

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ФИЛИМОНОВА ТАМАРА АНДРЕЕВНА

**ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ
ФАКТОРОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ В ФОРМИРОВАНИИ И
ПРОГРЕССИРОВАНИИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ПОЛИНЕЙРОПАТИИ**

14.01.11 – нервные болезни

диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Заведующий кафедрой неврологии им. В.П. Первушина
ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера
Минздрава России, д.м.н., профессор
Каракулова Юлия Владимировна

Пермь 2019

Оглавление

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ДИАБЕТИЧЕСКАЯ ПОЛИНЕЙРОПАТИЯ. РОЛЬ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ПРОЦЕССОВ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ.....	14
1.1 Современные представления об эпидемиологии, клинике и патогенезе диабетической полинейропатии.....	14
1.1.1 Клинико-эпидемиологическая характеристика больных диабетической полинейропатией. Проблемы своевременной диагностики.....	14
1.1.2 Современные представления о патофизиологии диабетической полинейропатии.....	19
1.2 Семейство нейротрофических факторов: значение в патогенезе диабетической полинейропатии.....	30
1.2.1 Нейробиология мозгового нейротрофического фактора.....	31
1.2.2 Нейробиология васкулоэндотелиального фактора роста.....	39
1.2.3 Диагностический и терапевтический потенциал мозгового нейротрофического и васкулоэндотелиального факторов роста при диабетической полинейропатии.....	43
ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРИАЛОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	48
2.1 Дизайн исследования.....	48
2.2 Общая характеристика собственных наблюдений.....	52
2.3 Методы исследования.....	55
2.3.1 Методика клинического обследования.....	55
2.3.2 Инструментальные методы диагностики.....	59
2.3.3 Лабораторная диагностика.....	62
2.4 Статистическая обработка полученных результатов.....	64
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	66
3.1 Сравнительная характеристика клинико-нейрофизиологических показателей пациентов основной группы и группы контроля.....	66
3.2 Сравнительная характеристика клинико-нейрофизиологических показателей пациентов основной группы и группы сравнения.....	73

3.3 Сравнительная характеристика болевого, неврологического статуса, электрофизиологических показателей подгрупп пациентов на разных стадиях диабетической полинейропатии	77
3.4 Сравнительная характеристика клинико-нейрофизиологических показателей пациентов с признаками полинейропатии при нарушенной толерантности к глюкозе и при сахарном диабете	92
ГЛАВА 4. АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ФАКТОРОВ РОСТА И РЕЦЕПТОРОВ С ТИРОЗИНКИНАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ В СЫВОРОТКЕ ПАЦИЕНТОВ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП	98
4.1 Сравнительный анализ содержания факторов роста в сыворотке пациентов основной группы и практически здоровых лиц	98
4.2 Сравнительный анализ содержания факторов роста и рецепторов в сыворотке пациентов на различных стадиях диабетической полинейропатии.	106
4.3 Содержание факторов роста и их рецепторов в сыворотке пациентов с нарушением толерантности к глюкозе и признаками полинейропатии нижних конечностей	113
4.4 Выявление факторов, влияющих на количественное содержание факторов роста и рецепторов с тирозинкиназной активностью	115
4.5 Расчет и оценка прогностической значимости нейротрофических факторов и рецепторов с тирозинкиназной активностью в отношении диабетической полинейропатии.....	127
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	134
ВЫВОДЫ	146
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	148
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	149

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
ДПН – диабетическая полинейропатия
ИФР1 - инсулиноподобный фактор роста 1
КПГ – конечные продукты гликирования
КСТ – количественное сенсорное тестирование
ЛПНП - липопротеиды плазмы низкой плотности
МФД – Международная федерация диабета
НП – нервное проведение
НТГ – нарушение толерантности к глюкозе
ПГТТ – пероральный глюкозотолерантный тест
ПКС – протеинкиназа С
ПНС – периферическая нервная система
СД – сахарный диабет
СОД - супероксиддисмутаза
СРВ – скорость распространения возбуждения
ЦНС – центральная нервная система
ЭНМГ – электронейромиография
A2A-R - аденозиновый рецептор 2A
АКТ - RAC-alpha serine/threonine-protein kinase
AVP – arginine vasopressin, вазопрессин
BAD - BCL2 associated agonist of cell death, протеин-регулятор апоптоза
BDNF – brain-derived neurotrophic factor, мозговой нейротрофический фактор
Bcl-2 - B-cell lymphoma 2
B-Raf - киназа сигнального пути MAPK/ERK
CaMKII - calmodulin dependent protein kinase II, кальмодулин-зависимая протеинкиназа
c-Fos- проонкогенный белок Fos
c-Мус - протоонкогенный белок Мус
Ca²⁺ - ион кальция
CREB - циклический АМР-чувствительный связанный белок
D1 - дофаминовый рецептор 1го типа
DCCT - Diabetes Control and Complications Trial
EGF- epidermal growth factor, эпидермальный фактор роста
eNOS - Endothelial NO- synthase, эндотелиальная NO-синтетаза
ERK - extracellular signal-regulated kinase, центральная митоген-активированная протеинкиназа
FGF – fibroblasts growth factor, фактор роста фибробластов

Fyn - нерецепторная тирозинкиназа src-семейства
 GRB2 - Growth factor receptor-bound protein 2
 GSK-3b - glycogen synthase kinase 3b
 HbA1c – гликированный гемоглобин
 IP3 - инозитол трифосфат
 m-TOR - mammalian target of rapamycin, протеин - мишень рапамицина
 MAPK - митоген-активирующая протеинкиназа
 MEKK - киназа сигнального пути MAPK/ERK
 MEK - киназа сигнального пути MAPK/ERK
 MEK1/2 – киназа сигнального пути MAPK/ERK
 MMP – матриксные металлопротеазы
 MSK1 – сигнальная киназа рибосомальных белков
 NADH - Nicotinamide adenine dinucleotide, восстановленная форма
 никотинамидадениндинуклеотида
 $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ - Na^+K^+ -аденозинтрифосфатаза
 NAD^+ - окисленная форма никотинамидадениндинуклеотида
 NGF - Nerve growth factor, фактор роста нервов
 NGSP - National Glycohemoglobin Standardization Program
 NMDA – N-methyl-D-aspartate
 NO – оксид азота
 NF-кappaB - nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, ядерный фактор транскрипции
 p75NTR – p75 Neurotrophin Receptor, паннейротрофический рецептор
 p90RSK - ribosomal s6 kinase
 PACAP - Pituitary adenylate cyclase-activating peptide, гипофизарный активирующий аденилатциклазу пептид
 PARP - Poly ADP ribose polymerase
 PI3K - Phosphoinositide 3-kinases, фосфатидилинозитол-3-киназа
 PLC γ - Phosphoinositide phospholipase C, фосфотидининозитол-специфичная фосфолипаза
 RAS – семейство малых G-белков
 Shc - от англ. Src homology 2 domain containing transforming protein
 TGF- α – Transforming growth factor beta 1
 TNF- α - tumor necrosis factor alfa
 TrkB – tropomyosin receptor kinase B
 TrkB-FL - TrkB full-length
 VEGF-A – Vascular endothelial growth factor A
 VEGFR2 – vascular endothelial growth factor receptor 2
 VIP - Vasoactive intestinal peptide

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) представляет собой глобальную проблему здравоохранения ввиду неуклонно растущей распространенности, достигающей масштабов пандемии, значительных фармакоэкономических затрат на своевременную диагностику и поиски эффективного лечения, высоких социальных потерь и смертности в том числе трудоспособного населения [88, 106, 153]. Поражение нервной системы считается наиболее частым и опасным осложнением сахарного диабета, характеризуется множеством клинических проявлений, что обусловлено вовлечением как центральных, так и периферических структур, и запускается на самых ранних стадиях диабета, а зачастую и при нарушении толерантности к глюкозе [185, 203]. К наиболее частому и типичному проявлению поражения периферической нервной системы при СД относится диабетическая полинейропатия (ДПН), которая характеризуется симметричным дистальным вовлечением определенного типа нервных волокон [39, 58, 85, 130]. Хронический нейропатический болевой синдром, характерный для болевой формы ДПН, ассоциирован с тревожно-астеническими и психоэмоциональными расстройствами и снижением качества жизни пациентов [18, 16, 77, 90, 151]. Метааналитические исследования продемонстрировали высокую связь хронической боли со смертностью от сердечнососудистых осложнений, выраженность боли усиливала частоту летальных исходов [105].

Несмотря на актуальность диабетической нейропатии, имеется ряд диагностических проблем, связанных с отсутствием общепринятых высокоспецифичных методов скрининга. К наиболее точным методам верификации диагноза ДПН относятся инструментальные методы исследования: электронейромиография (ЭНМГ), количественное сенсорное тестирование (КСТ), биопсия нерва и другие [87, 98, 171, 204]. Однако на ранних этапах ДПН может протекать субклинически, что не позволяет использовать информативные методы

инструментальной диагностики и приводит к несвоевременному выявлению полинейропатии [66,83,187]. Ранняя верификация диагноза имеет первостепенное значение и в отношении лечебно-профилактических мер, поскольку ни одно из имеющихся терапевтических средств в арсенале лечения ДПН не останавливает прогрессирования заболевания на поздней стадии [78, 153]. Лечение нейропатического болевого синдрома представляет отдельную серьезную медико-фармакологическую проблему не только с позиций эффективности купирования боли, но и с учетом лекарственных взаимодействий [116]. Нерешенной остается проблема восстановления сенсомоторных функций при диабетической полинейропатии. Данные лечебно-диагностические проблемы, на наш взгляд, связаны с недостаточной изученностью компонентов патогенетического каскада ДПН.

Степень разработанности темы. Анализ результатов фундаментальных исследований, проведенных в последние десятилетия, диктует необходимость рассмотрения патогенеза диабетической полинейропатии и вопросов восстановления нарушенных функций с учетом процессов нейропластичности как основного механизма выживания нейронов в условиях повреждения, обеспечивающего репаративные и нейропротективные функции [140]. Основными регуляторами пластичности мозга являются нейротрофические и ростовые факторы [12]. В рамках патогенеза диабетической полинейропатии особого внимания заслуживают факторы роста, обладающие возможностью одновременного воздействия на сосудистый и метаболический компоненты патогенеза, к ним относятся мозговой нейротрофический и васкулоэндотелиальный факторы [75,171]. Согласно данным современных экспериментальных и клинических исследований, выявляется определенная закономерность, проявляющаяся повышением экспрессии данных факторов роста на ранних стадиях диабетической полинейропатии, как проявление компенсаторных механизмов, и значительное снижение экспрессии факторов при декомпенсации процесса, при этом дефицит нейротрофических факторов

становится самостоятельным патогенетическим звеном [104, 140,148]. Однако до сих пор не удастся объяснить причину прогрессирования заболевания даже при повышенной экспрессии нейротрофинов [67, 78, 170]. В связи с этим логично предположение о том, что главенствующая роль в нарушении нейропластических и нейрорепарационных процессов при ДПН принадлежит дисфункции и/или повреждению высокоаффинных рецепторов факторов роста, представленных группой рецепторов с тирозинкиназной активностью [178]. Наша гипотеза: в условиях дефицита тирозинкиназных рецепторов положительные эффекты нейротрофинов не могут реализоваться, что вторично по механизму обратной связи обуславливает снижение выработки нейротрофинов, истощение их запасов в крови и в последующем прогрессирование заболевания.

Цель исследования – оценить прогностическую значимость мозгового нейротрофического и васкулоэндотелиального факторов роста и их высокоаффинных рецепторов с тирозинкиназной активностью при диабетической полинейропатии.

Задачи исследования:

1. Определить клинико-нейрофизиологические особенности течения диабетической полинейропатии на разных стадиях у пациентов с сахарным диабетом, а также при нарушении толерантности к глюкозе.
2. Изучить количественное содержание мозгового нейротрофического фактора (BDNF), его высокоаффинного рецептора (TrkB), васкулоэндотелиального фактора роста (VEGFA) и его специфического рецептора (VEGFR2) в сыворотке крови пациентов на ранней стадии полинейропатии при различных формах нарушения углеводного обмена.
3. Оценить прогностическую значимость мозгового нейротрофического и васкулоэндотелиального факторов роста и их высокоаффинных рецепторов с тирозинкиназной активностью в отношении развития тяжелой стадии ДПН.

4. Установить взаимосвязи между содержанием факторов роста, рецепторов с тирозинкиназной активностью в сыворотке пациентов на разных стадиях ДПН и клинико-нейрофизиологическими характеристиками заболевания с обоснованием патогенетической роли нейротрофических факторов в развитии ДПН.
5. Выявить факторы, влияющие на изменение количественного содержания нейротрофических факторов и их рецепторов в сыворотке крови.

Научная новизна. Впервые проведен количественный подсчет содержания рецепторов с тирозинкиназной активностью (TrkB, VEGFR2) в сыворотке пациентов с различными формами нарушения углеводного обмена, проведен корреляционный анализ с данными электронейромиографического исследования с учетом длительности, степени тяжести заболевания, наличия сопутствующих макроангиопатических расстройств, сопоставление лабораторных показателей с сывороточными уровнями биолигандов – мозгового нейротрофина (BDNF) и васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF-A). Доказано, что у пациентов с различными вариантами дисбаланса углеводного обмена, уже на ранней стадии развития ДПН вне зависимости от клинической выраженности происходит усиление экспрессии мозгового нейротрофического фактора, его специфического рецептора TrkB и васкулоэндотелиального фактора роста в сыворотке крови, что может быть ранним маркером формирования неврологических осложнений (патент на изобретение №2671630 от 06 ноября 2018 «Способ диагностики субклинической стадии диабетической нейропатии»).

Впервые продемонстрирована возможность определить выраженность демиелинизирующего повреждения нервного волокна при ДПН и степень прогрессирования заболевания путем количественного подсчета неактивного рецептора TrkB в сыворотке методом ИФА. В тяжелой стадии полинейропатии определяется истощение запасов BDNF, VEGF-A и его рецептора, наряду с повышением количественного уровня специфического рецептора TrkB, что объясняется разрушением миелиновой оболочки нерва (приоритетная справка №

2018135934 от 10.10.18 к патенту «Способ прогнозирования тяжелого течения диабетической полинейропатии и развития синдрома диабетической стопы»).

В исследовании доказана способность свободной сывороточной формы рецептора VEGFR2 инактивировать положительные нейротрофические эффекты своего биолиганда VEGF-A, что негативно сказывается на трофике нервного волокна при диабетической полинейропатии.

Практическая значимость. Обоснована необходимость проведения электронейромиографического исследования пациентам при нарушении толерантности к глюкозе и на ранней стадии для своевременной диагностики ДПН и проведения лечения. Сывороточные уровни мозгового нейротрофина, васкулоэндотелиального фактора роста и рецептора киназы В типа (TrkB) могут служить диагностическими лабораторными маркерами повреждения нервных волокон на ранних этапах развития ДПН. Содержание TrkB в сыворотке может рассматриваться как предиктор тяжести течения ДПН на основании чего разработан «Способ прогнозирования тяжелого течения диабетической полинейропатии и развития синдрома диабетической стопы». Обоснована целесообразность включения инсулина в терапию СД 2 типа при декомпенсированном течении с целью улучшения нейротрофической поддержки периферической нервной системы.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Выявление у пациентов с нарушением толерантности к глюкозе клинико-нейрофизиологических признаков полинейропатии, соответствующих ДПН при сахарном диабете, свидетельствует о раннем развитии повреждения периферических нервных волокон вне зависимости от формы нарушения углеводного обмена. На ранних стадиях развития ДПН вне зависимости от наличия клинической симптоматики происходит усиление экспрессии мозгового нейротрофина, его специфического рецептора TrkB и васкулоэндотелиального

фактора роста в сыворотке, что позволяет рассматривать их в качестве диагностических лабораторных маркеров субклинической стадии ДПН.

2. При прогрессировании ДПН снижается интенсивность нейропатического болевого синдрома и наряду с этим нарастают аксонально-демиелинизирующие нарушения периферических нервов, которые коррелируют со степенью декомпенсации углеводного обмена и дефицитом мозгового нейротрофического (BDNF) и васкулоэндотелиального (VEGFA) факторов. Количественное содержание TrkB в сыворотке коррелирует со степенью демиелинизации нервного волокна и может использоваться в качестве предиктора развития тяжелой стадии ДПН и синдрома диабетической стопы. Свободно циркулирующий в сыворотке рецептор VEGFR2 способен сохранять функциональную активность, захватывая свой биолиганд VEGF-A и инактивируя его положительные нейротрофические эффекты, что негативно сказывается на трофике нервного волокна при диабетической полинейропатии.

3. На количественное содержание факторов роста в сыворотке влияет длительность хронической гипергликемии, степень компенсации углеводного обмена, применение инсулина в качестве терапии сахарного диабета. Избыточный вес является дополнительным клиническим параметром, влияющим на сывороточный уровень рецептора TrkB. В свою очередь у пациентов с ДПН по количественному содержанию BDNF и его рецептора можно прогнозировать скорость прогрессирования нейропатии и демиелинизации, наличие и интенсивность нейропатической боли. Уровень васкулоэндотелиального фактора роста и его высокоаффинного рецептора в большей степени характеризует степень макроангиопатических расстройств, коррелирует с температурой конечности и степенью декомпенсации углеводного обмена.

Личный вклад соискателя в получение научных результатов, изложенных в диссертации. Личное участие автора осуществлялось на всех этапах планирования и проведения диссертационной работы: научно-информационный поиск, клиническое обследование больных, ведение первичной

документации, анализ клинических, инструментальных и лабораторных данных, статистическая обработка полученной информации. Самостоятельно произведено научное обобщение результатов, сформулированы положения, выводы, практические рекомендации, подготовлены материалы к публикации.

Мы выражаем искреннюю благодарность научному сотруднику лаборатории иммунорегуляции Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Института экологии и генетики микроорганизмов РАН к.б.н. Некрасовой Ирине Валерьевне за осуществление иммуноферментного анализа, а также неврологу, к.м.н. Дакиной Татьяне Геннадьевне, проводившей электронейромиографическое исследование на базе медицинского центра «Философия красоты и здоровья».

Степень достоверности. О достоверности результатов исследования свидетельствуют репрезентативный объем выборки, научный дизайн, использование современных клиничко-лабораторных, инструментальных методов исследования и статистической обработки результатов работы.

Апробация результатов. Основные положения работы представлены на межрегиональных научно-практических конференциях «Актуальные вопросы неврологии. Роль дисфункциональных расстройств», посвященная 100-летию медицинского образования на Урале (Пермь, 2016); «Неврологические чтения в Перми», посвященной 95-летию кафедры неврологии ПГМУ (Пермь, 2017), научных сессиях Пермского государственного медицинского университета (Пермь, 2016, 2017, 2018), на конкурсе молодых ученых «Вейновские чтения» (г.Москва, 2017); на 10м Конгрессе Европейской федерации боли (Копенгаген, 2017); на конкурсе молодых ученых «Будущее неврологии» в рамках IV Всероссийской научно-практической конференции «Бехтеревские чтения» (г.Казань, 2018); на конкурсе молодых ученых Всероссийской молодежной медицинской конференции с международным участием Алмазовские чтения (г.Санкт-Петербург, 2018), на XXIV Российской научно-практической конференции с международным участием «Медицина боли: от понимания к

действию» (г. Ростов-на-Дону, 2018), на заседании научно-координационного совета по неврологии и психиатрии ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера Минздрава России. Работа выполнена с использованием средств гранта № 0033234 «Разработка объективного метода диагностики ранней стадии диабетической нейропатии» от 2016г Фонда содействия инновациям.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 22 печатные работы, в том числе 7 – в рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, из них – в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования; получен патент на изобретение Российской Федерации: «Способ диагностики субклинической стадии диабетической нейропатии» №2671630 от 06 ноября 2018 и приоритетная справка № 2018135934 от 10.10.18 к патенту «Способ прогнозирования тяжелого течения диабетической полинейропатии и развития синдрома диабетической стопы».

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 170 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 63 отечественных и 143 зарубежных источника. Диссертация иллюстрирована 30 таблицами, 79 рисунками.

Связь исследования с планом НИР. Работа выполнена на кафедре неврологии им. В.П.Первушина ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера Минздрава России (ректор – заслуженный деятель науки, проф. И.П.Корюкина) в соответствии с планом и этическими нормами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека». Протокол диссертационного исследования был одобрен Комитетом по этике при ФГБОУ ВО ПГМУ им. акад. Е.А.Вагнера Минздрава России (протокол №13 от 21.12.2016 г.).

ГЛАВА 1. ДИАБЕТИЧЕСКАЯ ПОЛИНЕЙРОПАТИЯ. РОЛЬ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ПРОЦЕССОВ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ

1.1 Современные представления об эпидемиологии, клинике и патогенезе диабетической полинейропатии

1.1.1 Клинико-эпидемиологическая характеристика больных диабетической полинейропатией.

Проблемы своевременной диагностики

По данным Международной федерации диабета (МФД) глобальная распространенность сахарного диабета на 2018 год составляет 424,9 миллиона человек (8,9% общемировой популяции), при этом считается, что истинная численность превышает официально зарегистрированную, и еще порядка 220 миллионов человек по всему миру не подозревают о своем диагнозе [125]. Заболеваемость диабетом неуклонно растет, только за период с 2016 по 2017 прирост заболевшего населения составил 10 миллионов человек, а к 2045 году, согласно прогнозам МФД, распространенность заболевания достигнет отметки в 628,6 миллионов человек (9,9% глобальной популяции) [88]. В Российской Федерации (РФ) по данным Федерального регистра на 31.12.2017 года насчитывается 4,499 млн больных сахарным диабетом, что составляет 3,06% населения страны. Динамика роста заболеваемости в РФ соответствует мировых тенденциям. Так, ежегодный прирост заболеваемости СД 1 типа составляет плюс 46 тысяч пациентов за 5-летний период во всех возрастных группах, СД 2 типа: плюс 835 тысяч пациентов за каждые 5 лет. В общей сложности в РФ констатирован значительный рост распространенности СД по сравнению с данными 01.01.2010 года: плюс 930 тысяч пациентов (23%). В структуре заболеваемости распределение по полу (мужчин/женщин) составляет для СД 1 типа 53,5%/46,5%, для СД 2 типа 29%/71%. [27, 22]. В Пермском крае заболеваемость СД 1 типа составляет 162,1 на 100 тысяч населения, что

укладывается в рамки заболеваемости в стране (169,6 случаев на 100 тысяч населения), СД 2 типа 2951,2 случая на 100 тысяч населения, что незначительно превышает общероссийский показатель (2775,6 случаев на 100 тысяч населения) [22].

Поражение нервной системы при сахарном диабете характеризуется многообразием форм, что обусловлено вовлечением как центральных, так и периферических нервных структур [35,58, 166]. Поражение центральной нервной системы (ЦНС) при диабете характеризуется нарушением экспрессии нейротрансмиттеров, дисфункциональными и последующими структурными изменениями нейронов и проводников, приводящими в первую очередь к когнитивному дефициту [7, 62,74]. К наиболее частому и типичному проявлению поражения периферической нервной системы (ПНС) при СД относится диабетическая полинейропатия (ДПН), которая характеризуется симметричным дистальным вовлечением определенного типа нервных волокон. Помимо клинических проявлений имеются различия и в скорости поражения различных участков нервной системы. Так, вовлечение ПНС в процесс происходит в течение 6 недель от начала диабета, в то время как изменения в ЦНС запускаются только ко 2 месяцу [30, 39]. Тем не менее, принято говорить о повреждении ЦНС и ПНС, происходящем при СД, как о едином заболевании, которое обозначается термином «диабетическая нейропатия».

По данным эпидемиологических исследований, распространенность ДПН среди больных сахарным диабетом варьирует в диапазоне от 6,1% до 82,5% в зависимости от используемых диагностических критериев [41, 50,58]. В среднем частота нейропатии среди пациентов с СД составляет около 25%, однако при углубленном клиническом исследовании этот показатель возрастает до 50%, а при применении высокоинформативных инструментальных электрофизиологических методов исследования до 90% [40]. На момент установления диагноза СД полинейропатия выявляется в 8% случаев, через 20 лет болезни - в 40%, а при стаже 25 лет - более чем в 50% [58]. Однако прямая корреляция между

продолжительностью и даже тяжестью СД и частотой ДПН прослеживается не всегда. Тяжелые формы полинейропатии наблюдаются и среди лиц с относительно легким течением СД и удовлетворительном контроле гликемии [33, 132]. Кроме того, частота выявления полинейропатии при нарушении толерантности к глюкозе (НТГ) варьирует в диапазоне от 8 до 32% [185].

Таким образом, повреждение нервной системы при сахарном диабете происходит уже на ранней стадии, может протекать асимптомно в дебюте, что осложняет своевременную диагностику данного осложнения [10, 24, 53, 61]. Несмотря на распространенность диабетической полинейропатии и необходимость ее изучения, исследования в данной области были затруднены из-за отсутствия единого набора критериев ее выявления. Около 30 лет назад группой неврологов и эндокринологов были разработаны диагностические критерии, которые, впрочем, оказались слишком трудоемкими и дорогостоящими для клинических испытаний и тем более для рутинной врачебной практики [189]. В результате каждой исследовательской группой использовались различные критерии, что усложняло проведение метааналитических исследований. Для решения этой проблемы экспертной группой Торонто в 2011г. были опубликованы пересмотренные критерии, которые составили широко используемую структуру для последующих испытаний [95]. Согласно данным критериям, выделяют вероятную ДПН, при которой выявляются симптомы или признаки полинейропатии; возможную клиническую ДПН, включающую субъективные и объективные клинические данные; подтвержденную клиническую ДПН, которая сочетает в себе наличие клинической симптоматики и электрофизиологических признаков полинейропатии; а также субклиническую ДПН, при которой отсутствуют клинические, но выявляются инструментальные признаки полинейропатии [32, 46, 95].

П. Диком и соавт. были разработаны диагностические критерии нарушения нервной проводимости (НП) [96].

- критерий 1: один и более из 12 показателей НП не соответствует нормальным значениям;
- критерий 2: один и более показателей НП в 2 нервах отклонены от нормальных показателей;
- критерий 3: один и более показателей НП в 2 нервах не соответствует норме (один из них икроножный нерв);
- критерий 4: снижены скорость распространения возбуждения большеберцового нерва или амплитуда икроножного нерва;
- критерий 5: нарушены оба показателя НП (скорость распространения возбуждения большеберцового нерва и амплитуда С-волны икроножного нерва);
- критерий 6: снижены скорость распространения возбуждения большеберцового и малоберцового нерва;
- критерий 7: пять перечисленных показателей нервного проведения не соответствуют нормальным значениям;
- критерий 8: шесть перечисленных показателей НП отклонены от нормальных значений.

12 показателей НП, которые оценивались в исследовании когорт пациентов с СД и здоровых лиц элеткронеиографически, включали амплитуду М-ответа, скорость распространения возбуждения (СРВ), дистальную латентность моторных волокон малоберцового, большеберцового, локтевого нервов, амплитуду С-ответа, СРВ, латентность F-волны сенсорных волокон икроножного нерва. Было показано, что у пациентов с СД с использованием пороговой точки 2,5/97,5 перцентиль обнаруживались нарушения НП: снижение СРВ по малоберцовому – 26,3% и большеберцовому нервам – 24,8%, амплитуды С-волны икроножного нерва у 2,4% больных; увеличение латентности малоберцового у 16,9% и локтевого нервов у 16,0% пациентов [97]. Учитывая возможность выявления указанных изменений и у здоровых лиц, но с меньшей частотой, было рекомендовано использовать для подтверждения ДПН разные комбинации данных показателей НП, в результате чего были разработаны вышеописанные

критерии. Наиболее чувствительными и специфичными критериями признаны скорость распространения возбуждения по малоберцовому нерву и амплитуда потенциала действия икроножного нерва, исследуемые по двум нервам с пороговой точкой 97,5 перцентилля и более. По результатам исследования Nerve Conduction Criteria Study [96] авторы пришли к заключению, что более точная диагностика может быть достигнута при использовании суммарных исследований НП (критерии 7 и 8), критерий 2 и критерий 3 считаются также приемлемыми для диагностики ДПН.

В 2005 г Американской академией неврологии был разработан упрощенный протокол выявления нарушения нервной проводимости, согласно которому нарушение проводимости сенсорных икроножных и моторных малоберцовых волокон являются наиболее чувствительными и были рекомендованы в качестве первоочередных электрофизиологических параметров для подтверждения диагноза ДПН [102].

Поражение каждого типа нервных волокон имеет собственные электронейромиографические характеристики. Так, для аксонопатии характерно снижение амплитуды М-ответа при нормальной скорости проведения импульса [40, 97]. При демиелинизирующем процессе на ЭНМГ регистрируется увеличение латентности и снижение скорости распространения возбуждения [98]. Скорость проведения импульса (но не амплитуда потенциала действия нерва) у сенсорных волокон более чувствительна к температуре, чем у двигательных волокон. Путем согревания конечности могут быть получены оптимальные данные, если согревание невозможно, то для интерпретации субоптимальных записей используются поправочные коэффициенты, хотя это обеспечивает менее ценную информацию. Классические электродиагностические методики нечувствительны к изолированной нейропатии тонких волокон, данные ЭНМГ остаются нормальными, поскольку тонкие волокна не участвуют в иннервации мышц, а исследование скорости проведения по поверхностным нервам неинформативно для оценки проводимости по тонким волокнам, т.к. ответы на стимуляцию являются

низкоамплитудными и рассеянными [50]. Таким образом, ЭНМГ высокоточно оценивает состояние лишь толстых миелинизированных волокон, к поражению тонких немиелинизированных болевых волокон метод нечувствителен.

Важной положительной характеристикой другого диагностического метода - количественного сенсорного тестирования (КСТ) - относится выявление повреждения тонких слабомиелинизированных чувствительных волокон. Тем не менее, КСТ имеют ряд диагностических погрешностей, так как обладают долей субъективности, зависят от внимания, мотивации и готовности пациента к сотрудничеству, кроме того, зависимы от антропометрических переменных (возраста, пола, массы тела, наличия в анамнезе курения и употребления алкоголя) [172]. К методам, позволяющим оценить повреждение тонких нервных волокон, относится также биопсия кожи и икроножного нерва. Наряду с явными диагностическими преимуществами данные методики являются инвазивными, и, учитывая возможные риски возникновения целого ряда осложнений, как правило, они используются только в рамках клинических исследований. В этой связи особый интерес вызывают данные о применении конфокальной микроскопии роговицы с целью выявления повреждения нервных волокон на ранних стадиях, которые появились в последние годы [73]. Но высокие экономические затраты и технические сложности проведения не позволяют использовать данный метод выявления ДПН в качестве скринингового. Кроме того, до сих пор не существует общепринятых и доказавших свою эффективность методов исследования немиелинизированных автономных волокон [95].

1.1.2 Современные представления о патофизиологии диабетической полинейропатии

Развитие клинической симптоматики ДПН обусловлено рядом патофизиологических особенностей. На ранних этапах происходит относительно симметричное вовлечение аксонов немиелинизированных и слабомиелинизированных вегетативных и сенсорных волокон периферических

нервов [5]. Уязвимость нервного волокна при аксонопатии напрямую зависит от его длины, поэтому при ДПН прежде всего поражаются наиболее длинные аксоны нижних конечностей (малоберцовый нерв, икроножный нерв) [39, 85]. Поздние стадии характеризуются вторичной демиелинизацией с охватом крупных миелинизированных волокон, ответственных за проведение глубокой чувствительности, грубыми микро- и макроангиопатическими нарушениями [74].

Исходя из этого, в дебюте заболевания клиническая картина ДПН представлена вегетативной нейропатией и расстройствами поверхностной чувствительности [166]. Вегетативные нарушения проявляются довольно широким спектром симптомов: от трофических кожных, вазомоторных расстройств до дисфункции висцеральных органов [187]. Нарушение вегетативной иннервации сердечнососудистой системы, представленное нарушениями сердечного ритма, фиксированным пульсом, ортостатической гипотензией, безболевым ишемией миокарда, наиболее опасно, поскольку является непосредственной причиной летальности и выявляется постфактум [36,51,175]. Прочие формы вегетативной нейропатии (гастроинтестинальная, респираторная, урогенитальная) связаны со снижением качества жизни пациентов с сахарным диабетом и также определяют неблагоприятный прогноз [137]. У больных с автономной нейропатией нарушается способность распознавать гипогликемию, что обусловлено нарушением симпатoadреналовой реакции на гипогликемию вследствие поражения симпатических волокон и денервации мозгового слоя надпочечников [39]. Последними исследованиями доказана прямая ассоциация между наличием ДПН и частотой развития автономной нейропатии, в том числе безболевым ишемией миокарда [70]. Полученные данные позволяют рассматривать выявление ДПН как полезный инструмент для оценки риска ранних сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с диабетом.

Сенсорные проявления полинейропатии могут быть представлены как «позитивной», так и «негативной» симптоматикой, что во многом зависит от

темпов прогрессирования заболевания. В силу опережающего поражения более длинных волокон, чувствительные расстройства раньше возникают в дистальных отделах нижних конечностей, затем постепенно распространяются проксимально и по достижении уровня колена появляются в пальцах кистей рук [39]. Симптомы «выпадения» при ДПН связаны со снижением чувствительности и представлены в основном гипестезией. Стоит отметить, что сенсорная система обладает довольно большим «запасом прочности», гипестезия возникает при гибели не менее 60% волокон, что обуславливает наличие субклинической стадии ДПН [40] и, соответственно, диагностические сложности.

В большинстве случаев основным поводом для обращения пациента за медицинской помощью является появление позитивной сенсорной симптоматики, которая представлена нейропатической болью в сочетании с другими чувствительными феноменами (дизестезии, гиперпатия, аллодиния) [4, 19, 40]. Патофизиологические аспекты формирования нейропатической боли включают в себя ряд ионных, биохимических и анатомических модификаций периферических и центральных структур сенсорной системы, ответственной за восприятие, проведение и обработку болевого импульса [18,8,60]. На уровне периферического аппарата происходит активация первичной афферентной стимуляции за счет увеличения плотности натриевых каналов в нервном волокне, появления очагов эктопического возбуждения, активации немиелинизированных С-волокон, которые секретируют нейрокинины, субстанцию Р, кальцитонин-ген-родственный пептид [2, 37]. Экспрессия указанных биогенных аминов ведет к развитию «нейрогенного воспаления», увеличению проницаемости сосудов, высвобождению из тучных клеток простагландинов, цитокинов, гистамина, которые воздействуют на мембрану нервного окончания, повышают возбудимость С-афферентов и замыкают патологический круг первичной гипералгезии [6, 9, 57]. Вследствие этого происходит снижение порога возбуждения болевого восприятия и повышенная чувствительность нервного волокна. Помимо функциональных расстройств, волокна подвергаются структурным изменениям, на их поверхности образуются рецепторы,

отсутствующие в нормальных условиях, что расширяет диапазон раздражителей, способных активировать ноцицепторы. В частности, на поверхности аксонов С-волокон появляются α_2 -адренорецепторы, которые обеспечивают чувствительность к катехоламинам, что подтверждает зависимость нейропатической боли от эмоционального состояния [186].

Помимо этого, разрушение и последующее восстановление миелиновой оболочки ведет к инициации нейропластических процессов с формированием новых атипично направленных отростков, созданием патологических синаптических связей между волокнами разной сенсорной модальности, эфаптической передаче импульса между соседними волокнами, что клинически представлено феноменом аллодинии, дизестезии и гиперпатии [11].

Центральная сенситизация нейронов соматосенсорной системы обусловлена несколькими механизмами, включающими «спраутинг» С-волокон в дорсальную пластину заднего рога спинного мозга, активацию глутаматных NMDA-рецепторов вставочных нейронов, увеличению возбудимости и реактивности ноцицептивных нейронов [6,15,186]. Изменяется паттерн передаваемого болевого импульса: происходит временная и пространственная суммация возбуждения, нарастающая потенциация, устойчивая деполяризация мембраны и редукция порога возбуждения [49]. Нейроны становятся способны реагировать на раздражения вне собственной иннервации, в том числе на неболевые импульсы. Помимо гиперактивации и гипервозбудимости нейронов важную роль в формировании нейропатической боли играет нарушение работы антиноцицептивной системы [20]. Данная система представлена структурами на разных уровнях нервной системы. Доказано, что импульсация из тактильных рецепторов, которая проводится по толстым миелинизированным волокнам, способна тормозить проведение болевых импульсов на уровне заднего рога, таким образом осуществляя антиноцицептивный контроль на уровне спинного мозга [38]. Противоболевая система включает активацию нейрогуморального контроля с компенсаторным усилением выработки серотонина, норадреналина,

дофамина, энкефалинов и эндорфинов, которые контролируют передачу ноцицептивных потоков [18, 23, 28,]. При функциональной недостаточности центральных систем, к которым относятся ядра шва, голубоватое место, околопроводное серое вещество, гипоталамус, ретикулярная формация и, наконец, соматосенсорная кора и лимбическая система, происходит нарушение тормозящих нисходящих влияний и развитие феномена дезингибиции. Впоследствии происходят анатомические изменения в центральных интегрирующих структурах сенсорной системы, что неизбежно ведет к эмоциональным и когнитивным расстройствам [14,16]. Появление парестезий при ДПН является своеобразным индикатором демиелинизации и обусловлено эфаптическим взаимодействием разрушенных и сохранных сенсорных волокон [39]. Демиелинизация волокон глубокой чувствительности приводит к развитию сенситивной атаксии, «штампующей» походки. Моторные миелинизированные волокна страдают редко [40].

Определение патогенетических механизмов, которые способствуют развитию различных форм диабетической полинейропатии (субклинической, болевой, безболевой), имеет значение в выборе подходящего фармакологического и немедикаментозного метода лечения данного осложнения диабета [25, 47, 54,56,58,63].

В норме метаболизм глюкозы происходит путем гликолиза до фруктозо-6-фосфата, при кратковременном стрессе с целью удаления избытка глюкозы подключается пентозофосфатный шунт, в норме нефункционирующий [18]. При длительной гипергликемии расщепление глюкозы проходит по патологическим путям, что запускает каскад взаимосвязанных биохимических реакций, ведущих к дисметаболическим, дисфункциональным и в конечном итоге структурным изменениям нервной ткани [20]. Ключевым компонентом патогенетического каскада ДПН в настоящий момент признан оксидативный стресс – механизм, отражающий нарушение баланса между выработкой свободных радикалов и функционированием антиоксидантной защиты. Последняя представлена

многоуровневой системой ферментов, восстанавливающих активные формы кислорода в стабильные соединения и препятствующих бесконтрольному протеканию свободнорадикальных процессов в клетке [106]. К облигатным антиоксидантам относится супероксиддисмутаза (СОД), представляющая первую линию защиты, восстановленный глутатион, соотношение восстановленной и окисленной формы никотинамидадениндинуклеотида (NADH-NAD⁺), токоферол, аскорбиновая кислота, SH-содержащие соединения [44].

Длительная гипергликемия способна индуцировать сбой в работе антиоксидантной защиты, в результате чего образуются кислородные радикалы, мгновенно и непрерывно вступающие в реакции свободнорадикального окисления, основными мишенями которых является нуклеиновые кислоты, липиды биомембран, белки [79]. В митохондриях активные радикалы разрушают цепи ДНК, активируют поли-АДФ-рибоза-полимеразу (PARP), что выводит из строя ключевой фермент гликолиза – глицеральдегидфосфат дегидрогеназу. В результате активируется полиоловый путь расщепления глюкозы. Основным ферментом данного пути является альдозоредуктаза, обладающая низким сродством к глюкозе при нормогликемии, но активирующаяся в условиях ее повышенного содержания [206]. Фермент катализирует глюкозу в многоатомный спирт сорбитол, что ведет к осмотическим нарушениям, истощению осмолитиков (миозининозитола, аденозина, таурина), недостаточности Na⁺K⁺АТФазы, что проявляется нарушением деполяризации нервного волокна и снижением проведения нервного импульса, аксоглиальному разобщению и торможению аксонального транспорта. Помимо этого, активация полиолового пути усиливает оксидативный стресс путем повышения соотношения окисленной формы NAD⁺ к восстановленной NADH [44]. Дальнейшая аккумуляция сорбитола и его окисление до фруктозы повышает образование диацилглицерола – фермента, повышающего активность протеинкиназы С (ПКС) [43].

Второй механизм патогенеза ДПН заключается в способности избытка глюкозы вступать в последовательные реакции неферментного гликирования

белковых аминокрупп с образованием конечных продуктов гликирования (КПГ), таких как пентозидин, пирралин, карбоксиэтил-лизин и др [43]. Данные соединения прочны, способны быстро накапливаться в клетках-мишенях, опосредуя прямой цитотоксический эффект. В частности, при гликировании тубулина и миелина нарушается строение цитоскелета, происходит сегментарная демиелинизация нервного волокна. Способность КПГ аккумулироваться в перинервии, эндотелиальных клетках и перицитах *vasa nervorum* усугубляет эндоневральную гипоксию и аксональную атрофию. За счет активации ядерного фактора транскрипции (англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-кappaB) реакции неферментного гликирования способны индуцировать выработку провоспалительных цитокинов (С-реактивного протеина, интерлейкина-6), молекул адгезии, матриксных металлопротеаз, что ведет к клеточному повреждению, апоптозу и дальнейшей демиелинизации [124]. Неферментному гликированию подвержены не только белки, но и липопротеиды плазмы, в первую очередь, низкой плотности (ЛПНП). Модифицированные ЛПНП с КПГ плохо распознаются специфическими рецепторами, быстро поглощаются интимой сосудов и откладываются в эндотелии, способствуя прогрессированию атеросклероза и эндоневральной ишемии [74]

Сосудистые нарушения составляют отдельную группу патологических механизмов, участвующих в патогенезе ДПН. На ранней стадии в ответ на патологические стимулы происходит физиологическая экспрессия оксида азота (NO), ангиотензина-II, эндотелина 1, ингибитора активатора плазминогена (РАI-1), что обеспечивает компенсаторный ответ в виде усиления кровотока [1, 106]. В настоящий момент NO считается основной биологической молекулой, регулирующей тонус сосудов, активность простагландинов, регуляцию внутри- и внеклеточного баланса Ca^{2+} , процессы свертываемости и другие эндотелиальные функции [43]. Кроме того, NO активно участвует в развитии окислительного стресса, поскольку способен проявлять как прооксидантные, так и антиоксидантные свойства, данный баланс регулируется содержанием свободных кислородных радикалов. Источником оксида азота в ЦНС и ПНС являются

глутаматные нейроны, эндотелий сосудов, микроглия, астроциты. Снижение экспрессии оксида азота при хроническом течении гипергликемии ведет к ухудшению реологических свойств крови, выработке вазоконстрикторов, вазоспазму [52]. В дальнейшем происходят структурные изменения сосудистой эндотелиальной стенки по типу гиперплазии и гипертрофии эндотелиоцитов, дегенерации перицитов, а также гиалинизации стенок артериол [48]. Указанные изменения сосудистой стенки неспецифичны для периферических нервов и встречаются во всех органах и тканях при диабете, однако доказано, что эндоневральная гипоксия и ишемия, обусловленная данным микроангиопатическим состоянием, может привести к снижению скорости проведения по нервному волокну [115]. В то же время, фундаментальные исследования с использованием лазерной доплеровской флоуметрии не подтвердили никакой связи между нарушением кровообращения нижних конечностей и ранней периферической нейропатией у пациентов с диабетом [188]. Нарушение кровообращения нижних конечностей ставит под угрозу заживление ран и эффективное лечение инфекций [75]. Таким образом, микроангиопатические расстройства нарушают трофику нервного волокна, усугубляют нарушение нервной проводимости и играют важную роль в развитии диабетической стопы.

В развитии эндотелиальной дисфункции показала свою роль и протеинкиназа C (ПКС) [132]. ПКС активирует митоген-активирующую протеинкиназу (МАР-киназу), которая фосфорилирует факторы транскрипции и изменяет экспрессию генов, повышает продукцию экстрацеллюлярного матрикса. ПКС ингибирует NO-синтазу, усугубляя оксидантный стресс, стимулирует активность фосфолипазы A2, молекул адгезии, чем обусловлено нарушение кровотока, сосудистой проницаемости, воспалительные процессы в стенке сосудов, эндотелиальная дисфункция.

Таким образом, в патогенезе диабетической полинейропатии принимают участие разнообразные дисметаболические, сосудистые, воспалительные,

иммунные нарушения. В настоящее время считается, что аксонопатия и демиелинизация, хоть и являются взаимовлияющими процессами, но развиваются независимо друг от друга и, соответственно, обусловлены действием различных компонентов патогенетического каскада. Так, накопление КПП, нейровоспаление и полиоловый путь ведут к прямому повреждению Шванновских клеток, а в развитии аксонопатии всё большая роль отводится нарушению трофической поддержки, обусловленной истощением восстановительных возможностей нервной системы за счет снижения выработки факторов роста нерва [115]. Казалось бы, к их снижению ведет неуклонно прогрессирующее течение ДПН. Однако и при адекватном контроле нормогликемии происходит истощение запасов нейротрофических факторов, что обуславливает необходимость подробного изучения факторов, влияющих на механизмы нейропластичности.

