზმის დარღვევის მქონე პაციენტების ყველა ჯგუფში (ინსულინრეზისტენტობა, პრედიაბეტი, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2), რამაც შეიძლება გამოიწვიოს შაქრიანი დიაბეტის დროს სისხლძარღვთა გართულებების განვითარება და დაავადების პროგრესირება.

სისხლის სიბლანტის რეგულაციაში მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება ერთროციტების დეფორმაციის უნარს. ერთროციტების დეფორმაციის დაქვეითება ხელს უწყობს სისხლის სიბლანტის და, შესაბამისად, მსხვილ სისხლძარღვებში ნაკადის წინააღმდეგობის ზრდას.

ჩვენი კვლევის შედეგები აჩვენებს, რომ ერთროციტების დეფორმაციის ინდექსის (ERDI) სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი გაუარესება გამოვლინდა უკვე გლუკოზის მეტაბოლიზმის დარღვევის ადრეულ ეტაპზე (ინსულინრეზისტენტობა და პრე-დიაბეტი), შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში ამ პარამეტრის ცვლილებები კიდევ უფრო ძლიერი იყო.

ერთროციტების ფორმა და მათი დეფორმაციის უნარი დაკავშირებულია მე-3 ზოლის ცილასთან (B3p) [Gabreanu GR, Angelescu S., 2016] (მოლეკულური მასა 90 - 100 kDa), რომელიც არის ერთროციტების მემბრანის ყველაზე გავრცელებული ინტეგ-

რალური ცილა (შეადგენს ცილების დაახლოებით 25%) და მთავარი შემაკავშირებელია ციტოჩონჩხსა და ლიპიდურ ბიშრეს შორის. მე-3 ზოლის ცილა არის ანიონური არხი, რომელიც პასუხისმგებელია ერთროციტის შიგნით იონების ბალანსზე და აირების ცვლაზე ( $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ ) ერთროციტების მემბრანის გავლით და ამით არეგულირებს როგორც ერთროციტების, ასევე მთელი სხეულის ჰომეოსტაზს.

როგორც ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, ინსულინრეზისტენტობის მქონე პაციენტებში ერთროციტულ მემბრანაში მე-3 ზოლის ცილის შემცველობა (90-100kDa) სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა ჯანმრთელი პირების დონისგან. პრედიაბეტის მქონე პაციენტებში მე-3 ზოლის ცილის შემცველობა მცირდება 24%-ით ჯანმრთელი პირებისთვის დამახასიათებელ დონესთან შედარებით, ხოლო შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში 11%-ით დაქვეითებულია ჯანმრთელი პირებისთვის დამახასიათებელ დონესთან შედარებით. ანუ, სხვადასხვა ხარისხის ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის მქონე პაციენტებში ერთროციტულ მემბრანაში მე-3 ზოლის ცილის შემცველობა (90-100kDa) ქვეითდება ჯანმრთელი პირებისთვის დამახასიათებელ დონესთან შედარებით, ამ დროს ვლინდება მე-3 ზოლის ცილის ოლიგომერული ფორმა (oB3p, მოლეკულური მასა 180kDa). მე-3 ზოლის ცილის ოლიგომერული ფორმის (oB3p) შემცველობა მაქსიმალურია პრედიაბეტის მქონე პაციენტებში.

ფიზიოლოგიურ პირობებში ერთროციტების მემბრანაში შეერთების კომპლექსები აკავშირებს მე-3 ზოლის ცილას მემბრანის ციტოჩონჩხთან და ხელს უშლის მე-3 ზოლის ცილის დიდი აგრეგატების (ოლიგომერების) წარმოქმნას. მე-3 ზოლის ცილის კლასტერიზაცია და მაღალი მოლეკულური მასის აგრეგატების (ოლიგომერების) ფორმირება იწყება ერთროციტების მემბრანის ჟანგვითი დაზიანების პირობებში მე-3 ზოლის ცილის დიმერიზაციის გზით დისულფიდური ჯვარედინი კავშირების წარმოქმნის მეშვეობით [Pantaleo A., et al., 2009]. მე-3 ზოლის ცილის პოსტრანსლაციური ცვლილებები, რომლებიც განსაზღვრავს მის კლასტერიზაციის შესაძლებლობებს, რეგულირდება თიროზინის ფოსფორილირებით (ფოსფოთიროზინკინაზების (PTKs) ან ფოსფოთიროზინფოსფატაზების (PTP) მიერ), რაც, როგორც ჩანს, ხელს უწყობს ჟანგვით-

მოდულირებულ მე-3 ზოლის ცილის კლასტერიზაციას [Pantaleo A., et al., 2009; Bordin L., Brunati AM, et al., 2002].

ვარაუდობდნენ, რომ მე-3 ზოლის ცილა წარმოადგენს ერთროციტული მემბრანის რედოქს სენსორს, რომელიც რეგულირდება ფოსფორილირებით: ოქსიდაციური სტრესის პირობებში მე-3 ზოლის ცილის სწრაფი Tyr-ფოსფორილირება გავლენას ახდენს მის ურთიერთქმედებაზე ციტოჩინჩხის ცილებთან და იწვევს მემბრანული ციტოჩინჩხის სტრუქტურაში მთელ რიგ ცვლილებებს, რაც ვლინდება ერთროციტების მემბრანის რეზისტენტობისა და დეფორმაციის ცვლილებით, იწვევს მის დესტაბილიზაციას და საბოლოოდ ჰემოლიზს [de Oliveira S., Saldanha C., 2010]. მე-3 ზოლის ცილის (B3p) ჰიპერფოსფორილირება დაფიქსირდა პროოქსიდაციური ჰემოლიზური დარღვევის, მალარიის, I და II ტიპის შაქრიანი დიაბეტისა და თალასემიის დროს და ეს ფენომენი მჭიდრო კავშირშია ჰემიქრომების წარმოქმნასთან [Pantaleo A., et al., 2012].