Гипотеза о том, что аксонопатия при диабете является следствием нарушения выработки нейротрофических факторов, подтверждается данными последних исследований о нейротрофин-подобном действии инсулина. Ранее считалось, что в отношении поглощения глюкозы нейроны, наряду с эритроцитами крови и хрусталиком глаза, относятся к инсулиннезависимым тканям, следовательно, эти структуры наиболее чувствительны к гипергликемии. Однако недавно появилась концепция, рассматривающая способность нейронов развивать резистентность к инсулину, что вторично нарушает нейротрофическую функцию инсулина и делает нейроны более уязвимыми к повреждению [133]. В пользу этой теории свидетельствуют данные об изменении чувствительности субъединиц рецептора инсулина в нейронах при развитии диабета [118]. Нейроны ольфакторной ямки, гиппокампа, спинного мозга способны экспрессировать рецепторы инсулина, относящиеся к рецепторам с тирозинкиназной активностью – группе рецепторов нейротрофических факторов [159]. Активация инсулиновых рецепторов помимо выполнения специфических функций (активации транспортера глюкозы, усиления гликолиза, снижение глюконеогенеза и липолиза), способна запускать те же сигнальные

внутриклеточные пути, за которые ответственны ростовые факторы, что приводит к блокированию генов апоптоза, усилению транскрипции генов выживания и роста клетки [119]. Помимо центральной нервной системы экспрессия инсулиновых рецепторов обнаружена в нескольких видах периферических нервных волокон, включающих С-подтип тонких сенсорных, вегетативные волокна, Шванновские клетки [161]. Согласно экспериментальным данным последнего десятилетия, дисрегуляция инсулина может способствовать поражению сенсорных волокон [119].

Экспериментальные данные подтверждаются результатами клинических испытаний. Установлено, что поддержание нормогликемии за счет введения инсулина улучшает течение полинейропатии при сахарном диабете 1 типа, в то время как при СД 2 типа одного только гликемического контроля недостаточно для предотвращения повреждения нервов [65]. Многочисленными исследованиями продемонстрирована роль артериальной гипертензии, гипертриглицеридемии, системного воспаления, ожирения в прогрессировании нейропатии при сахарном диабете 2 типа [84].

Эти данные расширяют существующие представления о механизмах повреждения нервов при сахарном диабете 1 и 2 типа и свидетельствуют о необходимости дифференцированной терапии ДПН. При СД 1 типа инсулинопения и гипергликемия изначально являются облигатными и взаимозависимыми пусковыми факторами патогенеза, казалось бы, сложно выделить значимость одного из них в развитии осложнений со стороны нервной системы [95]. Тем не менее, несколько экспериментальных исследований показали возможность развития сенсорной нейропатии при нормогликемической инсулинопении [119]. Таким образом, дефицит инсулина можно считать независимым фактором прогрессирования нейропатии при СД 1 типа, именно дисрегуляции в системе инсулин-рецептор приписывается главенствующая роль в развитии тяжелых осложнений. В свою очередь СД 2 типа является мультифакториальным заболеванием, при котором прежде всего развивается

резистентность к инсулину, т.е. дисфункция рецепторного аппарата, и гипергликемия, на поздних стадиях возможно вторичное снижение инсулина [118].

Помимо инсулина способность активировать инсулиновые рецепторы и влиять на сигнальный путь выживания и роста клетки путем активации генов тубулина и нейрофиламентов показал инсулиноподобный фактор роста 1 (ИФР1), хотя в большей степени он обладает сродством к так называемым инсулиноподобным рецепторам [12]. Клиническое использование препаратов на основе искусственного повышения ИФР-1 и инсулина у пациентов при ДПН и других патологиях продемонстрировали противоречивые результаты [119]. Возможность активировать инсулиновые рецепторы даже в отсутствие инсулина и его предшественника С-пептида и экспериментальные данные о низкой эффективности инсулинотерапии в нивелировании сенсомоторного дефицита при СД 2 типа ставят под сомнение нейротрофическую функцию самого инсулина и придают сохранности рецепторного аппарата главенствующую роль в активации путей выживания клетки. В этом случае нейропатия при СД 2 типа имеет больше повреждающих факторов на раннем этапе и теоретически должна протекать тяжелее, хотя и известна своим более мягким клиническим течением на ранних этапах в сравнении с СД 1 типа [40]. Соответственно, за сохранность нервной системы на ранних этапах могут быть ответственны другие факторы роста, а дисфункция системы инсулин-ИФР1-инсулиновый рецептор скорее играет вспомогательную роль в развитии грубых осложнений нейропатии. Относительная специфичность действия инсулиновых рецепторов в отношении нервной системы не позволяет рассматривать их как маркеры повреждения нервной системы и свидетельствует о синергизме их действия с рецепторами непосредственных нейротрофических факторов в обеспечении функционального процесса выживания, репарации и регенерации нейронов. Все это требует более углубленного изучения патогенеза нейропатии при сахарном диабете с учетом более специфических нейротрофических факторов.

1.2 Семейство нейротрофических факторов: значение в патогенезе диабетической полинейропатии

Нейротрофические и ростовые факторы представляют собой обширное семейство полипептидов, обеспечивающих рост, дифференцировку и выживание клеток различных тканей. Несмотря на отсутствие четких градаций по строению и характеру исполняемых функций, существует деление на собственно нейротрофические факторы, включающие подсемейства фактора роста нервов, глиального и цилиарного факторов роста, и семейство ростовых факторов, к которым относятся эпидермальный фактор роста, васкулоэндотелиальный фактор, инсулиноподобный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста и другие. В физиологических условиях факторы экспрессируются в ограниченном количестве, однако активность их синтеза может меняться в зависимости от функциональной потребности. Большинство факторов действует локально, в пределах одной популяции клеток под влиянием ауто- или паракринной регуляции, другие же способны циркулировать с током крови и действовать дистантно. Реализация активности любого фактора опосредована его взаимодействием со специфическим рецептором, данный процесс может модулироваться многими регуляторными сигнальными молекулами. Специфика взаимодействия лиганда и рецептора определяет направленность запускаемого каскада биологических реакций и формирует определенный физиологический процесс [12].

Предпосылки для изучения нейропластических процессов были заложены испанским гистологом Сантьяго Рамон-И-Кахалем. В своих трудах по исследованию микроструктуры нервной ткани он впервые описал наличие контактов между различными нейронами, что сыграло важную роль в открытии синапсов, а также высказал предположение о том, что нейроны неспособны к делению [163]. Открытие дендритных шипиков и их способности к росту при активном использовании, позволили Рамон-И-Кахалю развить гипотезу

пластичности нервной ткани, которая, впрочем, была подвергнута резкой критике современников [130].

Непосредственно история изучения нейротрофических факторов начинается с открытия фактора роста нервов (Nerve growth factor – NGF) Ритой Леви-Монтальчини в 1951 году [149]. Свое название фактор получил из-за своей очевидной способности ускорять развитие сенсорных нейронов куриного эмбриона. Позднее фактор был обнаружен и изучен в других тканях и среди иных видов, в том числе у человека. В 1965 году был описан метаболический эффект фактора роста нервов в симпатическом и заднем спинальном ганглиях [91]. В 1986 г. Рита Леви-Монтальчини получила совместно с С. Коэном Нобелевскую премию за пионерские работы по исследованию фактора роста нервов и эпидермального ростового фактора [143]. На данный момент NGF считается наиболее изученным, его исследованию посвящено более 13 000 работ [12].

1.2.1 Нейробиология мозгового нейротрофического фактора

Через несколько десятков лет после открытия NGF был выделен мозговой нейротрофический фактор (brain-derived neurotrophic factor – BDNF), близкий по структуре к NGF [72]. Он представляет собой полипептидный димер с молекулярной массой 27,2 кДа.

Точки обнаружения мозгового нейротрофического фактора в нервной системе намного обширнее, чем у NGF. BDNF был выявлен в сенсорных, моторных пирамидных нейронах, дофаминергических нейронах черной субстанции, холинергических нейронах переднего мозга, гиппокампа, ганглиев сетчатки, в нейронах миндалина, таламуса, мозжечка, клетках микроглии [12, 154]. Помимо центральной нервной системы, экспрессия BDNF обнаружена в периферических нервных структурах (леммоцитах) [12].

Имеются данные о ненейрональных физиологических источниках мозгового нейротрофина у людей. Доказано, что биосинтез BDNF происходит в человеческих мегакариоцитах, впоследствии фактор накапливается и экспрессируется тромбоцитами и обнаруживается в сыворотке в количестве порядка нг/мл, в плазме BDNF обнаруживается в гораздо меньших количествах и выражается в значениях порядка пг/мл, что вероятнее всего обусловлено усиленным высвобождением фактора при коагуляции [147]. Поскольку мегакариоциты развиваются из одного эмбрионального предшественника с нейронами, считается, что сывороточные колебания мозгового нейротрофина могут рассматриваться как биомаркеры, отражающие изменение концентрации BDNF в нервной системе [86].

Также была доказана возможность экспрессии BDNF лейкоцитами крови [152]. Механизмы данного процесса изучены недостаточно. Тем не менее, воспалительные инфекционные, пролиферативные и прочие процессы, связанные с лейкоцитозом, способны повлиять на количественные уровни мозгового нейротрофина, обнаруживаемого в сыворотке, что может исказить результаты исследований. Для определения иных факторов, потенциально влияющих на содержание BDNF в сыворотке, было проведено крупное исследование 1168 практически здоровых лиц в возрасте от 18 до 65 лет, по результатам которого к независимым детерминантам, меняющим содержание нейротрофина в сыворотке, были отнесены вредные привычки (курение, злоупотреблением алкоголем), возраст, пол, употребление пищи перед изъятием крови, а также время хранения образцов [81].

Ген мозгового нейротрофического фактора у человека расположен в p13-14 локусе 11 хромосомы, имеет сложную и высокоспецифичную структуру, состоящую из 11 экзонов и 9 функциональных промоторов [82]. Среди них экзон IV наиболее изучен и признан основным регулятором экспрессии BDNF. Данный экзон регулирует концентрацию внутриклеточного Ca^{2+} , модулирует активность глутаматных NMDA-рецепторов и высоковольтных кальциевых каналов L-типа,

ответственных за феномен долговременной потенциации, стимулирует циклический АМР-чувствительный связанный белок (CREB), участвующий в активации каскада выживания клетки [64].

В настоящее время известно о трех функционально различных протеинах, происходящих из гена BDNF, а именно: зрелый BDNF, обычно называемый BDNF, его предшественник – про-BDNF, и продомен BDNF [123]. Нейробиология данных лигандов BDNF является одним из самых интересных и оспариваемых вопросов в изучении мозгового нейротрофина. Все производные BDNF проявляют биологическую активность, однако имеются убедительные доказательства того, что проBDNF и зрелый нейротрофин связываются с рецепторами, противоположными друг другу по действию, для осуществления регуляции нейрональной возбудимости, ремоделирования нейронов, что обеспечивает различие их функций. В то время как BDNF обладает способностью увеличивать возбудимость нейронов, улучшая синаптическую передачу, проBDNF может снизить возбудимость нейронов и привести к формированию синаптической депрессии [199].

Секреция зрелого мозгового нейротрофического фактора регулируется как аутокринными, так и паракринными механизмами и происходит как пресинаптически, так и постсинаптически на дендритных шипиках, что обеспечивает возможность рециркуляции BDNF в синаптической щели и возможности повторного использования [100,122]. Паракринные механизмы регуляции экспрессии BDNF изучены недостаточно, к настоящему времени выявлено три пептида с доказанной способностью усиливать экспрессию мозгового нейротрофина. К ним относятся вазопрессин (AVP), вазоактивный интестинальный пептид (VIP) и гипофизарный активирующий аденилатциклазу пептид (PACAP) [170]. Установлено, что рециркуляция экзогенного BDNF в постсинаптической мембране опосредована действием специфической изоформы б синаптогамина, что позволяет расценивать последнюю как полезный маркер дифференциации сохраненного и секретированного BDNF [195]. Экспрессия BDNF зависит от нейрональной активности, увеличения внутриклеточного

кальция или действие самого мозгового нейротрофина [93, 170]. После секреции BDNF действует как локальный фактор и влияет на синаптическую пластичность в диапазоне нескольких микрометров.

Мозговой нейротрофический фактор опосредует свои эффекты путем взаимодействия с рецепторами двух видов: высокоаффинным тропомиозиновым рецептором киназы типа В (tropomyosin receptor kinase В, TrkB, также обозначаемый NTRK2) и низкоаффинным рецептором p75 (p75NTR), общим для всех нейротрофинов [94]. Зрелый BDNF связывается с высокой аффинностью (константа диссоциации $\sim 10^{-11}$ М) с рецептором TrkB, каскад реакций, запускаемых их взаимодействием, ведет к осуществлению нейропластических эффектов [170]. p75NTR является предпочтительным рецептором для связывания с незрелым BDNF, в то же время, в физиологических условиях зрелый BDNF также может действовать через него, но с гораздо меньшей аффинностью (константа диссоциации $\sim 10^{-9}$ М) [114]. Две основные формы рецепторов BDNF - p75NTR и TrkB - являются функциональными антагонистами. Связывание зрелого BDNF со специфичным рецептором TrkB ведет к осуществлению нейропластических эффектов, в то время как действие про-BDNF через p75NTR приводит к подавлению синаптической функции [199]. Также p75 показал способность изменять специфичность TrkB и тем самым снижать сродство к нейротрофическому фактору при нормальных и патологических условиях.

Тропомиозиновый рецептор киназы типа В относится к группе трансмембранных рецепторов, содержит внутриклеточный домен протеина киназы, два богатых лейцином экстрацеллюлярных повтора, захватывающих лиганд, и два трансмембранных иммуноглобулин-подобных домена [121]. Рецептор экспрессируется структурами как центральной, так и периферической нервной системы и в большом количестве обнаруживается в коре головного мозга, гиппокампе, таламусе, мозжечке, в стволе головного мозга, сетчатке и

спинном мозге, спинномозговых и черепных ганглиях, тельцах Мейсснера [176]. Помимо нервной системы, рецептор был выделен в скелетных мышцах, почках и поджелудочной железе, а его усеченные формы обнаружены в сердце, яичниках и селезенке [184].

Локус рецептора TrkB расположен на 9 хромосоме. Рецептор TrkB существует в виде нескольких изоформ: длинноцепочечной (TrkB full-length, TrkB-FL), активирующий «полезные» мозгового нейротрофина, и трех «укороченных» формах с неутонченными функциями - TrkB-T1 (гликопротеин 95), TrkB-T2 и TrkB-T-Shc (TrkB-T4) [109]. «Укороченные» формы лишены домена киназы и не могут участвовать в обеспечении внутриклеточных сигнальных путей. Впрочем, функции усеченных форм остаются до сих пор неясными и активно обсуждаются. В частности, TrkB-T1 действует обратно TrkB-FL, конкурируя с ним за BDNF и препятствуя активации киназы, что нарушает регенерацию в месте повреждения [107,145]. Доминирующее угнетение физиологических эффектов киназы не является единственной функцией TrkB-T1. В то время как длинноцепочечная форма рецептора увеличивает проксимальное дендритное ветвление, усеченный рецептор участвует в удлинении дистальных частей дендритов [197].

Сигнальный путь, запускаемый взаимодействием BDNF и его рецептора TrkB, представляет собой сложный внутриклеточный каскад взаимосвязанных молекулярных реакций, основной функцией которого является блокирование механизмов апоптоза и поддержание жизнеспособности нейрона. После связывания нейротрофина рецептор TrkB-FL (в дальнейшем обозначается TrkB) димеризуется, фосфорилирует остатки тирозина в своем цитоплазматическом домене и активирует комплексный набор внутриклеточных сигнальных каскадов [64, 170].

Ключевым компонентом каскада является сигнальный путь ERK (Ras-ERK, MAPK/ERK), получивший свое название от центральной митоген-активированной протеинкиназы (MAPK, также называемой ERK - англ. extracellular signal-regulated kinase). Около цитоплазматической части

рецептора TrkB собирается сигнальный комплекс из множества белков, распознающих и связывающих остатки фосфотирозина. Основной регуляторной субъединицей является сигнальный протеин Shc (от англ. Src homology 2 domain containing transforming protein 1) [164]. Связываясь с тирозиновым остатком рецептора, этот белок передает активирующий сигнал через связанный с рецептором факторов роста протеин (Growth factor receptor-bound protein 2, GRB2), усиливая экспрессию ГТФ-азы мембранного белка Ras. С помощью Ras-протеинов происходит внутриклеточное последовательное связывание и активирование различных киназ MAPK/ERK (MEKK, MEK, B-Raf, MEK1/2), фосфорилирование белков-мишеней по аминокислотным остаткам серина и треонина, что обеспечивает передачу сигнала и в конечном итоге ведет к активации ERK1/2 [200]. После этого фермент ERK1/2 диффундирует в цитоплазму, где взаимодействует с сигнальными киназами рибосомальных белков (p90RSK, MSK1), впоследствии проникая в ядро, где он индуцирует транскрипцию генов c-Fos, c-Myc, продукты которых ответственны за пролиферацию, выживание и дифференциацию клеток [144].

Данный путь не является единственным механизмом действия Shc-протеина. Под действием фермента фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) происходит активация киназы АКТ и протеина m-TOR (мишень рапамицина, от англ. target of rapamycin (TOR); mammalian target of rapamycin (mTOR)), отвечающего за клеточный цикл на разных фазах и организацию актинового цитоскелета [165]. Повышается активность GSK-3b (glycogen synthase kinase 3b), протеина, необходимого для выживания, кроме того, снижается содержание BAD - функционального агониста Bcl-2 (от англ. B-cell lymphoma 2) – промотора апоптоза и клеточной гибели [80]. Сигнальный путь PI3K/АКТ/mTOR отвечает за клеточный рост и метаболизм и препятствует апоптозу [142].

Третьим основным механизмом BDNF/TrkB-каскада является активация фосфотидилинозитол-специфичной фосфолипазы C (PLC γ). Посредством образования инозитол трифосфата (IP3) из PLC γ происходит выделение ионов

кальция из внутриклеточного пула, что запускает важные кальций-зависимые реакции, в частности, активацию кальмодулин-зависимой протеинкиназы CaMKII (calmodulin dependent protein kinase II), главного регулятора синаптической пластичности [169]. Этот механизм ответственен за феномен долговременной потенциации, являющейся основой памяти.

Таким образом, посредством различных сигнальных путей, осуществляемых связыванием лиганда со специфическим тропомиозиновым рецептором киназы, мозговой нейротрофический фактор участвует в клеточном выживании, росте, в пролиферации нейронов, в регуляции синаптической пластичности.

Имеются данные, что TrkB можно активировать без присутствия мозгового нейротрофина. Активация TrkB-рецептора в отсутствие природного лиганда может быть опосредована путем стимуляции связанных с G-белком рецепторов, например, аденозинового рецептора 2A (A_{2A}-R) или дофаминового рецептора 1го типа (D1) [128, 162, 194]. Процесс активации длится в диапазоне от нескольких десятков минут до нескольких часов, опосредован семейством белка киназы SRC и является кальций-зависимым процессом [139]. Кроме того, через Src-сигнальный путь действует эпидермальный фактор роста (EGF), однако, в отличие от медленной G-протеин-зависимой активации, процесс происходит мгновенно [160].

Помимо возможности активации тропомиозинового рецептора киназы посредством гетерогенных факторов, имеются данные об аутофосфорилировании TrkB. Известно, что процесс автоматической трансактивации между димерами TrkB происходит в два этапа, однако структурные компоненты процессы недостаточно ясны [129]. Тем не менее, полученные данные свидетельствуют о реальной функциональной значимости активных мономеров тропомиозинового рецептора киназы типа B в обеспечении нейропластичности без участия мозгового нейротрофина.

Первоначально выделенный из ткани головного мозга свиньи BDNF считался основным фактором выживаемости и дифференциации сенсорных

нейронов [72]. В эмбриональном периоде мозговой нейротрофин, как и другие представители семейства, отвечает за выживание, рост и дифференцировку нейронов [71]. В сформировавшейся нервной системе нейротрофин обеспечивает процессы нейропластичности и восстановления нейронов в условиях патологии. Эксперименты по повреждению гена BDNF у взрослых мышей вызывали потерю определенных типов нейронов на периферии, но не привели к резким изменениям в центральной нервной системе [103]. Эти ранние исследования показали, что фундаментальные функции BDNF могут сильно различаться на уровнях периферической и центральной нервной системы. На периферии мозговой нейротрофин предотвращает апоптоз, индуцирует ветвление дендритов (арборизацию) и рост аксонов (спраутинг) в направлении клеток-мишеней. Четкая направленность спраутинга регулируется с помощью белков-эфринов [108]. В центральной нервной системе мозговой нейротрофический фактор выступает регулятором нейрональной дифференцировки и синаптической передачи, включая как быструю передачу сигнала, так и феномен долговременной потенциации, что представляет собой основу формирования памяти и обучения [155].

Экспрессия BDNF была обнаружена в пресинаптических спинальных нейронах под влиянием болевых импульсов, в результате чего мозговой нейротрофин в данный момент позиционируется как медиатор центральной сенситизации при нейропатическом болевом синдроме [170]. Научные мнения относительно вида рецептора, задействованного в формировании и поддержании нейропатической боли, на данный момент расходятся. Согласно одной точке зрения, передача сигнала мозгового нейротрофина через неспецифический p75 способствует сенсibilизации путем высвобождения сфингозин-1-фосфата, модуляции K^+ -ионных каналов и усилением возбудимости нейронов [201]. Однако авторы признают, что точные механизмы действия BDNF-p75 остаются невыясненными. Поскольку экспрессия тирозинкиназы Fyn, активирующей натриевые каналы и гипервозбудимость нейронов, зависит от активации обоих видов рецепторов, как trkB, так и p75, сложно понять, какой именно путь приводит к сенсibilизации [146]. В совокупности эти результаты показывают, что

BDNF может усиливать потенциал действия посредством различных ионных каналов. Вторая точка зрения основана на передаче сигналов через специфический рецептор TrkB. В пользу данной теории свидетельствуют результаты экспериментальных исследований, согласно которым мыши, лишенные *trkB*, проявляют уменьшенный ответ на болевые и тактильные раздражители [170]. И наоборот, вторичная гипералгезия, вызванная капсаицином, коррелирует с фосфорилированием TrkB в задних рогах спинного мозга [196].

1.2.2 Нейробиология васкулоэндотелиального фактора роста

Семейство фактора роста эндотелия сосудов (васкулоэндотелиального фактора роста, англ. vascular endothelial growth factor – VEGF) включает в себя несколько представителей, первым из которых, в 1983 году, был описан VEGF-A. Позднее были идентифицированы VEGF-B, участвующий в эмбриональном ангиогенезе, VEGF-C и VEGF-D, ответственные за лимфангиогенез, а также плацентарный фактор роста (placenta growth factor, PlGF) [191]. Учитывая многообразие функций, изученность и потенциал в отношении нервной системы объектом дальнейшего изучения выбран VEGF-A. Данный фактор экспрессируется в основном клетками эндотелия, как следует из названия, однако продуцировать его способны также и моноциты, макрофаги, тромбоциты, нейроны, нефроциты, миофибробласты, эпителиальные клетки. VEGF-A имеет 8 изоформ (VEGF121, VEGF145, VEGF148, VEGF165, VEGF183, VEGF189, VEGF206), которые образуются благодаря альтернативному сплайингу мРНК и отличаются аминокислотным составом и биологическими свойствами, например, способностью связываться с протеогликанами гепарансульфата [92]. Синтез концевой последовательности аминокислот принципиально важен в осуществлении прямых эффектов васкулоэндотелиального фактора роста, поскольку полученный альтернативным сплайсингом VEGF_{xxx}b неспособен запускать фосфорилирование специфического рецептора.

Ген VEGF-A лоцируется в локусе p21.3 хромосомы 6. Известно около 30 полиморфизмов гена васкулоэндотелиального фактора. В частности, полиморфизмы 634G/C и 936C/T связывают с повышенным риском развития метаболического синдрома и преэклампсией [134, 167].

Экспрессия васкулоэндотелиального фактора роста происходит в ответ на гипоксию, а также под влиянием проонкогенов, провоспалительных цитокинов (TGF-альфа, TNF-альфа, фактор роста фибробластов - bFGF, интерлейкин-1), матриксных металлопротеиназ (ММР). Последние относятся к семейству кальций- и цинк-зависимых внеклеточных протеаз, способных гидролизовать белки межклеточного матрикса, цитокины и рецепторы и стимулировать миграцию клеток эндотелия во внесосудистое пространство [42]. Данное ремоделирование соединительной ткани требует поддержания адекватной сосудистой плотности, а результате чего активируется неоваскуляризация и образование новой капиллярной сети. Таким образом, некоторые представители семейств ММР признаны проангиогенными факторами.

Для васкулоэндотелиального фактора роста идентифицировано три основных рецептора с тирозинкиназной активностью - VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (от англ. kinase insert domain receptor, Fetal Liver Kinase 1, KDR / Flk-1), VEGFR-3. Все рецепторы имеют внеклеточную часть, состоящую из 7 иммуноглобулин-подобных частей, трансмембранного участка и внутриклеточной части с тирозинкиназным доменом. В зависимости от альтернативного сплайсинга, данные рецепторы подразделяются на трансмембранные и свободные, фиксируемые в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа, что активно используется в лабораторной диагностике [31]. Несмотря на то, что сывороточные уровни рецепторов VEGFR1 и VEGFR2 отражают уровень их синтеза эндотелиальными клетками, свободные формы рассматриваются как эндогенные ингибиторы действия васкулоэндотелиального фактора [101]. Доказана способность некоторых факторов влиять на содержание сывороточных форм рецепторов. Так, матриксная металлопротеиназа-7 (ММР-7)

может разрушать свободный VEGFR1, что увеличивает биодоступность васкулоэндотелиального фактора роста для эндотелиальных клеток и может использоваться в терапевтических целях [127].

VEGFR-2, по-видимому, опосредует почти все наблюдаемые реакции эндотелиальных клеток для VEGF, тогда как рецептору 1го типа отводится лигандсвязывающая роль для передачи сигнала через VEGFR-2 [158].

Подобно активации TrkB, после связывания лиганда внутриклеточная часть рецептора VEGFR2 димеризуется и подвергается реакции фосфорилирования. В отличие от других видов тирозинкиназных рецепторов, использующих в основном путь активации RAS, VEGFR2 действует в большей степени через активацию фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) [177]. Активация данного сигнального пути способствует выживанию эндотелиальных клеток путем ингибирования апоптоза, усилению антиоксидантной защиты клетки и потенцирования синтеза ДНК, в то время как каскад сигнальных реакций опосредованный активацией Shc2 и MAP-киназ, индуцирует пролиферацию эндотелиальных клеток и ангиогенез [120]. Кроме того, VEGF взаимодействует с эндотелиальной NO-синтетазой (eNOS) и усиливает продукцию NO, способствуя вазодилатации.

Отличие в действии VEGFR1 обусловлено его строением: лишенный мотива «тирозин-метионин» Flt-1 (название от англ.акронима «FMS-like tyrosine kinase»), рецептор неспособен фосфорилировать киназу и запускать каскад выживания клетки [76]. Существует несколько изоформ-специфических рецепторов VEGF, которые модулируют активность VEGF. Нейропилин-1, рецептор семафорина, действует как корецептор для VEGF-A, усиливая его связывание с VEGFR-2 и его биологическую активность [89, 135].

Наиболее широко активность васкулоэндотелиального фактора роста изучена в функционировании сердечнососудистой системы. Первоначально открытый как основной пусковой механизм ангиогенеза, VEGF проявил себя как

фактор защиты и восстановления кардиомиоцитов при инфаркте миокарда, обеспечении коллатерального кровообращения при ишемических инсультах, ремоделировании сосудов при артериальной гипертензии [113]. Было продемонстрировано усиление экспрессии свободного рецептора и VEGF в сыворотке при прогрессировании хронической сердечной недостаточности [126]. Сосудистый фактор роста усиливает миграцию и деление клеток эндотелия, обеспечивает хемотаксис макрофагов и гранулоцитов, потенцирует экспрессию NO и, соответственно, вазодилатирующие свойства. Кроме того, VEGF способствует гиперпроницаемости клеток эндотелия, что ведет к глубоким изменениям внеклеточного матрикса и создает еще более благоприятные условия для ангиогенеза. Доказанная роль сосудистого фактора роста в неоваскуляризации при новообразованиях и метастазировании делают фактор одной из мишеней противоопухолевой терапии [117]. При этом повышение артериального давления в ответ на антиангиогенные препараты считается благоприятным прогностическим фактором противоопухолевой терапии. Изучена роль васкулоэндотелиального фактора роста при дислипидемии и в прогрессировании атеросклероза. Окисленные липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), поглощаясь макрофагами, инициируют образование пенистых клеток [113]. В ответ увеличивается синтез VEGF, который повышает проницаемость сосудов для ЛПНП, что усугубляет атеросклероз.

В отношении центральной нервной системы VEGF-A может проявлять нейропротекторную активность. Так, доказано, что фактор улучшает выживаемость шванновских клеток и защищает нейроны гиппокампа от ишемического повреждения [183, 131]. Экспериментальное нарушение индукции васкулоэндотелиального фактора в спинном мозге привело к дегенерации мотонейронов [150]. В настоящее время, неизвестно, каким именно сигнальным путем VEGF-A обеспечивает нейротрофическую активность. Способность васкулоэндотелиального фактора роста соактивировать рецептор семафоринов – нейропилин-1 позволяет опосредованно улучшать аксональное проведение [69].

1.2.3 Диагностический и терапевтический потенциал мозгового нейротрофического и васкулоэндотелиального факторов роста при диабетической полинейропатии

В ранних экспериментальных моделях мышей со стрептозоцин-индуцированным диабетом иммуногистохимически было определено увеличение экспрессии BDNF и TrkB в поврежденных икроножных нервов, что коррелировало с регенеративной способностью нервных волокон [110]. У людей, страдающих сахарным диабетом, также было доказано повышение м-РНК мозгового нейротрофического фактора, однако содержание м-РНК его высокоаффинного рецептора TrkB было снижено [182]. Позднее было доказано снижение антероградного и ретроградного транспорта мозгового нейротрофина по аксонам в экспериментальных диабетических моделях. При этом нарушенный аксональный транспорт не коррелировал с содержанием нейротрофина и в большей степени зависел от снижения синаптической ацетилхолинэстеразы и разрушения компонентов цитоскелета. Впоследствии был продемонстрирован дефицит факторов роста при прогрессировании диабетической полинейропатии как в эксперименте, так и в клинических исследованиях [104].

В последующих работах прослеживались попытки найти взаимосвязь между метаболическими нарушениями при диабете и экспрессией мозгового нейротрофина. Т. Nakagawa, М. Ono-Kishino выдвинули новую гипотезу о том, что BDNF обладает эндокринными функциями, а именно уменьшает уровень глюкозы в крови у экспериментальных моделей грызунов с ожирением. Также авторы установили, что гипогликемический эффект BDNF был более выражен у молодых особей мышей с гиперинсулинемией и что BDNF усиливал гипогликемический эффект инсулина у мышей со стрептозоцининдуцированным диабетом. По итогам данного исследования было высказано предположение, что для реализации гипогликемической активности BDNF необходимо участие эндогенного или экзогенного инсулина [148]. Также было показано, что синтез

BDNF подавляется лептином, таким образом, дисфункция BDNF играет важную роль в центральной регуляции энергетического метаболизма при ожирении [136]. Патологические изменения системы нейротрофического фактора могут приводить не только к дефектам нервной регенерации, но и к структурным изменениям в головном мозге, снижать нейронную пластичность и как следствие - приводить к снижению когнитивных функций [3, 43, 157].

Была изучена роль BDNF и других нейротрофических факторов в генерации болевого синдрома и положительных сенсорных симптомов при диабетической полинейропатии, однако в дальнейшем эта теория не получила должного развития [181]. В настоящее время считается, что активация BDNF может играть принципиальную роль в трансформации ноцицептивной боли в хроническую нейропатическую, однако данные получены в эксперименте и не объясняют принципов действия BDNF-опосредуемого сигнального каскада в развитии боли [179]. У мозгового нейротрофического фактора есть и обратная сторона в формировании болевого синдрома. При усиленном введении рекомбинантного BDNF в спинной мозг мышей с повреждением периферических нервов было получено снижение интенсивности нейропатической боли [99]. Таким образом, вопрос о конкретных механизмах действия BDNF в индукции нейропатической боли остается открытым.

В мышинных моделях стрептозоцин-индуцированного диабета также было продемонстрировано увеличение содержания VEGF в нервном волокне и заднем спинальном ганглии, а также зависимость его синтеза от лечения инсулином [168].

По мнению некоторых авторов, фактор роста эндотелия сосудов участвует в патогенезе множественных осложнений при диабете, следовательно, усиление его экспрессии является универсальным ответом на повреждение и не может считаться специфичным для нейродегенерации [26,140].

В то же время, всё больше современных исследований посвящено изучению взаимовлияния системы BDNF-TrkB и васкулоэндотелиального фактора роста [178, 202]. Дальнейшие исследования позволят изучить, каким образом передача сигналов мозгового нейротрофина перекликается с ангиогенными факторами, а также определить векторы таргетного воздействия на один из факторов с потенцированием эффектов другого в качестве возможных терапевтических целей в отношении диабетической полинейропатии.

В экспериментальной модели ишемической полинейропатии генная терапия васкулоэндотелиальным фактором роста, осуществляемая прямым переносом ДНК VEGF в ишемизированную мышцу, предотвращает нарушение нервной проводимости, в отличие от группы сравнения с аналогичной степенью ишемизации [173]. Сообщалось, что фактор роста эндотелия сосудов также стимулировал миграцию и предотвращал индуцированный ишемией апоптоз шванновских клеток, в которых непосредственно появлялись рецепторы VEGFR2.

Позднее этой же группой исследователей было проведено аналогичное по дизайну исследование в отношении лабораторных мышей со стрептозоцин-индуцированным диабетом. Через 12 недель после переноса гена VEGF нарушение нервной проводимости было полностью восстановлено как в отношении немиелинизированных чувствительных волокон, так и для моторных миелинизированных по результатам ЭНМГ [174]. Кроме того, был восстановлен кровоток и количество эндоневральных сосудов до уровней, наблюдавшихся у недиабетических животных. Полученные данные свидетельствуют о том, что в дополнение к восстановлению кровотока в ишемизированных нервных волокнах VEGF может способствовать напрямую выживанию периферических нервных волокон. Данные функциональные характеристики позволяют рассматривать VEGF как непосредственный нейротрофический фактор при диабетической полинейропатии.

В то же время экспериментальные модели диабета у животных не могут рассматриваться однозначно как репрезентативные модели сахарного диабета и

его осложнений для человека. Неконтролируемое течение экспериментального диабета у лабораторных мышей ведет к их обезвоживанию и тяжелому катаболическому состоянию, в результате чего VEGF скорее действует как локальный фактор отмены катаболической стадии в пораженной конечности, нежели путем изменения условий, конкретно связанных с мультифакториальной диабетической полинейропатией у людей [190]. Таким образом, о конкретной роли VEGF при диабетической полинейропатии человека известно немного.

Нейропротективные эффекты факторов роста обусловили развитие стратегии управления сигнальной системой нейротрофических факторов в лечении диабетической полинейропатии [29]. Экзогенное введение BDNF при ранней нейропатии у крыс со стрептозотоцининдуцированным диабетом привело к значительному улучшению нервной проводимости [198]. Впрочем, применение нейротрофической терапии среди человеческой популяции не оправдало ожиданий. Первый открытый нейротрофин, NGF, был протестирован в первую очередь – было проведено 3х-фазное клиническое исследование 2000 пациентов с ДПН, которые получали 3мг инъекции рекомбинантного NGF. Результаты не показали значимых клинических улучшений, изменения в состоянии пациентов были лишь связаны с местным раздражением в месте введения инъекции [67]. Далее было проведено двухфазовое двойное плацебо-контролируемое рандомизированное исследование на двух экспериментальных группах людей. Первая получала рекомбинантный NGF в дозировке 0.1мг/кг, вторая – 0.3мг/кг в течение полугода по 3раза/неделю в виде подкожных инъекций. Были получены значительные побочные эффекты в виде парестезий, гипералгезий в зоне введения, миалгий [68]. Последующее проведение 3й фазы данного исследования, заключавшееся во введении рекомбинантного NGF в меньшей дозировке, позволило свести к минимуму побочные эффекты, однако, вопреки ожиданиям, не продемонстрировало терапевтического эффекта [97]. Также были предприняты попытки использования рекомбинантного мозгового нейротрофического фактора для лечения диабетической полинейропатии, но видимых улучшений не было получено [193]. Перекрестная активация p75,

воспалительные реакции, высокая восприимчивость мозгового нейротрофина к протеолитическим ферментам и неустойчивость во внешней среде обуславливают ограничения его терапевтического потенциала.

Несмотря на неудовлетворительные результаты применения рекомбинантных нейротрофинов при диабетической полинейропатии у людей, исследования в этой области не прекращаются. Дальнейшие исследования направлены на модуляцию активности специфических рецепторов в обход действия факторов роста путем создания специфических агонистов на основе нейропептидов. В настоящее время обнадеживающие результаты получены при использовании агонистов TgkB при лечении болезни Альцгеймера, Гентингтона, Паркинсона, травматического повреждения мозга и даже при физиологическом старении [111,141,205]. Многообещающими являются также испытания генетической терапии VEGF в лечении диабетической стопы [190] Однако подобные исследования ограничены, во-первых, митогенным эффектом VEGF и возможностью развития пролиферативных процессов, а во-вторых, невозможностью лечить одно сосудистое осложнение без усугубления другого. Так, для периферической ангиопатии и полинейропатии необходим усиленный ангиогенез, однако остается открытым вопрос, сможет ли системное лечение усугубить пролиферативную ретинопатию, и наоборот [75].

ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРИАЛОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

Проведено простое одномоментное сравнительное рандомизированное исследование 83 пациентов с полинейропатией, страдающих различными формами нарушения углеводного обмена. Работа выполнена на базе ГБУЗ ПК Городской клинической больницы №3, неврологического и эндокринологического отделений ГБУЗ ПК «Ордена "Знак Почета" Пермской краевой клинической больницы». Группа сравнения состояла из 14 лиц, страдающих различными формами нарушения углеводного обмена, без признаков нарушения нервного проведения. Группу контроля составили 14 практически здоровых лиц.

Исследование включало 1 визит, в ходе которого проводился сбор и анализ жалоб, анамнеза, в том числе лекарственного, заполнение специализированных шкал по оценке субъективной симптоматики, объективное неврологическое обследование, инструментальное исследование (электронейромиография нижних конечностей), лабораторное исследование на определение степени компенсации углеводного обмена и изучение мозгового нейротрофического, вакулоэндотелиального факторов роста и их специфических рецепторов в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа.

Критерии включения в основную группу: наличие сахарного диабета 1 или 2 типа или нарушения толерантности к глюкозе с признаками полинейропатии, подтвержденные соответствующими критериями диагностики, письменное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения в группу сравнения: наличие сахарного диабета 1 или 2 типа или нарушения толерантности к глюкозе без признаков нарушения нервного проведения, письменное согласие на исследование.

Критерии исключения: возраст менее 18 лет, недееспособность, беременность, сопутствующая неврологическая патология, онкопатология, острые инфекционные заболевания менее 4 недель до исследования, отказ пациента от участия в исследовании. Наличие сопутствующих заболеваний устанавливалось методом сбора анамнеза, а также в ходе анализа имеющейся медицинской документации.

Диагноз сахарного диабета правомочен при соблюдении диагностических критериев ВОЗ (2011г): по уровню гликемии цельной капиллярной крови натощак $>6,1$ ммоль/л, через 2 часа после пробы на толерантность к глюкозе (ПГТТ) $\geq 11,1$ ммоль/л, или случайное определение гликемии $\geq 11,1$ ммоль/л, или по уровню гликозилированного гемоглобина (HbA1c) $\geq 6,5\%$. Диагноз нарушения гликемии натощак устанавливался на основании следующих диагностических критериев: гликемия натощак цельной капиллярной крови в диапазоне 5,6-6,1 ммоль/л, через 2 часа после ПГТТ в диапазоне 7,8-11,1 ммоль/л.

Диагноз диабетической полинейропатии подтверждался на основании 3 и 4 дефиниций согласно разработанным критериям диагностики типичной ДПН в Торонто [187]:

1. **Подтвержденная ДПН.** Наличие нарушений проводимости и симптомов и/или признаков нейропатии.
2. **Субклиническая ДПН.** Симптомы и признаков нейропатии нет, но имеются отклонения при ЭНМГ.

В качестве определения нарушения нервной проводимости (НП) использовались 2й и 3й ЭНМГ-критерии, предложенные П.Диком и соавт. [96].

- критерий 1: один и более из 12 показателей НП не соответствует нормальным значениям;
- **критерий 2:** один и более показателей НП в 2 нервах отклонен от нормальных показателей

- **критерий 3:** один и более показателей НП в 2 нервах не соответствует норме (один из них икроножный нерв)
- критерий 4: снижены скорость распространения возбуждения большеберцового нерва или амплитуда икроножного нерва
- критерий 5: нарушены оба показателя НП (скорость распространения возбуждения большеберцового нерва и амплитуда С-волны икроножного нерва);
- критерий 6: снижены скорость распространения возбуждения большеберцового и малоберцового нерва
- критерий 7: пять перечисленных показателей нервного проведения не соответствуют нормальным значениям;
- критерий 8: шесть перечисленных показателей НП отклонены от нормальных значений

Поскольку оценивать степень тяжести только по уровню нервной проводимости не представляется возможным [95], было предложено комбинировать клинические данные, значения специализированных опросников и электронейромиографические показатели. Таким образом, градация тяжести ДПН проводилась согласно классификации, разработанной P.Dyck и P.Thomas (см таблицу 1) [95]

Таблица 1. Классификация ДПН по степени тяжести P.Dyck и P.Thomas

Стадия ДПН	Характеристика
Стадия 0	Симптомов и признаков ДПН нет, автономные тесты отрицательные, при ЭМГ исследовании моторных и сенсорных периферических нервов (не менее 2х на одной стороне) патологии не выявляется.
Стадия 1. Субклиническая (1А, 1Б).	1А. Симптомов и объективных неврологических признаков ДПН нет. Сочетание 2х любых изменений, выявленных при ЭМГ исследовании моторного и сенсорного нервов на одной стороне. 1Б. Симптомов нет. При клиническом обследовании выявляют 2 и более объективных неврологических признака ДПН на одной стороне.

Стадия Клиническая (2А, 2Б).	2А. Характерные для ДПН жалобы. Чувствительные, двигательные, автономные нарушения, без признаков слабости сгибателей стопы (больной может стоять на пятках). 2Б. Тоже + признаки слабости сгибателей стопы (больной не может стоять на пятках).
Стадия Тяжелая	3. Невропатия с нарушением трудоспособности

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

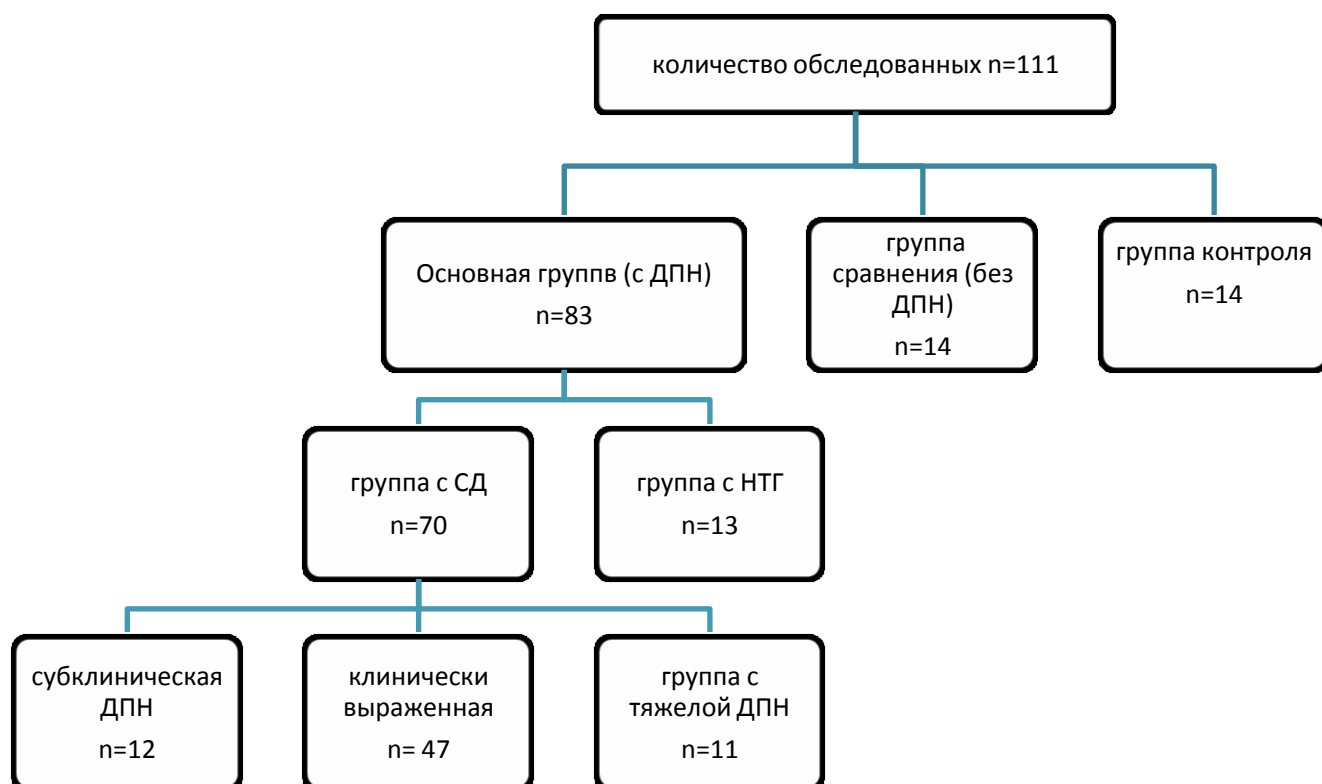


Рисунок 1. Дизайн исследования.