ამავე დროს, უნდა აღინიშნოს, რომ გლიკოზირებული ჰემოგლობინი (HbA1c) გავლენას ახდენს ჰემოგლობინის მემბრანულ ცილებთან და, მათ შორის, მე-3 ზოლის ცილასთან ჯვარედინი კავშირის წარმოქმნაზე, იწვევს ცვლილებებს ციტოჩინჩხის მატრიქსში და აქვეითებს მე-3 ზოლის ცილის კლასტერიზაციის უნარს [Morabito R, et al., 2020; Buys AV et al., 2013] და ამით ამცირებს ერთროციტების ოსმოსურ წინააღმდეგობას, რაც მათ უფრო მგრძობიარეს ხდის ჰემოლიზის მიმართ.

მაშასადამე, როგორც ჩანს, ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის დროს ერთროციტების მემბრანის მოდიფიკაციის პროცესში ჩართულია ორივე მექანიზმი - ჰიპერგლიკემია და ოქსიდაციური სტრესი. პრედიაბეტის მქონე პაციენტებში სისხლის შრატში განსაკუთრებით დაბალი საერთო არაფერმენტული ანტიოქსიდანტური აქტივობისა და მალონდიალდეჰიდის მაღალი შემცველობა (ჟანგვითი სტრესის შედარებით მაღალი ინტენსივობა) და ერთროციტების მემბრანაში მე-3 ზოლის ცილის ოლიგომერული ფორმის მაღალი შემცველობა ჟანგვითი მექანიზმის პრევალირებაზე მიუთითებს.

ოქსიდაციური სტრესი ვლინდება ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის ადრეულ სტადიებზე (პრედიაბეტი), რაც ციტოჩინჩხის ცილების მოდიფიკაციას და მე-3

ზოლის ცილის კლასტერიზაცია-ოლიგომერიზაციის მექანიზმის პრევალირებას განაპირობებს, ხოლო შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს გლიკემიისა და გლიკოზირებული ჰემოგლობინის განსაკუთრებით მაღალი დონის პირობებში ჭარბობს გლიკოლიზირების მექანიზმი, რომელიც ზღუდავს მე-3 ზოლის ცილის კლასტერიზაციას და ამცირებს ოლიგომერული მე-3 ზოლის ცილის შემცველობას, მაგრამ გავლენას ახდენს მის კავშირზე ციტოჩონჩხის ცილებთან, ხელს უწყობს ციტოჩონჩხის ცილოვანი კომპლექსების შემდგომ დაზიანებას და იწვევს ოსმოსური რეზისტენტობისა და დეფორმაციის მკვეთრ დაქვეითებას ინსულინრეზისტენტობისა და პრედიაბეტის მქონე პაციენტებთან შედარებით

ზემოთქმულიდან გამომდინარე, შაქრიანი დიაბეტის გართულებების განვითარების პროფილაქტიკისთვის რეკომენდებულია ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის მაკორეგირებელ პრეპარატებთან ერთად ანტიოქსიდანტების გამოყენება.

ამრიგად, ერთროციტების ოსმოსური რეზისტენტობისა და დეფორმაციის დაქვეითება ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის შედეგია და ეს პარამეტრი შეიძლება გამოყენებულ იქნეს როგორც მგრძნობიარე მარკერი ჰიპერგლიკემიის ადრეული სტადიების (პრედიაბეტი) გამოსავლენად.

ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ პრედიაბეტისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტების სისხლში მნიშვნელოვნად იზრდება ერთროციტების აგრეგაციის დონე. ითვლება, რომ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტების ერთროციტები უფრო ადვილად წარმოქმნიან აგრეგაციებს, ვიდრე ჯანმრთელი პირების და ერთროციტების აგრეგაცია მიიჩნევა ერთ-ერთ ყველაზე მნიშვნელოვან ჰემორეოლოგიურ პარამეტრად. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ შაქრიანი დიაბეტის დროს ერთროციტების გაძლიერებული აგრეგაციით განპირობებული შეცვლილი რეოლოგიური დინამიკა სისხლძარღვთა გართულებების ძირითად მიზეზს წარმოადგენს (ვინაიდან ერთროციტების აგრეგაციები ვერ გადიან კაპილარებში) [Kim S., et al., 2006; Yalcin O, et al., 2004; Sun C, Munn LL., 2006].

ჩვენი კვლევის შედეგების მიხედვით, ინსულინრეზისტენტობისა და პრედიაბეტის ჯგუფების შესწავლილ პაციენტების სისხლში გამოვლინდა აზოტის ოქსიდის მკვეთრი



მომატება, რაც კორელირებს ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციასთან და შეიძლება იყოს განპირობებული ინდუქციური აზოტის ოქსიდის სინთაზას (iNOS) აქტივაციით. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის ჯგუფის პაციენტების სისხლში გამოვლენილი აზოტის ჟანგის შემცველობის დაქვეითების მიზეზი სწორედ ერთროციტების გაზრდილი აგრეგაციის შედეგად ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას ფუნქციის გაუარესება, აზოტის ოქსიდის ოქსიდაციური დეგრადაცია და პეროქსინიტრიტად გარდაქმნაა.

ამრიგად, ჩვენი კვლევის შედეგებმა გამოავლინა გარკვეული ურთიერთდამოკიდებულება სისხლის რეოლოგიურ პარამეტრებსა და ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობას შორის ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის სხვადასხვა ხარისხის დარღვევის მქონე პაციენტებში.

ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარე შეიძლება დავასკვნათ, რომ პაციენტებში რეოლოგიური დარღვევების დონე იზრდება ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის გაღრმავებასა და ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობის ზრდასთან ერთად და აღწევს მაქსიმუმს შაქრიანი დიაბეტის დროს, რაც იწვევს დაავადების შემდგომ გამწვავებას, ორგანოებისა და სისტემების დაზიანებას. ჰემორეოლოგიური დარღვევებისა და ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაცია შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს შეიძლება განხილულ იყოს როგორც დაავადების დამძიმების შესაძლო მარკერი.

ამრიგად, სისხლის რეოლოგიური თვისებების დარღვევა მნიშვნელოვან როლს ასრულებს შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის პათოგენეზში, ვლინდება დაავადების ადრეულ სტადიებზე და შემდგომში დომინირებს დაავადების პროგრესირების პროცესში. შაქრიანი დიაბეტის ჰემორეოლოგიური თვისებურებების შემდგომი შესწავლა მნიშვნელოვანია დაავადების პათოგენეზის უფრო სრულყოფილი გაგებისთვის და გრძელვადიან პერსპექტივაში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის გართულების პროფილაქტიკისა და კორეგირების ეფექტური გზების მოსაძებნად.

## დასკვნები

1. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის სხვადასხვა ხარისხის დარღვევის მქონე პაციენტების სისხლის შრატში დაფიქსირდა არაფერმენტული ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის (TAA) დაქვეითება და მალონის დიალდეჰიდის (MDA) მომატებული შემცველობა, რაც ოქსიდაციური სტრესისა და მემბრანული ლიპიდების პეროქსიდაციული პროცესების ინტენსიფიკაციაზე მიუთითებს. ეს ცვლილებები მაქსიმალურია პრედიაბეტის მქონე პაციენტებში.
2. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის დროს (ინსულინრეზისტენტობა, პრედიაბეტი, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2) პაციენტების სისხლში გამოვლინდა რეოლოგიური პარამეტრების ცვლილებები:
  - ერთროციტების დეფორმაციის ინდექსის (ERDI) სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი გაუარესება გამოვლინდა უკვე გლუკოზის მეტაბოლიზმის დარღვევის ადრეულ ეტაპზე (ინსულინრეზისტენტობა და პრედიაბეტი), შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში ამ პარამეტრის ცვლილებები ძლიერდება;
  - პრედიაბეტისა და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტების სისხლში მნიშვნელოვნად იზრდება ერთროციტების აგრეგაციის დონე;
  - ყველა ჯგუფის პაციენტებში გამოვლენილია სისხლის პლაზმის სიბლანტის მომატება.
3. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის სხვადასხვა ხარისხის დარღვევის მქონე პაციენტებში გამოვლენილია გარკვეული ურთიერთდამოკიდებულება სისხლის რეოლოგიურ პარამეტრებსა და ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობას შორის. პაციენტებში რეოლოგიური დარღვევის დონე იზრდება ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის გაღრმავებასთან და ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობის ზრდასთან ერთად და აღწევს მაქსიმუმს შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს, რაც იწვევს დაავადების შემდგომ გამწვავებას. ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაცია შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს შეიძლება განხილულ იყოს, როგორც დაავადების დამძიმების შესაძლო მარკერი.

4. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის სხვადასხვა ხარისხის დარღვევების მქონე პაციენტებში (ინსულინრეზისტენტობა, პრედიაბეტი და შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2) ერითროციტების ოსმოსური რეზისტენტობა შემცირებულია ჯანმრთელი პირებისთვის დამახასიათებელ მაჩვენებელთან შედარებით, კორელირებს ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის სიმძიმესთან და არის განსაკუთრებით დაბალი შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში.
5. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის მქონე პაციენტების ერითროციტებში მემბრანული მე-3 ზოლის ცილა (90-100kDa) განიცდის ოლიგომერიზაციას, რაც ვლინდება მე-3 ზოლის ცილის მონომერის (90-100kDa) შემცველობის დაქვეითებით ჯანმრთელი პირებისთვის დამახასიათებელ დონესთან შედარებით (ინსულინრეზისტენტობის მქონე პაციენტებში სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა, პრედიაბეტის მქონე პაციენტებში მცირდება 24%-ით, ხოლო შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მქონე პაციენტებში 11%-ით დაქვეითებულია ჯანმრთელი პირებისთვის დამახასიათებელ დონესთან შედარებით) ოლიგომერული ფორმის (oB3p, 180kDa) გამოჩენით. ერითროციტული მე-3 ზოლის ცილის ოლიგომერული ფორმის (oB3p) (180-200 kDa) შემცველობა მაქსიმალურია პრედიაბეტის მქონე პაციენტებში.
6. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის დროს ერითროციტების მემბრანული ცილების მოდიფიკაციისა და მე-3 ზოლის ცილის კლასტერიზაცია-ოლიგომერიზაციის პროცესში ჩართულია ჰიპერგლიკემიისა და ოქსიდაციური სტრესის მექანიზმები. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის ადრეულ სტადიებზე (პრედიაბეტი) სისხლის შრატის ჟანგვითი სტრესის ამსახველი მაჩვენებლების (საერთო არაფერმენტული ანტიოქსიდანტური აქტივობა და მალონდიალდეჰიდი) განსაკუთრებით მაღალი მნიშვნელობები ერითროციტების მემბრანაში მე-3 ზოლის ცილის ოლიგომერიზაციაში ჟანგვითი მექანიზმის პრევალირების შესახებ მეტყველებს, ხოლო შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს გლიკემიისა და გლიკოზირებული ჰემოგლობინის განსაკუთრებით მაღალი დონის პირობებში ჭარბობს გლიკოლიზირების მექანიზმი, რომელიც ზღუდავს მე-3 ზოლის ცილის კლასტერიზაციას,

მაგრამ გავლენას ახდენს მის კავშირზე ციტოჩონჩხის ცილებთან და იწვევს ოსმოსური რეზისტენტობისა და დეფორმაციის მკვეთრ დაქვეითებას ინსულინრეზისტენტობისა და პრედიაბეტის მქონე პაციენტებთან შედარებით.