На проведение исследования получено разрешение Локального Этического комитета ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера» Минздрава России.

2.2 Общая характеристика собственных наблюдений

Всего обследовано 111 человек, из них 97 пациентов с различными формами нарушения углеводного обмена: 67 пациентов (69%) страдали сахарным диабетом 2 типа, 12 пациентов с сахарным диабетом 1 типа (12,4%) и 18 пациентов, наблюдавшихся с диагнозом нарушенной толерантности к глюкозе (18,6%), график представлен на рисунке 2.

В соответствие с критериями включения 83 человека имели клинико-нейрофизиологические признаки полинейропатии и вошли в основную группу исследования, 70 из них имели установленный диагноз сахарного диабета и 13 пациентов - нарушение толерантности к глюкозе. Среди обследованных основной группы были 61 женщина и 22 мужчины, распределение пациентов по половой принадлежности представлено соотношением 3:1 (73,5% женщин и 26,5% мужчин), как показано на рисунке 3. Возраст пациентов на момент исследования варьировал от 24 до 85 лет, медиана возраста составила $59,62 \pm 11,88$ лет.



Рисунок 2. Характеристика пациентов по форме нарушения углеводного обмена.

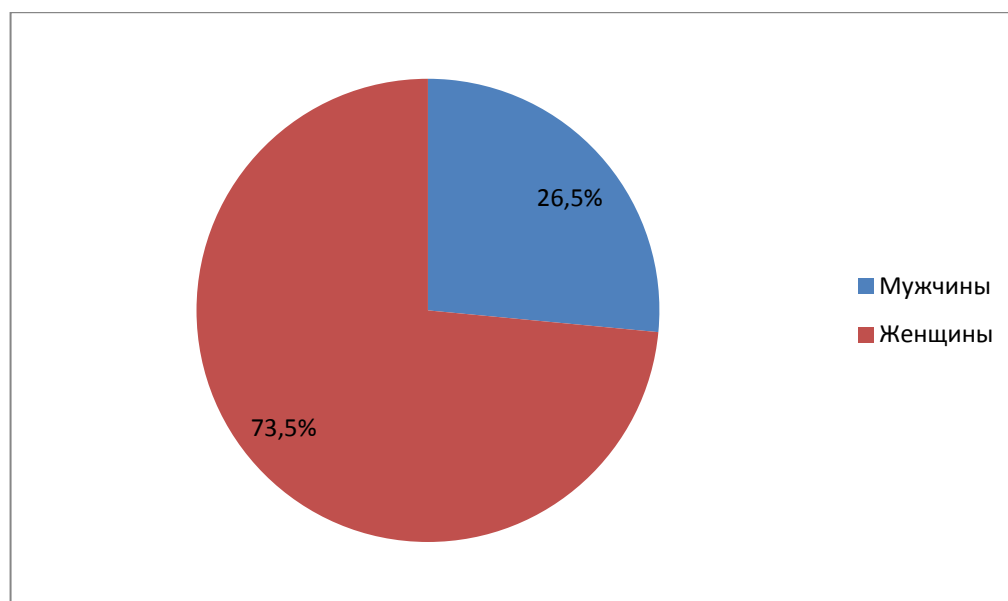


Рисунок 3. Распределение обследованных основной группы по половой принадлежности.

Сопутствующая патология пациентов основной группы была представлена основными проявлениями метаболического синдрома: артериальной гипертензией и ожирением - индекс массы тела (ИМТ) составил в среднем $30,95 \pm 5,67$ кг/м². Макроангиопатические осложнения манифестировали у 27 пациентов перенесенными нарушениями мозгового кровообращения (НМК), у 18 человек в анамнезе имелся перенесенный острый инфаркт миокарда, среди 35 пациентов был диагностирован атеросклероз артерий нижних конечностей.

Длительность заболевания сахарным диабетом составила $13,05 \pm 8,41$ лет. Углеводный обмен у пациентов основной группы был декомпенсирован. Уровень гликемии натощак составил в среднем $9,01 \pm 4,09$ ммоль/л, средняя гликемия при проведении ПГТТ была равна $10,97 \pm 3,24$ ммоль/л. Средний уровень гликированного гемоглобина равнялся $7,62 \pm 2,11\%$.

Базисная сахароснижающая терапия пациентов основной группы соответствовала стандартам. Все пациенты с сахарным диабетом 1 типа и 21 человек с СД 2 типа получали препараты инсулина в индивидуально подобранных дозировках. 46 человек с сахарным диабетом 2 типа и пациенты с нарушением

толерантности к глюкозе принимали таблетированные сахароснижающие препараты.

Средние значения общего анализа крови пациентов основной группы соответствовали диапазону нормальных показателей: количество эритроцитов составило $4,53 \pm 0,39 * 10^{12}/л$, уровень гемоглобина $132,48 \pm 13,16$ г/л, количество тромбоцитов равнялось $188,07 \pm 59,35 * 10^9/л$, лейкоцитов – $7,5 \pm 1,63 * 10^9/л$, средняя скорость оседания эритроцитов (СОЭ) равнялась $17,17 \pm 2,15$ мм/час.

Группу сравнения составили 14 пациентов без признаков полинейропатии по данным инструментальных методов исследования, из них 7 человек с СД 2 типа, 2 человека с СД 1 типа и 5 пациентов с НТГ. Среди пациентов данной группы наблюдалось 10 женщин и 4 мужчин. Медиана возраста составила $55,7 \pm 8,91$ лет и соответствовала среднему показателю возраста основной группы ($U=0,235$, $p=0,814$). Средний ИМТ пациентов данной группы составил $28,59 \pm 4,31$ кг/м², что значимо ниже пациентов основной группы ($U=-2,066$, $p=0,038$). Длительность заболевания сахарным диабетом соответствовала среднему показателю основной группы и составила $14,0 \pm 11,37$ лет ($U=-0,312$, $p=0,754$).

В группу контроля входило 14 практически здоровых лиц в возрасте от 32 до 78 лет, медиана возраста составила $55,43 \pm 13,71$ лет и соответствовала возрасту пациентов основной группы ($U=1,381$, $p=0,167$). Группа состояла из 9 женщин и 5 мужчин. Средний индекс массы тела составил $26,81 \pm 3,44$ кг/м², в среднем антропометрические показатели пациентов соответствовали избыточной массе тела, но были значимо ниже, чем у пациентов основной группы ($U=2,905$, $p=0,003$). Лица данной группы были отобраны согласно критериям исключения, а также на основе подписания информированного добровольного согласия на участие в исследовании. На прием к неврологу данные пациенты попадали в основном по программе диспансеризации здорового населения. Углеводный обмен у пациентов группы контроля был компенсирован, среднее значение гликемии натощак составило $4,78 \pm 0,57$ ммоль/л.

2.3 Методы исследования

2.3.1 Методика клинического обследования

Клиническое обследование включало оценку жалоб, анамнеза, оценку антропометрических данных.

При оценке жалоб особое внимание уделялось симптомам, которые могли соответствовать повреждению периферической нервной системы, а именно ощущение жжения, покалывания, пощипывания, «мурашек», резкой боли по типу «удара током», ощущение онемения в стопах, пальцах нижних и верхних конечностей, «ватности» стоп, неустойчивости при ходьбе, судороги в конечностях. Также оценивалась возможность усиления болезненности при воздействии холодной или горячей температур, соприкосновении с кожей, надавливании на кожу, преимущественное время возникновения симптоматики и способы ее купирования. Также изучались жалобы, относящиеся к иным неврологическим заболеваниям для возможности раннего исключения из дальнейшего участия в исследовании во избежание искажения результатов. К таким жалобам относились обострение болевого синдрома в позвоночнике, мышечная слабость, нарушение движения и координации, эпизоды синкопе и другие.

Сбор анамнеза состоял из данных анамнеза жизни, анамнеза заболевания, перечня известной сопутствующей патологии, лекарственного анамнеза. Анамнез заболевания включал в себя временные данные о дебюте клинических проявлений, характере прогрессирования, особенностях течения заболевания, исходной симптоматике на момент его начала и присоединение симптомов в последующем. Оценивались факторы, которые могли спровоцировать начало заболевания и повлиять в дальнейшем на прогрессирование, а также данные проведенного лабораторного и инструментального обследования. При опросе о сопутствующих заболеваниях особое внимание уделялось наличию

неврологической патологии, онкологическим заболеваниям, обострению дорсопатии.

Оценка болевого статуса проводилась с помощью визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) и специализированного скрининг-опросника на выявление нейропатической болевой симптоматики PainDetect. Интенсивность болевого синдрома оценивалась по визуальному и вербальному критериям в баллах согласно ВАШ. Значения ВАШ 0–1 балл соответствовали отсутствию боли, 2–3 балла — незначительной боли, 4–5 баллов — умеренной боли, 6–7 баллов — сильной боли, 8–10 баллов — нестерпимой боли. Шкала Pain Detect помимо оценки интенсивности болевых ощущений направлена на выявление характера течения болевого синдрома, его точную локализацию, возможность иррадиации [17]. Согласно Pain Detect, суммарный итог баллов опросника в диапазоне от 0 до 12 баллов свидетельствует об отсутствии нейропатического компонента боли, 12–18 баллов – возможно наличие нейропатического компонента боли, при результате 18 баллов и > - вероятность наличия нейропатической боли высокая (>90%) [112].

Субъективная оценка степени нейропатии проводилась согласно опросникам общего симптоматического счета (Total Symptom Score, TSS), неврологического симптоматического счета (Neurological Symptoms Score, NSS). Согласно шкале TSS оцениваются выраженность и частота возникновения следующих нейропатических симптомов: онемения, жжения, парестезий, боли в конечностях, результаты выражаются в баллах. При возникновении одного эпизода сенсорного ощущения ориентируются на его продолжительность: до 30 минут - редко, от 30 минут до 3 часов - часто, более 3 часов - постоянно. При 10 баллах и выше диагностируется тяжелая степень клинических проявлений нейропатии, в диапазон от 7 до 10 баллов – выраженная, от 5 до 6 баллов – умеренная.

Шкала NSS оценивает наличие признаков жжения, онемения, покалывания, судорог, утомляемости, боли, их локализацию, время появления

симптомов и факторы, уменьшающие выраженность симптомов. Результаты оцениваются в баллах, при 3-4 баллах – незначительно выраженные симптомы ДПН, 5-6 баллов – расцениваются как умеренно выраженная ДПН, 7-9 баллов – тяжелая ДПН.

Мичиганский опросник скрининга нейропатии (MNSI) включает в себя две части: первая, заполняемая пациентом, позволяет оценить анамнез заболевания. Каждый ответ «да» на вопросы 1,2,3,5,6,8,9,11,12,14,15 и «нет» на вопросы 7 и 13 оценивается в 1 балл. Вопрос 4 позволяет выявить нарушение кровообращения в нижних конечностях, вопрос 10 – наличие астении, поэтому эти вопросы не учитываются при подсчете суммарного показателя. Чтобы снизить риск системной ошибки, информация о том, каким количеством баллов оценивается каждый вопрос, не указывается в бланке опроса пациента. Вторая часть бланка включает в себя данные физикального обследования. Визуальная оценка состояния стоп направлена на выявление чрезмерной сухости кожи, ороговелостей, трещин, деформаций, ампутаций. С помощью камертона 128Гц оценивают вибрационную чувствительность на тыльной стороне большого пальца стопы у его основания. Нормальной вибрационная чувствительность расценивается при ощущении вибрации исследователем менее чем на 10 сек дольше, чем пациент. Сниженной вибрационная чувствительность считается при превышении данного временного интервала > 10 сек. Если пациент не ощущает вибрацию камертона, данные трактуются как отсутствие вибрационной чувствительности. Помимо этого в бланке MNSI фиксируются данные о сухожильно-мышечных рефлексах нижних конечностей, оцениваемых с помощью неврологического молоточка, и оценке тактильной чувствительности касанием монофиламента. Касание монофиламентом проводится перпендикулярно коже пациенту, сидящему с закрытыми глазами. При этом пациент должен ответить на вопрос, ощущает ли он прикосновение. При 8 правильных ответах из 10 касаний тактильная чувствительность оценивается как нормальная, 1-7 ответов – сниженная, 0 – отсутствие. Общая оценка баллов MNSI: при сумме баллов >2 – можно заподозрить наличие диабетической полинейропатии.

Объективное неврологическое обследование осуществлялось согласно шкале нейропатического дисфункционального счета (Neuropathy Disability Score, NDS) и включало количественную оценку нарушений болевой, тактильной, вибрационной чувствительности, изменения сухожильных рефлексов нижних конечностей с обеих сторон, что выражалось в суммарно баллах. Для объективной оценки тактильной чувствительности использовался 10 г (5.07 Semmes-Weinstein) монофиламент. Порог болевой чувствительности оценивался с помощью иглы неврологического молоточка и зубчатого колеса Pin-wheel. Оценка температурной чувствительности проводилась с помощью металлического и прорезиненного наконечников неврологического молоточка. Для оценки порога вибрационной чувствительности использовали градуированный камертон, вибрирующего с частотой 128 Гц.

Критерии оценки рефлексов согласно NDS: 0 баллов – норма, ослаблены – 1 балл, отсутствуют – 2 балла. Критерии оценки изменения поверхностной чувствительности - уровня распространения поражения: норма 0 баллов, до основания пальцев – 1 балл, до середины стопы 2 балла, до середины лодыжек 3 балла, до середины голени 4 балла, до колена 5 баллов. Оценка вибрационной чувствительности проводится при помощи камертона у основания 1 пальца и у медиальной лодыжки, при этом условные единицы порога вибрационной чувствительности переводятся в баллы индекса NDS как показано в таблице 2.

Таблица 2. Перевод условных единиц порога вибрационной чувствительности в баллы индекса NDS

Баллы	Порог вибрационной чувствительности, условные единицы	
	у основания I пальца	у медиальной лодыжки
0	≥ 6	≥ 6
1	5	≥ 6

2	1-4	5
3	1-4	1-4
4	0	1-4
5	0	0

В норме индекс NDS составляет 0-4 балла. При умеренно выраженной сенсомоторной полинейропатии индекс варьируется в диапазоне от 5 до 13 баллов. Выраженная полинейропатия диагностируется при индексе 14-28 баллов.

2.3.2 Инструментальные методы диагностики

Наличие полинейропатии подтверждалось путем проведения стимуляционного электронейромиографического исследования (ЭНМГ) нижних конечностей. В основе метода лежит регистрация суммарного ответа мышцы (М-ответа) или нерва на стимуляцию импульсом электрического тока, проводимую с помощью поверхностных электродов. При исследовании М-ответа используется биполярный способ отведения: один электрод является активным и располагается в области двигательной точки мышцы, иннервируемой исследуемым нервом, второй, референтный, устанавливается в месте прикрепления сухожилия к костному выступу [83, 96]. Стимуляцию проводят в нескольких точках по ходу нерва, регистрируя М-ответ в каждой точке стимуляции, амплитуда М-ответа оценивается по негативной фазе, так как её форма более постоянна, и выражается в милливольтгах (мВ) [180]. Снижение амплитуды М-ответа - электрофизиологическое отражение уменьшения количества сокращающихся мышечных волокон в мышце [192]. СРВ определяют как расстояние, которое проходит импульс по нервному волокну за единицу времени, и выражают в метрах в секунду (м/с). Время между подачей электрического стимула и началом М-ответа называется латентностью М-ответа [13].

СРВ по сенсорным волокнам определяют с помощью регистрации потенциала действия чувствительного нерва в ответ на его чрескожную электрическую стимуляцию. Несмотря на схожесть методики регистрации СРВ по моторным и сенсорным волокнам, между ними существует важное патофизиологическое различие: в первом случае регистрируют рефлекторный ответ мышцы, во втором - потенциал возбуждения чувствительного нерва [138]. При регистрации сенсорного ответа икроножного нерва активный электрод располагают на 2 см ниже и на 1 см кзади от латеральной лодыжки, референтный электрод - на 3-5 см дистальнее, стимулирующий электрод - по ходу икроножного нерва на заднелатеральной поверхности голени. Заземляющий электрод располагается на уровне голени. Порог возбуждения толстых чувствительных волокон ниже, чем более тонких моторных, поэтому используют стимулы субпороговой (по отношению к моторным волокнам) интенсивности [34].

В исследовании оценивалась температура конечности с помощью термодатчика. Изучалась скорость распространения возбуждения (СРВ) по периферическим нервам, амплитуда и латентность М-ответа малоберцового нерва (n.peroneus) в трех стандартных точках: на уровне лодыжки, под головкой малоберцовой кости и в подколенной ямке; и амплитуда, латентность сенсорного С-ответа и СРВ икроножного нерва (n.suralis) на приборе «Viking Quest» (Nicolet, США). Снижение амплитуды моторного ответа $< 3,5\text{ мВ}$, СРВ $< 40\text{ м/с}$, увеличение резидуальной латентности свыше 3.0 мс на 2 и более периферических нервах считались объективными признаками наличия диабетической полинейропатии. ЭНМГ проводилась на базе медицинского центра «Философия красоты и здоровья». Мы выражаем искреннюю благодарность к.м.н., неврологу-функционалисту Дакиной Татьяне Геннадьевне, которая осуществляла проведение исследования.

Отклонения нормальных значений НП представлены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3. Нормальные значения параметров исследования проводящей функции периферических нервов

Показатель	Малоберцовый нерв (n.peroneus)	Икроножный нерв (n.suralis)	Срединный нерв (n.medianus)	Локтевой нерв (n.ulnaris)
Амплитуда моторного/сенсорного ответа	>3,5 мВ	>3,5 мВ	>3,5 мВ	>11 мВ
Латентность	<3,0мс	<3,0	<2,5	<2,5
СРВ	>40м/с	>40м/с	>50м/с	>50м/с
Амплитуда минимальная F-волны	>50 мкВ	>50 мкВ	>50 мкВ	>50 мкВ
Амплитуда максимальная F-волны	Не более 10% "крупных" F-волн			
Скорость распространения F-волны	>30 м/с	>30 м/с	>40 м/с	>40 м/с

Таблица 4. Нормальные значения латентности F-волн, мс

Нерв	150 см	160 см	170 см	180 см	190 см
Срединный	25	26,5	28-28,5	29,6-30	31, 1 -32
Локтевой	25	26,8-27	28,5-29	30,2-31	32-33
Малоберцовый	43-43,5	46-47,8	49-52	51 -56,2	54-60,5
Большеберцовый	41 ,2-44	45,4-48	49,6-53	53,8-57	58-62

2.3.3 Лабораторная диагностика

Оценка степени компенсации углеводного обмена осуществлялась по уровню гликемии натощак и гликозилированного гемоглобина микроколоночным ионообменным методом, сертифицированного в соответствии с National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) или International Federation of Clinical Chemists (IFCC) и стандартизованного в соответствии с референсными значениями, принятыми в Diabetes Control and Complications Trial (DCCT).

Пероральный тест толерантности к глюкозе (ПГТТ) проводился в случае сомнительных значений гликемии для уточнения диагноза и использовался в группе пациентов с НТГ. Правила проведения ПГТТ: проводится утром на фоне не менее чем 3-дневного неограниченного питания (более 150 г углеводов в сутки) и обычной физической активности. Тесту должно предшествовать ночное голодание в течение 8—14 часов (можно пить воду). Последний вечерний прием пищи должен содержать 30 —50г углеводов. После забора крови натощак испытуемый должен не более чем за 5 мин выпить 75г безводной глюкозы или 82,5 г моногидрата глюкозы, растворенных в 250 — 300 мл воды. В процессе теста не разрешается курение. Через 2 часа осуществляется повторный забор крови.

Уровни BDNF, TrkB, VEGF-A, VEGFR2 в сыворотке пациентов исследовались методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных наборов тест-систем фирмы Cloud-Clone Corp. Для этого натощак осуществляли забор венозной крови в стандартную вакуумную пробирку без коагулянта, образец отстаивается в течение 20 минут при комнатной температуре, затем подвергается центрифугированию в течение 15 мин на скорости 2000 об/мин. Полученная сыворотка распределяется по пробиркам Эппендорфа. При необходимости образцы хранились в течение полугода при температуре -20 С. Иммуноферментный анализ «сэндвичевого» типа проводили с использованием тест-систем для количественного подсчета

мозгового нейротрофического фактора (SEA011Hu ELISA Kit for Brain Derived Neurotrophic Factor), его высокоаффинного тропомиозинового рецептора киназы (SEC183Hu ELISA Kit for Neurotrophic Tyrosine Kinase Receptor Type 2), васкулоэндотелиального фактора роста (SEA143Hu ELISA Kit for Vascular Endothelial Growth Factor A) и его рецептора VEGFR2 (SEB367Hu ELISA Kit for Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2) в сыворотке периферической крови (Instruction manual, 11th Edition, July, 2013. Cloud-CloneCorp.USA). Микропланшет в стандартном наборе сорбирован антителами, конъюгированными с биотином и специфичными к BDNF, Trk-B, VEGF. Образцы добавлялись в определенные лунки планшета. Затем авидин, конъюгированный с пероксидазой хрена добавляли в каждую лунку планшета, проводилась инкубация. После добавления ферментативного субстрата цвет изменялся только в лунках, содержащих BDNF, Trk-B, VEGF или VEGFR2, антитела с биотином и авидин с пероксидазой хрена. Ферментативная реакция прекращалась добавлением раствора серной кислоты. Оптическую плотность измеряли фотометрическим методом на длине волны 450 ± 10 нм. Концентрацию BDNF, Trk-B, VEGF в образцах рассчитывают в соответствии со стандартной калибровочной кривой, построенной по результатам анализа с серией Стандартов, полученное количественное содержание BDNF, Trk-B, VEGFR2 выражается в нг/мл, содержание VEGF-A – в пг/мл.

Исследование проводилось одномоментно во всех образцах. До лабораторного анализа образцы сывороток хранились при температуре ниже -20 градусов по Цельсию. Температурный режим во время хранения и транспортировки не нарушался. Отклонений от методики проведения лабораторной части исследования не было. Иммуноферментный анализ выполнялся на базе лаборатории иммунорегуляции Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Института экологии и генетики микроорганизмов Российской академии наук (ИЭГМ УрО РАН). Выражаем искреннюю благодарность ведущему научному сотруднику лаборатории Куклиной Елене Михайловне и научному сотруднику Некрасовой Ирине Валерьевне за возможность выполнения и помощь в проведении исследования.

2.4 Статистическая обработка полученных результатов

Статистические данные обрабатывались с помощью пакета программ Statistica-10. Использовались методы описательной статистики, с помощью которых оценивались значения медианы и стандартного отклонения.

Проведенная оценка исходных данных по виду распределения не позволила использовать параметрические методы исследования, так как не все сравниваемые группы имели нормальное распределение данных. Для сравнения двух независимых выборок непараметрических данных использовался U-критерий Манна-Уитни, при сравнении более двух групп - H-критерий Краскелла-Уоллиса. С целью сопоставления показателей, измеренных в двух разных условиях на одной и той же выборке, применяли W-критерий Вилкоксона. Для оценки вероятности справедливости нулевой гипотезы для двух групп использовался порог $p < 0,05$, при сравнении трех и более групп $p < 0,017$.

С целью выявления взаимосвязи различных факторов применялся коэффициент корреляции Спирмена, критический уровень значимости при проверке статистических гипотез считался равным 0,05.

Изучение влияния нескольких независимых переменных на зависимую переменную и проверка значимости различия между средними значениями в разных группах проводилось методом многофакторного дисперсионного анализа ANOVA (от англ. ANalysis Of Variance) путем сравнения дисперсий этих групп. Разделение общей дисперсии на несколько источников позволило сравнить дисперсию, вызванную различием между группами, с дисперсией, вызванной внутригрупповой изменчивостью. Оценка качества модели проводилась вычислением R^2 – квадрата множественного коэффициента корреляции, для оценки статистической значимости нулевой гипотезы использовался порог $p < 0,05$

С целью моделирования гипотез с определением вклада отдельных независимых факторов в развитие признака и прогнозирования его развития

использовался метод регрессионного анализа. Вычислялась математическая формула, применяемая к независимым переменным для моделирования зависимой наблюдаемой величины, что выражалось уравнением регрессии $y = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_n x_n$, где y -наблюдаемая величина, x -независимые переменные, β - коэффициенты регрессии. С целью исключения нелинейных взаимосвязей между переменными применяли диаграммы рассеяния. Для качественной оценки полученной модели вычислялся коэффициент детерминации R^2 , распределение остатков, для оценки вероятности справедливости гипотезы использовался порог $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Сравнительная характеристика клинико-нейрофизиологических показателей пациентов основной группы и группы контроля

Средний возраст пациентов основной группы составил $60,28 \pm 12,23$ лет, что соответствовало возрастной категории группы контроля ($55,43 \pm 13,71$ лет, $U=1,381$, $p=0,167$). Средний индекс массы тела пациентов с ДПН составил $31,35 \pm 5,79$ кг/м², что значимо выше, чем в группе практически здоровых лиц ($26,81 \pm 3,44$ кг/м², $U=2,905$, $p=0,003$).

Углеводный обмен у пациентов основной группы был декомпенсирован, среднее значение гликемии натощак составило $9,27 \pm 4,29$ ммоль/л, что значимо превышало соответствующий показатель группы контроля, равный $4,78 \pm 0,57$ ммоль/л ($U=5,615$, $p=0,000$). Средний уровень гликемии пациентов основной группы при проведении ПГТТ составил $11,53 \pm 3,05$ ммоль/л, проведение данного теста в группе контроля не проводилось согласно этическим соображениям. Уровень гликированного гемоглобина в среднем был равен $7,83 \pm 2,14$ %, что статистически выше, чем в группе здоровых лиц ($5,04 \pm 0,36$ %, $U=4,143$, $p=0,000$).

В структуре жалоб, предъявляемых пациентами основной группы, преобладали чувство онемения, парестезий, «ватности стоп» и неустойчивости при ходьбе, ночные крампи. Болевая симптоматика присутствовала более, чем у половины пациентов (53%, 44 человек), среди них у 32 был выявлен нейропатический компонент (38,55%) (Рисунок 4). 14 пациентов основной группы не предъявляли активных жалоб. Среди жалоб, предъявляемых лицами группы контроля, присутствовали неспецифический болевой синдром в области спины, редкие судороги в икроножных мышцах, неустойчивость при ходьбе. Болевая симптоматика не беспокоила на момент лабораторного исследования никого из опрошенных контрольной группы.

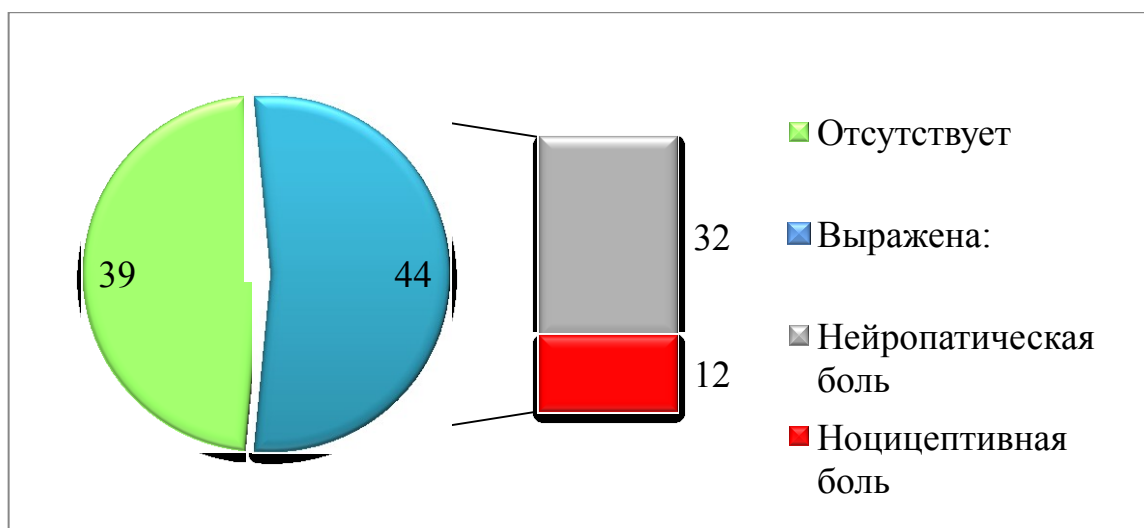


Рисунок 4. Наличие болевой симптоматики по ВАШ, PainDetect среди пациентов основной группы.

Интенсивность боли по ВАШ у пациентов основной группы составила в среднем $4,58 \pm 3,21$ балла, что значительно выше, чем в группе контроля ($0,93 \pm 1,73$ баллов, $U=3,798$, $p=0,000$). Выраженность нейропатической боли по шкале Pain Detect в основной группе составила в среднем $12,40 \pm 8,38$ баллов, что также достоверно выше среднего показателя контрольной группы, составившего $0,50 \pm 0,85$ балла ($U=5,348$, $p=0,000$).

Таблица 5. Сравнительная характеристика болевого статуса, клинической симптоматики пациентов основной группы и группы контроля

Показатель	Основная группа	Контроль	p-value	U-критерий
ВАШ, баллы	$4,58 \pm 3,21$	$0,93 \pm 1,73$	0,000	3,798
PainDetect, баллы	$12,96 \pm 8,54$	$0,50 \pm 0,85$	0,000	5,348
MNSI, баллы	$5,27 \pm 2,45$	$0,43 \pm 0,65$	0,000	5,612
TSS, баллы	$5,64 \pm 3,22$	$0,45 \pm 0,94$	0,000	5,266
NSS, баллы	$5,28 \pm 2,53$	$0,21 \pm 0,43$	0,000	5,610
NDS, баллы	$14,98 \pm 7,12$	$0,50 \pm 0,76$	0,000	5,948

Оценка субъективной симптоматики по шкале TSS, как показано на рисунке 5, позволила выявить признаки умеренной полинейропатии у 18 (21,69%) пациентов, признаки выраженной полинейропатии обнаружены у 27 пациентов (32,53%), тяжелая зафиксирована у 7 пациентов (8,43%). Согласно опроснику, у 31 пациента основной группы (37,35%) не обнаружилось симптомов диабетической полинейропатии. Среднее значение по шкале TSS составило $5,64 \pm 3,22$ баллов, что статистически выше показателя контрольной группы ($0,45 \pm 0,94$ баллов, $U=5,266$, $p=0,000$).

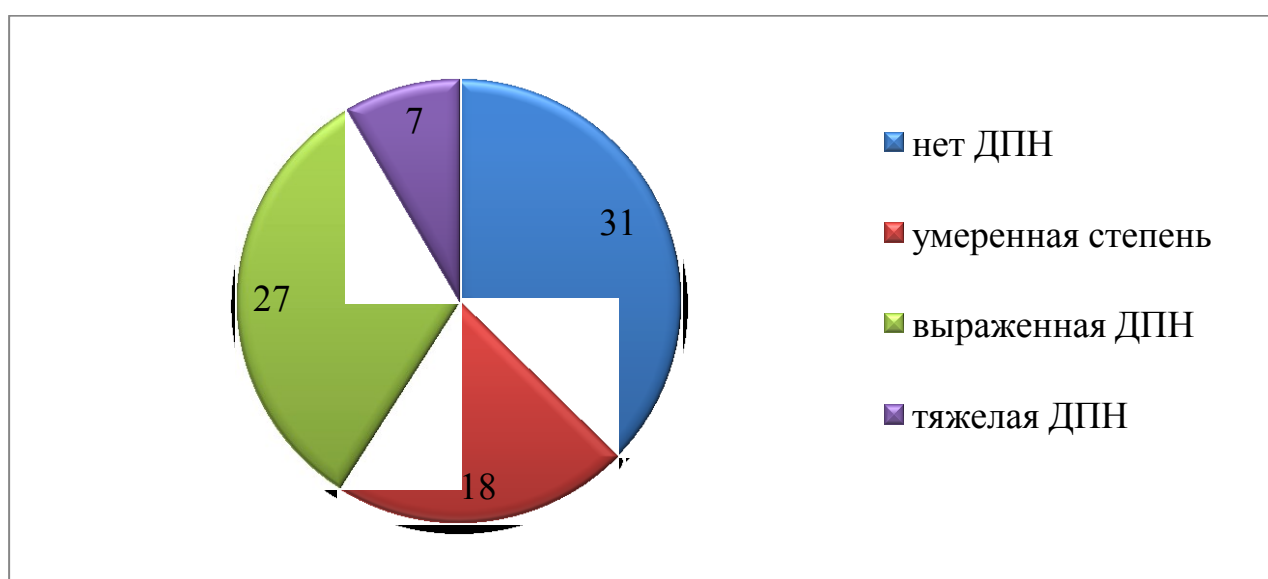


Рисунок 5. Признаки полинейропатии среди пациентов основной группы по шкале TSS.

Значения шкалы NSS соответствовали признакам умеренной полинейропатии у 11 пациентов (13,25%) основной группы, выраженной – в 34 случаях (40,96%), у 23 человек (27,71%) имелись признаки тяжелой нейропатии, среди 15 человек (18,8%) не было выявлено симптомов нейропатии, график представлен на рисунке 6. В среднем значение шкалы NSS пациентов основной группы составило $5,28 \pm 2,53$ баллов, что значительно выше соответствующего значения группы контроля ($0,21 \pm 0,43$ баллов, $U=5,611$, $p=0,000$).

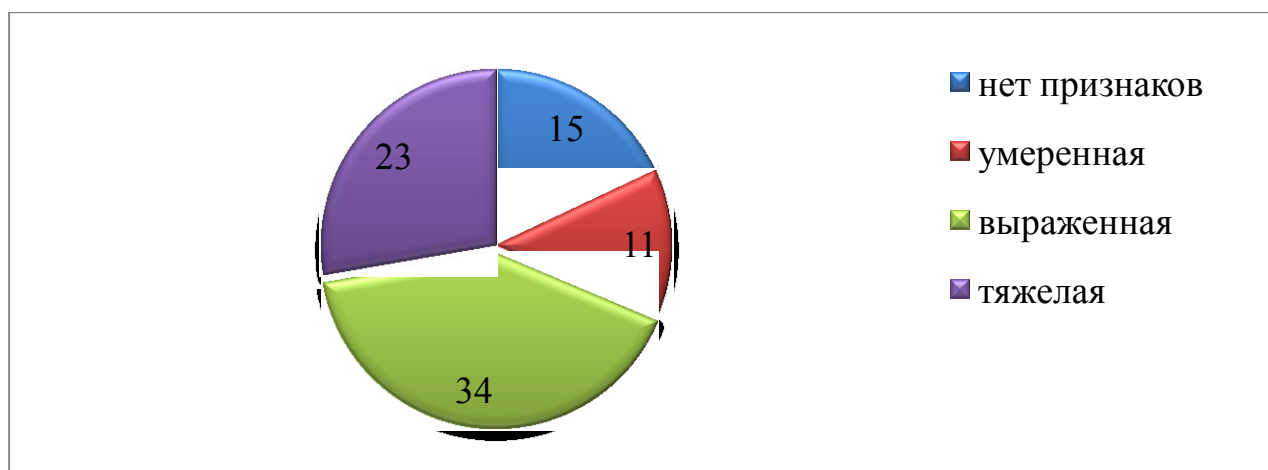


Рисунок 6. Признаки полинейропатии согласно шкале NSS среди пациентов основной группы.

Согласно шкале MNSI заподозрить наличие вероятной диабетической полинейропатии можно было у 66 (79,52%) пациентов, у 17 пациентов (20,48%) наличие нейропатии по результатам опросника маловероятно, см. рисунок 7. Средний балл в основной группе пациентов по данной шкале составил $5,27 \pm 2,45$ баллов и статистически превысил показатель группы контроля ($0,43 \pm 0,65$ баллов, $U=5,612$, $p=0,000$).



Рисунок 7. Скрининг нейропатии среди пациентов основной группы согласно MNSI.

Объективизация данных с помощью неврологического обследования выявила признаки выраженной ДПН у 34 пациентов основной группы (40,96%), тяжелая степень была диагностирована у 44 человек (53,01%), см. рисунок 8. Клинически не было обнаружено признаков полинейропатии у 5 пациентов

основной группы (6,02%). Физикальное неврологическое обследование лиц группы контроля не выявило отклонений со стороны периферической нервной системы. Среднее значение по шкале NDS у пациентов основной группы составило $14,98 \pm 7,12$ баллов, что выше соответствующего показателя группы контроля ($0,50 \pm 0,76$ баллов, $p=0,000$, $U=5,948$).

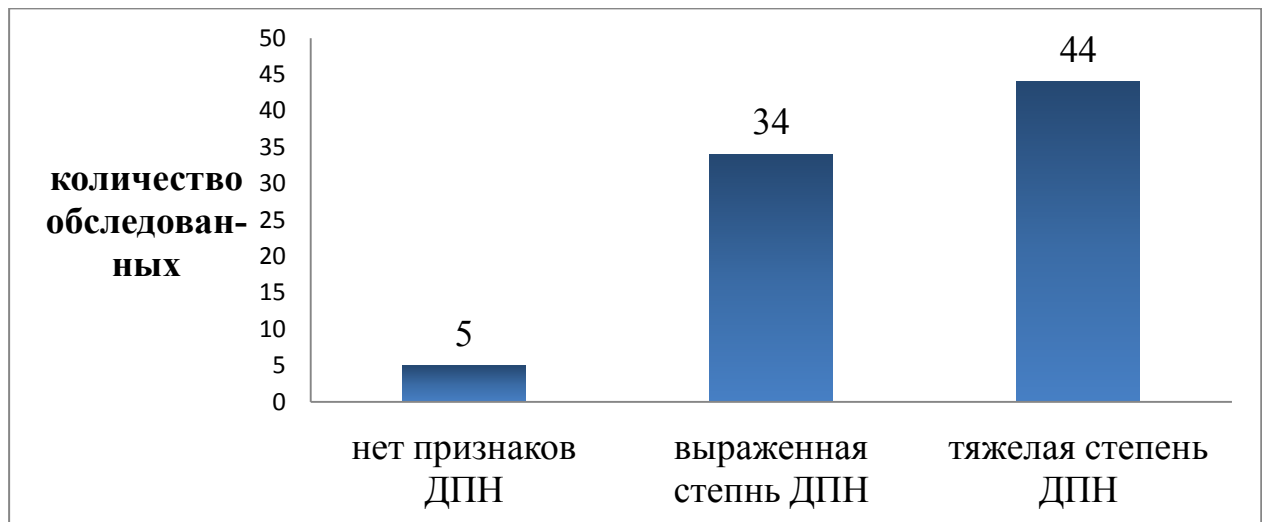


Рисунок 8. Объективизация неврологического статуса согласно шкале NDS.

По данным электронейромиографии у всех пациентов основной группы были выявлены признаки симметричного аксонально-демиелинизирующего повреждения периферических нервных волокон различной степени выраженности: от умеренной – 72 случаев (86,75%) до тяжелой – 11 случаев (13,25%). Средние значения исследованных электронейромиографических показателей нервной проводимости представлены в таблице 6. Статистически значимых отличий в соответствующих показателях обеих конечностей не выявлено, что свидетельствует о симметричности поражения, в дальнейшем принято рассматривать показатели нервного проведения недоминантной конечности.

Таблица 6. Показатели электронейромиографии нижних конечностей у пациентов основной группы

Показатель	Недоминантная конечность	Доминантная конечность	W (Wilcoxon)	p-value
Температура, °C	28,63±2,90	29,3±1,62	0,834	0,929
Амплитуда С-ответа n.suralis, мВ	3,99±3,26	4,77±4,17	1,287	0,197
СРВ, м/с	43,58±27,29	37,61±34,18	0,943	0,345
Латентность, мс	2,88±2,36	3,05±3,24	0,503	0,614
Амплитуда М-ответа (лодыжка), мВ	2,52±1,72	2,33±1,51	1,483	0,138
Латентность, мс	4,02±1,32	3,79±1,53	1,681	0,092
Амплитуда М-ответа (под головкой малоберцовой кости), мВ	2,41±1,52	1,89±1,43	0,257	0,797
Латентность, мс	11,26±2,71	10,41±2,62	1,771	0,076
Амплитуда М-ответа (подколенная ямка), мВ	2,57±1,55	2,16±1,25	0,456	0,648
Латентность, мс	12,44±2,83	11,85±1,86	1,737	0,082
СРВ, м/с	45,33±10,02	44,88±9,93	0,439	0,660
Расстояние, мм	319,94±49,78	314,29±49,78	0,941	0,346
Амплитуда F-волны, мкВ	139,67±173,19	205,33±236,9	1,521	0,128
Латентность F-волны	36,66±20,11	35,15±20,38	0,888	0,374

При проведении корреляционного анализа в основной группе были выявлены прямые связи между ИМТ и интенсивностью боли по ВАШ ($R=0,235$, $p=0,002$, рисунок 9) и PainDetect ($R= 0,224$, $p=0,004$, рисунок 10).

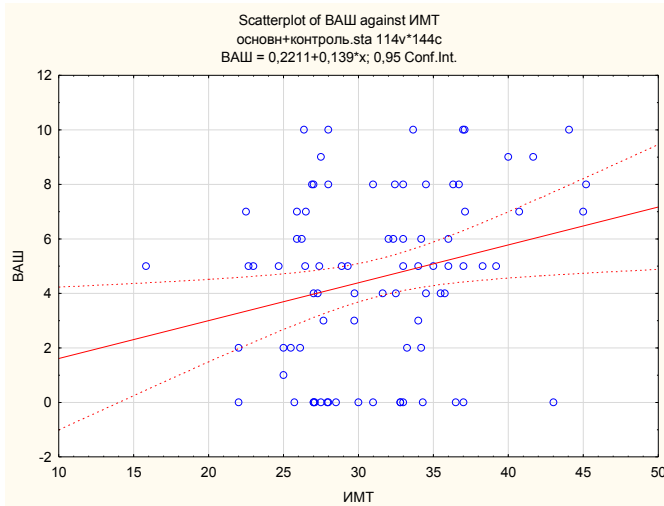


Рисунок 9 Влияние ИМТ на выраженность боли по ВАШ.

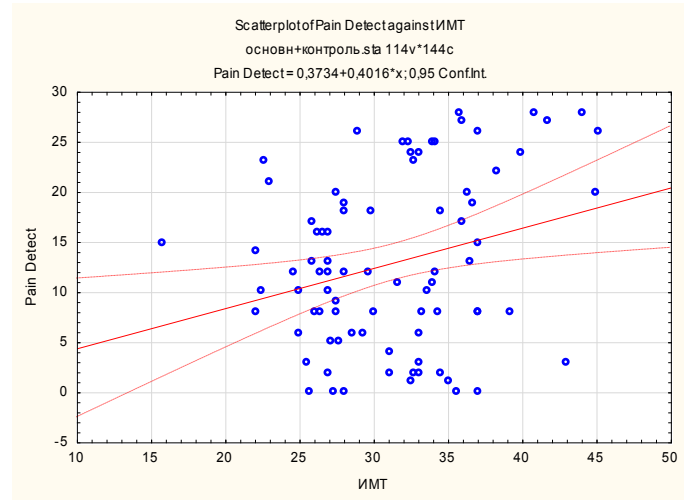


Рисунок 10 Влияние ИМТ на выраженность боли по PainDetect.

Кроме того, высокий ИМТ был связан с более выраженной клинической симптоматикой, оцененной по шкале TSS ($R=0,251$, $p=0,003$, рисунок 11) и шкале NSS ($R= 0,263$, $p=0,004$, рисунок 12).

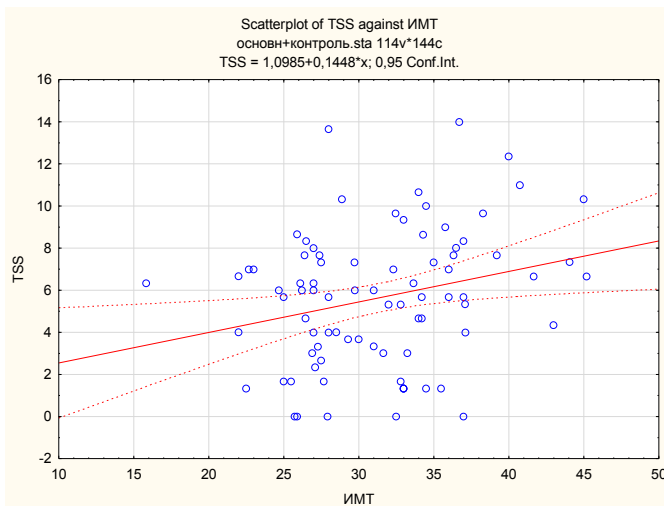


Рисунок 11 Влияние ИМТ на выраженность нейропатии согласно шкале TSS.

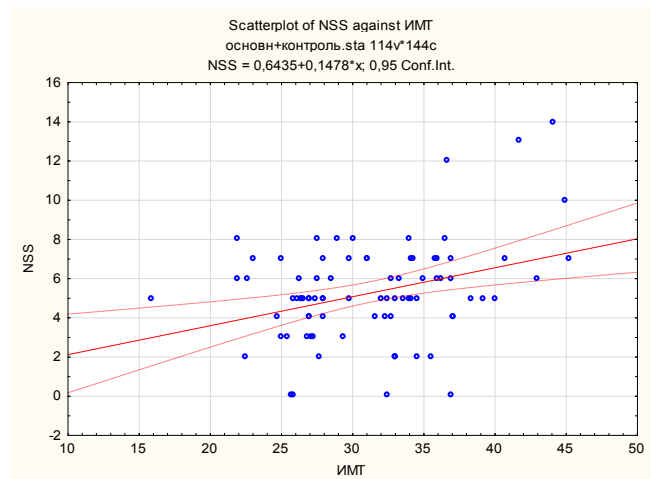


Рисунок 12 Влияние ИМТ на выраженность нейропатии согласно шкале NSS.

По результатам корреляционного анализа декомпенсация углеводного обмена по уровню гликированного гемоглобина негативно влияет на показатели нервного проведения: получены обратные корреляции с амплитудой М-ответа малоберцового нерва ($U=-0,282$, $p=0,011$, рисунок 13) и скоростью распространения возбуждения по малоберцовому нерва ($U=-0,258$, $p=0,001$, рисунок 14).

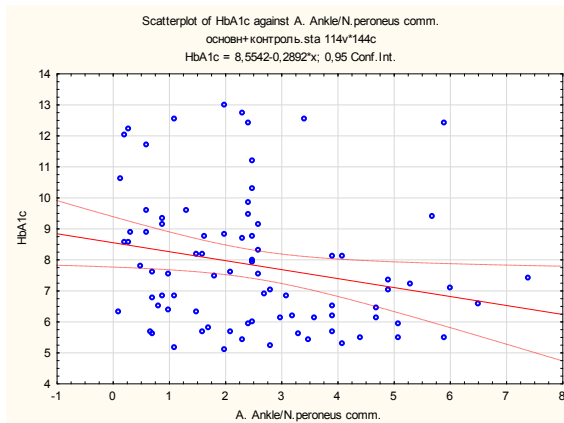


Рисунок 13. Влияние HbA1c на амплитуду М-ответа у пациентов основной группы.

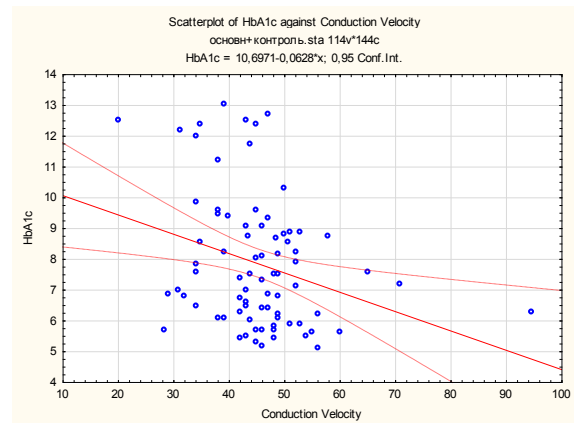


Рисунок 14. Влияние HbA1c на CPV малоберцового нерва у пациентов основной группы.

3.2 Сравнительная характеристика клиничко-нейрофизиологических показателей пациентов основной группы и группы сравнения

Группа сравнения отличалась более компенсированным уровнем углеводного обмена по сравнению с основной, сравнительный анализ представлен в таблице 7. Трое пациентов группы сравнения получали инсулинотерапию, остальные принимали таблетированные сахароснижающие препараты. Средний уровень гликемии натощак составил $7,47 \pm 2,15$ ммоль/л ($U=1,698$, $p=0,089$). При проведении перорального теста толерантности к глюкозе средний уровень гликемии у пациентов данной группы составил $9,11 \pm 3,33$ ммоль/л ($U=2,983$, $p=0,002$). Уровень

гликированного гемоглобина составил в среднем $6,38 \pm 1,43\%$ ($U=2,684$, $p=0,007$).

Таблица 7. Сравнительная характеристика показателей углеводного обмена пациентов основной группы и группы сравнения

Показатель	Основная группа	Группа сравнения	p-value	U-критерий
Гликемия натощак, ммоль/л	$9,27 \pm 4,29$	$7,47 \pm 2,15$	0,089	1,698
ПТТГ, ммоль/л	$11,53 \pm 3,05$	$9,11 \pm 3,33$	0,002	2,983
HbA1c, %	$7,83 \pm 2,14$	$6,38 \pm 1,44$	0,007	2,684

Интенсивность болевого синдрома по шкале ВАШ была оценена пациентами в среднем на $4,75 \pm 2,66$ баллов, что соответствовало умеренно выраженной ноцицептивной боли и не отличалось от средней оценки болевой неспецифической симптоматики пациентами основной группы ($U=0,061$, $p=0,950$). Среднее значение индекса PainDetect составило $9,07 \pm 2,77$ баллов, что статистически незначимо меньше соответствующего индекса основной группы ($U=1,473$, $p=0,141$). Сравнительная оценка болевого статуса представлена в таблице 8. Данные показатели свидетельствуют об отсутствии признаков нейропатической боли в данной группе пациентов.

Опрос по шкале MNSI выявил признаки возможной нейропатии у 8 пациентов. Среднее значение по MNSI составило $3,5 \pm 2,71$ баллов, что также значимо меньше показателя основной группы ($U=2,235$, $p=0,025$). Двое пациентов группы сравнения не предъявляли никаких жалоб. Остальных пациентов помимо болевого синдрома беспокоили редкие парестезии, периодическое онемение и судороги в дистальных отделах ног. Средние значения оценки субъективной клинической симптоматики по шкалам TSS и NSS у пациентов без ДПН составили $3,95 \pm 2,66$ баллов ($U=1,683$, $p=0,092$) и

4,92±2,49 баллов ($U=0,041$, $p=0,967$) соответственно, что существенно не отличалось от соответствующих показателей основной группы и могло свидетельствовать о наличии полинейропатии легкой степени. Сравнительный анализ клинических показателей обеих групп представлен в таблице 8.

Проведенное неврологическое исследование исключило признаки полинейропатии у 11 пациентов, у 3 человек имелись легкие нарушения болевой и тактильной чувствительности у основания I пальцев обеих нижних конечностей. Среднее значение по шкале NDS составило 3,28±1,86 баллов, что многократно меньше соответствующего показателя пациентов основной группы ($U=5,466$, $p=0,000$).

Таблица 8. Сравнительная характеристика болевого статуса, клинических показателей пациентов основной группы и группы сравнения

Показатель	Основная группа	Группа сравнения	p-value	U-критерий
ВАШ, баллы	4,58±3,21	4,75±2,66	0,950	-0,061
PainDetect, баллы	12,96±8,54	9,07±6,77	0,140	1,473
MNSI, баллы	5,27±2,45	3,50±2,71	0,025	2,235
TSS, баллы	5,64±3,22	3,95±2,66	0,092	1,683
NSS, баллы	5,28±2,53	4,92±2,49	0,967	0,041
NDS, баллы	14,98±7,12	3,28±1,86	0,000	5,466

Электронейромиографические показатели группы сравнения соответствовали нормальным значениям и статистически отличались от пациентов с ДПН. Сравнительные характеристики показателей нервного проведения группы пациентов без ДПН и пациентов основной группы представлены в таблице 9. Амплитуда С-ответа икроножного нерва составила в среднем 9,37±2,92 мВ, латентность 2,67±0,99 мс. Амплитуда М-

ответа малоберцового нерва в стандартных точках составила: на уровне лодыжки $5,69 \pm 1,27$ мВ, под головкой малоберцовой кости $5,58 \pm 1,48$ мВ, в подколенной ямке $5,78 \pm 1,5$ мВ, резидуальная латентность М-ответа равнялась $2,86 \pm 0,55$ мс, $9,39 \pm 0,76$ мс и $10,17 \pm 1,1$ мс соответственно, СРВ составила $67,6 \pm 16,58$ м/с.

Таблица 9. Сравнительная характеристика электронейромиографических показателей в исследуемых группах

Показатель	Основная группа	Группа сравнения	P-value	U-критерий
С-ответ, мВ	$3,99 \pm 3,26$	$9,37 \pm 2,92$	0,000	-4,646
Латентность, мс	$2,88 \pm 2,36$	$2,67 \pm 0,99$	0,640	0,467
М-ответ (лодыжка)	$2,52 \pm 1,72$	$5,69 \pm 1,27$	0,000	-4,978
Латентность, мс	$4,02 \pm 1,31$	$2,86 \pm 0,55$	0,000	3,793
М-ответ (под головкой малоберцовой кости), мВ	$2,41 \pm 1,52$	$5,58 \pm 1,48$	0,000	-5,158
Латентность, мс	$11,26 \pm 2,71$	$9,39 \pm 0,76$	0,000	3,972
М-ответ (подколенная ямка), мВ	$2,57 \pm 1,55$	$5,78 \pm 1,5$	0,000	-5,234
Латентность, мс	$12,44 \pm 2,83$	$10,17 \pm 1,1$	0,000	3,741
СРВ, м/с	$45,33 \pm 10,02$	$67,6 \pm 16,58$	0,000	-3,590

Проведение корреляционного анализа в группе пациентов без ДПН выявило обратную корреляцию между интенсивностью боли по ВАШ и СРВ по малоберцовому нерву ($R=-0,662$, $p=0,002$, Рисунок 15).

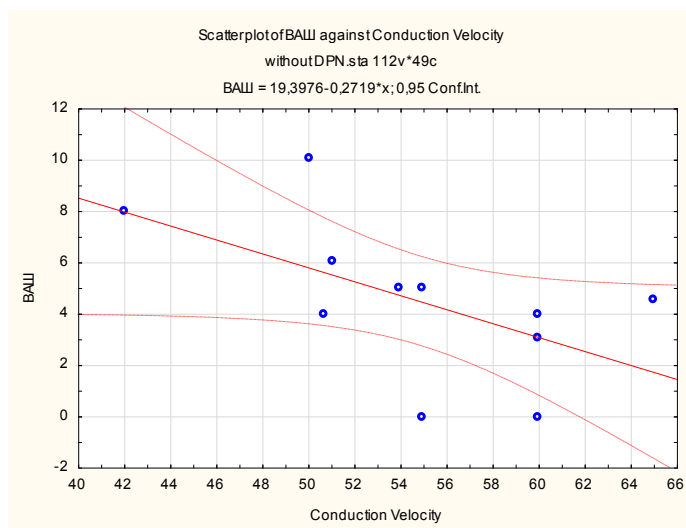


Рисунок 15 Зависимость между CPB и интенсивностью боли по ВАШ

3.3 Сравнительная характеристика болевого, неврологического статуса, электрофизиологических показателей подгрупп пациентов на разных стадиях диабетической полинейропатии

Проведен сравнительный анализ клинико-нейрофизиологических показателей пациентов с субклинической, клинически-манифестированной и тяжелой стадией диабетической полинейропатии.

В группу пациентов с субклинической стадией диабетической полинейропатии вошло 12 пациентов с сахарным диабетом, из них 9 человек страдали СД 2 типа и трое – СД 1 типа. Таким образом, частота выявления субклинической стадии среди пациентов с диабетом 1 типа – 25%. По половой принадлежности пациенты распределились следующим образом: в группу вошло 9 женщин и 3 мужчин.

Группа с клинически-манифестированной диабетической полинейропатией была самой многочисленной, в ее составе было 47 пациентов с сахарным диабетом, из них 3 страдали сахарным диабетом 1

типа. По половому признаку состав группы распределился в соотношении 4:1 (38 женщин и 9 мужчин).

В исследовании наблюдалось 11 пациентов с тяжелой стадией ДПН, из них 7 женщин и 4 мужчин. Сахарный диабет 2 типа наблюдался у 7 пациентов, 4 пациента страдали сахарным диабетом 1 типа. У троих пациентов ранее были произведены ампутации одного или нескольких пальцев нижних конечностей.

Пациенты всех трех подгрупп находились в одной возрастной категории: средний возраст пациентов с субклинической стадией ДПН составил $58,25 \pm 14,66$ лет, в подгруппе с клинически выраженной ДПН $62,00 \pm 9,83$ лет, в подгруппе с тяжелой стадией ДПН - $56,91 \pm 16,78$ лет, статистических межгрупповых отличий не было выявлено ($H=0,721$, $p=0,697$).

Средний ИМТ в подгруппе пациентов с субклинической стадией составил $30,42 \pm 4,24$ кг/м² и значимо не отличался от среднего значения подгруппы с клинической ДПН, равного $32,23 \pm 6,30$ кг/м², а также от среднего показателя подгруппы с тяжелой стадией, составившего $30,99 \pm 6,13$ кг/м² ($H=1,266$, $p=0,531$).

Средняя длительность сахарного диабета статистически не отличалась во всех трех подгруппах и равнялась $9,92 \pm 5,77$ лет у пациентов с субклинической ДПН, в подгруппе пациентов с манифестированной полинейропатией составила $14,08 \pm 8,39$ лет, и в подгруппе с тяжелой ДПН была равна $11,27 \pm 8,1$ лет ($H=3,514$, $p=0,172$).

Сравнительный анализ общеклинических показателей представлен в таблице 10.

Таблица 10. Сравнительная характеристика общеклинических показателей у пациентов на разных стадиях ДПН

Показатель	Субклиническая ДПН	Клинически-манифестированная ДПН	Тяжелая ДПН	Н-критерий	p-value
количество пациентов	12	47	11	-	-
возраст пациентов, лет	58,25±14,66	62,00±9,83	56,91±16,78	0,721	0,697
ИМТ, кг/м ²	30,42±4,24	32,23±6,30	30,99±6,13	1,266	0,531
Длительность СД	9,92±5,78	14,08±8,39	11,27±8,10	3,514	0,172

Лабораторные показатели гликемического профиля всех трех подгрупп пациентов с ДПН свидетельствуют о декомпенсации углеводного обмена, сравнительный анализ представлен в таблице 11. Уровень гликемии натощак в подгруппе пациентов с субклинической ДПН варьировался в широком диапазоне (от 5,04 до 19,4 ммоль/л) и составил в среднем $9,41 \pm 3,97$ ммоль/л, что значимо не отличалось от среднего значения подгруппы с клинически манифестированной ДПН, равного $9,1 \pm 2,84$ ммоль/л, и соответствующего показателя подгруппы с тяжелой стадией полинейропатии, составившего $12,73 \pm 8,64$ ммоль/л ($H=0,505$, $p=0,776$). Также не было обнаружено статистических отличий в средних значениях гликемии при проведении ПГТТ: в подгруппе субклинической стадии гликемия в среднем составила $12,32 \pm 1,86$ ммоль/л, в подгруппе с умеренной клинически выраженной полинейропатией - $12,98 \pm 2,37$ ммоль/л, в подгруппе с тяжелой ДПН - $15,05 \pm 9,55$ ммоль/л ($H=0,462$, $p=0,793$). В средних значениях гликированного гемоглобина пациентов субклинической

(7,43±1,95%) и клинически манифестированной ДПН (7,98±2,05%) не было выявлено значимых отличий, однако в подгруппе с тяжелой стадией ДПН средний уровень гликированного гемоглобина значимо превышал соответствующие показатели обеих подгрупп и составил 9,9±1,9% (N=9,435, p=0,008), что свидетельствует о более выраженной декомпенсации углеводного обмена на поздней стадии ДПН.

Таблица 11. Сравнительная характеристика гликемического профиля пациентов на разных стадиях ДПН

Показатель	Субклиническая ДПН	Клинически-манифестированная ДПН	Тяжелая ДПН	Н-критерий	p-value
Гликемия натощак	9,41±3,97	9,10±2,84	12,73±8,64	0,505	0,776
ПГТТ	12,32±1,86	12,98±2,37	15,05±9,55	0,462	0,793
HbA1c	7,43±1,95	7,98±2,05	9,90±1,90	9,435	0,008

В лечении пациентов с субклинической стадией ДПН при СД 1 типа использовалась инсулинотерапия, 7 пациентов с СД 2 типа принимали таблетированные сахароснижающие препараты, двое человек с СД 2 типа также получали инсулин в индивидуальных дозировках. Большинство пациентов подгруппы с клинически выраженной полинейропатией получали таблетированные сахароснижающие препараты (28 человек), 16 пациентов наряду с пероральными препаратами использовали инъекции инсулина, трое пациентов с СД 1 типа получали инсулин в монотерапии. В группе пациентов с тяжелой стадией ДПН 9 человек, в том числе все пациенты с СД 1 типа, получали инъекции инсулина, двое пациентов с СД 2 типа принимали только таблетированные сахароснижающие препараты. Графически анализ вида сахароснижающей терапии в исследуемых подгруппах представлен на рисунке 16.

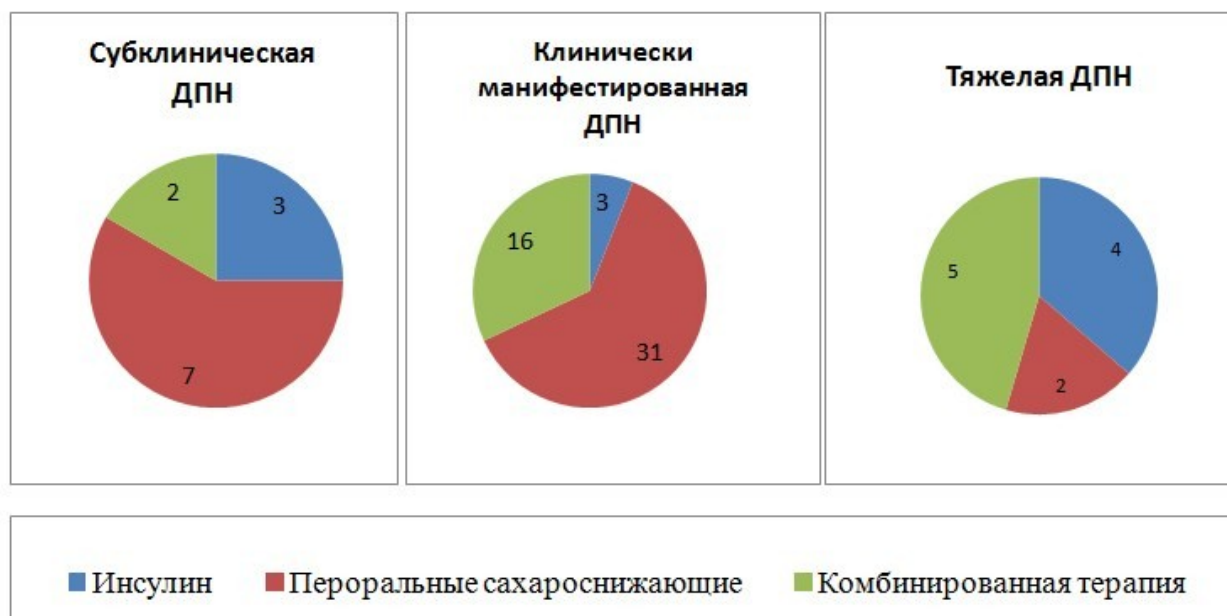


Рисунок 16. Сравнительная характеристика терапии СД в подгруппах пациентов на разных стадиях ДПН.

Большинство пациентов с клинически выраженной нейропатией (27 человек) предъявляли жалобы на проявления нейропатического болевого синдрома, среди остальных опрошенных преобладали «симптомы выпадения» чувствительности. Интенсивность боли по ВАШ в данной подгруппе была оценена в среднем на $5,25 \pm 3,25$ баллов, по шкале PainDetect – $17,11 \pm 7,65$ баллов, что статистически многократно превышало соответствующие показатели подгруппы с субклинической стадией, где уровень боли по ВАШ в среднем был оценен на $3,67 \pm 2,71$ баллов, а средний балл по PainDetect составил $2,66 \pm 2,11$ баллов ($N=31,175$, $p=0,000$). Клинически в подгруппе пациентов с тяжелой ДПН превалировала безболевая форма диабетической полинейропатии. Спектр основных и наиболее часто предъявляемых жалоб пациентами данной подгруппы включал в себя онемение, «ватность стоп», неустойчивость при ходьбе, слабость в ногах и зябкость стоп. Реже наблюдались парестезии и судороги в мышцах конечностей. Интенсивность боли по ВАШ составила в среднем $2,55 \pm 2,95$ баллов, средний уровень боли по шкале PainDetect, составивший

7,63±6,15 баллов также не позволяет судить о наличии нейропатического болевого синдрома. Показатели болевых шкал у пациентов на поздней стадии полинейропатии были значимо меньше, чем в группе с клинически выраженной ДПН (N=31,175, p=0,000). Сравнительная оценка болевой симптоматики у пациентов исследованных групп представлена в таблице 12.

Таблица 12. Сравнительная характеристика болевого статуса пациентов на разных стадиях ДПН

Показатель	Субклиническая ДПН	Клинически-манифестированная ДПН	Тяжелая ДПН	Н-критерий	p-value
ВАШ	3,67±2,71	5,25±3,25	2,55±2,94	6,702	0,035
Pain Detect	2,67±2,31	17,11±7,65	7,64±6,15	31,175	0,000

Сравнительный анализ субъективной симптоматики в подгруппах пациентов с полинейропатией представлен в таблице 13. Активных жалоб пациенты с субклинической стадией ДПН не предъявляли, однако при подробном расспросе с помощью специализированных опросников у некоторых пациентов выявлялись редко беспокоившие судороги в ногах, зябкость конечностей и периодическое ощущение онемения. Согласно скринингу нейропатии по шкале MNSI заподозрить нейропатию можно было у 2 пациентов данной подгруппы, однако средний балл по данной шкале был минимален и равнялся 2,33±2,31 баллов, что значимо меньше среднего значения пациентов с клинически-манифестированной ДПН (6,5±1,91 балл) и пациентов с тяжелой стадией ДПН (5,55±1,5 баллов, N=19,907, p=0,000).

По шкале TSS признаков полинейропатии не было выявлено ни у одного из пациентов с субклинической стадией ДПН, средний балл составил 1,57±0,99 баллов и был статистически значимо ниже среднего значения

подгруппы с манифестированной ДПН ($7,14 \pm 2,83$ баллов) и тяжелой формой нейропатии ($5,48 \pm 2,63$ баллов, $N=26,423$, $p=0,000$).

По шкале NSS у пациентов с субклинической стадией также не было выявлено клинических симптомов, которые могли бы соответствовать полинейропатии, средний балл равнялся $2,08 \pm 1,08$ баллов, что значительно меньше показателей подгруппы с умеренной клинической ДПН ($6,34 \pm 2,24$ баллов) и подгруппы с тяжелой стадией ($5,18 \pm 1,94$ баллов, $N=29,288$, $p=0,000$), средние значения которых соответствовали умеренной степени полинейропатии.

В ходе рутинного неврологического обследования среди 10 пациентов асимптомной подгруппы были обнаружены признаки повреждения периферических нервов, при этом у 7 человек имелись признаки умеренной полинейропатии, у троих пациентов признаки повреждения нервных волокон нижних конечностей соответствовали тяжелым и проявлялись грубым выпадением ахилловых и коленных рефлексов с нарушением преимущественно глубокой чувствительности. У двоих пациентов данной группы неврологическое обследование не обнаружило значимых признаков, соответствовавших диабетической полинейропатии. Среднее значение по шкале NDS в данной подгруппе составило $10,42 \pm 6,17$ баллов, что соответствовало признакам умеренной нейропатии, но было значительно меньше показателя NDS подгруппы пациентов с клинически выраженной ДПН ($17,83 \pm 5,83$ баллов) и тяжелой стадией ($17,91 \pm 6,58$ баллов, $N=10,812$, $p=0,004$), где объективная симптоматика оценивалась в среднем как тяжелая. Сравнительный анализ неврологического дефицита, оцененного по шкале NDS, представлен в таблице 13. В подгруппе с умеренной клинической полинейропатией у 12 пациентов объективные признаки соответствовали умеренным проявлениям нейропатии согласно шкале NDS, у 35 человек проявления были расценены как выраженные. У

пациентов с тяжелой формой ДПН преобладали расстройства болевой, тактильной, вибрационной чувствительности по типу «выпадения», изменение сухожильных рефлексов, элементы сенситивной атаксии, при осмотре стоп определялись выраженные трофические расстройства в виде сухости, трещин кожи, рубцов от заживших язв, у троих пациентов также имелись зафиксированные постампутационные культы пальцев ног. У всех пациентов данной группы объективная неврологическая симптоматика расценивалась как выраженная.

Таблица 13. Сравнительная характеристика выраженности клинической симптоматики у пациентов на разных стадиях ДПН

Показатель	Субклиническая ДПН	Клинически-манифестированная ДПН	Тяжелая ДПН	Н-критерий	p-value
MNSI, баллы	2,33±2,31	6,50±1,91	5,55±1,51	19,907	0,000
TSS, баллы	1,58±0,99	7,14±2,83	5,48±2,63	26,423	0,000
NSS, баллы	2,08±1,08	6,34±2,24	5,18±1,94	29,288	0,000
NDS, баллы	10,42±6,17	17,83±5,83	17,91±6,58	10,812	0,004

Таким образом, согласно статистическому сравнению по критерию Краскелла-Уоллиса, все клинические показатели, полученные в ходе активного расспроса, сбора анамнеза и объективного обследования, у пациентов с субклинической стадией значимо отличались от развернутой клинической симптоматики пациентов с умеренной и тяжелой стадиями ДПН.

Электронеуромиографическое исследование позволило верифицировать признаки симметричного периферического аксонально-демиелинизирующего повреждения нервных волокон у всех пациентов исследованных подгрупп с диабетической полинейропатией. Сравнительный

анализ нейрофизиологических показателей подгруппы пациентов с субклинической полинейропатией и группы пациентов с клинически манифестированной нейропатией не выявил статистических отличий, однако нарушения нервного проведения у пациентов с тяжелой стадией значительно превышали показатели обеих подгрупп, подробный статистический анализ представлен в таблице 14.

Средняя температура конечности, зафиксированная с помощью термодатчика при оценке нервной проводимости, значимо не отличалась во всех трех подгруппах: в подгруппе пациентов с субклинической ДПН составила $30,13 \pm 2,15$ °С, в клинически выраженной - $28,94 \pm 3,28$ °С, у пациентов с тяжелой ДПН - $26,94 \pm 1,92$ °С ($N=1,835$, $p=0,399$).

У пациентов на поздней стадии ДПН наблюдались признаки выраженной аксональной дисфункции, представленной снижением амплитуды сенсорного и моторного ответов более, чем на 50%: среднее значение С-ответа икроножного нерва, составившее $0,33 \pm 0,63$ мВ, многократно меньше соответствующего показателя пациентов с клинически выраженной ДПН ($4,39 \pm 2,97$ мВ) и субклинической стадией ($4,83 \pm 2,92$ мВ, $N=18,928$, $p=0,000$). Амплитуда моторного ответа в среднем была снижена на всем протяжении, в большей степени в дистальных отделах, что свидетельствует об аксональном повреждении по полиневритическому типу. Средние значения М-ответа малоберцового нерва у пациентов с тяжелой стадией нейропатии составили $1,01 \pm 0,91$ мВ на уровне лодыжки, под головкой малоберцовой кости - $0,92 \pm 0,83$ мВ, в подколенной ямке - $1,01 \pm 0,89$ мВ, что в несколько раз меньше соответствующих значений подгруппы с субклинической стадией ($2,23 \pm 1,39$ мВ, $2,22 \pm 1,13$ мВ и $2,33 \pm 1,41$ мВ, соответственно) и подгруппы с клинической манифестацией ($2,84 \pm 1,80$ мВ, $2,71 \pm 1,54$ мВ и $2,94 \pm 1,56$ мВ, соответственно), значения Н-критерия для трех стандартных точек представлены в таблице 14.

Вторичные демиелинизирующие изменения, представленные увеличением латентности сенсорного, моторного ответа и снижением СРВ, также имели место у пациентов с ДПН. Во всех подгруппах отмечается некоторое увеличение латентности С-ответа, значимых межгрупповых различий по данному показателю не было выявлено: в субклинической стадии - $4,33 \pm 0,63$ мс, в стадии клинической манифестации $2,97 \pm 1,57$ мс, при тяжелой стадии $3,19 \pm 1,00$ мс ($H=1,542$, $p=0,065$). Резидуальная латентность малоберцового нерва на уровне лодыжки составила в среднем: в подгруппе с субклинической ДПН $4,23 \pm 0,98$ мс, в подгруппе с умеренной клинической ДПН $3,83 \pm 1,30$ мс, в подгруппе с тяжелой ДПН $4,87 \pm 1,96$ мс ($H=5,019$, $p=0,081$). Статистически значимо латентность малоберцового нерва при тяжелой стадии ДПН была повышена в точке под головкой малоберцовой кости ($13,80 \pm 4,49$ мс, $H=9,861$, $p=0,007$) по сравнению с субклинической ($10,83 \pm 1,64$ мс) и клинически выраженной подгруппой ($11,15 \pm 1,97$ мс), а также в подколенной ямке ($15,90 \pm 4,79$ мс, $H=14,489$, $p=0,000$) по сравнению с субклинической ($12,11 \pm 1,68$ мс) и клинически выраженной подгруппой ($11,76 \pm 1,97$ мс). Это свидетельствует о более высокой локализации демиелинизирующего процесса на поздней стадии ДПН. Кроме того, было выявлено замедление распространения возбуждения по икроножному ($33,4 \pm 19,07$ м/с) в подгруппе с тяжелой нейропатией, что, впрочем, статистически не отличалось от средних показателей подгруппы субклинической ($53,33 \pm 64,46$ м/с) и клинически выраженной ДПН ($44,29 \pm 19,71$ м/с, $H=1,685$, $p=0,431$). Также сниженной была скорость проведения импульса по малоберцовому нерву: в подгруппе с субклинической ДПН - $48,56 \pm 17,19$ м/с, в подгруппе с клинически выраженной нейропатией $45,33 \pm 7,95$ м/с, в подгруппе с тяжелой ДПН - $39,17 \pm 9,48$ м/с, межгрупповых статистических отличий не получено ($H=2,907$, $p=0,233$).

Таблица 14. Сравнительная характеристика электронейромиографических показателей пациентов на разных стадиях ДПН

Показатель	Субклиническая ДПН	Клинически манифестированная ДПН	Тяжелая ДПН	Н-критерий	p-value
Температура	30,13±2,15	28,94±3,28	26,94±1,92	1,835	0,399
С-ответ, мВ	4,83±2,92	4,39±2,97	0,33±0,63	18,928	0,000
латентность, мс	4,42±4,94	2,97±1,57	3,19±1,00	1,542	0,065
СРВ икроножного нерва, м/с	53,40±19,07	44,29±19,71	33,33±64,46	1,685	0,431
М-ответ (лодыжка), мВ	2,23±1,39	2,84±1,80	1,01±0,91	11,037	0,004
латентность, мс	4,23±0,98	3,83±1,30	4,87±1,96	5,019	0,083
М-ответ (под головкой малоберцовой кости), мВ	2,22±1,13	2,71±1,54	0,92±0,83	14,045	0,000
латентность, мс	10,83±1,64	11,15±1,97	13,80±4,49	9,861	0,007
М-ответ (подколенная ямка), мВ	2,33±1,41	2,94±1,56	1,01±0,89	14,296	0,000
латентность, мс	12,11±1,68	11,76±1,97	15,90±4,79	14,489	0,000
СРВ малоберцового нерва, м/с	48,56±17,19	45,33±7,95	39,17±9,48	2,907	0,233

Проведение корреляционного анализа в подгруппе пациентов с клинически-манифестированной ДПН выявило негативное влияние

длительности заболевания диабетом на электронейромиографические показатели нервной проводимости. В данной подгруппе были получены обратные корреляции с амплитудой М-ответа на уровне лодыжки ($R=-0,441$, $p=0,001$), под головкой малоберцовой кости ($R=-0,472$, $p=0,000$), в подколенной ямке ($R=-0,409$, $p=0,009$), а также с СРВ по малоберцовому нерву ($R=-0,378$, $p=0,014$). Графически данные корреляционные зависимости представлены на рисунках 17- 20.

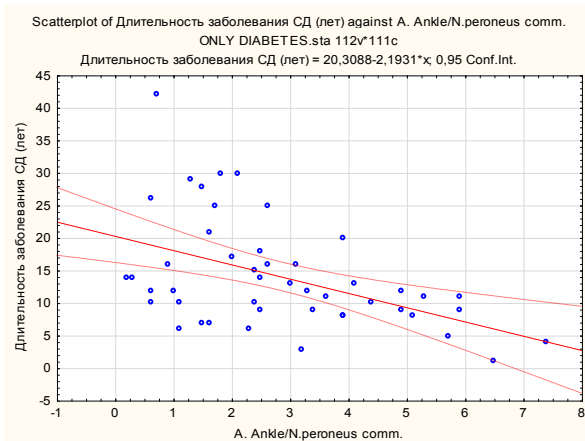


Рисунок 17. Влияние длительности заболевания на амплитуду М-ответа на уровне лодыжки.

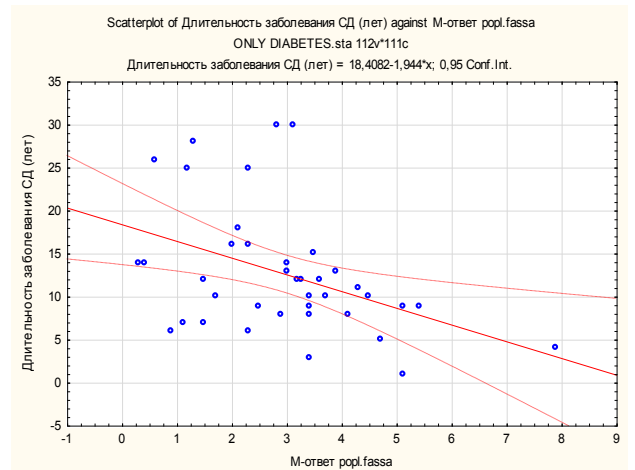


Рисунок 19. Влияние длительности заболевания на амплитуду М-ответа на уровне подколенной ямки.

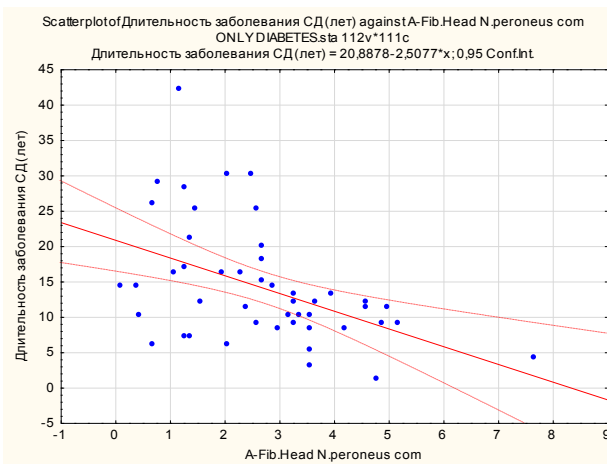


Рисунок 18. Влияние длительности заболевания на амплитуду М-ответа под головкой малоберцовой кости.

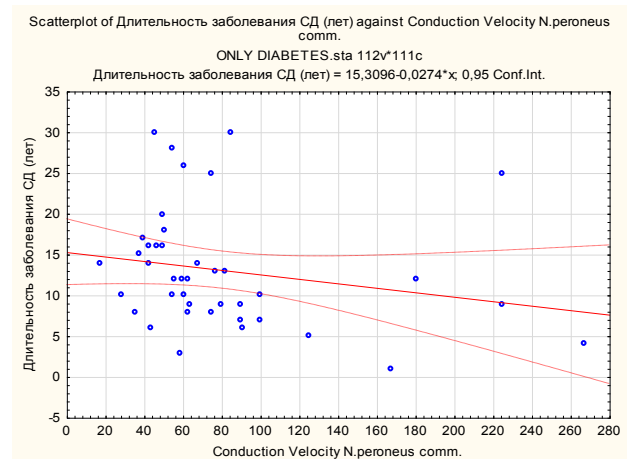


Рисунок 20. Влияние длительности заболевания на СРВ малоберцового нерва.

Компенсация углеводного обмена также оказывала влияние на степень повреждения нервного волокна в данной подгруппе пациентов. Уровень гликемии натощак прямо коррелировал с величиной латентности малоберцового нерва ($R=0,349$, $p=0,015$, рисунок 21).

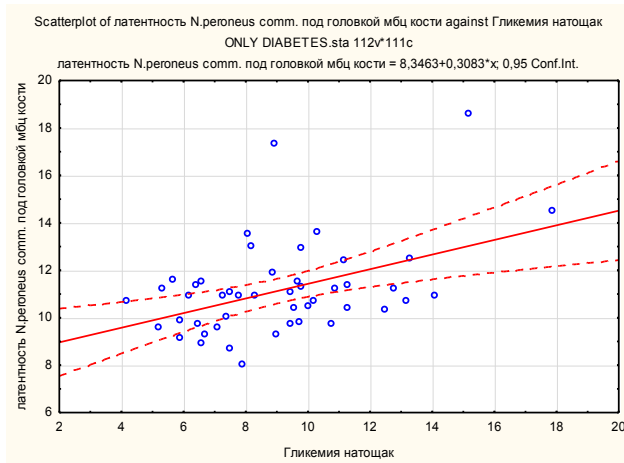


Рисунок 21. Корреляция между уровнем гликемии натощак и латентностью малоберцового нерва.

Была проанализирована модель влияния инсулина и, соответственно, степени декомпенсации углеводного обмена на выраженность аксонального повреждения икроножного нерва в зависимости от длительности сахарного диабета (см. рисунок 22). Условно по длительности СД пациенты были подразделены на три группы: 1-я – менее 10 лет, 2-я - 11-20 лет, 3-я – более 20 лет. Как при назначении инсулина, так и при приеме таблетированных форм сахароснижающих препаратов, степень аксонального повреждения более выражена при более длительном течении диабета. Несмотря на визуальную закономерность, представленную более высокой амплитудой С-ответа у пациентов с достигнутой компенсацией диабета без добавления инсулина к базисной сахароснижающей терапии, данная модель статистически недостоверна ($p=0,643$) и $R^2=0,213$, что свидетельствует об учете в модели не более 21,3% факторов, влияющих на состояние периферического нерва. Таким образом, повреждение нервного волокна зависит не только от длительности процесса, исходного уровня

компенсации углеводного обмена, назначение инсулина к терапии также слабо влияет на состояние нерва, что требует дальнейшего поиска факторов, потенциально влияющих на целостность нервного волокна.

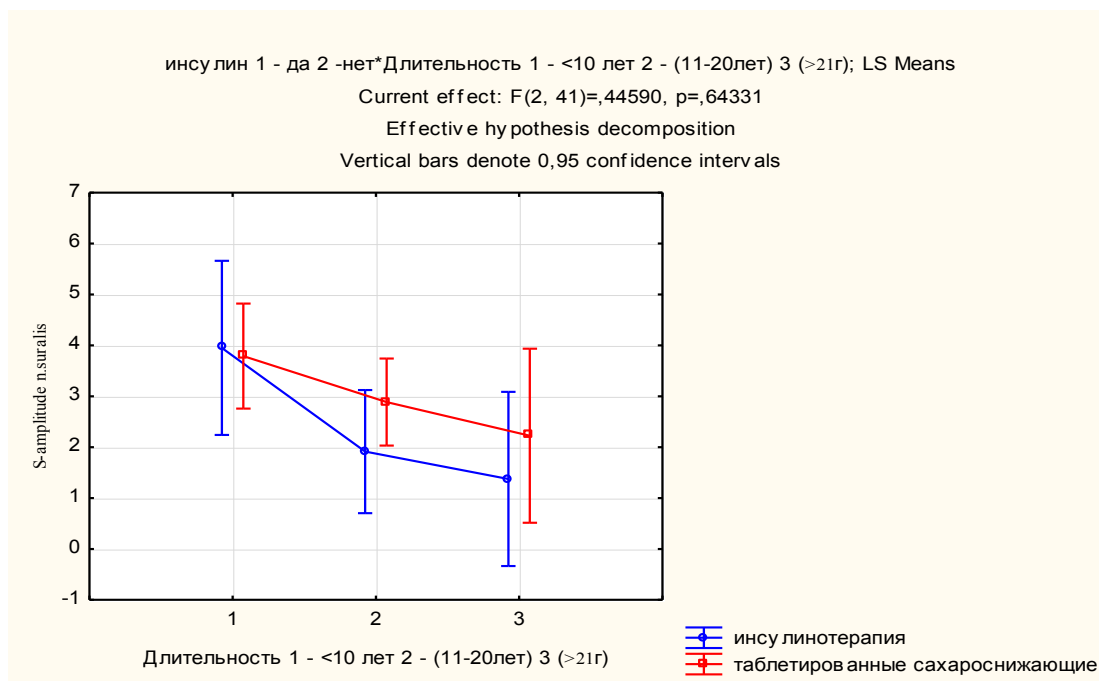


Рисунок 22. Анализ влияния инсулинотерапии на степень повреждения нервного волокна с учетом длительности диабета.

Проведение корреляционного анализа в подгруппе пациентов с субклинической стадией выявило обратную связь между уровнем гликемии натощак и латентностью сенсорного ответа ($R=-0,899$, $p=0,000$). При этом степень декомпенсации углеводного обмена согласно уровню HbA1c статистически не показала влияния на функциональные показатели нервного проведения ($p>0,05$).

Согласно проведенному корреляционному анализу в подгруппе пациентов с тяжелой ДПН, амплитуда М-ответа малоберцового нерва обратно коррелирует с уровнем гликемии натощак ($R=-0,605$, $p=0,048$, рисунок 23). Повышение уровня гликированного гемоглобина прямо влияет на увеличение латентности моторного ответа малоберцового нерва на уровне лодыжки ($R=0,809$, $p=0,002$, рисунок 25) и под головкой малоберцовой кости ($R=0,706$, $p=0,015$, рисунок 24). Кроме того, скорость проведения импульса

по моторным волокнам обратно пропорциональна уровню HbA1c ($R=-0,682940$, $p=0,029$, рисунок 26). Таким образом, компенсация углеводного обмена играет значительную роль в формировании демиелинизирующих изменений нервных волокон при полинейропатии в группе пациентов с тяжелой ДПН.

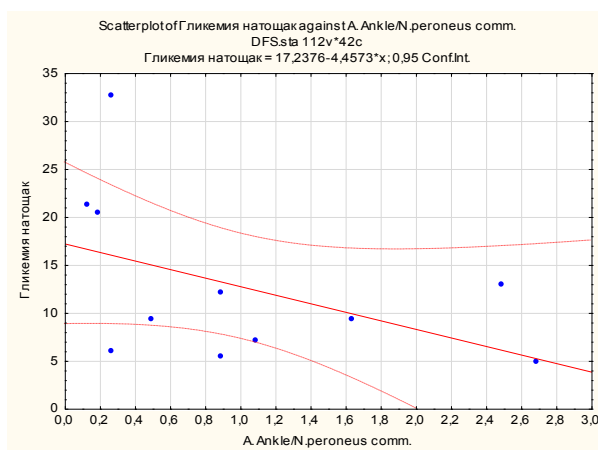


Рисунок 23. Зависимость М-ответа от уровня гликемии натощак в группе пациентов с тяжелой ДПН.

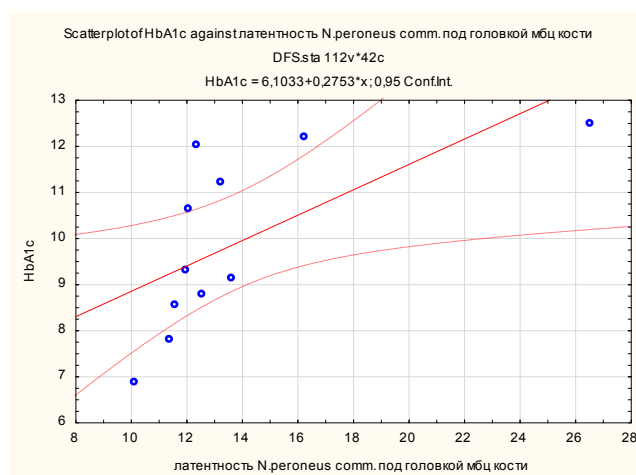


Рисунок 24. Зависимость латентности под головкой малоберцовой кости от HbA1c.

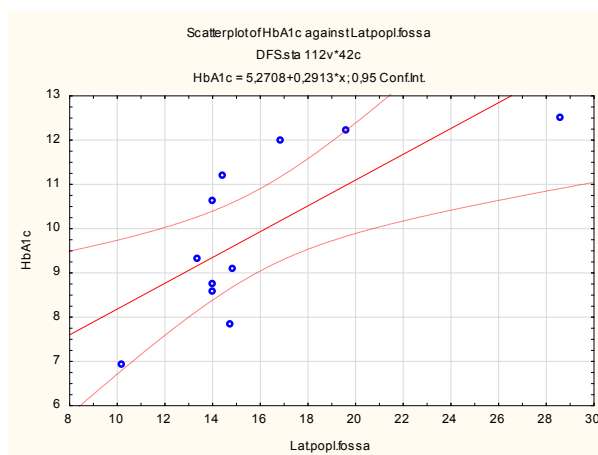


Рисунок 25. Зависимость латентности на уровне лодыжки от HbA1c у пациентов с тяжелой ДПН.

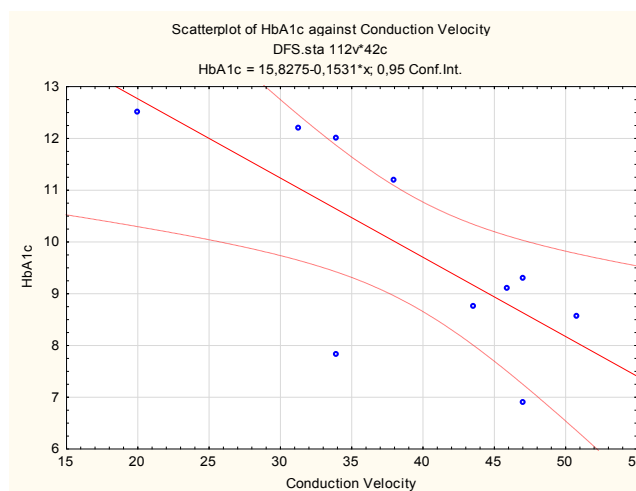


Рисунок 26. Зависимость СРВ от HbA1c у пациентов с тяжелой ДПН.