7. ერთროციტების ოსმოსური რეზისტენტობისა და დეფორმაციის დაქვეითება ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის შედეგია და ეს პარამეტრი შეიძლება გამოყენებულ იქნეს როგორც მგრძნობიარე მარკერი ჰიპერგლიკემიის ადრეული სტადიების (პრედიაბეტი) გამოსავლენად.
8. ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის დროს პაციენტების სისხლის შრატში გამოვლინდა აზოტის ოქსიდის შემცველობის ცვლილებები. ინსულინრეზისტენტობისა და პრედიაბეტის ფონზე აზოტის ოქსიდის შემცველობის მკვეთრი მომატება კორელირებს ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციასთან და შეიძლება იყოს განპირობებული ინდუქციური აზოტის ოქსიდის სინთაზას (iNOS) აქტივაციით, ხოლო შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის დროს სისხლის შრატში აზოტის ოქსიდის შემცველობის დაქვეითების მიზეზი, სავარაუდოდ, დაკავშირებულია ერთროციტების გაზრდილი აგრეგაციის შედეგად ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას ფუნქციის გაუარესებასთან, ასევე აზოტის ოქსიდის ოქსიდაციურ დეგრადაციასა და პეროქსინიტრიტად გარდაქმნასთან.

### პრაქტიკული რეკომენდაციები

1. შაქრიანი დიაბეტის გართულებების განვითარების პროფილაქტიკისთვის რეკომენდებულია ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის მაკორეგირებელ პრეპარატებთან ერთად ანტიოქსიდანტების გამოყენება.
2. ერთროციტების ოსმოსური რეზისტენტობისა და დეფორმაციის დაქვეითება ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის დარღვევის შედეგია და ეს პარამეტრი შეიძლება გამოყენებულ იქნეს როგორც მგრძნობიარე მარკერი ჰიპერგლიკემიის ადრეული სტადიების (პრედიაბეტი) გამოსავლენად.

Ivane Javakishvili Tbilisi State University

Faculty of Medicine

Translational and Clinical Medicine

Lela Chkhitari

**Rheological Characteristics of Blood in Insulin Resistance, Prediabetes and Diabetes Mellitus  
Type 2**

Autoabstract of the Dissertation submitted for obtaining the Academic Degree of Doctor of  
Medicine

Scientific Supervisors: Professor Elene Giorgadze

Professor Ketevan Asatiani

Scientific Consultant: Professor Tamar Sanikidze

Tbilisi

2023

## Introduction

Despite significant efforts to prolong the lives of people with diabetes, diabetes remains one of the leading causes of death worldwide (in 5th place). Diabetes is the direct cause of 1.6 million deaths [Roglic G., et al, 2005; World Health Organization, 2016]. It is known that diabetic patients have a 15% increased risk of premature death and life expectancy is reduced by about 10 - 20 years in type I and type II diabetes, respectively [Tancredi M., et al., 2010: Key Statistics on Diabetes. 2010]. According to 2017 International Diabetes Federation (IDF) statistics, the global prevalence of diabetes in the 20-79 age group is 8.8%. In addition, 1 in 2 people are unaware of the condition [International Diabetes Federation, 2017]. By 2030, 439 million adults will have diabetes, which, according to previous estimates, was 366 million [Wild S., et al., 2004; Shaw J., et al., 2010]. It is also known that diabetes mellitus is more common in urban than rural populations, and occurs more in men than women [Yang W., et al., 2010]. Anyone can get diabetes, but many studies dating back to 1969 show that Asians, from the Far East, Southeast Asia, or the Indian subcontinent, especially South Asia, are more susceptible to diabetes than people of other ethnicities [Marine N., et al., 1969; Goldberg MD, et al., 1969; Jackson W., 1978; Cassidy J.T., 1967; Zimmet P., et al., 1983; Poon-King T., et al., 1968].

The above data indicate diabetes is an urgent health problem that needs to be addressed immediately. It is important to raise public awareness and draw attention to the adverse effects of diabetes, as well as conduct new research and gather support to overcome diabetes.

The triad "insulin resistance, prediabetes, diabetes" is one of the most studied and relevant pathophysiological issues, which, on the one hand, is a continuous process that reflects the aggravation of the pathophysiological state and the transition from one stage to another (insulin resistance, prediabetes, diabetes) and on the other hand, these are three independent nosologies with characteristic signs and mechanisms of development. The similarity of the constituent components of the triad is mainly expressed in the fact that the metabolic and micro- and microcirculatory disorders characteristic of each of them create a fertile ground for the further development and aggravation of the diseases of this triad.

To maintain the energy supply to cells, to ensure the normal functioning of all organs and systems and to prevent the accumulation of unabsorbed glucose in the blood, a compensatory mechanism of increasing insulin release from pancreatic  $\beta$ -cells is activated in the living organism, which is followed by the development of insulin resistance. Hyperinsulinemia leads to the accumulation of insulin in a concentration inappropriately high compared to the physiological level of glucose in the blood plasma and to the violation of the body's physiological response to insulin, including disturbances in the metabolism of proteins and fats and the functioning of the vascular endothelium. In the process of phylogeny, this metabolic mechanism has led to a significant prevalence of insulin resistance (IR) in society: insulin resistance is found in every fourth practically healthy person. Several physiological conditions (age, pregnancy, physical hypodynamic) contribute to the development of IR, however, more often it is caused by a pathological condition - genetic defects, excess weight, arterial hypertension, dyslipidemia, molecular defects of insulin-transmitting proteins. etc., signals [Wolosowicz M, et al., 2022]. One of the important causes of insulin resistance is the mutation of insulin receptor protein, glycogen synthetase, hormone-sensitive lipase,  $\beta$ -3-adrenergic receptors, tumour necrosis factor (TNF- $\alpha$ ) and molecular defects of insulin signalling proteins [Wolosowicz M, et al.,2022].