Уровень болевой симптоматики, оцененной по ВАШ, прямо коррелировал со скоростью распространения возбуждения по малоберцовому нерву ($R=0,789$, $p=0,006$, рисунок 27).

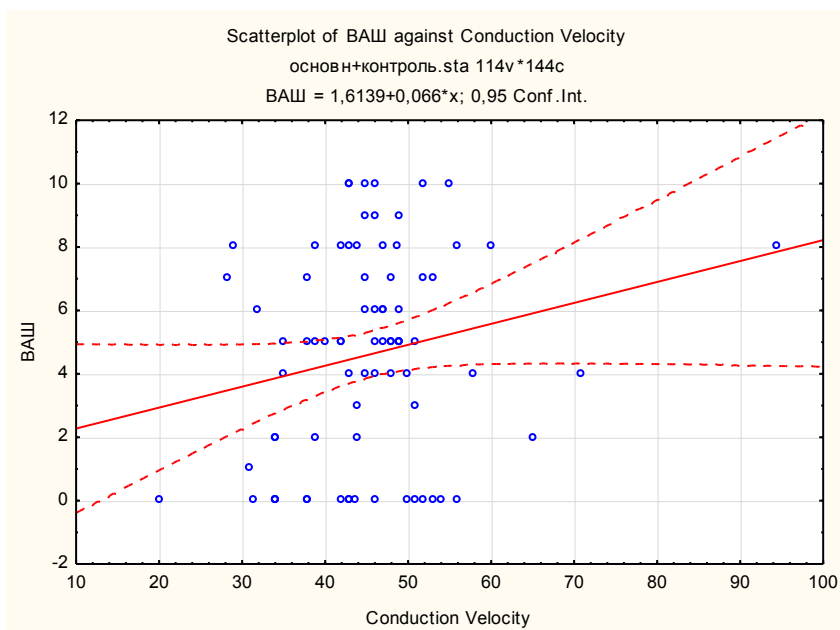


Рисунок 27. Взаимосвязь между уровнем боли по ВАШ и СРВ в группе пациентов с тяжелой стадией ДПН.

Влияния возраста, массы тела, длительности заболевания на клинические или электронейромиографические показатели и прочих достоверных зависимостей признаков по результатам корреляционного анализа в группе с тяжелой ДПН не выявлено ($p > 0,05$).

3.4 Сравнительная характеристика клинико-нейрофизиологических показателей пациентов с признаками полинейропатии при нарушенной толерантности к глюкозе и при сахарном диабете

В данной подглаве представлено сравнение клинических и ЭНМГ-характеристик пациентов основной группы, подразделенных по типу имеющегося нарушения углеводного обмена. Основным интерес представляет группа, сформированная из 13 пациентов, наблюдавшихся у эндокринолога с диагнозом нарушение толерантности к глюкозе, у которых были выявлены признаки полинейропатии с помощью электронейромиографического исследования. В группу вошло 7 женщин, 6

мужчин в среднем возрасте $58,77 \pm 13,83$ лет, соответствующем возрастной категории группы пациентов с сахарным диабетом и полинейропатией, где средний возраст был равен $60,62 \pm 11,74$ лет ($U = -0,293$, $p = 0,769$). ИМТ составил в среднем $29,34 \pm 4,56$ кг/м², что значимо не отличалось от подгруппы с диабетом ($31,83 \pm 5,94$ кг/м², $U = -1,284$, $p = 0,198$), как показано в таблице 15.

Таблица 15. Сравнительная характеристика общеклинических показателей пациентов с признаками полинейропатии в подгруппах с нарушением толерантности к глюкозе и сахарным диабетом

Показатель	НТГ	СД	U-критерий	p-value
количество пациентов	13	70	-	-
возраст пациентов, лет	$58,77 \pm 13,83$	$60,62 \pm 11,74$	-0,293	0,769
ИМТ, кг/м ²	$29,34 \pm 4,56$	$31,83 \pm 5,94$	-1,284	0,198

Углеводный обмен пациентов с НТГ был более компенсирован, чем у пациентов с сахарным диабетом, подробный анализ представлен в таблице 16. Уровень гликемии натощак составил в среднем $6,86 \pm 0,73$ ммоль/л, что значимо меньше среднего показателя группы с диабетом, составившего $9,82 \pm 4,59$ ммоль/л ($U = -2,901$, $p = 0,003$). Средний результат гликемии при проведении ПГТТ в группе НТГ составил $9,51 \pm 0,85$ ммоль/л и также был меньше, чем у пациентов с диабетом ($13,37 \pm 3,09$ ммоль/л, $U = -1,266$, $p = 0,205$). Средний уровень гликированного гемоглобина у пациентов с СД ($8,12 \pm 2,11$ %) значимо превышал соответствующий показатель группы с НТГ, равный $5,88 \pm 0,71$ % ($U = -4,134$, $p = 0,000$).

Таблица 16. Сравнительная характеристика лабораторных показателей пациентов с признаками полинейропатии в подгруппах с нарушением толерантности к глюкозе и сахарным диабетом

Показатель	НТГ	СД	U-критерий	p-value
Гликемия натощак, ммоль/л	6,86±0,73	9,82±4,59	-2,901	0,003
ПГТТ, ммоль/л	9,51±0,85	13,37±3,09	-3,705	0,000
HbA1c, %	5,88±0,71	8,12±2,11	-4,134	0,000

Среди обследованных подгруппы с НТГ 10 пациентов испытывали болевые ощущения, из них у 5 пациентов выявлен нейропатический компонент боли. Оценка интенсивности болевого синдрома пациентами с НТГ значимо не отличалась от таковой пациентами с сахарным диабетом, как показано в таблице 17. Интенсивность боли по ВАШ в среднем оценивалась пациентами с НТГ на 4,69±3,09 баллов, по шкале PainDetect 12,00±6,09 баллов, что не отличалось от средних показателей пациентов с СД (4,69±3,22 и 13,57±8,88 баллов, соответственно, U=0,07173, p=0,942 и U=-0,482, p=0,629).

Скрининг нейропатии по шкале MNSI позволил заподозрить наличие нейропатии у 5 обследованных с НТГ. Среднее значение по шкале MNSI составило 3,62±1,56 баллов и было значимо меньше соответствующего показателя подгруппы с диабетом (U=-2,971, p=0,002). Клинические симптомы нейропатии по шкале TSS были оценены в группе с НТГ как легкие двумя пациентами, трое опрошенных оценивали выраженность клинических проявлений как умеренную, у 8 пациентов клинические симптомы, согласно указанной шкале, не могли соответствовать полинейропатии. Среднее значение по шкале TSS составило 4,09±2,31 баллов в данной подгруппе, что не отличалось от среднего ответа в группе с СД

($U=-1,864$, $p=0,062$). Оценка субъективной клинической симптоматики согласно шкале NSS показала несколько иные результаты. Трое опрошенных пациентов с нарушением толерантности к глюкозе оценивали симптомы как легкие, пятеро ощущали проявления нейропатии как умеренные, а двое – как тяжелые, среднее значение по шкале NSS составило $4,46 \pm 2,26$ баллов, что, тем не менее, не отличалось от среднего показателя подгруппы с СД ($U=-0,984$, $p=0,324$). Таким образом, субъективная клиническая симптоматика у пациентов с НТГ практически не отличалась от пациентов с сахарным диабетом и ДПН, что свидетельствует о раннем развитии признаков полинейропатии вне зависимости типа установленного нарушения углеводного обмена. Подробный анализ клинических показателей сравниваемых групп представлен в таблице 17.

Объективное неврологическое обследование выявило признаки полинейропатии у 11 пациентов с НТГ. К основным признакам повреждения периферических нервных структур в данной подгруппе относились снижение ахилловых рефлексов и нарушение поверхностной чувствительности. Расстройства глубокой чувствительности были минимальны в данной группе. Среднее значение по шкале составило $6,38 \pm 2,06$ баллов, что значительно меньше среднего балла по шкале NDS у пациентов СД ($U=-4,525$, $p=0,000$).

Таблица 17. Сравнительная характеристика клинических показателей полинейропатии пациентов с признаками полинейропатии в подгруппах с нарушением толерантности к глюкозе и сахарным диабетом

Показатель	НТГ	СД	p-value	U-критерий
ВАШ, баллы	$4,69 \pm 3,09$	$4,69 \pm 3,22$	0,942	0,071
PainDetect, баллы	$12,00 \pm 6,09$	$13,57 \pm 8,88$	0,629	-0,482
MNSI, баллы	$3,62 \pm 1,56$	$5,64 \pm 2,52$	0,002	-2,971
TSS, баллы	$4,09 \pm 2,31$	$5,89 \pm 3,36$	0,062	-1,864
NSS, баллы	$4,46 \pm 2,26$	$5,39 \pm 2,26$	0,324	-0,984
NDS, баллы	$6,38 \pm 2,06$	$16,67 \pm 6,67$	0,000	-4,525

У всех пациентов рассматриваемой подгруппы с НТГ были выявлены электронейромиографические признаки преимущественно аксональной полинейропатии легкой или средней степени выраженности. Средняя температура конечностей при исследовании составила $27,3 \pm 1,6^\circ\text{C}$. Амплитуда С-ответа икроножного нерва была снижена до $5,04 \pm 3,99$ мВ в среднем, латентность С-ответа не была значимо увеличена, среднее значение составило $2,49 \pm 1,24$ мс. Амплитуда М-ответа малоберцового нерва равномерно слегка снижена на протяжении, средние значения составили: на уровне лодыжки $2,92 \pm 1,61$ мВ, под головкой малоберцовой кости $2,75 \pm 1,52$ мВ, в подколенной ямке $2,98 \pm 1,30$ мВ. Латентность М-ответа была несколько увеличена в дистальном отделе: на уровне лодыжки составила $3,79 \pm 0,59$ мс, в остальных точках средние значения не были значимо увеличены: под головкой малоберцовой кости латентность составила $9,88 \pm 2,78$ мс, в подколенной ямке $11,85 \pm 1,35$ мс. Скорость проведения импульса в среднем составила $47,33 \pm 7,81$ м/с и значимо не отличалась от подгруппы пациентов с полинейропатией при сахарном диабете. Как видно из подробного сравнительного анализа электронейромиографических показателей, представленного в таблице 18, показатели нервного проведения значимо не отличаются у пациентов с признаками полинейропатии при нарушении толерантности к глюкозе и сахарном диабете.

Таблица 18. Сравнительная характеристика показателей нервного проведения у пациентов с НТГ и СД и признаками полинейропатии

	НТГ	СД	P-value	U-критерий
С-ответ, мВ	$5,04 \pm 3,99$	$3,98 \pm 3,07$	0,476	0,712
Латентность, мс	$2,49 \pm 1,24$	$2,99 \pm 2,49$	0,568	-0,572
М-ответ (лодыжка)	$2,92 \pm 1,61$	$2,53 \pm 1,74$	0,392	0,854

Латентность,мс	3,79±0,59	3,99±1,38	0,657	-0,443
М-ответ (под головкой малоберцовой кости), мВ	2,75±1,52	2,41±1,51	0,441	0,769
Латентность, мс	9,88±2,78	11,29±1,95	0,158	-1,408
М-ответ (подколенная ямка), мВ	2,98±1,30	2,55±1,58	0,281	1,076
Латентность, мс	11,85±1,35	12,23±2,24	0,618	-0,498
СРВ, м/с	47,33±7,81	45,41±10,04	0,211	1,248

Проведение корреляционного анализа в подгруппе лиц с НТГ и ДПН выявило обратные зависимости между значением шкалы TSS и амплитудой С-ответа икроножного нерва ($R=-0,596$, $p=0,041$) и величиной латентности проведения по малоберцовому нерву на уровне лодыжки ($R=-0,657$, $p=0,015$). Также обратную корреляционную связь выделили между значением шкалы NSS и латентностью малоберцового нерва в подколенной ямке ($R=-0,668$, $p=0,012$). Получена прямая зависимость между объективной оценкой неврологической симптоматики по шкале NDS и величиной латентности малоберцового нерва на уровне лодыжки ($R=0,585$, $p=0,035$). Значимых зависимостей между возрастом пациентов, массой тела, компенсацией углеводного обмена и другими независимыми переменными с данными электронейромиографического исследования в данной подгруппе пациентов не получено ($p>0,05$).

ГЛАВА 4. АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ФАКТОРОВ РОСТА И РЕЦЕПТОРОВ С ТИРОЗИНКИНАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ В СЫВОРОТКЕ ПАЦИЕНТОВ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

4.1 Сравнительный анализ содержания факторов роста в сыворотке пациентов основной группы и практически здоровых лиц

Средний уровень свободного мозгового нейротрофина, определяемого в сыворотке при проведении ИФА, у пациентов основной группы составил $3,44 \pm 2,67$ нг/мл, что значимо превышало уровень сывороточного BDNF практически здоровых лиц, составивший $1,07 \pm 0,64$ нг/мл, а также соответствующий показатель группы сравнения, равный $0,85 \pm 0,44$ нг/мл ($H=27,334$, $p=0,000$). Содержание рецептора TrkB в сыворотке пациентов основной группы составило в среднем $4,65 \pm 2,56$ нг/мл, что также многократно превысило соответствующий лабораторный показатель как группы здоровых лиц, составивший $1,66 \pm 0,63$ нг/мл, так и пациентов группы сравнения, равный $1,95 \pm 1,01$ нг/мл ($H=36,282$, $p=0,000$).

Уровни свободного васкулоэндотелиального фактора роста в сыворотке практически здоровых лиц группы контроля и в группе лиц без ДПН, в среднем составившие $25,22 \pm 12,86$ пг/мл и $28,36 \pm 9,81$ пг/мл соответственно, были значимо ниже, чем в сыворотке пациентов основной группы, где содержание VEGF составило в среднем $41,31 \pm 26,71$ пг/мл ($H=11,571$, $p=0,003$). Количество свободного рецептора VEGFR2, зафиксированное в сыворотке пациентов основной группы, равнялось в среднем $19,34 \pm 7,76$ нг/мл. Данный лабораторный показатель пациентов основной группы не отличался от соответствующего показателя группы сравнения, равного $17,49 \pm 5,03$ нг/мл, и группы контроля, составившего $16,59 \pm 4,53$ нг/мл ($H=2,068$, $p=0,355$). Анализ содержания мозгового нейротрофина, фактора роста эндотелия сосудов и их высокоаффинных

рецепторов в сыворотке пациентов трех сравниваемых групп представлен в таблице 19.

Таблица 19 . Сравнительный анализ содержания факторов роста и рецепторов с тирозинкиназной активностью в сыворотке пациентов с ДПН, группы без ДПН и лиц группы контроля

Показатель/ Группа	Основная группа	Группа сравнения	Группа контроля	Н- критерий	p- value
BDNF, нг/мл	3,44±2,67	0,85±0,44	1,07±0,64	27,334	0,000
TrkB, нг/мл	4,65±2,56	1,95±1,01	1,66 ± 0,63	36,282	0,000
VEGF-A, пг/мл	41,31±26,71	28,36±9,81	25,22±12,86	11,571	0,003
VEGFR2, нг/мл	19,34±7,76	17,49±5,03	16,59±4,53	2,068	0,355

Проведение корреляционного анализа выявило прямую связь между длительностью заболевания и содержанием BDNF ($R=0,303$, $p=0,002$, рисунок 28), VEGF-A ($R=0,436$, $p=0,000$, рисунок 29) и VEGFR2 ($R=0,399$, $p=0,000$, рисунок 30). Статистической зависимости между содержанием TrkB и длительностью заболевания не было выявлено ($R=0,051$, $p=0,276$).

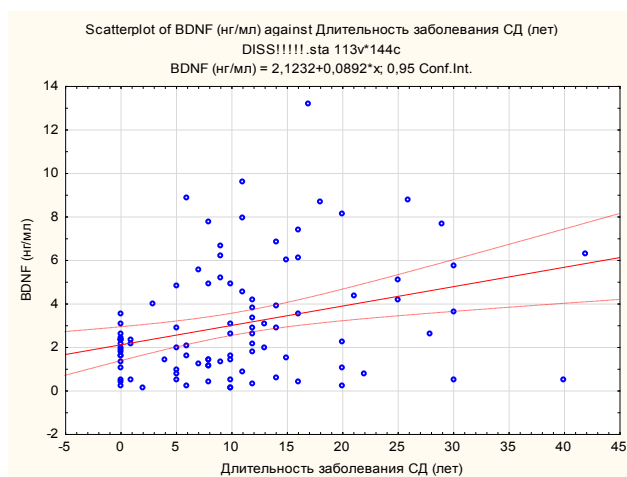


Рисунок 28. Зависимость сывороточного BDNF и длительности СД.

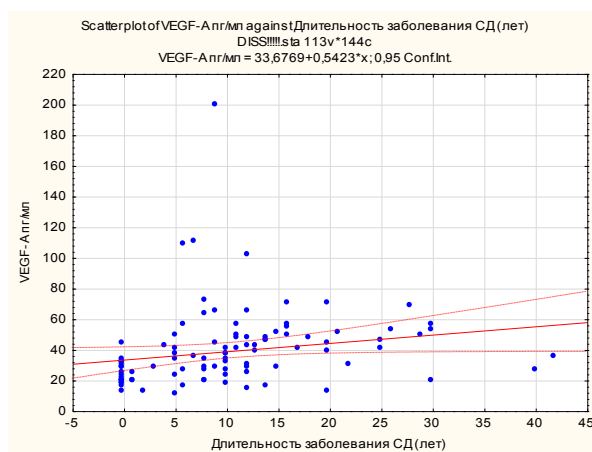


Рисунок 29. Зависимость сывороточного VEGF от длительности СД.

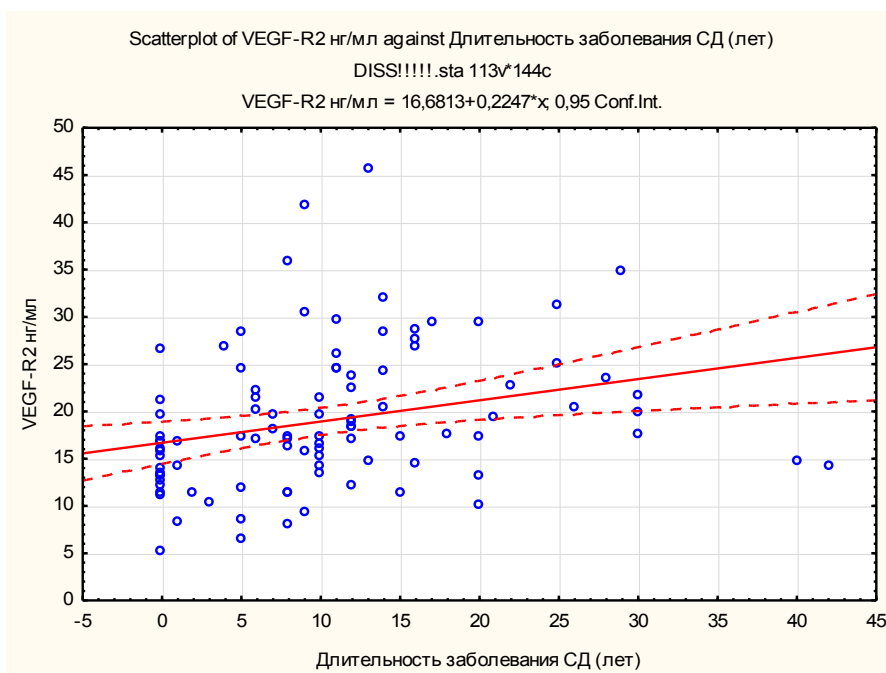


Рисунок 30. Зависимость сывороточного VEGFR2 от длительности СД.

По результатам статистического анализа, возраст, пол пациентов основной группы не влияли на содержание нейротрофических факторов и их рецепторов ($p > 0,05$). Была получена обратная корреляция индекса массы тела с содержанием рецептора TrkB ($R = -0,345$, $p = 0,001$).

Выявлены прямые корреляционные связи между уровнем гликемии натощак и сывороточным количеством мозгового нейротрофина ($R = 0,327$, $p = 0,001$, рисунок 31) и васкулоэндотелиального фактора роста ($R = 0,252$, $p = 0,000$, рисунок 32). Значимого влияния уровня глюкозы натощак в крови на содержание рецепторов факторов роста в сыворотке не было выявлено ($R = 0,176$, $p = 0,981$ и $R = 0,082$, $p = 0,509$).

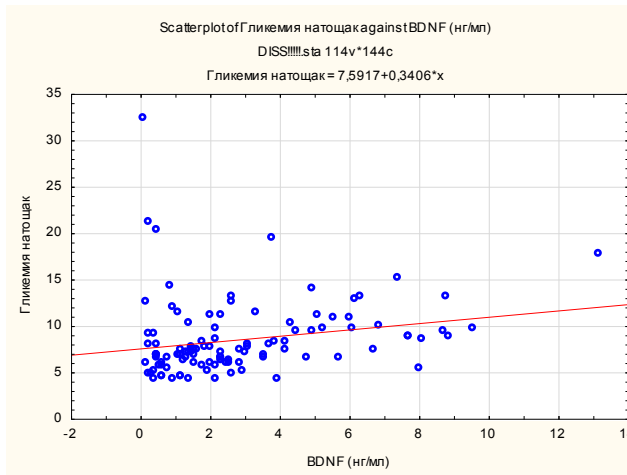


Рисунок 31. Зависимость BDNF от гликемии натощак.

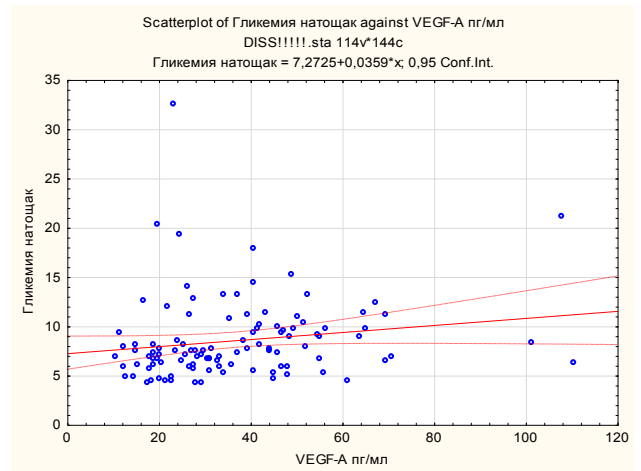


Рисунок 32. Зависимость VEGF-A от гликемии натощак.

В то же время уровень гликемии, определяемый при проведении ПГТТ, влиял на содержание TrkB в сыворотке ($R=0,511$, $p=0,000$) наравне с сывороточным уровнем BDNF ($R=0,401$, $p=0,012$), VEGF-A ($R=0,591$, $p=0,000$). Получена прямая корреляционная связь между содержанием гликированного гемоглобина и сывороточными уровнями TrkB ($R=0,264$, $p=0,015$, рисунок 33) и VEGF-A ($R=0,207$, $p=0,005$, рисунок 34). Ни один из показателей общего анализа крови не влиял на показатели ИФА по результатам корреляционного анализа ($p>0,05$).

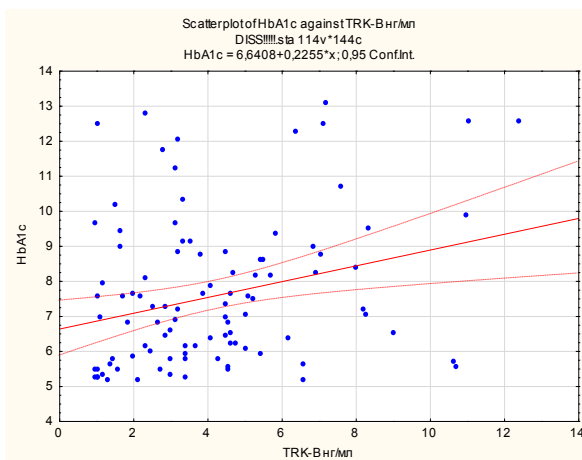


Рисунок 33. Зависимость содержания TrkB от HbA1c.

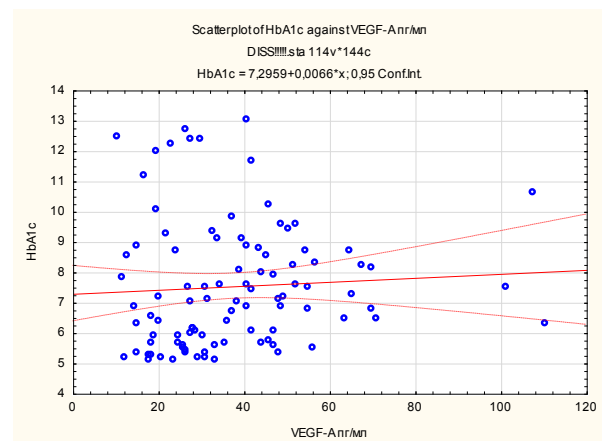


Рисунок 34. Зависимость содержания VEGF-A от HbA1c.

Проанализировано влияние вида терапии сахарного диабета на содержание трофических факторов и их рецепторов. Несмотря на визуальное преимущество в количественном содержании BDNF ($p=0,991$, см рисунок 35) и VEGF-A ($p=0,572$, Рисунок 36) у пациентов с инсулинотерапией по отношению к монотерапии таблетированными сахароснижающими препаратами, достоверно значимых моделей в основной группе пациентов не было построено.

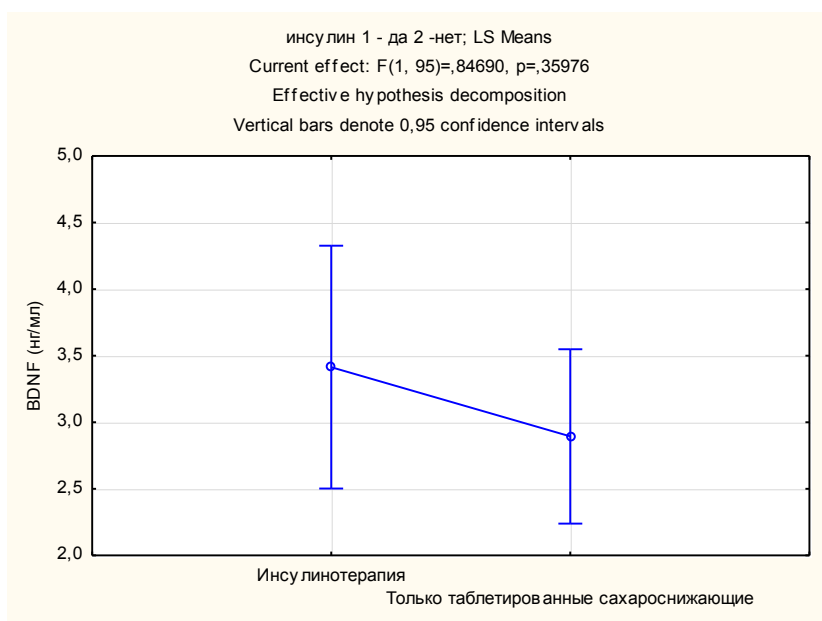


Рисунок 35. Влияние вида терапии СД на количественное содержание BDNF.

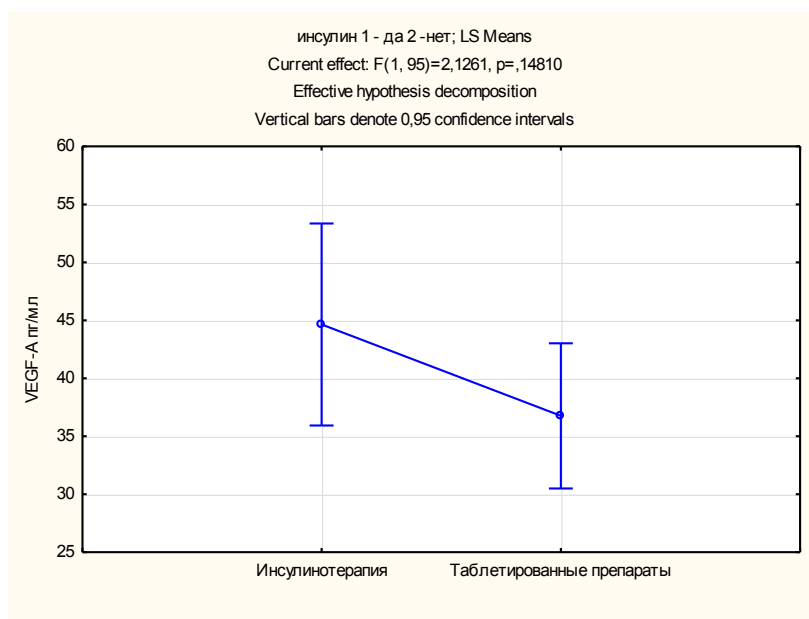


Рисунок 36. Влияние вида терапии СД на количество VEGF-A.

При корреляционном анализе показателей клинического обследования и результатов ИФА обнаружено, что интенсивность нейропатической боли по шкале PainDetect прямо коррелирует с сывороточным уровнем BDNF ($R=0,426$, $p=0,000$, рисунок 37) и обратно зависима от содержания TrkB в сыворотке ($R=-0,305$, $p=0,002$, рисунок 38). Достоверных корреляций между болевой симптоматикой и количественным содержанием сосудистого фактора роста ($R=0,186$, $p=0,067$) и его рецептора ($R=0,198$, $p=0,051$) не было выявлено.

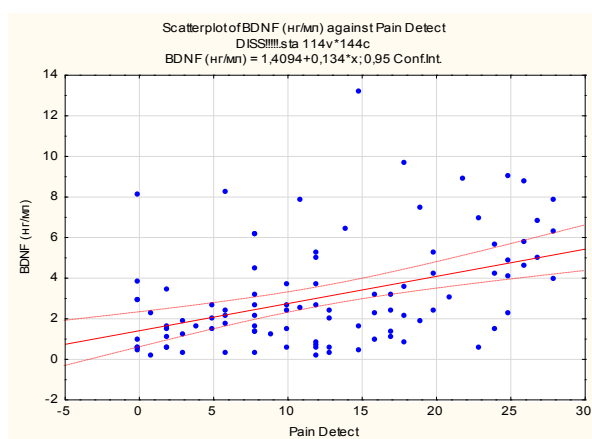


Рисунок 37. Зависимость нейропатической боли от BDNF сыворотки.

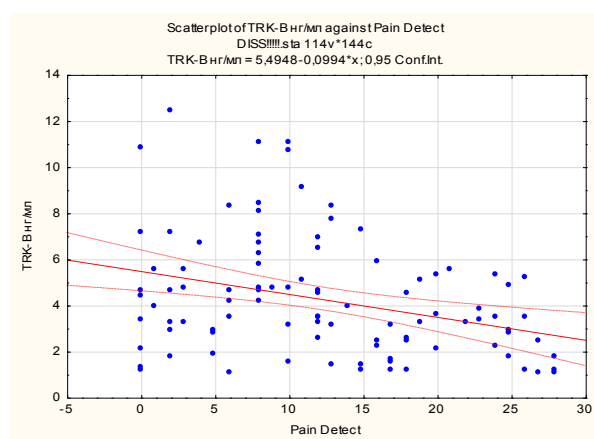


Рисунок 38. Зависимость нейропатической боли от TrkB сыворотки.

Получена прямая корреляция между оценкой неврологических симптомов по шкале скрининга нейропатии MNSI и сывороточными уровнями TrkB ($R=0,221$, $p=0,033$) и VEGF-A ($R=0,242$, $p=0,018$). Степень неврологического дефицита, объективизированная с помощью шкалы NDS, прямо коррелировала с уровнем BDNF ($R=0,288$, $p=0,004$), VEGF-A ($R=0,301$, $p=0,002$) и VEGFR2 ($R=0,273$, $p=0,006$). Достоверной связи с содержанием TrkB не получено ($R=0,186$, $p=0,067$).

Анализ корреляций между показателями ЭНМГ и содержанием факторов роста выявил положительную связь между температурой, зафиксированной с помощью термодатчика, и содержанием васкулоэндотелиального фактора роста ($R=0,326$, $p=0,021$) и его рецептора

($R=0,285$, $p=0,044$). Это единственный электрофизиологический показатель, на величину которого сосудистый фактор роста и его рецептор достоверно влияли при оценке корреляционных зависимостей у пациентов основной группы, графики представлены на рисунках 39 - 40.

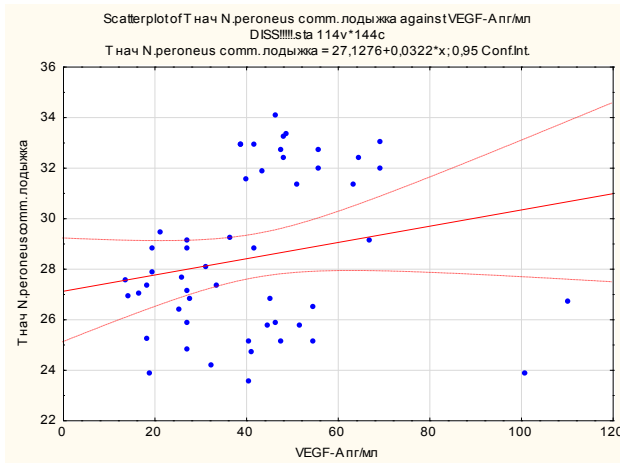


Рисунок 39. Зависимость температуры конечности от VEGF-A.

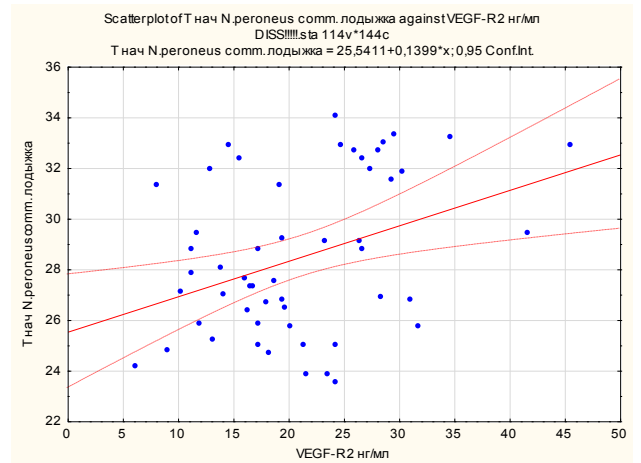


Рисунок 40. Зависимость температуры конечности от VEGFR2.

Получена прямая зависимость между содержанием BDNF и величиной латентности С-ответа икроножного нерва ($R=0,263$, $p=0,016$, рисунок 41) и температурой конечности при оценке НП ($R=0,338$, $p=0,015$, рисунок 42).

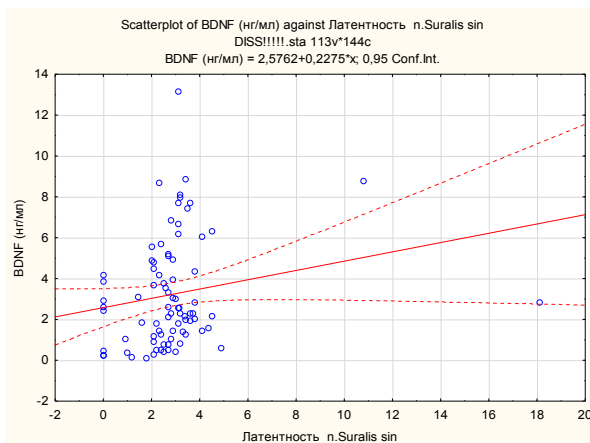


Рисунок 41. Корреляция между латентностью икроножного нерва и BDNF сыворотки.

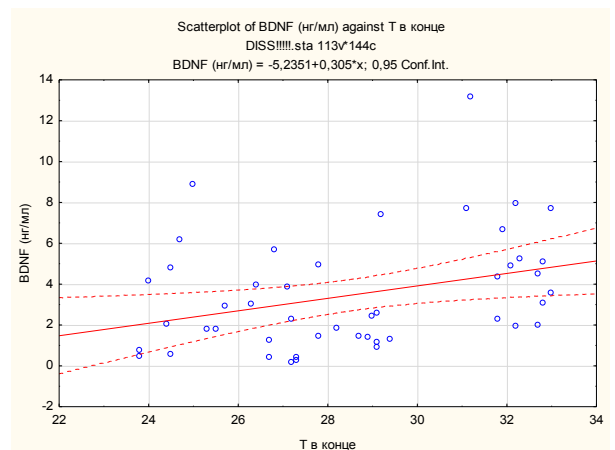


Рисунок 42. Корреляция между температурой конечности и BDNF сыворотки.

В большей степени с показателями нервного проведения было связано сывороточное содержание TrkB. Получена прямая корреляционная связь между TrkB и латентностью малоберцового нерва в дистальном отделе конечности ($R=0,311$, $p=0,001$, рисунок 44), а также обратные зависимости с амплитудой С-ответа ($R=-0,235$, $p=0,023$, рисунок 43) и амплитудой М-ответа малоберцового нерва на протяжении: на уровне лодыжки ($R=-0,246$, $p=0,015$, рисунок 45), под головкой малоберцовой кости ($R=-0,228$, $p=0,024$) и в подколенной ямке ($R=-0,238$, $p=0,024$). Кроме того, получена обратная корреляционная связь амплитуды F-волны и количества TrkB в сыворотке ($R=-0,293$, $p=0,035$).

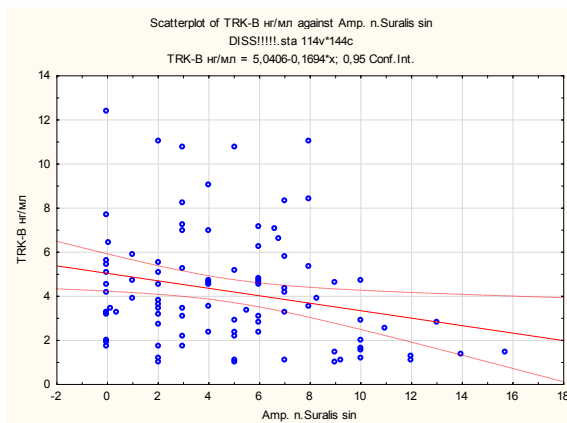


Рисунок 43. Зависимость между С-ответом и TrkB в сыворотке.

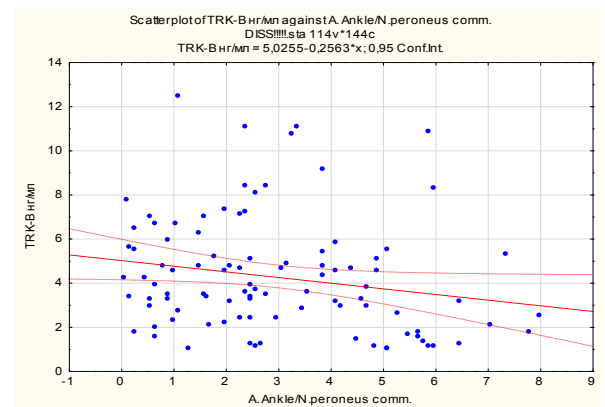


Рисунок 44. Зависимость между М-ответом и TrkB в сыворотке.

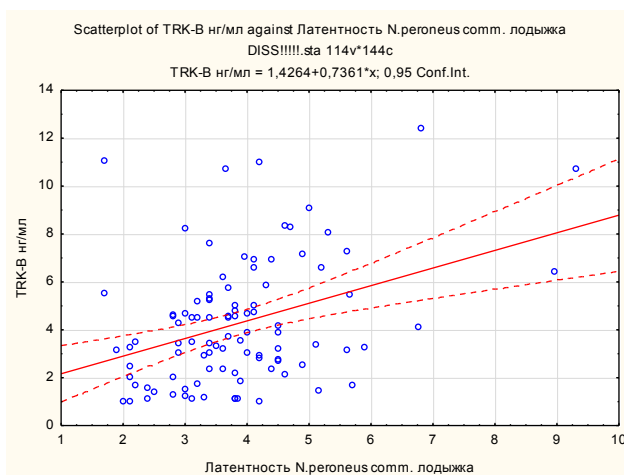


Рисунок 45. Зависимость между резидуальной латентностью и TrkB сыворотки.

Анализ содержания факторов роста и их рецепторов в сыворотке выявил положительную связь между уровнем мозгового нейротрофина и VEGF-A ($R=0,446$, $p=0,000$, рисунок 46), а также VEGFR2 ($R=0,283$, $p=0,004$). Взаимосвязи между содержанием BDNF и его собственного рецептора TrkB не было получено ($R=0,038$, $p=0,706$). В то же время уровень сосудистого фактора роста в сыворотке значимо коррелировал с экспрессией своего рецептора VEGFR2 ($R=0,495$, $p=0,000$, рисунок 47). По результатам статистического анализа содержание TrkB в сыворотке показало положительную корреляционную связь только с уровнем VEGF-A ($R=0,286$, $p=0,004$).

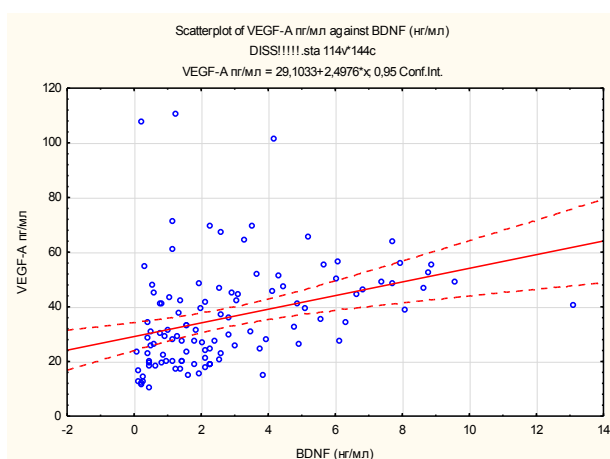


Рисунок 46. Взаимосвязь содержания BDNF и VEGF-A в сыворотке.

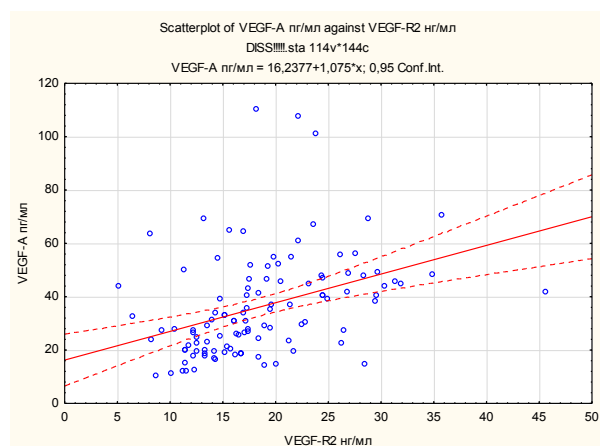


Рисунок 47. Взаимосвязь содержания VEGF-A и VEGFR2 в сыворотке.

4.2 Сравнительный анализ содержания факторов роста и рецепторов в сыворотке пациентов на различных стадиях диабетической полинейропатии.

Средний уровень мозгового нейротрофина у пациентов с субклинической стадией диабетической полинейропатии составил $2,74 \pm 1,89$ нг/мл, что достоверно выше показателя группы контроля ($U=3,317$, $p=0,000$), однако статистически значимо меньше сывороточного BDNF

группы пациентов в стадии клинической манифестации, составившего $4,71 \pm 2,68$ нг/мл ($N=32,025$, $p=0,00$). В группе пациентов с тяжелой стадией ДПН в сыворотке определялся выраженный дефицит мозгового нейротрофического фактора, средний которого составил $0,34 \pm 0,22$ нг/мл, что значимо ниже группы здоровых лиц ($U=-5,117$, $p=0,000$) и групп с субклинической и клинически выраженной полинейропатией ($N=32,025$, $p=0,000$). Сравнительный межгрупповой анализ значений иммуноферментного анализа представлен в таблице 20.

Таблица 20. Сравнительный межгрупповой анализ содержания факторов роста у пациентов на разных стадиях ДПН

Показатель/ Группа	Субклиниче ская стадия	Клинически- манифестирова нная стадия	Тяжелая стадия	Н- критер ий	p- value
BDNF, нг/мл	2,74±1,89	4,70±2,68	0,34±0,23	32,025	0,000
TrkB, нг/мл	4,68±1,93	4,72±2,75	5,11±3,04	0,230	0,891
VEGF-A, пг/мл	37,62±17,10	49,41±28,78	29,62±28,84	12,270	0,002
VEGFR2, нг/мл	20,42±7,69	21,29±8,27	14,89±4,54	6,496	0,038

В среднем количественном содержании рецептора TrkB в сыворотке пациентов всех трех подгрупп не продемонстрировано статистически значимых межгрупповых отличий: в группе субклинической ДПН средний уровень рецептора составил $2,74 \pm 1,89$ нг/мл, в группе клинически выраженной нейропатии - $4,72 \pm 2,75$ нг/мл, в группе с тяжелой стадией - $5,12 \pm 3,04$ нг/мл ($N=0,231$, $p=0,891$).

Уровни васкулоэндотелиального фактора роста в сыворотке пациентов субклинической ($37,62 \pm 17,10$ пг/мл) и клинической стадии ($49,41 \pm 28,78$ пг/мл) значимо не отличались друг от друга, однако были

значимо выше, чем в группе пациентов с тяжелой стадией ДПН, где средний уровень VEGF-A был равен $29,62 \pm 28,84$ пг/мл ($N=12,271$, $p=0,002$).