According to the European Center for Disease Control, one in ten Europeans is likely to have prediabetes. Nearly 88 million American adults have prediabetes, and more than 84% don't know it. Prediabetes increases the risk of developing T2DM. In developed countries, T2DM remains one of the main causes of death and disability. About 9.3% of adults worldwide have diabetes. India is considered to be the country with the highest prevalence of diabetes in the world, China is in second place. More than 50% of diabetes patients are not diagnosed and treated, which leads to an increase in the risk of various complications (heart disease, stroke, peripheral vascular disease and microvascular problems) [Alberti K., 2002]. Even in the early stages of carbohydrate metabolism disorders, there is an increased risk of cardiovascular complications and mortality [Alberti K., 2002].

To prevent T2DM, it is essential to block the pathogenic mechanisms of insulin resistance by slowing, blocking or reversing  $\beta$ -cell dysfunction. The introduction of new methods of early

diagnosis in clinical practice will make it possible to prevent chronic complications of diabetes and cardiovascular diseases related to atherosclerosis [The DECODE Study Group, 2001]. Early diagnosis and prevention of T2DM is the most effective and economically feasible strategy for the prevention of micro- and macrovascular complications and the reduction of mortality caused by them [Prevention or Delay of Type 2 Diabetes, 2018].

Due to the high percentage of morbidity, the exacerbation of concomitant diseases, as well as the high risk of the development and development of cardiovascular, neurological, infectious and other diseases, it is especially important to monitor and study parameters that are not yet included in the list of routine studies for the diagnosis of complications of glucose metabolism.

The aim of our study is to study the rheological properties of blood in patients with IR, prediabetes and T2DM.

The following tasks are set to achieve the goal of the research:

1. Study of blood rheological indicators (erythrocyte aggregation index (EAI), erythrocyte relative deformation index (ERDI), blood plasma viscosity) in patients with insulin resistance, prediabetes and T2DM;
2. Study of osmotic resistance of blood erythrocytes in patients with insulin resistance, prediabetes and T2DM;
3. Determination of Band 3 protein (B3p) expression in erythrocyte membrane in patients with insulin resistance, prediabetes and T2DM;
4. Determination of the total activity of the non-enzymatic antioxidant system in the blood of patients with insulin resistance, prediabetes and T2DM;
5. Determination of nitrogen oxide (NO) content in the blood of patients with insulin resistance, prediabetes and T2DM;
6. Establishing correlations between the studied parameters, analyzing the obtained results, and identifying sensitive markers of carbohydrate metabolism progression.



Scientific novelty of the obtained results:

- An increase in blood plasma viscosity has been detected in patients. With carbohydrate metabolism disorders.
- For the first time, a certain relationship between blood rheological parameters and the intensity of oxidative stress has been established. In patients with various degrees of carbohydrate metabolism disorders (insulin resistance, prediabetes and T2DM). Intensification of oxidative stress in T2DM is considered a possible marker of disease severity.
- The correlation between the osmotic resistance of blood erythrocytes of patients with different degrees of carbohydrate metabolism disorders (insulin resistance, prediabetes and T2DM) and carbohydrate metabolism disorders is established.
- For the first time, oligomerization of membrane band 3 protein (B3p) in erythrocytes of patients with carbohydrate metabolism disorders has been detected. It has been established that both mechanisms of hyperglycemia and oxidative stress are involved in the process of clustering-oligomerization of B3p. In the early stages of carbohydrate metabolism disorders, oxidative mechanisms prevail in B3p oligomerization (prediabetes), and in its severity (T2DM), the glycolysis mechanism prevails.
- It is established for the first time that glycolysis of hemoglobin during T2DM limits the clustering of protein B3p, but affects its association with cytoskeletal proteins, and causes a sharp decrease in osmotic resistance and deformability of erythrocytes.
- It is determined that the decrease in osmotic resistance and deformability of erythrocytes is the result of carbohydrate metabolism disorder and this parameter can be used as a sensitive marker to detect the early stages of hyperglycemia (prediabetes).
- It was established for the first time that changes in the content of NOx in the blood serum of patients during carbohydrate metabolism disorders. It is due to the dysfunction of eNOS under the conditions of intensification of oxidative stress, oxidative degradation and conversion of NO into peroxynitrite, and increased erythrocyte aggregation.

The main provisions of the dissertation:

1. Changes in blood rheological properties of patients with various degrees of carbohydrate metabolism disorders (insulin resistance, prediabetes and T2DM) are associated with the intensification of oxidative stress and carbohydrate metabolism disorders.
2. In the process of clustering-oligomerization of membrane band 3 protein (B3p) in the erythrocytes of patients with carbohydrate metabolism disorders, and it is involved in the mechanisms of hyperglycemia and oxidative stress: in the early stages of carbohydrate metabolism disorders (prediabetes), oxidative mechanisms predominate, while in its severity (T2DM) glycolysis prevails mechanism.
3. During T2DM, glycolysis of haemoglobin affects the binding of protein B3p to cytoskeletal proteins and causes a sharp decrease in osmotic resistance and deformability of erythrocytes.
4. The decrease in osmotic resistance and deformability of erythrocytes is the result of a violation of carbohydrate metabolism, and this parameter can be used as a sensitive marker to detect the early stages of hyperglycemia (prediabetes).
5. Changes in NO<sub>x</sub> content in the blood serum of patients with carbohydrate metabolism disorders are the result of intensification of oxidative stress, oxidative degradation and transformation of NO into peroxynitrite, and dysfunction of eNOS in conditions of increased erythrocyte aggregation, which in turn leads to a decrease in the intensity of flow in the circulatory system and diabetes related to the development of complications.

#### The Practical Value of the Research

1. The regularities established as a result of research (decrease in osmotic resistance and deformability of erythrocytes during carbohydrate metabolism disorders) can be used to detect the early stages of hyperglycemia (prediabetes) and prevent its aggravation.
2. Taking into account the important role of oxidative stress in changes in the rheological properties of blood during carbohydrate metabolism disorders, it is possible to use

antioxidants together with the correcting drugs for carbohydrate metabolism disorders for the prevention of diabetes complications.

## Material and Methods

The study was conducted on patients who underwent treatment at the National Institute of Endocrinology (Georgia) from April 2021 to March 2022. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Multidisciplinary High School of the Faculty of Medicine and Rheology Society of Javakhishvili Tbilisi State University.

Criteria for inclusion of patients in the study: Insulin resistance, prediabetes (without a history of insulin resistance), diabetes type 2 (T2DM) (without a history of IR and prediabetes).

Criteria for excluding patients from the study: viral hepatitis, drug addiction, alcoholism, malignant oncology, radiation/chemotherapy.

The studied patients were divided into different groups:

1. Patients with insulin resistance (IR) (n=39, average age -  $36\pm 3.4$  years);
2. Patients with prediabetes (n = 41, average age  $48 \pm 2,4$  years);
3. Patients with diabetes type 2 (T2DM) (n =47, average age  $55\pm 5,5$  years) with a mean age of disease less than 1 year.

## Laboratory Studies

We measured the rheological status of blood: erythrocyte aggregation index (EAI), erythrocyte relative deformation index (ERDI), blood plasma viscosity, erythrocyte osmotic resistance, band 3 protein content in erythrocyte membrane; Also the intensity of oxidative stress (according to blood serum malondialdehyde (MDA), content and total antioxidant activity (TAA)), total NOx content.

## Statistical Analysis

Analysis of variance (ANOVA) (SPSS-12 for Windows) was used for comparative data analysis.

## Results and Discussion

Chronic hyperglycemia is the main recognized factor in the development of diabetes complications. Chronic IR usually leads to hyperglycemia, a gradual decline in  $\beta$ -cell function (prediabetes), and the development of T2DM.

The increased level of glucose affects the hemorheological parameters of the blood (hematocrit, plasma proteins, viscosity, erythrocyte deformation, etc.), which is accompanied by a generalized microcirculation disorder, a decrease in tissue perfusion, and the development of severe chronic ischemia, which leads to diabetic retinopathy, nephropathy (retinal and renal failure), can be the cause of ulcers on the limbs [Cho YI, et al., 2008]. Glucose is the main substrate of erythrocytes. In the conditions of long-term hyperglycemia, the morphology, metabolism and function of erythrocytes undergo a number of changes, which affect hemorheology and microcirculation [Wang Y, et al., 2021].

What processes develop in erythrocytes and what is the relationship between these changes and the progression of diabetes? What are the implications of these changes in the diagnosis, treatment and prognosis of diabetes?

In this thesis, we aimed to study the changes in erythrocytes during the progression of hyperglycemia, and identify indicators related to these changes that can be used to monitor the progression of diseases related to carbohydrate metabolism disorders.

When excess glucose accumulates in the blood, it binds to the Hb of erythrocytes; Glycated hemoglobin (HbA1c) is a product of non-enzymatic glycosylation of Hb and reflects the average blood glucose concentration over the past 2-3 months. Clinically, HbA1c is commonly used as an important diagnostic marker of diabetes [American Diabetes Association, "Standards of medical

care in diabetes–2012]. The level of HbA1c was significantly higher in our studied patients with T2DM, compared to patients in the IR and prediabetic groups. HbA1c has an enhanced ability to bind O<sub>2</sub>; HbA1c does not break down easily. Therefore, a high concentration of HbA1c leads to difficulties in the release of oxygen in the cells and a decrease in the oxygen supplying function of erythrocytes [Weykamp C., 2013]. Prolonged systemic hyperglycemia and hypoxia [Fiorentino TV, et al., 2013; Debevec T., et al., 2017] contributes to the enhanced generation of reactive oxygen species.

Many enzymatic and non-enzymatic antioxidants form an antioxidant system that protects cells from oxidative damage by reactive oxygen species. In the conditions of enhanced formation of reactive oxygen compounds, these mechanisms may be insufficient (as a result of depletion, leaching), which contributes to the intensification of oxidative stress. Under conditions of oxidative stress, many redox-sensitive metabolic pathways are activated in the walls of blood vessels, responsible for the expression of pro-inflammatory cytokines, growth factors, adhesion molecules, free nitric oxide (NO), pro-atherogenic genes, proliferation, differentiation and growth of vascular smooth muscle cells, migration, vascular remodeling and endothelial on cell apoptosis [Baskurt OK, et al., 1998].

Clinical and experimental research data show that the production of reactive oxygen species increases during T2DM and that the development of diabetes is strictly related to oxidative stress [Morabito R, et al., 2020]. Oxidative stress causes impaired glucose uptake by muscle and fat cells and reduces insulin secretion from beta cells (Rudich A. et al., 1998; Maddux BA, et al., 2001).

We studied the activity of serum total non-enzymatic antioxidant system (TAA) in patients with IR, pre-diabetes and T2DM and revealed its decrease compared to similar values for healthy individuals. At the same time, an increased content of malondialdehyde (MDA) was observed in the blood serum of patients with various degrees of carbohydrate metabolism disorders, indicating the intensification of peroxidation processes of membrane lipids.