Уровень сывороточного VEGFR2 у пациентов с субклинической стадией составил $20,42 \pm 7,69$ нг/мл, что статистически не отличалось от соответствующего показателя группы с умеренной клинической ДПН, равного $21,29 \pm 8,27$ нг/мл, и группы с тяжелой формой, где содержание рецептора составило $14,89 \pm 4,54$ нг/мл ($N=6,496$, $p=0,038$).

Примечательно, что содержание TrkB в сыворотке пациентов на поздней стадии ДПН остается высоким и является единственным лабораторным показателем в данной группе, многократно превышающим среднее значение группы контроля ($U=3,585$, $p=0,000$).

Проведение корреляционного анализа в подгруппе пациентов с клинически-манифестированной полинейропатией выявило слабую положительную связь между длительностью заболевания и сывороточными уровнями VEGF-A ($R=0,325$, $p=0,025$, рисунок 48) и VEGFR2 ($R=0,296$, $p=0,042$, рисунок 49), связи с содержанием BDNF ($R=0,268$, $p=0,068$) и TrkB ($R=0,021$, $p=0,885$) в данной подгруппе выявлено не было.

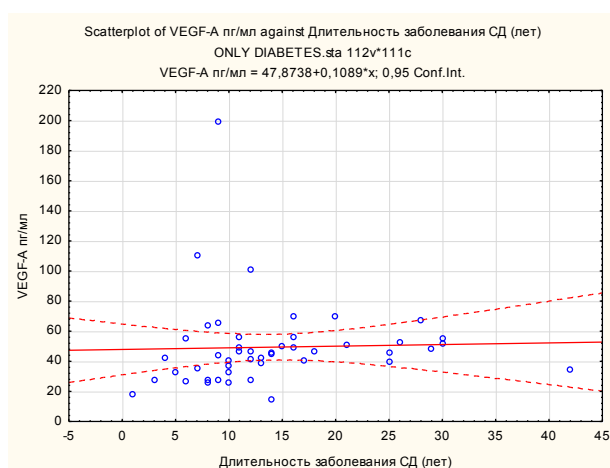


Рисунок 48. Зависимость VEGF-A от длительности заболевания диабетом в группе с манифестированной ДПН.

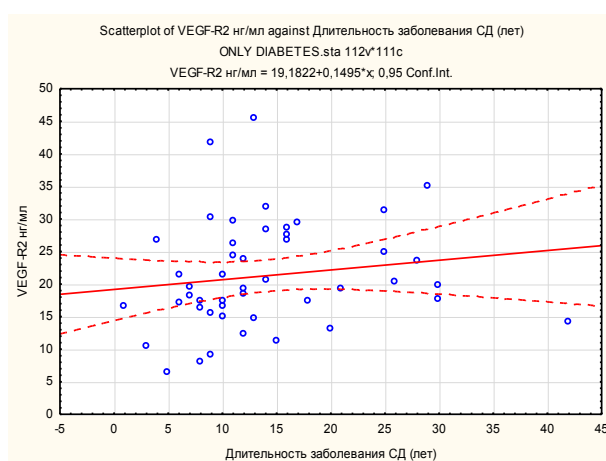


Рисунок 49. Зависимость VEGFR2 от длительности заболевания диабетом в группе с манифестированной ДПН.

В отличие от основной группы пациентов, степень компенсации углеводного обмена в данной группе влияла не на все факторы роста и их рецепторы. Так, получена прямая корреляция гликемии натощак с уровнями BDNF ($R=0,431$, $p=0,002$, рисунок 50). Достоверных корреляций уровня васкулоэндотелиального фактора роста, тирозинкиназных рецепторов с показателями декомпенсации углеводного обмена в данной группе не получено ($p>0,05$).

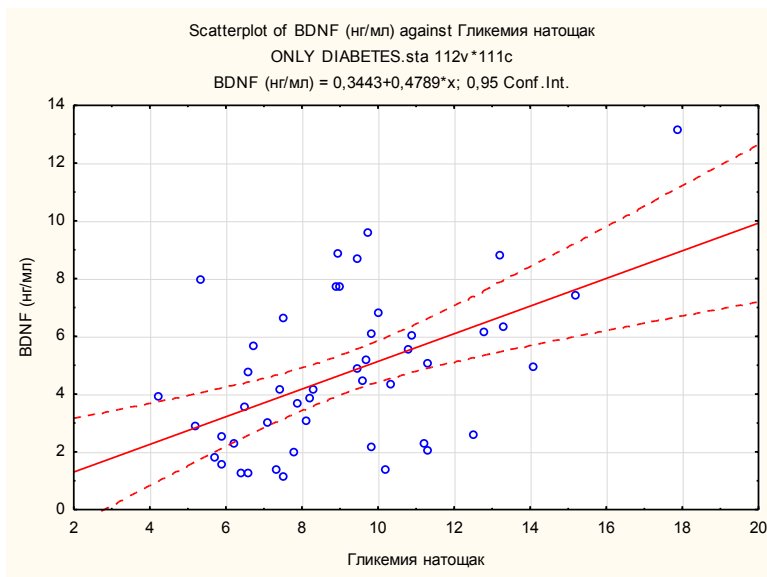


Рисунок 50. Корреляция гликемии натощак и уровня BDNF у пациентов с манифестированной ДПП.

Уровень VEGF-A в группе пациентов с клинически-манифестированной полинейропатией был выше у пациентов с макрососудистыми осложнениями в анамнезе ($p=0,014$, рисунок 51), количество рецептора VEGFR2 значимо не менялось в сыворотке пациентов в зависимости от наличия сосудистых расстройств ($p=0,075$).

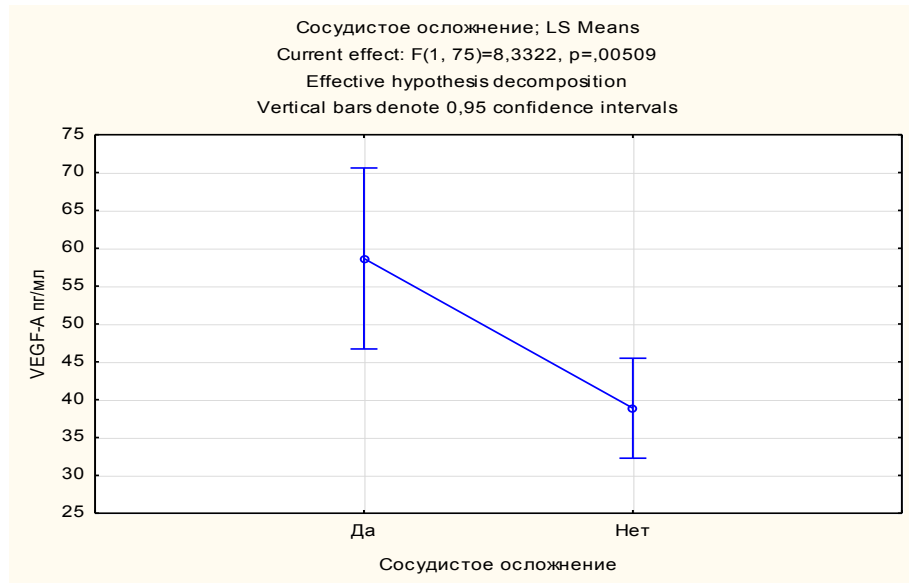


Рисунок 51. Содержание VEGF-A у пациентов в зависимости от наличия в анамнезе макроангиопатических осложнений.

Пропорционально корреляциям основной группы, была получена прямая зависимость выраженности нейропатической боли с уровнем BDNF ($R=0,331, p=0,023$, рисунок 52) и обратная наиболее ярко выраженная в данной группе корреляция с содержанием TrkB в сыворотке ($R=-0,731, p=0,000$, рисунок 53).

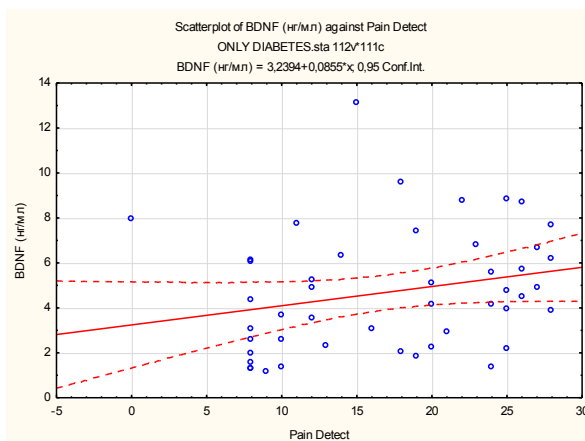


Рисунок 52. Корреляция нейропатической боли и уровня BDNF у пациентов с манифестированной ДПН.

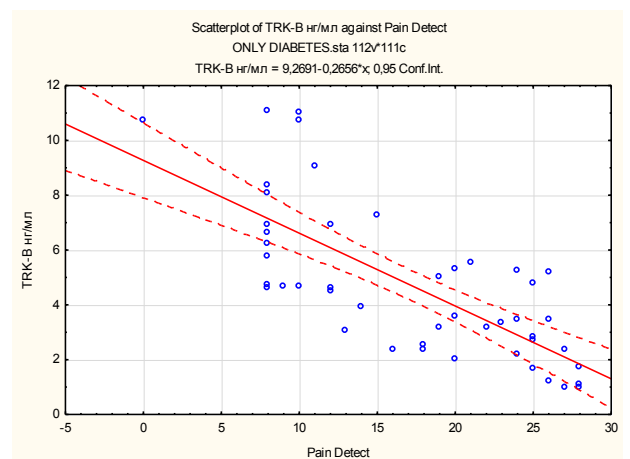


Рисунок 53. Корреляция нейропатической боли и TrkB у пациентов с манифестированной ДПН.

Уровень VEGF-A обратно коррелировал с показателями шкал TSS ($R=-0,289$, $p=0,048$) и NSS ($R=-0,296$, $p=0,043$). Кроме того, уровень TrkB обратно коррелировал со значением опросника NSS ($R=-0,395$, $p=0,039$). Других достоверных корреляционных взаимосвязей между клиническими показателями и содержанием нейротрофинов в ходе статистического анализа не было выявлено ($p>0,05$).

Корреляции между электронейромиографическими показателями и уровнем факторов роста в данной группе имели свои особенности. Подобно основной группе была выявлена прямая связь между уровнем VEGFR2 и температурой конечности ($R=0,345$, $p=0,041$, рисунок 54). В данной группе пациентов не получено корреляции между содержанием васкулоэндотелиального фактора роста и температурой конечности ($R=0,243$, $p=0,157$). Кроме того, в данной группе количественное содержание VEGFR2 обратно коррелировало с амплитудой моторного ответа малоберцового нерва в проксимальных отделах: под головкой малоберцовой кости ($R=-0,346$, $p=0,016$, рисунок 55) и в подколенной ямке ($R=-0,428$, $p=0,006$). На степень аксонопатии в данной подгруппе пациентов уровни BDNF, TrkB и VEGF-A не оказывали существенного влияния ($p>0,05$).

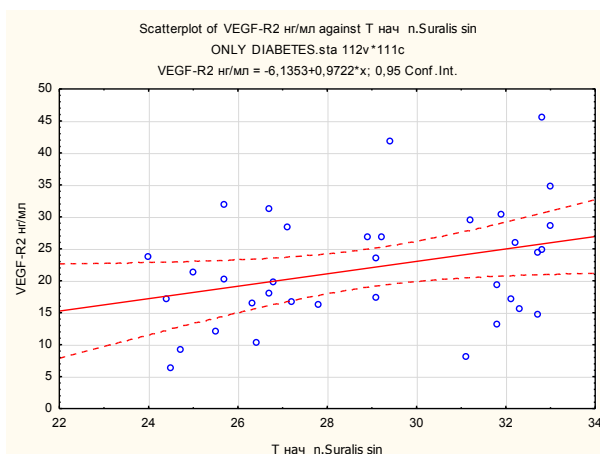


Рисунок 54. Зависимость между VEGFR2 и температурой конечности.

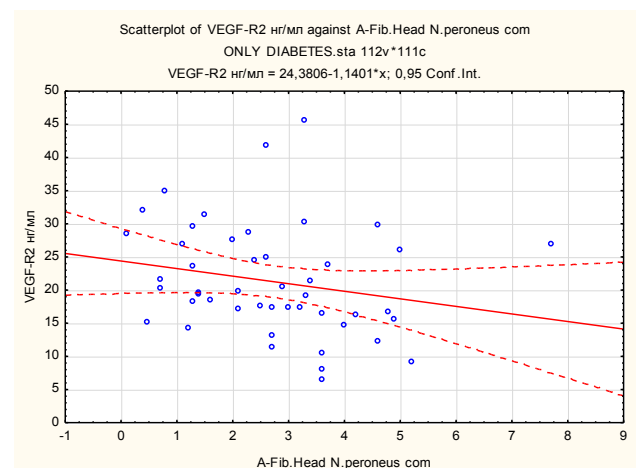


Рисунок 55. Корреляция между VEGFR2 и М-ответом под головкой малоберцовой кости у пациентов с манифестированной ДПН.

По результатам корреляционного анализа в подгруппе пациентов с субклинической стадией ДПН была выявлена положительная корреляционная связь содержания VEGFR2 в сыворотке пациентов от наличия инсулина в терапии ($R=0,612$, $p=0,034$). В данной группе пациентов уровень сывороточной экспрессии VEGFR2 был связан обратной зависимостью со скоростью распространения возбуждения по малоберцовому нерву ($R=-0,618$, $p=0,015$, рисунок 56). Прочих статистически значимых корреляций между другими факторами роста и клиничко-нейрофизиологическими показателями не было получено в данной подгруппе ($p>0,05$).

В группе пациентов на поздней стадии ДПН была получена обратная корреляция между сывороточным уровнем VEGF-A и оценкой клинической симптоматики по шкале NSS ($R=-0,772$, $p=0,005$). Величина латентности малоберцового нерва обратно коррелирует с содержанием VEGFR2 ($R=-0,611$, $p=0,046$, рисунок 57).

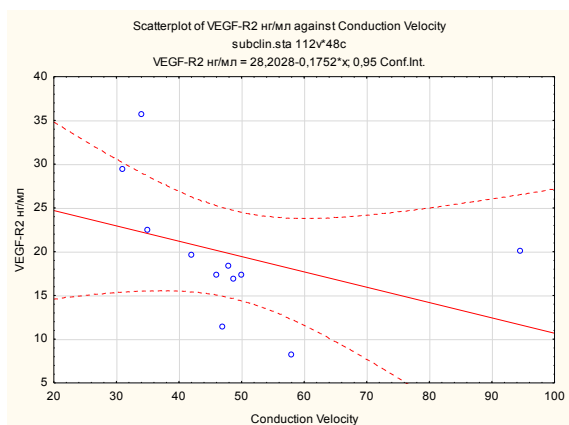


Рисунок 56. Корреляция между VEGFR2 и CPB малоберцового нерва у пациентов с субклинической стадией ДПН.

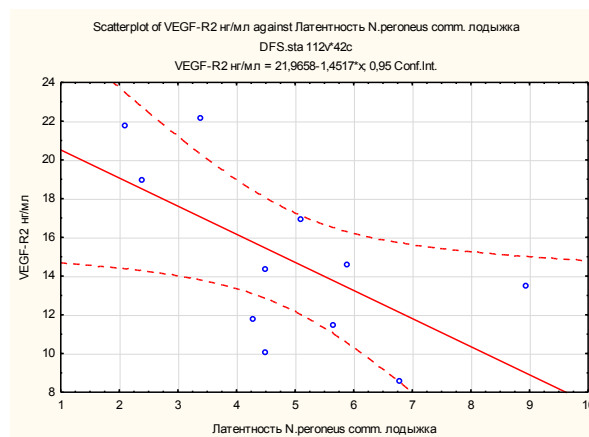


Рисунок 57. Зависимость между уровнем VEGFR2 и латентностью малоберцового нерва в дистальном отделе.

4.3 Содержание факторов роста и их рецепторов в сыворотке пациентов с нарушением толерантности к глюкозе и признаками полинейропатии нижних конечностей

Уровень сывороточного BDNF у пациентов с нарушением толерантности к глюкозе и признаками полинейропатии оказался выше, чем у пациентов группы контроля ($U=3,081$, $p=0,002$) и составил $2,18\pm 0,74$ нг/мл. Данный показатель статистически не отличался от группы лиц с полинейропатией при сахарном диабете, где уровень BDNF равнялся в среднем $3,83\pm 2,79$ нг/мл ($H=18,919$, $p=0,000$). Подобным образом продемонстрировано повышение содержания TrkB в сыворотке пациентов с полинейропатией при НТГ, составившее $3,97\pm 2,02$ нг/мл, по сравнению с группой контроля ($1,66 \pm 0,63$ нг/мл), однако значимых отличий от группы лиц с полинейропатией при сахарном диабете не получено ($4,66\pm 2,53$ нг/мл, $H=23,072$, $p=0,000$).

Напротив, среднее содержание васкулоэндотелиального фактора роста в сыворотке пациентов с полинейропатией при НТГ, составившее $25,33\pm 8,22$ пг/мл, не отличалось от контрольной группы ($25,22\pm 12,86$ пг/мл), но было значительно ниже, чем в группе лиц с сахарным диабетом и ДПН ($45,75\pm 27,63$ пг/мл, $H=21,975$, $p=0,000$). По аналогии, уровень рецептора VEGFR2 в сыворотке пациентов с НТГ составил $15,04\pm 4,86$ нг/мл, что не имело значимых отличий от группы здоровых лиц ($16,59\pm 4,53$ нг/мл), но было статистически меньше группы лиц с полинейропатией при СД ($20,58\pm 7,82$ нг/мл, $H=10,061$, $p=0,006$). Анализ количественного содержания факторов роста и рецепторов в сыворотке пациентов сравниваемых групп представлен в таблице 21.

Таблица 21. Сравнительное содержание нейротрофических факторов и рецепторов у пациентов с полинейропатией (ПН) при НТГ, при СД и у лиц контрольной группы

Показатель/ Группа	Группа контроля	Пациенты с ПН при НТГ	Пациенты с ДПН при СД	Н- критерий	p-value
BDNF, нг/мл	1,07±0,64	2,18±0,74	3,83±2,79	18,919	0,000
TrkB, нг/мл	1,66 ± 0,63	3,97±2,02	4,66±2,53	23,072	0,000
VEGF-A, пг/мл	25,22±12,86	25,33±8,22	45,75±27,63	21,975	0,000
VEGFR2, нг/мл	16,59±4,53	15,04±4,86	20,58±7,82	10,061	0,006

В ходе проведения корреляционного анализа в данной группе пациентов выявлена прямая зависимость между индексом массы тела и содержанием TrkB ($R=0,595$, $p=0,031$, рисунок 58). Уровень гликированного гемоглобина положительно коррелировал с содержанием VEGF-A в сыворотке ($R=0,561$, $p=0,045$, рисунок 59).

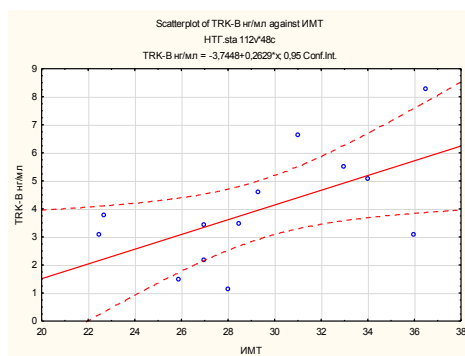


Рисунок 58. Зависимость между ИМТ и содержанием TrkB в сыворотке.

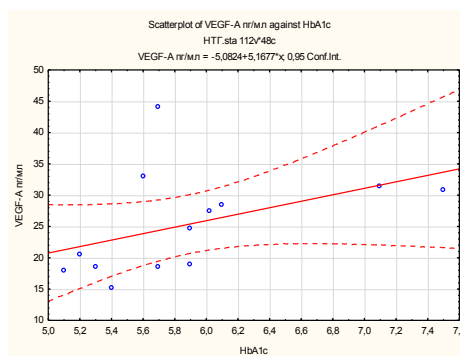


Рисунок 59. Зависимость между уровнями HbA1c и VEGF-A.

Интенсивность болевой симптоматики по PainDetect имела обратную корреляционную зависимость с содержанием TrkB ($R=-0,586$, $p=0,035$, рисунок 60). Зависимости от уровня BDNF не получено ($R=0,341$, $p=0,0254$). Была выявлена обратная корреляционная связь между уровнем BDNF и скоростью НП по малоберцовому нерву ($R=-0,673$, $p=0,011$, рисунок 61).

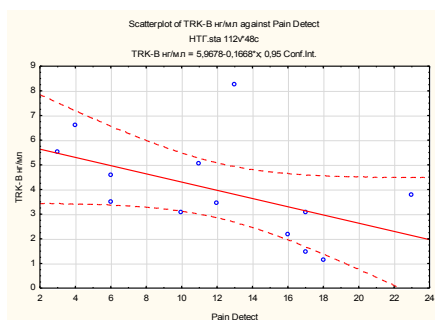


Рисунок 60. Зависимость между нейропатической болью и TrkB в сыворотке пациентов с НТГ и признаками полинейропатии.

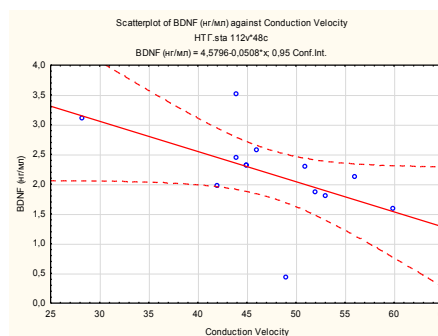


Рисунок 61. Корреляция между СРВ и уровнем BDNF у пациентов с НТГ и полинейропатией.

В данной группе пациентов получена обратная корреляция между содержанием BDNF и TrkB в сыворотке ($R=-0,707$, $p=0,007$).

4.4 Выявление факторов, влияющих на количественное содержание факторов роста и рецепторов с тирозинкиназной активностью

Далее приведена графическая сравнительная оценка содержания нейротрофических факторов и рецепторов с тирозинкиназной активностью в сыворотке пациентов на разных стадиях диабетической полинейропатии (см рисунки 62-65).

Мозговой нейротрофический фактор увеличивается в сыворотке на ранней стадии диабетической полинейропатии, достигает максимума в

стадии развернутой клинической симптоматики и находится в выраженном дефиците на поздней стадии при развитии синдрома диабетической стопы.

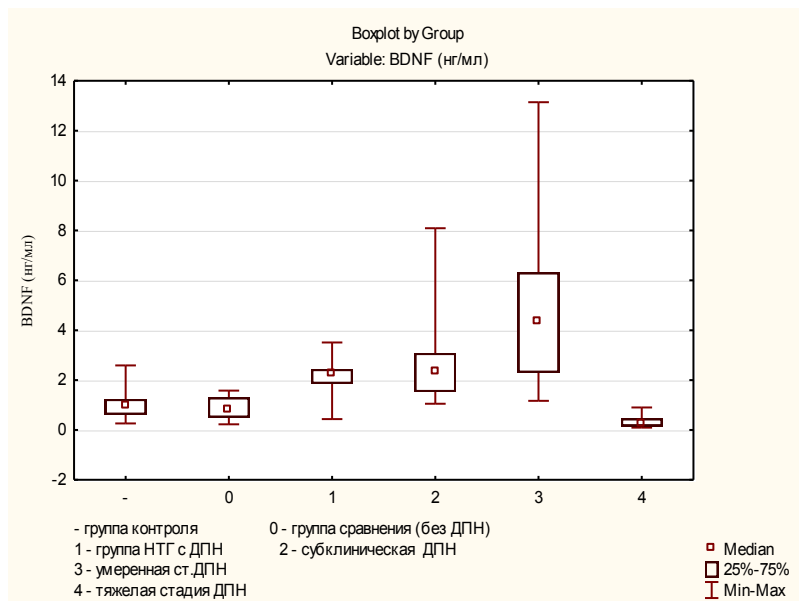


Рисунок 62. Сравнительное содержание BDNF у пациентов исследованных групп.

Содержание тропомиозинового рецептора киназы типа В увеличивается в сыворотке на ранней стадии ДПН и остается стабильно высоким на всех стадиях.

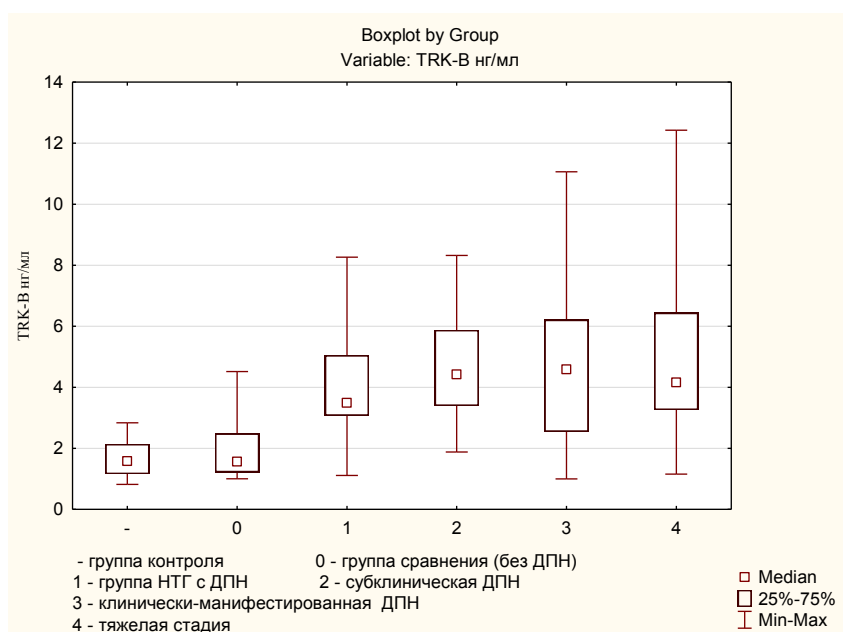


Рисунок 63. Сравнительное содержание TrkB у пациентов исследованных групп.

На ранней стадии ДПН также происходит увеличение сывороточного содержания васкулоэндотелиального фактора роста, которое становится максимальным на стадии клинической манифестации и снижается с развитием синдрома диабетической стопы.

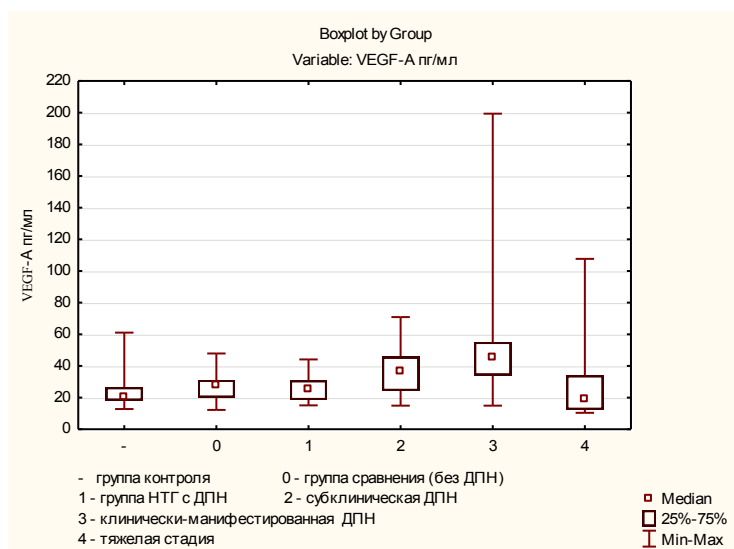


Рисунок 64. Сравнительное содержание VEGF-A у пациентов исследованных групп.

Рецептор васкулоэндотелиального фактора роста в сыворотке достоверно увеличивается только в стадии клинической манифестации.

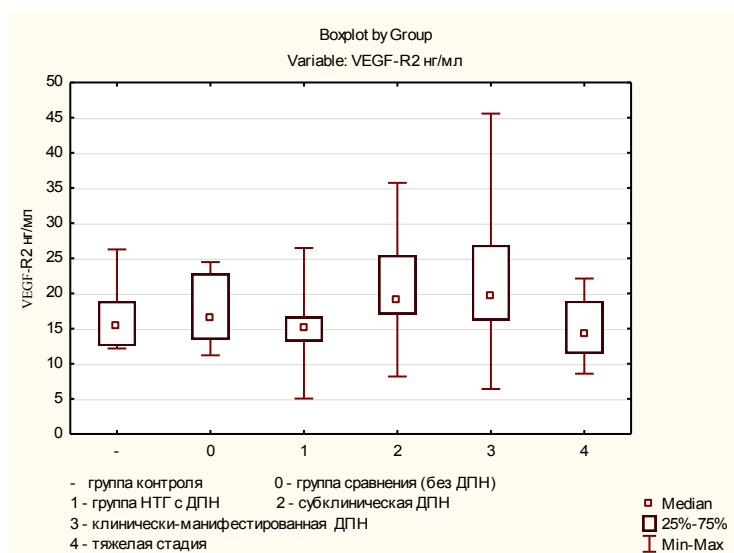


Рисунок 65. Сравнительное содержание VEGFR2 у пациентов исследованных групп.

Обобщая результаты корреляционного анализа между содержанием BDNF и различными показателями во всех исследованных подгруппах, выявлено, что длительность сахарного диабета, уровень гликемии натощак, назначение инсулина в терапии диабета, количество васкулоэндотелиального фактора роста и его рецептора являются факторами, влияющими на содержание мозгового нейротрофина (рисунок 66).

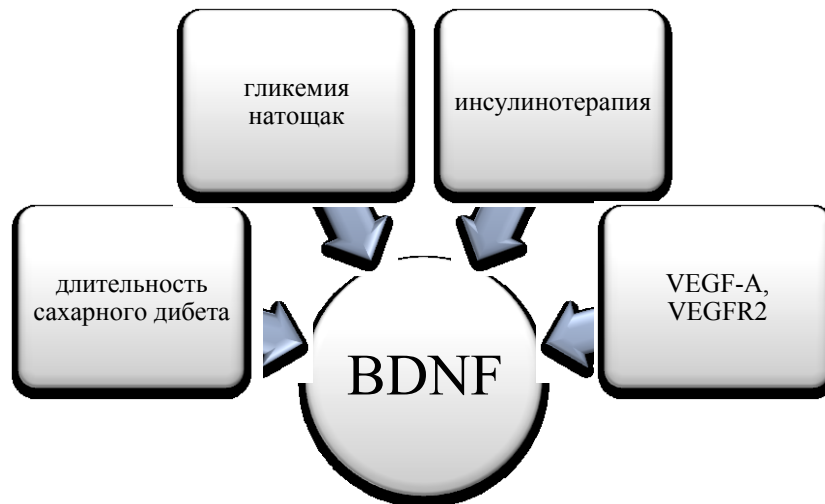


Рисунок 66. Корреляции между содержанием BDNF и независимыми параметрами.

Сам мозговой нейротрофин в свою очередь коррелирует с выраженностью нейропатической боли, степенью неврологического дефицита, количественно выраженной в шкале NDS, уровнем демиелинизации нервного волокна (СРВ и латентность малоберцового нерва) и температурой конечности при измерении нервной проводимости, как показано на рисунке 67.

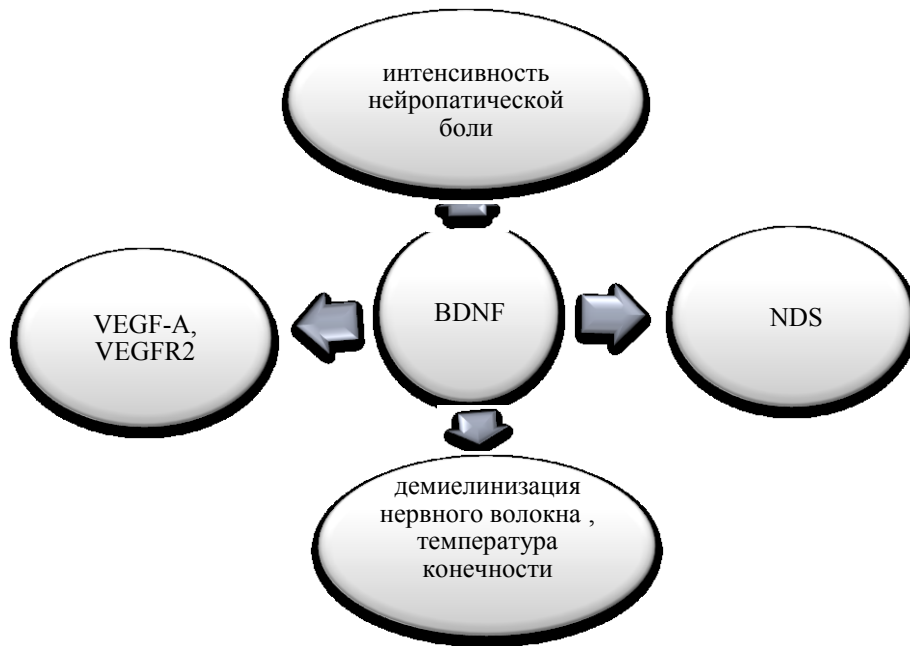


Рисунок 67. Корреляции мозгового нейротрофина с клинико-нейрофизиологическими параметрами.

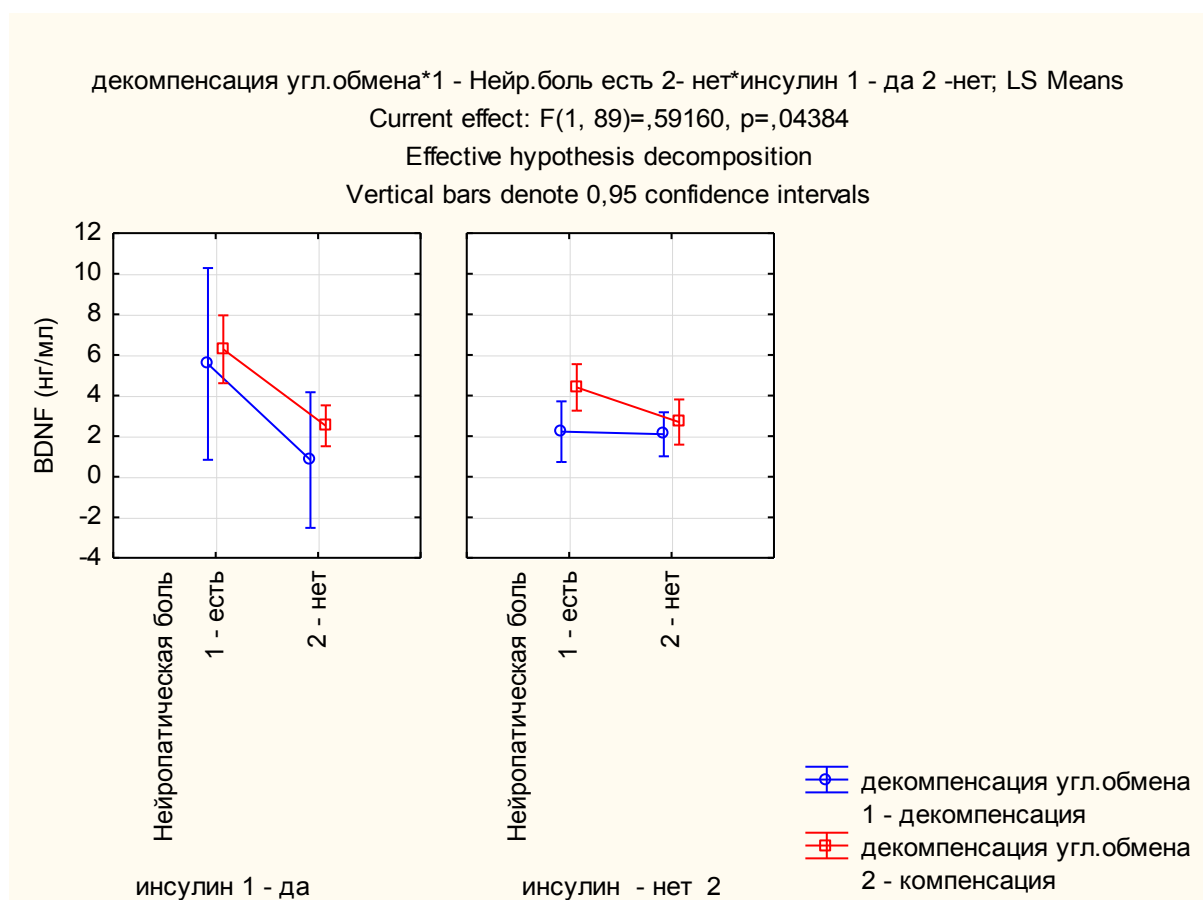


Рисунок 68. График зависимости BDNF от нейропатической боли, углеводного обмена и назначения инсулина в терапии.

Из графика, представленного на рисунке 68, следует, что уровень BDNF выше у пациентов с болевой формой ДПН при декомпенсированном диабете и наличии инсулина в терапии. Оценка качества модели приведена в таблице 22. Значение $R^2=0,445$ свидетельствует об учете порядка 44,5% факторов, влияющих на содержание BDNF в сыворотке, представленная модель статистически достоверна ($p=0,000$).

Таблица 22. Оценка качества модели ANOVA

	Multiple - R	Multiple – R ²	Adjusted – R ²	SS - Model	p
BDNF (нг/мл)	0,495	0,445	0,185	163,628	0,000

Проанализировано влияние инсулинотерапии на количество мозгового нейротрофина в зависимости от длительности диабета и компенсации гликемии. В данной модели длительность течения сахарного диабета условно подразделена на три периода: от 1 до 5 лет, от 6 до 15 лет и свыше 16 лет. Наличие инсулина в терапии при декомпенсации углеводного обмена связано с более высоким количеством мозгового нейротрофического фактора у пациентов при длительном течении диабета (>16лет), впрочем, гипотеза несправедлива для средней длительности заболевания (в диапазоне 6-15лет), как показано на рисунке 69. Проверка гипотезы представлена в таблице 23, более половины факторов ($R^2=0,565$, $p=0,000$) учтено при создании модели ANOVA.

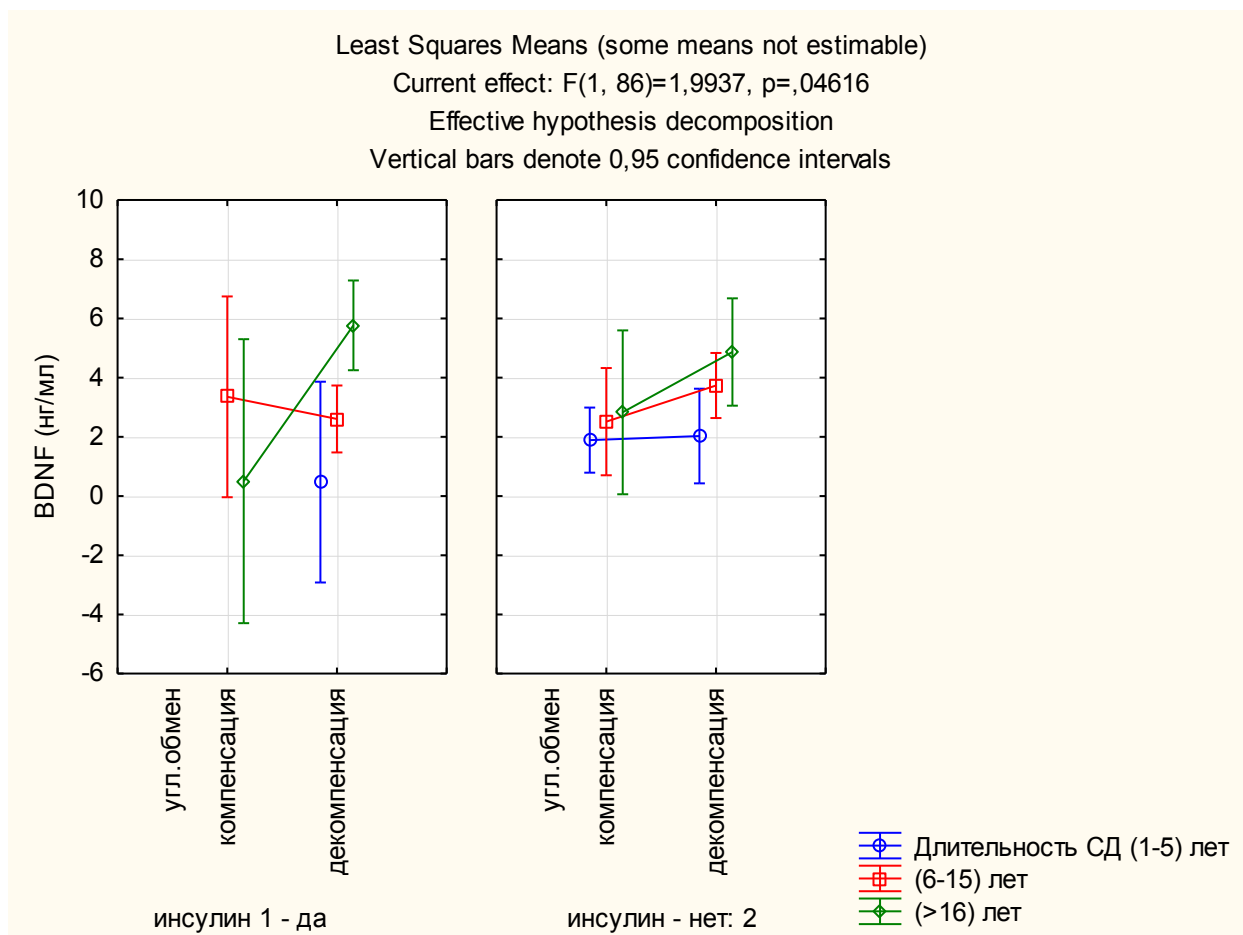


Рисунок 69. График зависимости BDNF от длительности диабета, компенсации гликемии и наличия инсулинотерапии.

Таблица 23. Оценка качества модели ANOVA

	Multiple - R	Multiple – R ²	Adjusted – R ²	SS - Model	p
BDNF (нг/мл)	0,604	0,565	0,282	243,591	0,000

Содержание тропомиозинового рецептора киназы типа В в сыворотке пациентов на разных стадиях ДПН коррелирует со степенью декомпенсации углеводного обмена, интенсивностью нейропатической боли, выраженностью клинической симптоматики и аксонально-демиелинизирующих изменений по ЭНМГ, в меньшей степени с индексом

массы тела, а также с уровнем васкулоэндотелиального фактора роста (рисунок 70).

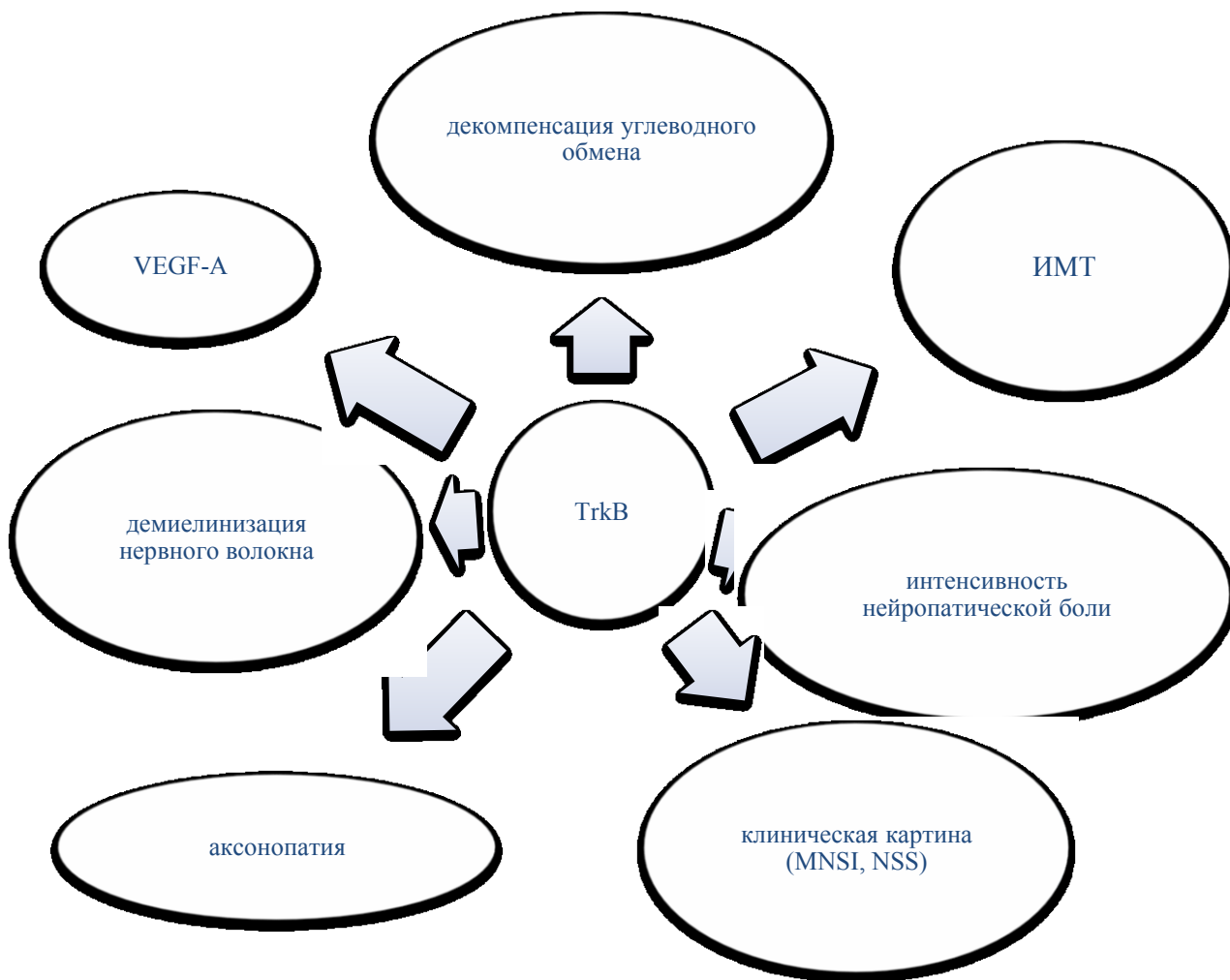


Рисунок 70. Корреляции количества TrkB с клинико-anamнестическими и нейрофизиологическими данными.