Erythrocytes are very sensitive to oxidative damage due to the high content of potentially strong promoters of oxidative processes in the cell, transition metal ions (Fe), molecular oxygen and oxyhemoglobin [Pandey KB, Rizvi SI. 2010]. According to the results of our study, in all

groups of patients with various degrees of glucose metabolism disorders (IR, prediabetes, T2DM), the osmotic resistance of erythrocytes is reduced compared to controls. The osmotic resistance index of erythrocytes correlates with the severity of carbohydrate metabolism disorder and is particularly low in patients with T2DM. It has been confirmed that erythrocytes with low osmotic resistance are characterized by low deformability of their membranes [Orbach Am Zelig O, et al., 2017].

The results of our studies indicate an increase in blood plasma viscosity in all groups of patients with glucose metabolism disorders (IR, prediabetes, T2DM), which can lead to the development of vascular complications of diabetes and the progression of the disease.

The deformability of erythrocytes plays an important role in the regulation of blood viscosity. A decrease in deformability of erythrocytes contributes to an increase in blood viscosity and, therefore, resistance to flow in large blood vessels.

The results of our studies show that a statistically significant deterioration of the erythrocyte deformability index (ERDI) was detected already in the early stages of glucose metabolism disorders (IR and prediabetes); Changes in these parameters were even stronger in patients with T2DM.

The shape of erythrocytes and their deformability is critically related to band 3 protein (B3p) [Gabreanu GR, Angelescu S., 2016] (molecular mass 90 - 100 kDa), which is the most common integral protein of the erythrocyte membrane (makes up about 25% of proteins ) and is the main link between the cytoskeleton and the lipid bilayer. B3p is an anion channel responsible for ion balance within the erythrocyte and gas exchange ( $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ ) across erythrocyte membranes, thereby regulating both erythrocyte and whole body homeostasis. According to the results of our studies, the content of B3p (90-100kDa) in the erythrocyte membrane of patients with IR was not statistically significantly different from its level in the erythrocyte membranes of healthy individuals. The content of B3p in patients with prediabetes is reduced by 24% compared to the level characteristic of healthy individuals, and in patients with T2DM - by 11% compared to the level characteristic of healthy individuals. That is, in patients with carbohydrate metabolism disorders of various degrees, the content of B3p (90-100kDa) in the erythrocyte membrane

decreases compared to the level characteristic of healthy individuals, at this time the oligomeric form of B3p (oB3p, molecular mass 180kDa) is revealed. The content of the oligomeric form of B3p (oB3p) is maximal in patients with prediabetes. Under physiological conditions, binding complexes in the erythrocyte membrane bind B3p to the membrane cytoskeleton and prevent the formation of large aggregates (oligomers) of B3p. Clustering of B3p and the formation of high molecular weight aggregates (oligomers) begins under oxidative damage to the erythrocyte membrane by dimerization of B3p through the formation of disulfide cross-links [Pantaleo A., et al., 2009]. Post-translational modifications of B3p, which determine its clustering abilities, are regulated by tyrosine phosphorylation (by phosphotyrosine kinases (PTKs) or phosphotyrosine phosphatases (PTP)), which seems to promote the clustering of oxidatively modified B3p [Pantaleo A., et al. , 2009; Bordin L., Brunati AM, et al., 2002].

It has been suggested that B3p is a redox sensor of the erythrocyte membrane, which is regulated by phosphorylation: under oxidative stress, rapid Tyr-phosphorylation of B3p affects its interactions with cytoskeletal proteins, and causes several changes in membrane cytoskeletal structures, which are manifested by changes in the resistance and deformability of the erythrocyte membrane. , causes its destabilization and finally hemolysis [de Oliveira S., Saldanha C., 2010]. Hyperphosphorylation of band 3 protein (B3p) has been observed in prooxidative hemolytic disorders, malaria, type I and II diabetes mellitus and thalassemia, and this phenomenon is closely related to the formation of hemichromes [Pantaleo A., et al., 2012].

At the same time, it should be noted that glycosylated hemoglobin (HbA1c) affects the formation of cross-links with membrane proteins of Hb, including B3p, causes changes in the cytoskeleton matrix and reduces the clustering ability of B3p [Morabito R, et al., ;0; Buys AVet al., 2013] and thereby reduces the osmotic resistance of erythrocytes, making them more susceptible to hemolysis.

Therefore, it seems that both mechanisms - hyperglycemia and oxidative stress - are involved in the process of modification of erythrocyte membranes during the disturbance of carbohydrate metabolism. Particularly low TAA and high MDA content of blood serum in

patients with prediabetes (relatively high intensity of oxidative stress) and high content of B3p oligomerized form in erythrocyte membrane indicate the prevalence of oxidative mechanism.

Oxidative stress is manifested in the early stages of carbohydrate metabolism disorders, prediabetes, which leads to the modification of cytoskeleton proteins and the prevalence of the B3p clustering-oligomerization mechanism. And during T2DM, under conditions of particularly high levels of glycemia and HbA1c, the mechanism of glycolysis prevails, which limits the clustering of B3p and reduces the content of oB3p, but affects its connection with cytoskeletal proteins, promotes further disruption of cytoskeletal protein complexes, and causes a sharp decrease in osmotic resistance and deformability. compared to patients with IR and prediabetes.

Based on the above, it is recommended to use antioxidants together with drugs that correct carbohydrate metabolism disorders for the prevention of diabetes complications.

Thus, the decrease in the osmotic resistance and deformability of erythrocytes is the result of a violation of carbohydrate metabolism, and this parameter can be used as a sensitive marker to detect the early stages of hyperglycemia (prediabetes).

The results of our study show that the level of erythrocyte aggregation in the blood of patients with prediabetes and T2DM significantly increases. It is believed that the erythrocytes of patients with type 2 diabetes form aggregations more easily than those of healthy subjects, and erythrocyte aggregability is considered one of the most important hemorheological parameters. The opinion is expressed that the changed rheological dynamics due to enhanced aggregation of erythrocytes in diabetes mellitus is the main cause of vascular complications (because erythrocyte aggregates cannot pass through the capillaries) [Kim S., et al., 2006; Yalcin O, et al., 2004; Sun C, Munn LL., 2006].

According to the results of our study, a sharp increase in NOx was detected in the blood of the studied patients of IR and prediabetes groups, which correlates with the intensification of oxidative stress and may be due to the activation of inducible NOS (iNOS). The reason for the decrease in NOx content in the blood of T2DM patients is due to increased erythrocyte aggregation, deterioration of eNOS function and oxidative degradation of NO and transformation into peroxynitrite.



Thus, the results of our study revealed a certain relationship between blood rheological parameters and the intensity of oxidative stress in patients with various degrees of carbohydrate metabolism disorders.

Based on the results of our research, we can conclude that the level of rheological disorders in patients increases with the occurrence of carbohydrate metabolism disorders and the increase in the intensity of oxidative stress, and reaches a maximum during severe diabetes, which leads to further exacerbation of the disease, damage to organs and systems. Intensification of hemorheological disorders and oxidative stress during T2DM can be considered as a possible marker of disease severity.

Thus, the violation of the rheological properties of blood plays an important role in the pathogenesis of T2DM diabetes mellitus, it is manifested in the early stages of the disease and then dominates the process of disease progression. Further study of the hemorheological features of diabetes is important for a more complete understanding of the pathogenesis of the disease and in the long term - to find effective ways to prevent and correct the complications of T2DM.

## Conclusions

1. A decrease in the activity of the non-enzymatic antioxidant system (TAA) and an increased content of malondialdehyde (MDA) were observed in the blood serum of patients with various degrees of carbohydrate metabolism disorders, which indicate the intensification of oxidative stress and the intensification of peroxidation processes of membrane lipids; These changes are maximal in patients with prediabetes.
2. During carbohydrate metabolism disorders (IR, prediabetes, T2DM), changes in rheological properties were detected in the blood of patients:
  - a statistically significant deterioration of the erythrocyte deformability index (ERDI) was detected already in the early stages of glucose metabolism disorders (IR and prediabetes); In patients with T2DM, changes in these parameters are enhanced.

- the level of erythrocyte aggregation increases significantly in the blood of patients with prediabetes and T2DM.
  - an increase in blood plasma viscosity was detected in all groups of patients.
3. In patients with various degrees of carbohydrate metabolism disorders, a certain relationship between blood rheological parameters and the intensity of oxidative stress has been revealed. The level of rheological disorders in patients increases with the onset of carbohydrate metabolism disorders and the increase in the intensity of oxidative stress and reaches a maximum during severe diabetes, which leads to further exacerbation of the disease. Intensification of oxidative stress in T2DM can be considered a possible marker of disease severity.
  4. In patients with various degrees of carbohydrate metabolism disorders (IR, prediabetes and T2DM), the osmotic resistance of erythrocytes is reduced compared to the values characteristic of healthy individuals, correlates with the severity of carbohydrate metabolism disorders, and is especially low in patients with T2DM.
  5. In erythrocytes of patients with disorders of carbohydrate metabolism, the protein of membrane band 3 (B3p) (90-100kDa) undergoes oligomerization, which is manifested by a decrease in the content of B3p monomer (90-100kDa) compared to the level characteristic of healthy individuals (in patients with IR, it is not statistically reliable differed, in patients with prediabetes - decreased by 24%, and in patients with T2DM - decreased by 11% compared to the level characteristic of healthy individuals) with the appearance of the oligomeric form (oB3p, 180kDa); The content of the oligomeric form of erythrocyte B3p (oB3p) (180-200 kDa) is maximal in patients with prediabetes.
  6. Mechanisms of hyperglycemia and oxidative stress are involved in the process of erythrocyte membrane protein modification and B3p clustering-oligomerization during carbohydrate metabolism disorders. In the early stages of carbohydrate metabolism disorders (prediabetes), particularly high values of blood serum oxidative stress indicators (TAA and MDA) indicate the predominance of the oxidative mechanism in B3p oligomerization in the erythrocyte

membrane, while in T2DM conditions of particularly high levels of glycemia and HbA1c, the glycolysis mechanism prevails, which limits clustering of B3p, but affecting its association with cytoskeletal proteins, and causing a marked decrease in osmotic resistance and deformability compared to patients with IR and prediabetes.

7. Decrease in osmotic resistance and deformability of erythrocytes is a result of carbohydrate metabolism disorder and this parameter can be used as a sensitive marker to detect early stages of hyperglycemia (prediabetes).
8. Changes in NOx content were detected in the blood serum of patients with carbohydrate metabolism disorders. A sharp increase in NOx content in the background of IR and prediabetes correlates with the intensification of oxidative stress and may be due to the activation of inducible NOS (iNOS), while the reason for the decrease in NOx content in blood serum during T2DM is probably related to the increased aggregation of erythrocytes as a result of eNOS- It is associated with functional impairment as well as oxidative degradation of NO and conversion to peroxynitrite.

### Practical Recommendations

1. In order to prevent the development of complications of diabetes, it is recommended to use antioxidants together with drugs that correct carbohydrate metabolism disorders.
2. Decrease in osmotic resistance and deformability of erythrocytes is the result of carbohydrate metabolism disorder and this parameter can be used as a sensitive marker to detect the early stages of hyperglycemia (prediabetes).