Исходя из графиков, приведенных на рисунке 71, наиболее важным фактором, влияющим на содержание TrkB в сыворотке, является нейропатический компонент боли. В частности, у пациентов с безболевогой формой нейропатии количество TrkB значительно выше, при наличии нейропатической боли рецептор был обнаружен в сыворотке в минимальных количествах. В меньшей степени рецептор зависим от декомпенсации углеводного обмена, гипотеза равноценно справедлива как в дебюте сахарного диабета, так и при длительности течения заболевания свыше 16 лет.

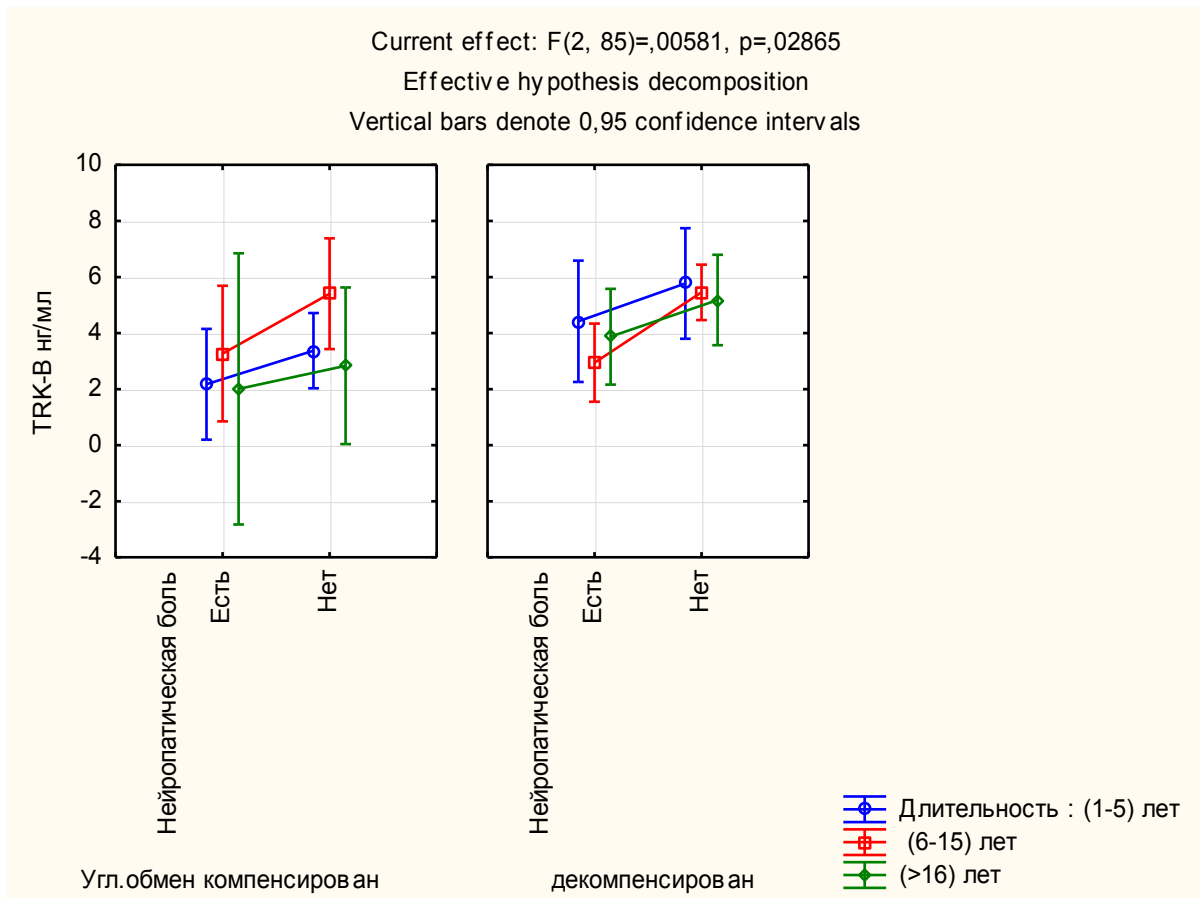


Рисунок 71. График зависимости содержания *TrkB* от длительности диабета, углеводного обмена и наличия нейропатической боли.

Согласно рассчитанному значению $R^2=0,513$ при проверке достоверности модели, практически половина факторов (51,3%) влияющих на содержание *TrkB*, учтена в данной модели ($p=0,028$), подробный анализ представлен в таблице 24.

Таблица 24. Анализ приемлемости модели ANOVA

	Multiple - R	Multiple – R^2	Adjusted – R^2	SS - Model	p
TRK-B нг/мл	0,462	0,513	0,111	136,811	0,028

Корреляционный анализ исследованных подгрупп выявил наличие взаимосвязи уровня сывороточного васкулоэндотелиального фактора роста и длительностью диабета, степенью декомпенсации углеводного обмена, степенью неврологического дефицита по NDS, перенесенными нарушениями мозгового кровообращения, температурой конечности при оценке нервной проводимости и уровнем сывороточного мозгового нейротрофина и собственного рецептора VEGFR2 (см. рисунок 72).

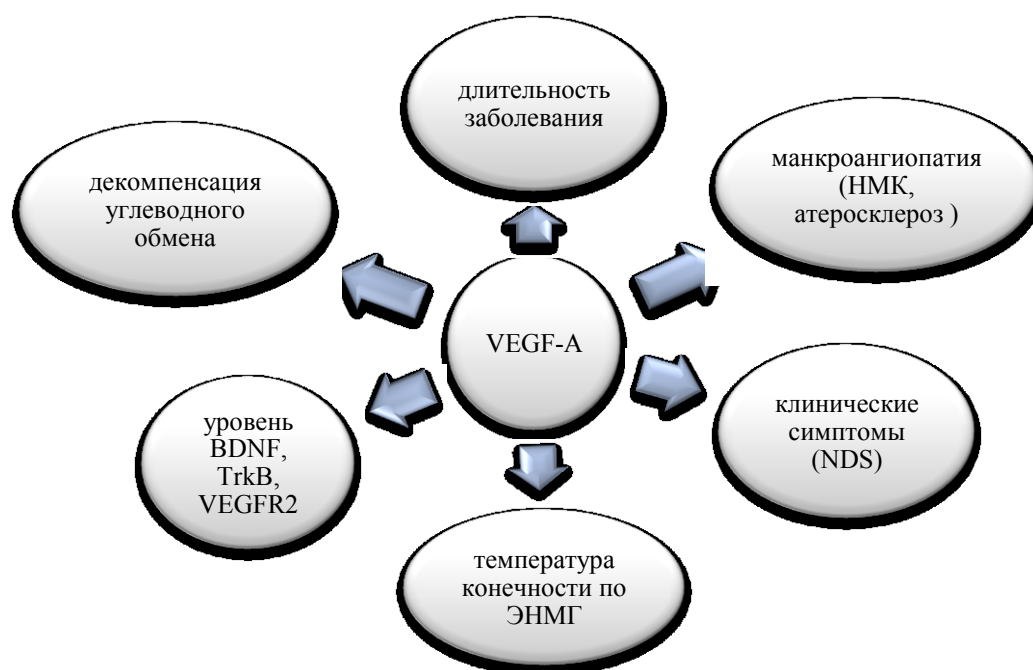


Рисунок 72. Корреляции VEGF-A и клиничко-анамнестических, нейрофизиологических показателей.

На графике, представленного на рисунке 73, продемонстрировано, что уровень VEGF-A достоверно выше в сыворотке пациентов с имеющимся макроангиопатическими осложнениями, что наглядно проявляется при средней длительности заболевания диабетом (6-15 лет) и зависит от декомпенсации углеводного обмена.

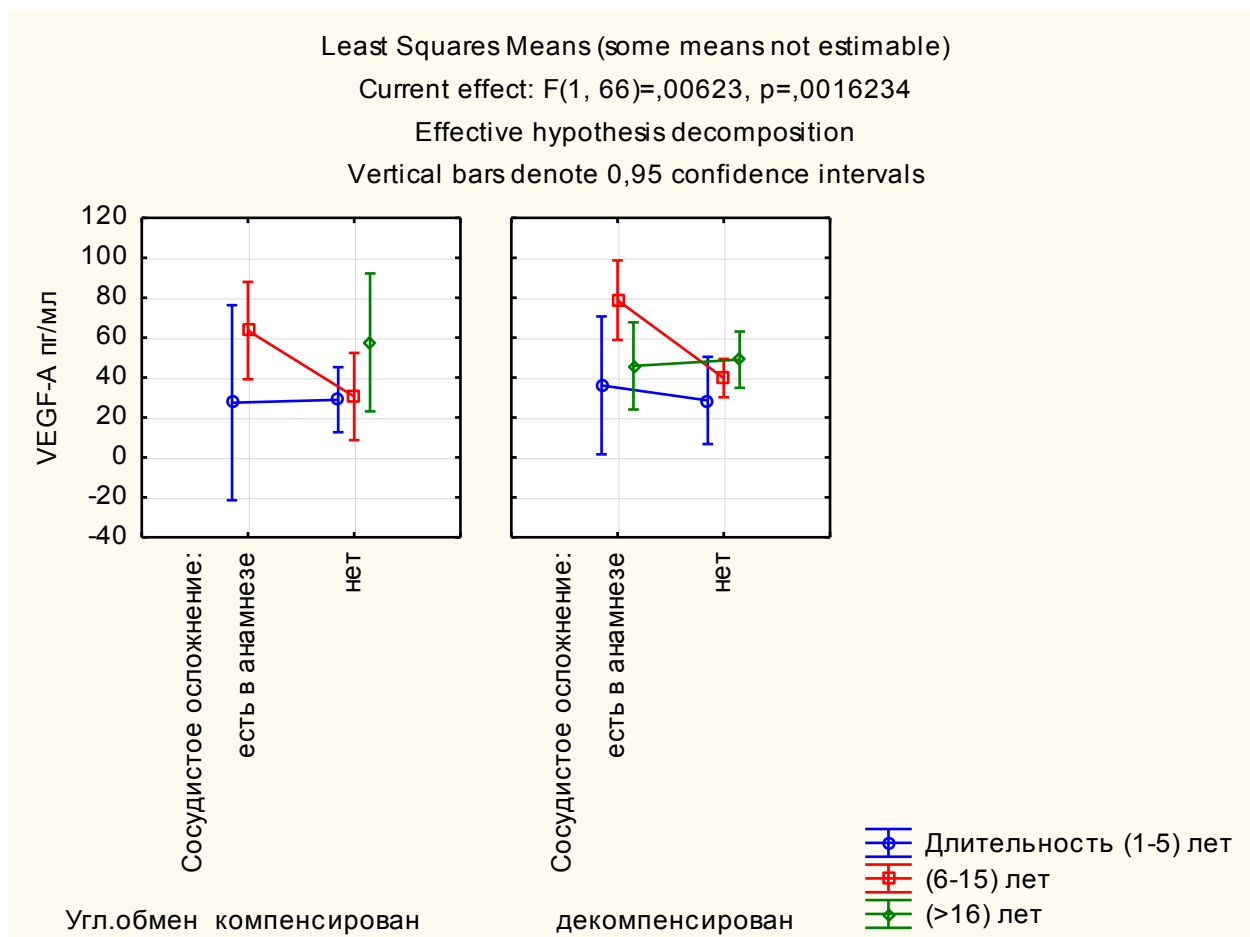


Рисунок 73. График зависимости содержания VEGF-A в зависимости от наличия перенесенного НМК, длительности диабета и углеводного обмена.

Анализ достоверности модели представлен в таблице 25. Значение $R^2=0,467$ свидетельствует об учете 46,7% факторов, способных повлиять на содержание сосудистого фактора роста в сыворотке, значение $p=0,016$ свидетельствует о достоверности модели.

Таблица 25. Анализ приемлемости модели ANOVA

	Multiple - R	Multiple – R ²	Adjusted – R ²	SS - Model	p
VEGF-A пг/мл	0,517672	0,467	0,157	14465,40	0,016

Длительность сахарного диабета влияла также на содержание VEGFR2, уровень последнего коррелировал с выраженностью неврологического дефицита по шкале NDS, температурой конечности и аксонально-демиелинизирующими показателями, см. рисунок 74.

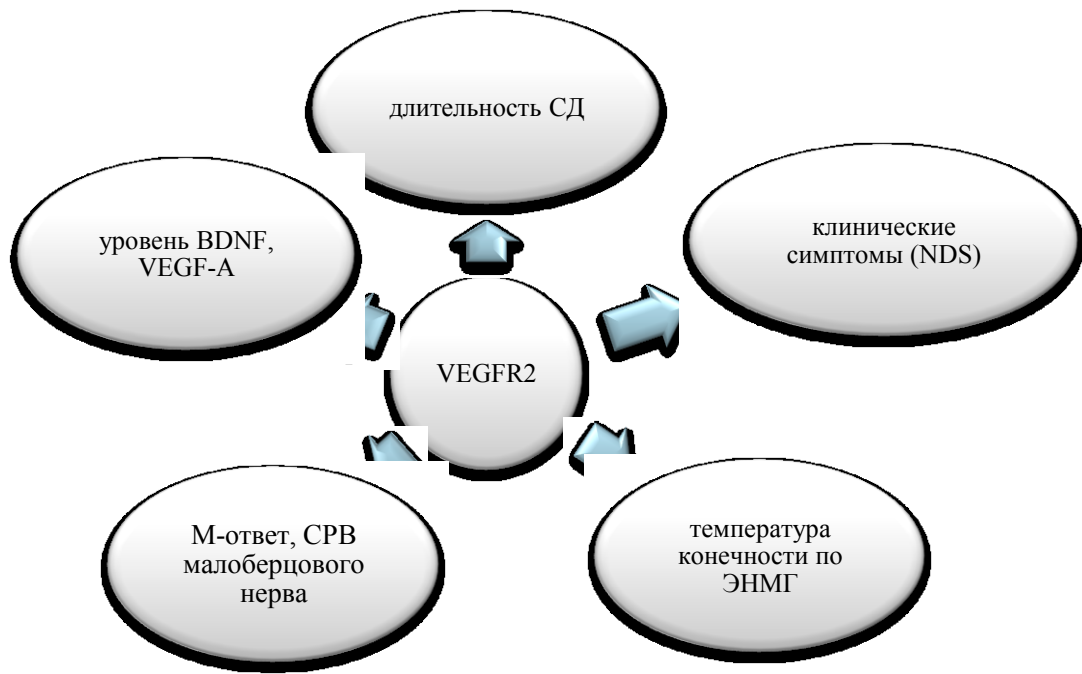


Рисунок 74. Корреляции VEGFR2 и клиничко-anamнестических, нейрофизиологических показателей.

Наличие в анамнезе сосудистых расстройств также потенциально может влиять на уровень VEGFR2 (см рисунок 75), однако каких-либо статистически достоверных корреляций при проверке достоверности модели ANOVA не получено ($p=0,182$), подробный анализ представлен в таблице 26.

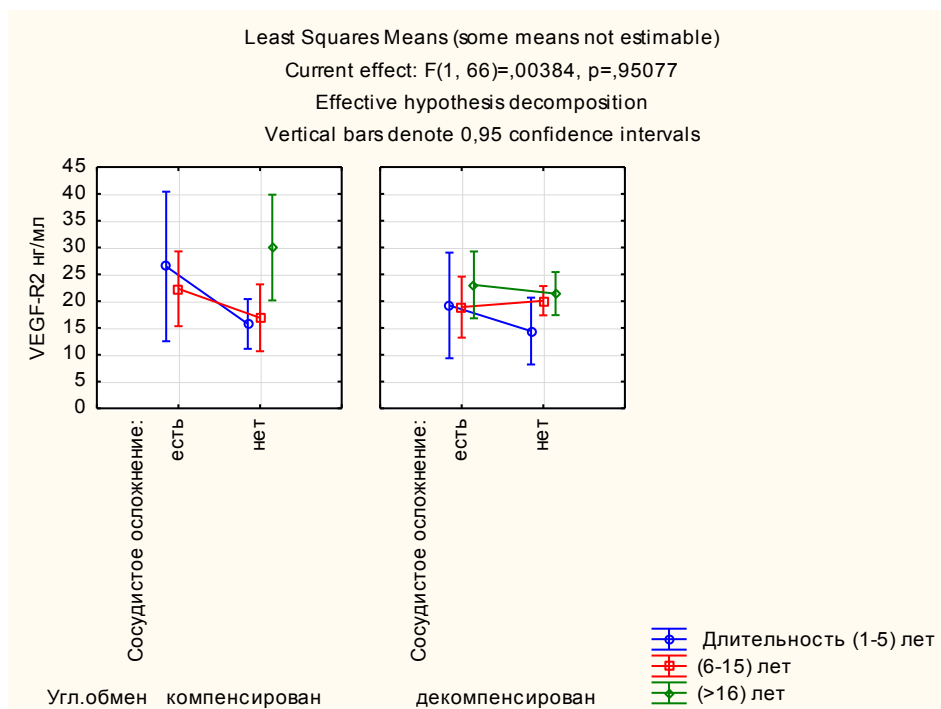


Рисунок 75. График зависимости содержания VEGFR2 от длительности заболевания, углеводного обмена и наличия сосудистых катастроф в анамнезе.

Таблица 26. Анализ приемлемости модели ANOVA

	Multiple - R	Multiple – R ²	Adjusted – R ²	SS - Model	p
VEGF-R2 нг/мл	0,423	0,179	0,054	702,849	0,182

4.5 Расчет и оценка прогностической значимости нейротрофических факторов и рецепторов с тирозинкиназной активностью в отношении диабетической полинейропатии

Повышение экспрессии мозгового нейротрофического, васкулоэндотелиального факторов роста и рецептора с тирозинкиназной активностью TrkB в сыворотке на ранних стадиях развития диабетической полинейропатии и их зависимость от степени компенсации углеводного

обмена позволили разработать формулу регрессионной модели, с помощью которой можно спрогнозировать развитие полинейропатии.

Расчет коэффициентов модели представлен в таблице 27.

Таблица 27. Расчет коэффициентов множественной линейной регрессии

	b*	Std.Err. - of b*	b	Std.Err. - of b	p-value
Intercept			-0,262	0,089	0,004
BDNF (нг/мл)	0,313	0,073	0,054	0,012	0,000
TRK-B нг/мл	0,547	0,076	0,085	0,012	0,000
VEGF-A пг/мл	0,319	0,075	0,002	0,001	0,007
Гликемия натошак	0,210	0,0713	0,031	0,008	0,000

Как видно из таблицы 27, коэффициент детерминации $R^2=0,695$, следовательно, порядка 69,5% независимых факторов учтено в регрессионной модели. Дальнейшая проверка гипотез включала построение графика нормальной вероятности остатков, представленного на рисунке 76. Систематических отклонений фактических данных от теоретической нормальной прямой не наблюдается, следовательно, остатки распределены нормально, что свидетельствует о достоверности модели.

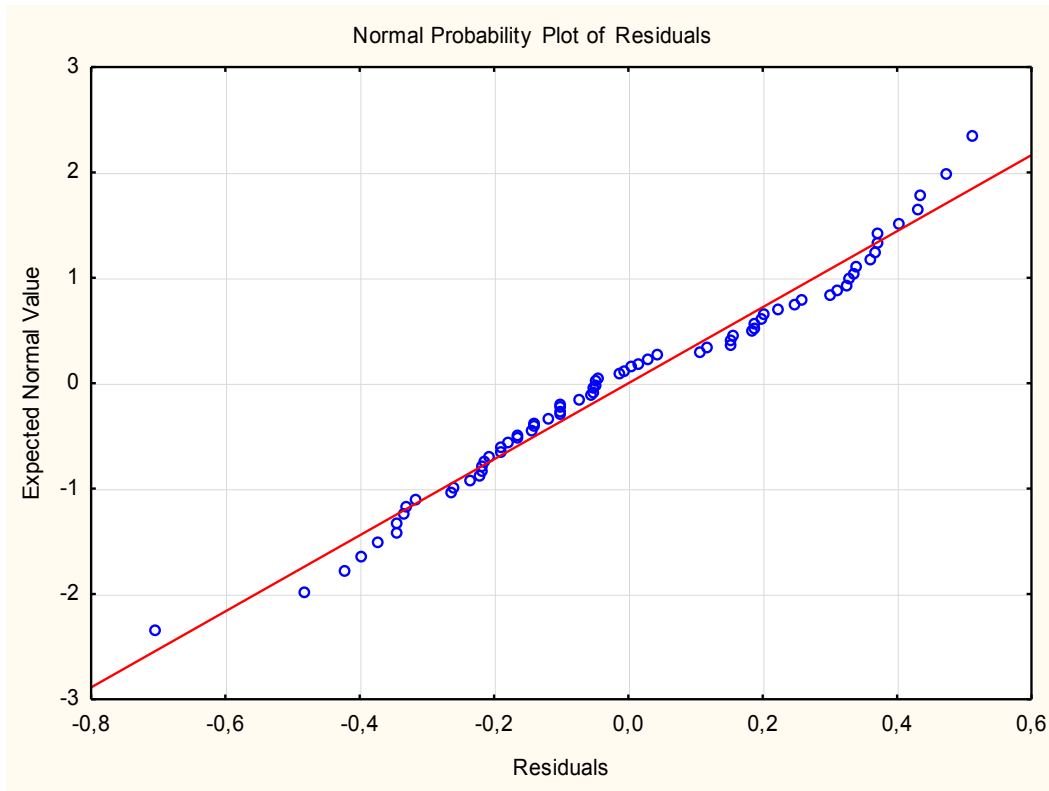


Рисунок 76. График нормальной вероятности остатков.

Оценка приемлемости модели произведена методом ANOVA, уровень значимости p-value составил 0,000, что подтверждает статистическую достоверность разработанной модели. Расчет данных ANOVA представлен в таблице 28.

Таблица 28. Расчет показателей ANOVA

Analysis of Variance; DV: (DIS.sta)					
	Sums of - Squares	df	Mean - Squares	F	p-value
Regress.	11,737	4	2,934	38,26789	0,000
Residual	5,137	67	0,076		
Total	16,875				

На основании данной модели предложен метод диагностики субклинической стадии ДПН, согласно которому в сыворотке пациента с нарушением углеводного обмена определяют уровни высокоспецифичного тропомиозинового рецептора киназы (TrkB), мозгового нейротрофина, васкулоэндотелиального фактора роста и уровень гликемии натощак, рассчитывают коэффициент по формуле $K=0,2*Glu+0,55*TrkB+0,3*(BDNF/VEGF)$, где K – коэффициент, 0,2 – константа регрессии, Glu – уровень глюкозы крови, 0,55 – константа регрессии, TrkB – сывороточный уровень тропомиозинового рецептора киназы типа B, 0,3 – константа регрессии, BDNF – сывороточный уровень мозгового нейротрофического фактора, VEGF – сывороточный уровень васкулоэндотелиального фактора роста, и при значении коэффициента $K>4,5$ диагностируют субклиническую стадию диабетической полинейропатии.

Данный способ был апробирован при исследовании 25 человек с различными формами нарушения углеводного обмена. Среди них 15 пациентов с сахарным диабетом 2 типа длительностью менее 2 лет и 10 человек с нарушением толерантности к глюкозе, выявленным впервые. Группу контроля составили 14 практически здоровых лиц, сходных по полу и возрасту основной группе. Среди 18 пациентов был выявлен коэффициент свыше 4,5, что соответствовало признакам легкой и умеренной нейропатии по данным электронейромиографического исследования. У 21 обследованного, в том числе у всех пациентов группы контроля, коэффициент K находился в диапазоне менее 4,5, среди них не обнаружено признаков нейропатии электрофизиологически. Количество ложноотрицательных результатов – 1, ложноположительных – 0. Чувствительность метода составила 95%, специфичность 100%, точность метода – 97,56%.

Выявление корреляционных зависимостей между содержанием TrkB в сыворотке, уровнем гликированного гемоглобина и основными

показателями демиелинизации нервного волокна (по уровню резидуальной латентности и СРВ) послужили основой для разработки регрессионной модели, представленной формулой $K=0,3*HbA1C+0,4*TrkB$, где K – коэффициент регрессионной модели, 0,3 – константа регрессии, HbA1C – уровень гликированного гемоглобина, 0,4 – константа регрессии, TrkB – сывороточный уровень тропомиозинового рецептора киназы типа В. Коэффициент регрессионной модели $K=5$ и выше свидетельствует о выраженном аксонально-демиелинизирующем повреждении нервных волокон, на основании чего предложен способ прогнозирования тяжелого течения ДПН и развития СДС.

Вычисление коэффициентов регрессионной модели представлено в таблице 29. Коэффициент детерминации R^2 равен 0,680, что свидетельствует об учете 68% независимых факторов в создании модели.

Таблица 29. Расчет коэффициентов регрессионной модели

Regression Summary for Dependent Variable: (DISS.sta) R= ,824 R²= ,680 Adjusted R²= ,663 F(2,37)=39,375					
	b*	Std.Err. - of b*	b	Std.Err. - of b	p-value
Intercept			-0,426	0,131	0,002
HbA1c	0,310	0,107	0,065	0,020	0,003
TRK-B нг/мл	0,401	0,107	0,105	0,018	0,000

Проверка распределения остатков не показала статистических отклонений фактических данных от теоретической прямой, анализ распределения представлен на рисунке 77.

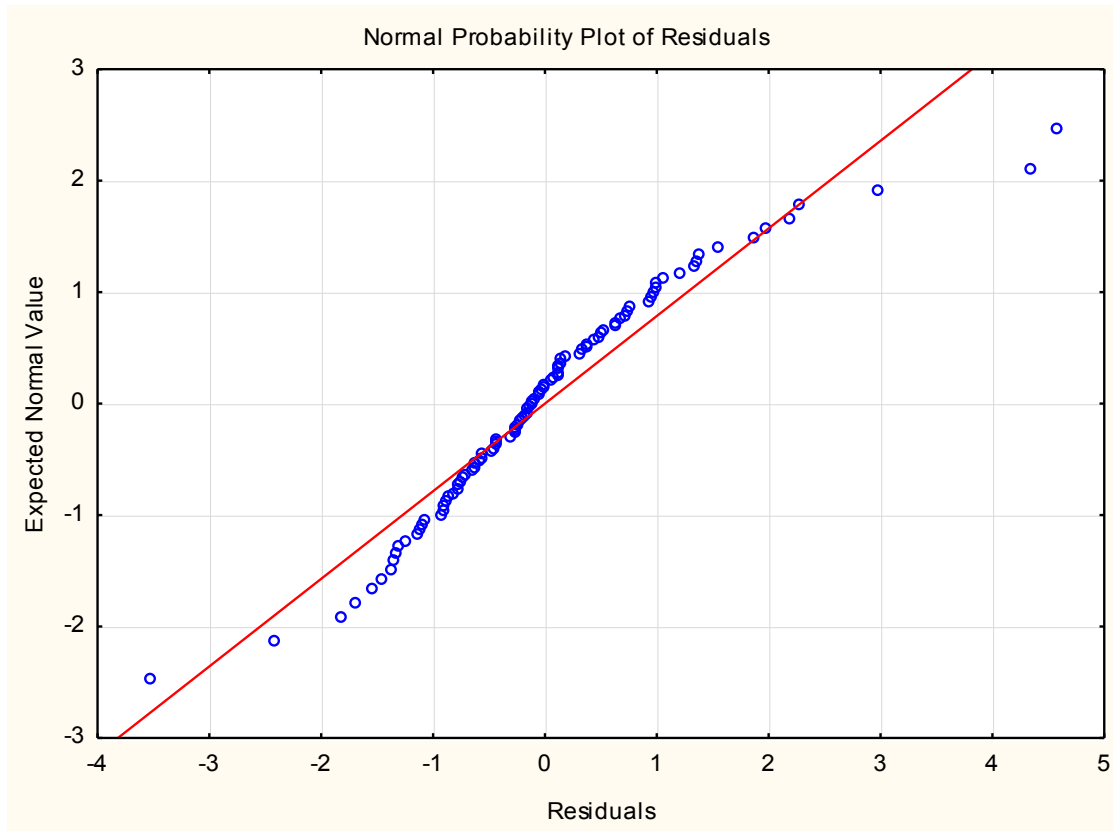


Рисунок 77. График нормальной вероятности остатков.

Уровень значимости p-value при оценке модели методом ANOVA составил 0,000, что свидетельствует о приемлемости модели (таблица 30).

Таблица 30. Расчет показателей ANOVA

Analysis of Variance; DV: NewVar (DIS.sta)					
	Sums of - Squares	df	Mean - Squares	F	p-value
Regress.	6,378	2	3,189	39,375	0,000
Residual	2,996	37	0,080		
Total	9,375				

Полученный на основании данной модели способ диагностики был апробирован при исследовании 59 человек с сахарным диабетом 1 и 2 типов. Среди них 47 пациентов с сахарным диабетом 2 типа и 12 пациентов, страдающих сахарным диабетом 1 типа. Из них 11 пациентов уже

наблюдались с синдромом диабетической стопы, у 3 больных ранее были проведены ампутации пальцев нижних конечностей. Группу контроля составили 14 практически здоровых лиц, сходных по полу и возрасту основной группе. Среди 25 пациентов, в том числе у всех лиц с установленным диагнозом синдрома диабетической стопы, был выявлен коэффициент регрессионной модели свыше 5, что соответствовало признакам грубой аксонально-демиелинизирующей полинейропатии по данным ЭНМГ. У 34 обследованных выявлен коэффициент регрессионной модели менее 5, среди них обнаружены признаки умеренного и легкого поражения нервных волокон. У всех пациентов группы контроля также был получен коэффициент регрессионной модели $K < 5$. Чувствительность метода составила 97,84%, специфичность 98,2%, точность метода – 96,58%. Данный способ минимизирует количество ложноположительных и ложноотрицательных результатов за счет высокой чувствительности сывороточного T_{rkV} к повреждению нервного волокна. Улучшена специфичность метода за счет определения степени компенсации углеводного обмена, что исключает возможность выявления иной неврологической патологии, сопровождающейся демиелинизирующим процессом. Таким образом, предлагаемый метод имеет высокую прогностическую значимость в отношении определения тяжести нейропатии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Своевременная диагностика диабетической полинейропатии осложняется асимптомным течением в дебюте заболевания, возможностью развития на стадии «преддиабета», а также отсутствием методов инструментального скрининга. Это диктует необходимость поиска инновационных методов диагностики, высокочувствительных к повреждению нервных волокон. Целью исследования стало изучение диагностического потенциала нейротрофических факторов и их высокочувствительных рецепторов с тирозинкиназной активностью в отношении развития диабетической полинейропатии.

В исследовании проанализированы количественные содержания мозгового нейротрофического и васкулоэндотелиального факторов роста, их высокоаффинных рецепторов с тирозинкиназной активностью, а также клинико-нейрофизиологические проявления диабетической полинейропатии на разных стадиях при сахарном диабете и при нарушении толерантности к глюкозе. У 14,5% обследованных основной группы не было выявлено признаков полинейропатии согласно инструментальным данным, что, тем не менее, не исключало у данных пациентов присутствия субъективной клинической симптоматики, соответствующей признакам возможной полинейропатии. Среди 12% пациентов, напротив, отсутствие жалоб противоречило электрофизиологическим показателям, свидетельствовавшим о развитии полинейропатии, в результате чего пациенты были выделены в отдельную группу с субклинической стадией диабетической полинейропатии. Клинически-манифестированная ДПН дебютировала нейропатическим болевым синдромом более чем у половины пациентов и выражалась по данным электронейромиографии аксонально-демиелинизирующим повреждением нервных волокон. В ходе исследования установлено, что при использовании в качестве методов диагностики ДПН

клинических опросников по сравнению с ЭНМГ возрастает количество ложноположительных результатов, что может быть связано с агgravацией симптоматики пациентами, а также с нечувствительностью электронейромиографии к выявлению повреждения тонких сенсорных волокон. В то же время рутинное неврологическое обследование сопряжено с определенным количеством ложноотрицательных результатов, что свидетельствует о компенсаторных реакциях нервной системы, обеспечивающих наличие субклинической стадии нейропатии. Эти данные свидетельствуют о недостаточной чувствительности имеющихся методов выявления ДПН.

На следующем этапе исследования проанализированы возможные факторы, влияющие на особенности течения полинейропатии, наличие или отсутствие болевой симптоматики и выраженность нейрофизиологических изменений периферических нервов. Было показано, что болевая форма нейропатии в большей степени характерна для пациентов с ожирением. Кроме того, пациенты с высоким индексом массы тела демонстрируют более яркую оценку клинических симптомов, что не коррелирует с выраженностью электрофизиологических изменений. Примечательно, что в группе пациентов без ДПН болевая симптоматика по ВАШ обратно коррелирует с СРВ малоберцового нерва, в то время как в группе пациентов с СДС получена прямая корреляция между данными показателями. Данное расхождение можно объяснить тем, что на ранних этапах развития заболевания боль играет защитную сигнальную функцию, впоследствии, с учетом разрушения сенсорных волокон при прогрессировании нейропатии, болевая симптоматика сменяется гипестезией, а наличие болевых ощущений на поздней стадии ДПН может служить своеобразным индикатором сохранности чувствительных волокон. При проведении статистического анализа в группе пациентов с клинически манифестированной ДПН установлены зависимости между уровнем повреждения нервных волокон и

степенью декомпенсации углеводного обмена, длительностью диабета и наличием инсулина в терапии. Доказано, что уровень компенсации гликемии играет значительную роль в формировании демиелинизирующих изменений нервных волокон у пациентов с СДС. Тем не менее, в группе пациентов в субклинической стадией ДПН и у пациентов с НТГ подобные корреляции не подтвердились, более того, подробный мультифакториальный дисперсионный анализ позволил прийти к заключению, что повреждение нервного волокна зависит не только от длительности процесса и исходного уровня компенсации углеводного обмена. Это требует дальнейшего поиска факторов, потенциально влияющих на целостность периферических нервов.

Заключительным этапом исследования стало изучение количественного содержания факторов роста и рецепторов с тирозинкиназной активностью в сыворотке пациентов. Каждая стадия диабетической полинейропатии характеризуется собственным спектром изменений в обеспечении механизмов нейропластичности, что расширяет сведения о патогенезе ДПН.

В частности, на ранней стадии диабетической полинейропатии происходит значимое увеличение содержания мозгового нейротрофического фактора в сыворотке. При этом количество тромбоцитов и другие показатели общетерапевтического анализа крови по результатам исследования не влияют на количество синтезируемого нейротрофина. Это является прямым подтверждением того, что колебания мозгового нейротрофина в крови отражают изменения его содержания в нервной системе. Усиление синтеза мозгового нейротрофического фактора стоит рассматривать как первоочередную реакцию нервного волокна на метаболическое повреждение в рамках патогенеза ДПН, что отражает запуск компенсаторного процесса и обеспечения нейропластичности. Тем не менее, содержание фактора не коррелирует с уровнем гликированного гемоглобина, а в большей степени зависит от гликемии натощак – довольно изменчивого

показателя крови, не отражающего степени декомпенсации углеводного обмена. Это может свидетельствовать о компенсаторной выработке нейротрофина на любой стресс, проявляющийся, в частности, гипергликемией, и не позволяет рассматривать изолированный уровень BDNF в сыворотке как достоверный маркер ДПН.

Помимо усиленной экспрессии мозгового нейротрофина дебют диабетической полинейропатии характеризуется повышением количественного содержания рецептора TrkB и фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови. При этом содержание мозгового нейротрофина коррелирует с сывороточным уровнем васкулоэндотелиального фактора роста. Синхронное увеличение экспрессии данных факторов в крови отражает усиленную их выработку структурами нервной системы и эндотелия, что укладывается в рамки компенсаторных процессов.

Мозговой нейротрофический, васкулоэндотелиальный факторы роста и рецептор киназы типа B выбраны в качестве лабораторных маркеров повреждения периферического нервного волокна и использованы в регрессионной модели, которая послужила в основе создания способа ранней диагностики диабетической полинейропатии. Для исключения повреждения нервной системы недиабетического генеза, в формуле регрессионной модели также учитывается уровень гликемии натощак.

Данный способ применим не только к пациентам с сахарным диабетом. Исследование показало возможность развития полинейропатии, соответствующей по клинико-нейрофизиологическим показателям ДПН, при нарушении толерантности к глюкозе. Повреждение периферических нервов при НТГ характеризуется умеренным преимущественно аксональным повреждением, при этом показатели нервного проведения не имеют существенных отличий от аналогичных значений пациентов с СД, что подтверждает возможность вовлечения нервных структур в патологический

процесс на ранних стадиях хронической гипергликемии задолго до появления клинической симптоматики и установления диагноза «сахарный диабет». Уровень мозгового нейротрофического фактора и его рецептора TrkB достоверно повышаются в сыворотке пациентов, страдающих НТГ, с признаками полинейропатии, по сравнению с группой пациентов без ДПН и группой практически здоровых лиц. При этом значимых различий в количественном содержании васкулоэндотелиального фактора роста с группой контроля не было обнаружено, что свидетельствует о замедленной, по сравнению с системой BDNF, реакции сосудистого фактора роста на повреждение периферических нервов.

Мозговой нейротрофин взаимодействует со специфическим рецептором, запускает реакции выживания нейрона, стимулирует восстановление поврежденных участков аксонов и миелиновой оболочки, модулирует синаптическую передачу, улучшая связи между нейронами, регулирует переключение функций с поврежденных волокон на сохраненные. Данное активное проявление компенсаторных реакций может препятствовать появлению клинической симптоматики, что, тем не менее, создает определенную опасность в виде развития субклинической стадии диабетической полинейропатии, поскольку в полной мере повышенный синтез нейротрофина не останавливает повреждение нервного волокна. Данный факт подтверждается отсутствием корреляций между содержанием BDNF и показателями нервного проведения по ЭНМГ на данной стадии развития диабетической полинейропатии.

Прогрессирование аксонопатии клинически проявляется нейропатическим болевым синдромом, и мозговой нейротрофический фактор проявляет себя как активатор центральной сенситизации болевого синдрома. Поскольку интенсивность нейропатической боли по шкале Pain Detect прямо коррелирует с уровнем сывороточного BDNF во всех исследованных группах, мозговой нейротрофин оказывает непосредственное влияние на

формирование нейропатической боли и модулирует ее выраженность. Неопределенным остается вопрос, с помощью какого вида рецептора BDNF осуществляет гипералгезирующий эффект. Кроме того, неясно, почему прогрессирует аксонально-демиелинизирующее разрушение периферических нервов при стабильно высоком уровне нейротрофина.

На все эти вопросы позволяет ответить изучение активности высокоспецифичного тропомиозинового рецептора киназы типа В на разных стадиях патологического процесса. В данном исследовании рецептор TrkB был впервые изучен в сыворотке пациентов на различных стадиях диабетической полинейропатии.

В группе пациентов без диабетической полинейропатии уровень TrkB не был значительно повышен, однако его содержание в сыворотке прямо коррелировало с латентностью сенсорного ответа икроножного нерва, что свидетельствует о замедлении нервного проведения и высокой чувствительности рецептора к демиелинизации нервного волокна.

По результатам исследования количество рецептора в сыворотке зависит от степени декомпенсации углеводного обмена по уровню гликированного гемоглобина. Повышаясь на ранней стадии ДПН, в том числе, субклинической и при НТГ, содержание рецептора в сыворотке остается стабильно высоким и на поздних стадиях, в том числе при развитии синдрома диабетической стопы. Достоверных межгрупповых различий выявлено не было, однако имеется тенденция к повышению содержания TrkB на поздней стадии, при СДС. Кроме того, количество рецептора, фиксируемого в сыворотке, коррелирует с выраженностью демиелинизирующего повреждения нервного волокна по данным ЭНМГ. Эти корреляции, а также имеющиеся данные о локализации рецептора в мембране миелиновой оболочки периферических нервов и невозможность присутствия активного рецептора в виде «свободной» формы в крови

свидетельствуют о циркуляции в сыворотке нефункционирующего рецептора. В пользу данной теории свидетельствуют прямые корреляции уровня сывороточного рецептора с длиной нервного волокна по данным ЭНМГ, индексом массы тела пациента, что увеличивает площадь возможной демиелинизации, а также отсутствие корреляций между сывороточным содержанием мозгового нейротрофина и его рецептора на всех стадиях диабетической полинейропатии. Единственной группой, в которой выявлена обратная зависимость содержания мозгового нейротрофина и TrkB в сыворотке, является выборка пациентов с НТГ и признаками полинейропатии нижних конечностей. Уровень рецептора в данной группе был повышен незначительно, в отличие от экспрессии BDNF, в клинической картине превалировала болевая форма нейропатии, а степень демиелинизации нервного волокна была достоверно меньше, чем у пациентов с сахарным диабетом и ДПН.

В отличие от своего биолиганда BDNF, непосредственно модулирующего выраженность нейропатической боли, содержание TrkB обратно пропорционально интенсивности данного вида болевого синдрома. Так, в группе пациентов с синдромом диабетической стопы, проявляющейся безболевым формой нейропатии, был выявлен резкий дефицит мозгового нейротрофического и васкулоэндотелиального факторов роста и высокий уровень рецептора TrkB в сыворотке. Как уже обсуждалось ранее, одним из механизмов центрального сенсibiliзирующего действия BDNF является активация синаптического спраутинга тонких сенсорных С-волокон в наружные пластины заднего рога, что приводит к гипервозбуждению глутаматергических NMDA-рецепторов, развитию феномена «деафферентации», растормаживанию нейронов соматосенсорных путей и нарушению антиноцицептивных влияний. Согласно результатам исследования, данный эффект обусловлен взаимодействием мозгового нейротрофического фактора именно с его функционально активным

высокоаффинным рецептором TrkB. Активация рецептора киназы запускает внутриклеточные сигналы, обеспечивающие нейропластические эффекты и прорастание сенсорных волокон. К тому же, спраутинг волокон с различным чувствительным функционалом приводит к развитию парестезий, феномена аллодинии и гиперпатии. Таким образом, сигнализация BDNF-TrkB ответственна за гипералгезирующие эффекты и трансформацию ноцицептивной боли в нейропатическую. При прогрессировании полинейропатии, проявляющейся разрушением миелиновой оболочки и, соответственно, рецепторного аппарата нейротрофических факторов, неизбежно ответное снижение выработки факторов роста, что означает срыв компенсаторных возможностей нервной системы. Таким образом, у пациентов с СДС наблюдается выраженная дисфункция системы BDNF-TrkB, что обуславливает характерную безболевою клиническую симптоматику и демонстрирует необратимое нарушение нейрорепаративных процессов.

Полученные лабораторные данные были использованы в разработке способа прогнозирования тяжелого течения диабетической полинейропатии и профилактики СДС. Рассматривать дефицит мозгового нейротрофического фактора или васкулоэндотелиального фактора роста в качестве лабораторных предикторов СДС некорректно, поскольку снижение уровня факторов роста происходит при декомпенсации процесса на стадии, соответствующей грубым демиелинизирующим изменениям по ЭНМГ и выраженной эндотелиальной дисфункции, что слишком поздно для скрининга СДС. Проведенное исследование показало, что повреждение рецепторного аппарата развивается на ранних стадиях полинейропатии, неуклонно прогрессирует и вторично по механизму обратной связи снижает запасы нейротрофинов. Таким образом, активность рецептора TrkB отражает «качественную» характеристику работы нейропластичности, и его дисфункцию можно диагностировать непосредственно в сыворотке методом

ИФА, путем количественного подсчета неактивного рецептора. Способ прогнозирования тяжелого течения ДПН основан на лабораторном анализе количественного содержания TrkB в сыворотке и уровне гликированного гемоглобина крови для повышения специфичности метода диагностики, которые используются в расчете формулы регрессионной модели. Таким образом, содержание TrkB в сыворотке может рассматриваться как предиктор тяжести течения ДПН и позволит улучшить профилактику диабетической стопы.

На ранней стадии полинейропатии отмечается тенденция к увеличению содержания VEGF-A в сыворотке, которое достигает максимума в стадии развернутой клинической симптоматики, что может отражать проявление компенсаторных процессов, направленных на улучшение васкуляризации поврежденных нервных волокон. Также необходимо учитывать значительное влияние сопутствующей сахарному диабету сосудистой патологии на колебания сывороточного сосудистого фактора роста в стадии клинически манифестированной ДПН. Полученные прямые корреляции между сывороточным содержанием васкулоэндотелиального фактора роста с макроангиопатическими осложнениями в виде гипертонической болезни и перенесенных нарушений мозгового кровообращения свидетельствуют о VEGF-A в первую очередь как о мощном проангиогенном факторе, обеспечивающим неоваскулогенез и обеспечение коллатерального кровообращения ишемизированной зоны мозга при НМК и ремоделирование сосудистой сети при артериальной гипертензии.

Поздняя стадия ДПН, представленная СДС, характеризуется истощением сывороточного уровня VEGFA, что коррелирует со степенью аксонального повреждения нервного волокна. Из всех электрофизиологических показателей содержание фактора роста эндотелия сосудов положительно влияет на температуру конечностей при проведении

электронейромиографии. Полученные данные свидетельствуют о важной роли эндотелиальной дисфункции в прогрессировании аксонопатии.

На содержание васкулоэндотелиального фактора роста достоверно влияет длительность сахарного диабета, что вполне объясняется нарастанием сопутствующей сосудистой патологии и усугублением собственно эндоневральной ишемии периферических нервных волокон при прогрессировании ДПН. Помимо этого, уровень VEGF-A зависит от степени декомпенсации углеводного обмена и отражает тяжесть клинической симптоматики, как оцененной субъективно по шкале MNSI, так и объективно в ходе неврологического обследования согласно шкале NDS.

Несмотря на преобладающую роль васкулоэндотелиального фактора роста в реакциях компенсации при прогрессировании сосудистой патологии, сопутствующей сахарному диабету, синхронность сывороточных изменений с уровнем мозгового нейротрофина на разных стадиях ДПН и корреляция с физикальным обследованием нижних конечностей свидетельствуют также о нейротрофических эффектах VEGF-A.

Рецептор VEGFR2 является самым неоднозначным из всех изученных факторов в отношении диабетической полинейропатии. Несмотря на небольшие колебания содержания рецептора в сыворотке на разных стадиях диабетической полинейропатии и отсутствие усиления экспрессии в дебюте заболевания, содержание данного рецептора коррелирует с некоторыми нейрофизиологическими ЭНМГ-показателями. Кроме того, сывороточный уровень VEGFR2 изменяется синхронно с количеством своего биолиганда и уровнем мозгового нейротрофина, таким образом, имея тенденцию к повышению в стадии развернутой клинической симптоматики ДПН и к дефициту при синдроме диабетической стопы. Таким образом, данный рецептор может играть важную роль в модулировании нейропластических эффектов. В отличие от тропомиозинового рецептора киназы типа B,

VEGFR2 способен существовать в сыворотке в свободной форме, что активно используется в лабораторной диагностике и было наиболее изучено в отношении неопластических процессов с высокой васкуляризацией. Исследованиями показано многократное увеличение свободного рецептора VEGFR2 у пациентов с малигнизацией различных видов и метастазированием. Отчасти это объясняет небольшой размах сывороточного количества рецептора васкулоэндотелиального фактора роста у пациентов в нашем исследовании, поскольку наличие выявленной онкопатологии входило в критерии исключения для участия в исследовании.

У пациентов с клинически манифестированной полинейропатией VEGFR2 показал обратные корреляционные зависимости с показателями аксонального повреждения (М-ответ), а в группе пациентов с субклинической стадией – обратную корреляцию с показателем демиелинизации нервного волокна (СРВ). Полученные данные свидетельствуют о том, что свободный рецептор VEGFR2 может действовать как эндогенная ловушка для васкулоэндотелиального фактора роста. Захваченный рецептором лиганд в сыворотке не может запустить внутриклеточный каскад реакций выживания клетки. Таким образом, повышение экспрессии сывороточного VEGFR2 может негативно сказываться на трофике нервного волокна при диабетической полинейропатии. Обратная корреляция содержания VEGFR2 с показателем латентности М-ответа моторного волокна по ЭНМГ у пациентов с СДС может свидетельствовать о снижении синтеза свободного рецептора в ответ на дефицит его биолиганда – фактора роста эндотелия сосудов.

По результатам исследования к факторам, не влияющим на содержание нейротрофических факторов и их рецепторов, относятся пол, возраст, тип диабета, а также показатели общего анализа крови. В значительной мере на клинико-нейрофизиологические показатели и содержание BDNF положительно влияет наличие инсулина в терапии, что

подтверждает его нейротрофин-подобные эффекты, которые достигаются благодаря способности инсулина соактивировать те же сигнальные пути, что и факторы роста во многом за счет принадлежности инсулиновых рецепторов к группе рецепторов с тирозинкиназной активностью. Таким образом, инсулин может опосредованно улучшать выработку нейротрофических факторов при ДПН, а его дефицит можно рассматривать как независимый фактор прогрессирования полинейропатии при СД1 типа, а также в случаях декомпенсированного инсулинпотребного СД 2 типа. Назначение инсулинотерапии при декомпенсированном течении СД 2 типа патогенетически оправданно с позиций поддержания нормогликемии и улучшения нейротрофической поддержки периферической нервной системы.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с нарушением толерантности к глюкозе выявляются признаки полинейропатии, соответствующие клинико-нейрофизиологическим показателям ДПН при сахарном диабете, что свидетельствует о раннем развитии повреждения периферических нервных волокон вне зависимости от формы нарушения углеводного обмена.
2. На ранней стадии развития диабетической полинейропатии определяется усиление экспрессии мозгового нейротрофического и васкулоэндотелиального факторов роста, а также тирозинкиназного рецептора типа В (TrkB), что происходит вне зависимости от наличия клинической симптоматики и расширяет диагностические возможности в отношении скрининга субклинической стадии ДПН. Повышение экспрессии мозгового нейротрофина прямо коррелирует с уровнем нейропатической боли и достигает максимума в стадии развернутой клинической симптоматики.
3. У пациентов на поздней стадии ДПН определяется выраженная дисфункция системы BDNF-TrkB, что обуславливает характерную безболевою клиническую симптоматику и демонстрирует необратимое нарушение нейрорепаративных процессов. Количественное содержание TrkB в сыворотке крови отражает повреждение рецепторного аппарата мозгового нейротрофина, коррелирует со степенью демиелинизации нервного волокна и может использоваться в качестве предиктора развития тяжелой стадии ДПН и синдрома диабетической стопы.
4. Синхронное изменение уровней мозгового нейротрофического и васкулоэндотелиального факторов роста в сыворотке указывает на их взаимосвязь в патогенезе ДПН и важную роль эндотелиальной

дисфункции в развитии аксонопатии. Доказана способность свободной сывороточной формы рецептора VEGFR2 дезактивировать положительные нейротрофические эффекты своего биолиганда VEGF-A, что негативно сказывается на трофике нервного волокна при диабетической полинейропатии.

5. К факторам, влияющим на клинико-нейрофизиологические показатели ДПН, количественное содержание факторов роста в сыворотке крови относятся индекс массы тела, длительность заболевания, степень компенсации углеводного обмена, использование инсулина в терапии сахарного диабета и наличие макроангиопатических осложнений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с нарушением толерантности к глюкозе необходимо проводить комплексное исследование с применением специализированных опросников для оценки степени нейропатии, ЭНМГ для раннего выявления признаков полинейропатии и проведения своевременного лечения.
2. В качестве объективного лабораторного маркера субклинической стадии диабетической полинейропатии наряду с нейрофизиологическими и клиническими методами может использоваться определение сывороточного содержания мозгового нейротрофического, васкулоэндотелиального факторов роста и уровня рецептора с тирозинкиназной активностью типа В (TrkB).
3. Определение количественного содержания рецептора TrkB и уровня гликированного гемоглобина в крови может служить объективным предиктором развития тяжелого течения диабетической полинейропатии и проведения мероприятий для профилактики синдрома диабетической стопы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеева Е.С., Баранцевич Е.Р., Меншутина М.А., Петрищев Н. Вазодилататорные реакции микрососудов кожи у больных сахарным диабетом 2 типа. Эфферентная терапия. 2007. Т. 13. № 1. С. 87.
2. Антипенко Е.А., Седышев Д.В. Болевые полиневропатии. РМЖ. 2017. Т. 25. № 21. С. 1543-1547.
3. Афонин А.А., Галкина Г.А., Комкова М.В., Морозова Н.В. Клинико-диагностическое значение цилиарного и мозгового нейротрофических факторов у детей с диабетической периферической нейропатией. Медицинский вестник Юга России. 2013. № 4. С. 29-33.
4. Ахмеджанова Л.Т. диабетическая полиневропатия: от многообразия клинических форм к лечению. Эффективная фармакотерапия. 2015. № 23. С. 56-61.
5. Ахмеджанова Л.Т., Баринов А.Н., Строков И.А. Диабетические и недиабетические полиневропатии у пациентов с сахарным диабетом. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2018. Т. 118. № 4. С. 113-120.
6. Баранцевич Е.Р., Живолупов С.А., Самарцев И.Н. Нейрофизиологические механизмы хронизации болевых синдромов и стратегические направления их коррекции. Эффективная фармакотерапия. 2017. № 19. С. 40-51.
7. Баранцевич Е.Р., Мельникова Е.В., Посохина О.В., Сидорова Н.С., Скоромец А.А., Чая Я. Поражения центральной нервной системы при сахарном диабете. В сборнике: Трансляционная медицина Санкт-Петербург, 2010. С. 262-275.
8. Баринов А.Н., Ахмеджанова Л.Т., Махинов К.А. Алгоритмы диагностики и лечения невропатической боли при поражении периферической нервной системы. Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. 2016. Т. 24. № 3. С. 154-162.

9. Баринов А.Н., Махинов К.А. Патогенетическая терапия невропатической боли при диабетической полиневропатии. Неврологический журнал. 2015. Т. 20. № 2. С. 4-13.
10. Вёрткин А.Л., Данилов А.Б., Мкртумян А.М. Консенсус по ведению больных с диабетической нейропатией в общей врачебной практике, утвержденный советом экспертов 8 апреля 2017 года. Амбулаторный прием. 2017. Т. 3. № 2 (8). С. 32-36.
11. Вышлова ИА, Карпов СМ, Стародубцев АИ. Нейроиммунологические механизмы формирования хронического болевого синдрома. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2016;8(2):113–116.
12. Гомазков О.А. Нейротрофические факторы мозга. Справочно-информационное издание. М.: НИИ Биомедицинской химии РАМН, 2004. — 311 с.
13. Гусев А.Н. Неврология: национальное руководство / Под ред. Е.И. Гусева, А.Н. Коновалова, В.И. Скворцовой, А.Б. Гехт. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
14. Данилов А.Б. Диабетическая полинейропатия. Manage pain, 2018, №2
15. Данилов А.Б. Диагностика и терапия невропатической боли. Лечение заболеваний нервной системы. 2015. № 1 (16). С. 34-40.
16. Данилов А.Б. Когнитивный аспект хронической боли. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2010. Т. 110. № 4. С. 113-118.
17. Данилов А.Б., Давыдов О.С. Диагностические шкалы для оценки невропатической боли. Боль. 2007. № 3 (16). С. 11-14.
18. Данилов А.Б., Давыдов О.С. Нейропатическая боль. Москва: Боргес; 2007. 192 с.
19. Данилов А.Б., Давыдов О.С. Эпидемиология невропатической боли. Боль. 2007. № 4 (17). С. 36-42.
20. Данилов А.Б., Оленич В.А. Современные представления о патофизиологии и лечении диабетической полиневропатии. Эффективная фармакотерапия. 2017. № 29. С. 22-28.

21. Данилов А.Б., Пилипович А.А. Тиоктовая кислота: современная терапия диабетической полиневропатии. Эффективная фармакотерапия. 2017. № 29. С. 14-20.
22. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. Сахарный диабет в Российской Федерации: Распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным Федерального регистра сахарного диабета, статус 2017г. Diabetes Mellitus. 2018;21(3):144-159, doi: 10.14341/DM9686.
23. Галкин В.В., Нестерова М.В. Клинические эффекты дулоксетина в лечении болевой диабетической полиневропатии. Уральский медицинский журнал. 2016. № 8 (141). С. 80-84.
24. Ганькина О.А., Левин О.С. Диабетическая полиневропатия. Справочник поликлинического врача. 2017. № 4. С. 70-77
25. Головачева В.А., Парфенов В.А. Современная тактика ведения пациентов с диабетической полиневропатией. Фарматека. 2016. № 5 (318). С. 30-37.
26. Захарова Н.Б., Каменских Т.Г., Никитина В.В., Степанова Т.В. Значение фактора роста эндотелия сосудов (ФРЭС) фиброзной пролиферации у больных сахарным диабетом. Клиническая лабораторная диагностика. 2010. № 10. С. 4а-4б.
27. Зиновьева Г.А. Диабетическая полиневропатия лекция 1. Распространенность и патогенез диабетической полиневропатии. Клиническая неврология. 2015. № 4. С. 36-40.
28. Каракулова Ю.В. Изучение гуморального звена серотонинергической системы при хронических болевых синдромах/ Ю.В.Каракулова// Российский журнал боли, 2011. - №2. – с.10-11.
29. Каракулова Ю.В., Кайгородова Н.Б., Батуева Е.А. Активация гуморального серотонина и эндогенных нейротрофинов под влиянием терапии при диабетической периферической невропатии. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2013. № 3. С. 13-17.

30. Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б. Диабетическая дистальная полиневропатия: принципы диагностики и терапии. Фарматека. 2017. № 16 (349). С. 21-25.
31. Корчагина А.А. Рецептор фактора роста эндотелия сосудов второго типа (получение рекомбинантного препарата, моноклональных антител и системы направленного транспорта. М., 2013.
32. Котов А.С. Диабетическая полиневропатия: обзор литературы. Эффективная фармакотерапия. 2011. № 50. С. 44-48.
33. Котов С.В., Рудакова И.Г. Диабетическая полиневропатия: от патогенеза к лечению и профилактике. Альманах клинической медицины. 2016. Т. 44. № 3. С. 380-386.
34. Котов С.В., Рудакова И.Г., Исакова Е.В., Белова Ю.А., Волченкова Т.В., Кхирбек М., Сташук Г.А. Диабетическая асимметричная проксимальная нейропатия. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2017. Т. 117. № 1. С. 59-62.
35. Котов С.В., Рудакова И.Г., Исакова Е.В., Волченкова Т.В. Диабетическая нейропатия: разнообразие клинических форм (лекция). РМЖ. 2017. Т. 25. № 11. С. 822-830.
36. Котова О.В., Акарачкова Е.С. Кардиальная автономная полиневропатия: роль метаболической терапии. Consilium Medicum. 2016. Т. 18. № 4. С. 28-30.
37. Кукушкин М.Л. Механизмы развития и принципы этиопатогенетической терапии хронической боли. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2012. – 2. – с.89-94.
38. Кукушкин М.Л., Хитров Н.К. Общая патология боли: руководство для врача. – М., 2004. – 144 с.
39. Левин О.С. Полиневропатии: Клиническое руководство/О.С.Левин.-3е изд.,испр.и дом.- М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2016.с.156.

40. Левин О.С. Принципы диагностики и лечения диабетической полиневропатии. Эффективная фармакотерапия. Неврология и психиатрия, 2011, (2), 52-60.
41. Левин О.С., Ильясова Ф.Н. Диабетическая полиневропатия: классификация, феноменология, диагностика, принципы лечения. Неврология и ревматология. Приложение к журналу Consilium Medicum. 2016. № 1. С. 37-43.
42. Леонова М.Л. Диагностическое значение исследования фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 11-1. – С. 215-220.
43. Матвеева М., Самойлова Ю., Жукова Н., Ротканк М., Лейман О. Механизмы нейропластичности у пациентов с сахарным диабетом. Врач. 2018. Т. 29. № 9. С. 10-13.
44. Мохова О.И. Окислительный стресс и его коррекция при диабетической невропатии. диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Московская медицинская академия". Москва, 2002
45. Недосугова Л.В. Диабетическая полинейропатия и окислительный стресс. Патогенез, диагностика, лечение: учебное пособие//ГБОУ ВПО Первый МГМУ им.И.М.Сеченова.-М.,2015.
46. Нестерова М.В., Галкин В.В. Патогенез, классификация, клиника и лечение диабетической полинейропатии. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2013. № 2. С. 97-105.
47. Нестерова М.В., Галкин В.В. Эффективность препаратов тиоктовой кислоты в лечении диабетической полиневропатии. Медицинский совет. 2015. № 5. С. 94-99.
48. Никитина В.В., Захарова Н.Б., Каменских Т.Г. Роль ФРЭС и MCP-1 в развитии дисфункции эндотелия при сахарном диабете 1-го и 2го типа,

осложненном диабетическом ретинопатией. Клиническая лабораторная диагностика. 2011. № 6. С. 8-10.

49. Парфенов В.А., Головачева В.А. Хроническая боль и ее лечение в неврологии / М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017.- 13с.

50. Парфенов В.А., Головачева В.А., Фадеев В.В., Воловик А.Ю., Головачева А.А. Оптимизация ведения пациентов с диабетической полиневропатией с помощью междисциплинарного подхода. Медицинский совет. 2017. № 5. С. 71-79.

51. Радченко И.А. Диабетическая автономная полиневропатия: от патогенеза к лечению и профилактике. РМЖ. 2016. Т. 24. № 13. С. 870-874.

52. Рюткина Л.А., Рюткин Д.С., Землянухина С.А. «Болевые» точки диабетических ангиопатий: фокус на гипертриглицеридемию и возможности фенофибрата. Фарматека. 2016. № 5 (318). С. 14-21.

53. Сосина В.Б., Захаров В.В. Диабетическая полиневропатия: от теории к практике. Эффективная фармакотерапия. 2017. № 21. С. 14-21.

54. Строков И.А., Фокина А.С., Ахмеджанова Л.Т., Зилов А.В., Баринов А.Н. Выбор лекарственной терапии при дистальной симметричной сенсорной полиневропатии у больных сахарным диабетом. Нервные болезни. 2018. № 2. С. 18-25.

55. Фельдман Е. Атлас нервно-мышечных болезней: практ.рук-во. М.: Практическая медицина, 2016. с15.

56. Фокина А.С., Строков И.А., Зилов А.В., Строков К.И. Алгоритм персонализированного лечения дистальной симметричной сенсорной полиневропатии у больных сахарным диабетом 2 типа. Эффективная фармакотерапия. 2017. № 29. С. 30-38.

57. Халикова Е.Ю. Нейропатическая боль как компонент острой и хронической постоперационной и посттравматической боли: от диагностики к рациональной фармакотерапии «РМЖ» №0, 10.12.2014: стр. 38.

58. Храмилин В.Н. Актуальные вопросы ведения пациентов с диабетической полинейропатией. *Consilium Medicum*. 2016. Т. 18. № 9. С. 110-115.
59. Храмилин В.Н., Демидова И.Ю., Староверова И.Н., Игнатова О.Ю. Диабетическая нейропатия.: Учебное пособие. М.: Издательский дом Видар-М, 2012.
60. Чурюканов М.В. Боль при диабетической полиневропатии: диагностические и лечебные подходы. *Consilium Medicum*. 2014. Т. 16. № 9. С. 31-36.
61. Шимкина Н.Ф., Надь Ю.Г., Баранцевич Е.Р. Неврологические осложнения у пациентов с сахарным диабетом 1 типа при использовании разных методов инсулинотерапии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016. Т. 116. № 9. С. 13-17.
62. Шимкина Н.Ф., Баранцевич Е.Р. Структура когнитивных нарушений у пациентов с сахарным диабетом 1 типа в отсутствие очаговых неврологических симптомов. *Сибирское медицинское обозрение*. 2017. № 1 (103). С. 49-53.
63. Шутеева Т.В. Коррекция болевого синдрома при диабетической нейропатии: современный взгляд на проблему. *Современные проблемы науки и образования*. 2018. № 3. С. 1.
64. Adachi N, Numakawa T, Richards M, Nakajima S, Kunugi H. New insight in expression, transport, and secretion of brain-derived neurotrophic factor: Implications in brain-related diseases. *World Journal of Biological Chemistry*. 2014;5(4):409-428. doi:10.4331/wjbc.v5.i4.409.
65. Albers JW, Herman WH, Pop-Busui R, Feldman EL et al. Effect of prior intensive insulin treatment during the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) on peripheral neuropathy in type 1 diabetes during the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Study. *Diabetes Care*. May; 2010 33(5):1090–6.

66. Albers JW, Herman WH, Pop-Busui R, Martin CL, Cleary P, Waberski B, et al. Subclinical neuropathy among Diabetes Control and Complications Trial participants without diagnosable neuropathy at trial completion: possible predictors of incident neuropathy? *Diabetes Care*. 2007;30:2613–2618.
67. Apfel SC, Kessler JA, Adornato BT, et al. Recombinant human nerve growth factor in the treatment of diabetic polyneuropathy. *Neurology*. 1998;51(3):695–702.
68. Apfel SC, Schwartz S, Adornato BT, et al. Efficacy and safety of recombinant human nerve growth factor in patients with diabetic polyneuropathy. A randomized controlled trial. *JAMA*. 2000;284:2215–21.
69. Bagnard D, Vaillant C, Khuth ST, et al. Semaphorin 3A-vascular endothelial growth factor-165 balance mediates migration and apoptosis of neural progenitor cells by the recruitment of shared receptor. *J Neurosci*. 2001;21:3332–3341.
70. Baltzis D, Roustit M, Grammatikopoulou MG, et al. Diabetic Peripheral Neuropathy as a Predictor of Asymptomatic Myocardial Ischemia in Type 2 Diabetes Mellitus: A Cross-Sectional Study. *Adv Ther*. 2016;33(10):1840-1847.
71. Barde Y.A. Trophic factors and neuronal survival. *Neuron*. 1989 Jun;2(6):1525-34.
72. Barde YA, Edgar D, Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *The EMBO Journal*. 1982;1(5):549-553.
73. Barry R. Masters. *Confocal Microscopy and Multiphoton Excitation Microscopy: The Genesis of Live Cell Imaging*. — SPIE Press, 2006-01-01. — 234.
74. Barrett EJ, Liu Z, Khamaisi M, et al. Diabetic Microvascular Disease: An Endocrine Society Scientific Statement. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102(12):4343-4410.
75. Benjamin LE. Glucose, VEGF-A, and Diabetic Complications. *The American Journal of Pathology*. 2001;158(4):1181-1184.

76. Boucher JM, Clark RP, Chong DC, Citrin KM, Wylie LA, Bautch VL. Dynamic alterations in decoy VEGF receptor-1 stability regulate angiogenesis. *Nat Commun.* 2017;8:15699.
77. Bouhassira D, Letanoux M, Hartemann A. Chronic pain with neuropathic characteristics in diabetic patients: a French cross-sectional study. *PLoS One.* 2013;8(9):e74195. Published 2013 Sep 13. doi:10.1371/journal.pone.0074195.
78. Boulton, A. J. M., Ziegler, D. (2013). Whither pathogenetic treatments for diabetic polyneuropathy? *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 29(5), 327-333.
79. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications//*Nature.* 2001 Dec 13;414(6865):813-20.
80. Brunet, A.; Datta, S.R.; Greenberg, M.E. Transcription-dependent and -independent control of neuronal survival by the PI3K-Akt signaling pathway. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2001, 11, 297–305.
81. Bus BA, Molendijk ML, Penninx BJ, Buitelaar JK, Kenis G, Prickaerts J et al. Determinants of serum brain-derived neurotrophic factor. *Psychoneuroendocrinology* 2011; 36: 228–239.
82. Cattaneo A, Cattane N, Begni V, Pariante CM, Riva MA. The human BDNF gene: peripheral gene expression and protein levels as biomarkers for psychiatric disorders. *Translational Psychiatry.* 2016;6(11):e958-. doi:10.1038/tp.2016.214.
83. Callaghan BC, Burke JF, Kerber KA, Albers JW, Feldman EL. Electrodiagnostic tests are unlikely to change management in those with a known cause of typical distal symmetric polyneuropathy. *Muscle Nerve.* 2017;56(3):E25.
84. Callaghan B, Little A, Feldman EL, Hughes RAC. Enhanced glucose control for preventing and treating diabetic neuropathy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012.
85. Callaghan BC, Price RS, Feldman EL. Distal Symmetric Polyneuropathy: A Review. *JAMA* 2015; 314:2172.

86. Chacón-Fernández P, Säuberli K, Colzani M, Moreau T, Ghevaert C, Barde Y-A. Brain-derived Neurotrophic Factor in Megakaryocytes. *The Journal of Biological Chemistry*. 2016;291(19):9872-9881.
87. Chen X, Graham J, Dabbah MA, et al. Small nerve fiber quantification in the diagnosis of diabetic sensorimotor polyneuropathy: comparing corneal confocal microscopy with intraepidermal nerve fiber density. *Diabetes Care*. 2015 Jun;38(6):1138-44.
88. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018 Apr; 138: 271-281. doi: 10.1016/j.diabres.2018.02.023.
89. Clegg LE, Mac Gabhann F. A computational analysis of *in vivo* VEGFR activation by multiple co-expressed ligands. Marsden A, ed. *PLoS Computational Biology*. 2017;13(3):e1005445. doi:10.1371/journal.pcbi.1005445.
90. Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, et al. Neuropathic pain. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17002. Published 2017 Feb 16. doi:10.1038/nrdp.2017.2.
91. D'Aglo G., Foppen F. H. and Liuzzi A. NGF on sensory and sympathetic chick ganglia. *Biochem. J.* (1969) 112, 541.
92. D'Alessio A, Moccia F, Li JH, Micera A, Kyriakides TR. Angiogenesis and vasculogenesis in health and disease. *Biomed Res Int*. 2015;2015:126582.
93. De Juan-Sanz J, Holt GT, Schreiter ER, de Juan F, Kim DS, Ryan TA. Axonal endoplasmic reticulum Ca²⁺ content controls release probability in CNS nerve terminals. *Neuron*. 2017;93(4):867-881.e6. doi:10.1016/j.neuron.2017.01.010.
94. Dechant G, Barde YA (2002) The neurotrophin receptor p75(NTR): novel functions and implications for diseases of the nervous system. *Nat Neurosci* 5:1131–1136.
95. Dyck PJ, Albers JW, Andersen H, Arezzo JC, Biessels G, Bril V, et al. Diabetic polyneuropathies: update on research definition, diagnostic criteria and estimation of severity. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011; 27:620–8.

96. Dyck PJ, Carter RE, Litchy WJ. Modeling nerve conduction criteria for diagnosis of diabetic polyneuropathy. *Muscle Nerve* 2010.
97. Dyck P., Norell J., Tritschler H., Schuette K., Samigullin R., Ziegler D., et al. (2007) Challenges in design of multicenter trials: end points assessed longitudinally for change and monotonicity. *Diabetes Care* 30: 2619–2625.
98. Dyck PJ, Overland CJ, Low PA, et al. Signs and symptoms versus nerve conduction studies to diagnose diabetic sensorimotor polyneuropathy: C1 vs. N Phys trial. *Muscle Nerve*. 2010; 42:157–164.
99. Eaton MJ, Blits B, Ruitenber MJ, Verhaagen J, Oudega M. Amelioration of chronic neuropathic pain after partial nerve injury by adeno-associated viral (AAV) vector-mediated over-expression of BDNF in the rat spinal cord. *Gene Ther*. 2002;9(20):1387–1395.
100. Edelmann E, Lessmann V, Brigadski T. Pre- and postsynaptic twists in BDNF secretion and action in synaptic plasticity. *Neuropharmacology*. 2014 Jan;76 Pt C:610-27.
101. Ebos JM, Bocci G, Man S. et al. A naturally occurring soluble form of vascular endothelial growth factor receptor 2 detected in mouse and human plasma. *Mol Cancer Res*. 2004 Jun;2(6):315-26.
102. England JD, Gronseth GS, Franklin G. et al. Distal symmetric polyneuropathy: a definition for clinical research: report of the American Academy of Neurology, the American Association of Electrodiagnostic Medicine, and the American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. *Neurology*. 2005;64(2):199–207.
103. Ernfors P, Lee KF, Jaenisch R. Mice lacking brain-derived neurotrophic factor develop with sensory deficits. *Nature*. 1994 Mar 10;368(6467):147-50.
104. Eyileten C, Kaplon-Cieslicka A, Mirowska-Guzel D, Malek L, Postula M. Antidiabetic Effect of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Its Association with Inflammation in Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes Research*. 2017;2017:2823671. doi:10.1155/2017/2823671

105. Fayaz A., Ayis S., Panesar SS, Langford RM, Donaldson LJ. Assessing the relationship between chronic pain and cardiovascular disease: A systematic review and meta-analysis. *Scand J Pain*. 2016 Oct;13:76-90. doi: 10.1016/j.sjpain.2016.06.005. Epub 2016 Aug 3.
106. Feldman EL, Nave KA, Jensen TS, Bennett DLH. New Horizons in Diabetic Neuropathy: Mechanisms, Bioenergetics, and Pain. *Neuron*. 2017;93(6):1296-1313.
107. Fenner, B.M. Truncated TrkB: Beyond a dominant negative receptor. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2012, 23, 15–24
108. Fiederling F, Weschenfelder M, Fritz M, von Philipsborn A, Bastmeyer M, Weth F. Ephrin-A/EphA specific co-adaptation as a novel mechanism in topographic axon guidance. *Elife*. 2017;6:e25533. Published 2017 Jul 19. doi:10.7554/eLife.25533
109. Forooghian F, Kojic L, Gu Q, Prasad SS (2001) Identification of a novel truncated isoform of trkB in the kitten primary visual cortex. *J Mol Neurosci* 17:81–88.
110. Foster E, Robertson B, Fried K. trkB-like immunoreactivity in rat dorsal root ganglia following sciatic nerve injury. *Brain Res*. 1994 Oct 3;659(1-2):267-71.
111. Fumagalli, F.; Racagni, G.; Riva, M.A. Shedding light into the role of BDNF in the pharmacotherapy of Parkinson's disease. *Pharmacogenomics J*. **2006**, 6, 95–104.
112. Freynhagen R, Baron R, Gockel U, Tölle TR. PainDETECT: a new screening questionnaire to identify neuropathic components in patients with back pain. *Curr Med Res Opin*. 2006 Oct;22(10):1911-20.
113. Geiseler SJ, Morland C. The Janus Face of VEGF in Stroke. *Int J Mol Sci*. 2018;19(5):1362. Published 2018 May 4. doi:10.3390/ijms19051362.
114. Gibon J, Buckley SM, Unsain N, Kaartinen V, Seguela P, Barker PA proBDNF and p75NTR control excitability and persistent firing of cortical pyramidal neurons *J Neurosci*. 2015 Jul 1;35(26):9741-53.

115. Gonçalves, N. P. et al. (2017) Schwann cell interactions with axons and microvessels in diabetic neuropathy. *Nat. Rev. Neurol.* doi:10.1038/nrneurol.2016.201.
116. Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*; (December 5, 2017) McGraw-Hill Education / Medical; 13 edition.
117. Goussia A, Simou N, Zagouri F, et al. Associations of angiogenesis-related proteins with specific prognostic factors, breast cancer subtypes and survival outcome in early-stage breast cancer patients. A Hellenic Cooperative Oncology Group (HeCOG) trial. Pal S, ed. *PLoS ONE*. 2018;13(7):e0200302. doi:10.1371/journal.pone.0200302.
118. Grote CW, Morris JK, Ryals JM, Geiger PC, Wright DE. Insulin receptor substrate 2 expression and involvement in neuronal insulin resistance in diabetic neuropathy. *Exp Diabetes Res*. 2011; 2011:212571.
119. Grote CW, Wright DE. A Role for Insulin in Diabetic Neuropathy. *Frontiers in Neuroscience*. 2016;10:581.
120. Guo D, Wang Q, Li C, Wang Y, Chen X. VEGF stimulated the angiogenesis by promoting the mitochondrial functions. *Oncotarget*. 2017;8(44):77020-77027. doi:10.18632/oncotarget.20331.
121. Gupta VK, You Y, Gupta VB, Klistorner A, Graham SL. TrkB Receptor Signalling: Implications in Neurodegenerative, Psychiatric and Proliferative Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(5):10122-10142. doi:10.3390/ijms140510122.
122. Harward SC, Hedrick NG, Hall CE, et al. Autocrine BDNF-TrkB signalling within a single dendritic spine. *Nature*. 2016;538(7623):99-103. doi:10.1038/nature19766.
123. Hempstead BL. Brain-Derived Neurotrophic Factor: Three Ligands, Many Actions. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*. 2015;126:9-19.

124. Herder, C. et al. Subclinical inflammation and diabetic polyneuropathy: MONICA/KORA Survey F3 (Augsburg, Germany). *Diabetes Care* 32, 680–682 (2009).
125. IDF Diabetes Atlas 8th Edition, 2018, pp.40-46.
126. Iguchi M., Wada H., Akao M. et al. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-2 serves as a predictor of cardiovascular events in patients with chronic heart failure, *European Heart Journal*, Volume 34, Issue suppl_1, 1 August 2013, P4230, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/eh309.P4230>.
127. Ito TK, Ishii G, Saito S. et al. Degradation of soluble VEGF receptor-1 by MMP-7 allows VEGF access to endothelial cells. *Blood*. 2009 Mar 5;113(10):2363-9. doi: 10.1182/blood-2008-08-172742. Epub 2008 Oct 30.
128. Iwakura Y, Nawa H, Sora I, Chao MV (2008) Dopamine D1 receptor-induced signaling through TrkB receptors in striatal neurons. *J Biol Chem* 283:15799–15806.
129. Iwasaki Y, Nishiyama H, Suzuki K, Koizumi S (1997) Sequential cis/trans autophosphorylation in TrkB tyrosine kinase. *Biochemistry* 36:2694–2700.
130. Javier DeFelipe Brain plasticity and mental processes: Cajal again *Nature Reviews Neuroscience* volume 7, pages 811–817 (2006).
131. Jin KL, Mao XO, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor: Direct neuroprotective effect in in vitro ischemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:10242–10247.
132. Juster-Switlyk K, Smith AG. Updates in diabetic peripheral neuropathy. *F1000Res*. 2016;5:F1000 Faculty Rev-738. Published 2016 Apr 25. doi:10.12688/f1000research.7898.1.
133. Kim B, McLean LL, Philip SS, Feldman EL. Hyperinsulinemia induces insulin resistance in dorsal root ganglion neurons. *Endocrinology*. Oct; 2011 152(10):3638–47.
134. Kim YR, Hong S-H. Association between the polymorphisms of the vascular endothelial growth factor gene and metabolic syndrome. *Biomedical Reports*. 2015;3(3):319-326.

135. Kofler NM, Simons M. Angiogenesis versus arteriogenesis: neuropilin 1 modulation of VEGF signaling. *F1000Prime Reports*. 2015;7:26. doi:10.12703/P7-26.
136. Komori T., Morikawa Y., Nanjo K., Senba E. Induction of brain-derived neurotrophic factor by leptin in the ventromedial hypothalamus. *Neuroscience*. 2006;139:1107–1115. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.12.066.
137. Krishnasamy S, Abell TL. Diabetic Gastroparesis: Principles and Current Trends in Management. *Diabetes Ther*. 2018;9(Suppl 1):1–42.
138. Lazaro RP. Electromyography in musculoskeletal pain: A reappraisal and practical considerations. *Surg Neurol Int*. 2015;6:143. Published 2015 Aug 28. doi:10.4103/2152-7806.163816.
139. Lee FS, Chao MV. Activation of Trk neurotrophin receptors in the absence of neurotrophins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(6):3555-3560. doi:10.1073/pnas.061020198.
140. Leininger GM, Vincent AM, Feldman EL. The role of growth factors in diabetic peripheral neuropathy. *J Peripher Nerv Syst*. 2004 Mar;9(1):26-53.
141. Mattson, M.P.; Magnus, T. Ageing and neuronal vulnerability. *Nat. Rev. Neurosci*. **2006**, 7, 278–294.
142. McCubrey JA, Steelman LS, Chappell WH, et al. Mutations and Deregulation of Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR Cascades Which Alter Therapy Response. *Oncotarget*. 2012;3(9):954-987.
143. McGrayne SB (2001) Nobel Prize Women in Science (Carol Publishing Group, Secaucus, NJ), pp 201–224.
144. Mendoza M. C., Er E. E., Blenis J. The Ras-ERK and PI3K-mTOR pathways: cross-talk and compensation // *Trends Biochem Sci*. — 2011. — T. 36, вып. 6. — С. 320—328. — DOI:10.1016/j.tibs.2011.03.006.
145. Michaelson K, Zagrebelsky M, Berndt-Huch J. et al. Neurotrophin receptors TrkB.T1 and p75NTR cooperate in modulating both functional and structural

- plasticity in mature hippocampal neurons. *Eur J Neurosci*. 2010 Dec;32(11):1854-65. doi: 10.1111.
146. Misol Ahn, Daniel Beacham, Ruth E. Westenbroek, Todd Scheuer, William A. Catterall .Regulation of NaV1.2 Channels by Brain-Derived Neurotrophic Factor, TrkB, and Associated Fyn Kinase *Journal of Neuroscience* 24 October 2007, 27 (43) 11533-11542.
147. Naegelin Y, Dingsdale H, Säuberli K, Schädelin S, Kappos L, Barde Y-A. Measuring and Validating the Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Human Serum. *eNeuro*. 2018;5(2): ENEURO.0419-17.2018. doi:10.1523/ENEURO.0419-17.2018.
148. Nakagawa T, Ono-Kishino M, Sugaru E, Yamanaka M, Taiji M, Noguchi H. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) regulates glucose and energy metabolism in diabetic mice. *Diabetes Metab Res Rev*. 2002 May-Jun;18(3):185-91.
149. Nicholette Zeliadt Rita Levi-Montalcini: NGF, the prototypical growth factor: *Proceedings of the National Academy of Sciences* Mar 2013, 110 (13) 4873-4876.
150. Oosthuyse B, Moons L, Storkebaum E. et al. Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. *Nat Genet*. 2001;28:131–138
151. Ovayolu N, Akarsu E, Madenci E, Torun S, Ucan O, Yilmaz M. Clinical characteristics of patients with diabetic polyneuropathy: the role of clinical and electromyographic evaluation and the effect of the various types on the quality of life. *Int J Clin Pract*. 2008;62(7):1019-25.
152. Pandey GN, Dwivedi Y, Rizavi HS, Ren X, Zhang H, Pavuluri MN. Brain-derived neurotrophic factor gene and protein expression in pediatric and adult depressed subjects. *Progr Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2010; 34: 645–651.

153. Papanas N, Ziegler D. Risk Factors and Comorbidities in Diabetic Neuropathy: An Update 2015. *The Review of Diabetic Studies : RDS*. 2015;12(1-2):48-62.
154. Park H, Poo MM. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat Rev Neurosci*. 2013 Jan;14(1):7-23.
155. Park H, Popescu A, Poo M. Essential Role of Presynaptic NMDA Receptors in Activity-Dependent BDNF Secretion and Corticostriatal LTP. *Neuron*. 2014;84(5):1009-1022. doi:10.1016/j.neuron.2014.10.045.
156. Parkhurst CN, Yang G, Ninan I, et al. Microglia promote learning-dependent synapse formation through BDNF. *Cell*. 2013;155(7):1596-1609.
157. Passaro A., Dalla Nora E., Morieri M. L., et al. Brain-derived neurotrophic factor plasma levels: relationship with dementia and diabetes in the elderly population. *The Journals of Gerontology Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*. 2015;70(3):294–302. doi: 10.1093/gerona/glu028.
158. Peach CJ, Mignone VW, Arruda MA, et al. Molecular Pharmacology of VEGF-A Isoforms: Binding and Signalling at VEGFR2. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(4):1264. doi:10.3390/ijms19041264.
159. Plum L, Schubert M, Brüning JC. The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab*. 2005 Mar; 16(2):59-65.
160. Puehringer D, Orel N, Luningschror P, Subramanian N, Herrmann T, Chao MV, Sendtner M (2013) EGF transactivation of Trk receptors regulates the migration of newborn cortical neurons. *Nat Neurosci* 16:407–415.
161. Rachana K. S., Manu M. S., Advirao G. M. (2016). Insulin influenced expression of myelin proteins in diabetic peripheral neuropathy. *Neurosci. Lett.* 629, 110–115. 10.1016.
162. Rajagopal R, Chao MV (2006) A role for Fyn in Trk receptor transactivation by G-protein-coupled receptor signaling. *Mol Cell Neurosci* 33:36–46.
163. Ramón y Cajal, S. (1905). Las células del gran simpático del hombre. *Trab. Lab. Invest. Biol.* 4, 1–32.

164. Ravichandran K.S. Signaling via Shc family adapter proteins. *Oncogene*. 2001 Oct 1;20(44):6322-30.
165. Robert A. Saxton, David M. Sabatini. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell*, 2017: 168(6):960–976.
166. Russell JW, Zilliox LA. Diabetic neuropathies. *Continuum (Minneap Minn)*. 2014;20(5 Peripheral Nervous System Disorders):1226-40.
167. Salimi S, Yaghmaei M, Tabatabaei E.et.al. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-634G/C polymorphism was associated with severe pre-eclampsia and lower serum VEGF level. *J Obstet Gynaecol Res*. 2015 Dec;41(12):1877-83. doi: 10.1111/jog.12825. Epub 2015 Oct 21
168. Samii A, Unger J, Lange W. Vascular endothelial growth factor expression in peripheral nerves and dorsal root ganglia in diabetic neuropathy in rats. *Neurosci Lett*. 1999;262:159–162
169. Sanhueza M, McIntyre CC, Lisman JE. Reversal of synaptic memory by Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II inhibitor. *J Neurosci*. 2007 May 9;27(19):5190–9
170. Sasi M, Vignoli B, Canossa M, Blum R. Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. *Pflugers Archiv*. 2017;469(5):593-610. doi:10.1007/s00424-017-1964-4
171. Scarr D, Lovblom LE, Cardinez N, et al. Validity of a point-of-care nerve conduction device for polyneuropathy identification in older adults with diabetes: Results from the Canadian Study of Longevity in Type 1 Diabetes. *PLoS One*. 2018;13(4):e0196647. Published 2018 Apr 30. doi:10.1371/journal.pone.0196647.
172. Schoen SA, Miller LJ, Sullivan JC. Measurement in Sensory Modulation: the Sensory Processing Scale Assessment. *Am J Occup Ther*. 2014;68(5):522-30.
173. Schratzberger P, et al. Favorable effect of VEGF gene transfer on ischemic peripheral neuropathy. *Nat Med*. 2000;6:405–41.
174. Schratzberger P, et al. Reversal of experimental diabetic neuropathy by VEGF gene transfer. *J Clin Invest*. 2001;107:1083–1092.

175. Serhiyenko VA, Serhiyenko AA. Cardiac autonomic neuropathy: Risk factors, diagnosis and treatment. *World J Diabetes*. 2018;9(1):1-24.
176. Shelton, D.L.; Sutherland, J.; Gripp, J. et al. The lamellar cells in human Meissner corpuscles express TrkB. *Neurosci. Lett*. 2010, 468, 106–109.
177. Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes & Cancer*. 2011;2(12):1097-1105. doi:10.1177/1947601911423031.
178. Shin, J.; Kim, J.; Yu, Y.; Heo, J. Evaluation of change of neurotrophin receptors (TrkA, TrkB, and TrkC) in the retina after intravitreal injection of anti-vegf antibody. ARVO Meet. Abstr. 2010, 51, 721.
179. Sikandar S, Minett MS, Millet Q, et al. Brain-derived neurotrophic factor derived from sensory neurons plays a critical role in chronic pain. *Brain*. 2018;141(4):1028-1039. doi:10.1093/brain/awy009.
180. Simpson JA. A MANUAL OF ELECTRONEUROMYOGRAPHY. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1969;32(3):255.
181. Siniscalco D, Giordano C, Rossi F, Maione S, de Novellis V. Role of Neurotrophins in Neuropathic Pain. *Current Neuropharmacology*. 2011;9(4):523-529. doi:10.2174/157015911798376208.
182. Sobue G., Yamamoto M., Doyu M., Yasuda T., Mitsuma T. Expression of mRNA for neurotrophins (NGF, BDNF, and NT-3) and their receptors (p75^{NGFR}, Trk, TrkB and TrkC) in human peripheral neuropathies. *Neurochem. Res*. 1998;23:821–829.
183. Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Vascular endothelial growth factor has neurotrophic activity and stimulates axonal outgrowth, enhancing cell survival and Schwann cell proliferation in the peripheral nervous system. *J Neurosci*. 1999;19:5731–5740
184. Spencer, S.D.; Levinson, A.D. Human trks: Molecular cloning, tissue distribution, and expression of extracellular domain immunoadhesins. *J. Neurosci*. 1995, 15, 477–491

185. Stino AM, Smith AG. Peripheral neuropathy in prediabetes and the metabolic syndrome. *J Diabetes Investig.* 2017;8(5):646-655.
186. Tesfaye S, Boulton AJ, Dickenson AH. Mechanisms and management of diabetic painful distal symmetrical polyneuropathy. *Diabetes Care.* 2013;36(9):2456-65
187. Tesfaye S. et al. Diabetic Neuropathies: Update on Definitions, Diagnostic Criteria, Estimation of Severity, and Treatments. // *Diabetes Care.* 2010; 33:2285–229.
188. Theriault M, Dort J, Sutherland G, Zochodne DW. Local human sural nerve blood flow in diabetic and other polyneuropathies. *Brain.* 1997;120:1131–1138
189. Tracy JA, Dyck PJ. The spectrum of diabetic neuropathies. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2008;19(1):1-26, v.
190. Veves A, King GL. Can VEGF reverse diabetic neuropathy in human subjects? *Journal of Clinical Investigation.* 2001;107(10):1215-1218.
191. Vempati P, Popel AS, Mac Gabhann F. Extracellular regulation of VEGF: isoforms, proteolysis, and vascular patterning. *Cytokine & growth factor reviews.* 2014;25(1):1-19. doi:10.1016/j.cytogfr.2013.11.002.
192. Vural G, Gümüşyayla Ş. Monocyte-to-high density lipoprotein ratio is associated with a decreased compound muscle action potential amplitude in patients with diabetic axonal polyneuropathy. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(42):e12857.
193. Wellmer A., Misra VP, Sharief MK, Kopelman PG, Anand P. A double-blind placebo-controlled clinical trial of recombinant human brain-derived neurotrophic factor (rhBDNF) in diabetic polyneuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2001;6:204-10.
194. Wiese S, Jablonka S, Holtmann B, Orel N, Rajagopal R, Chao MV, Sendtner M (2007) Adenosine receptor A2A-R contributes to motoneuron survival by transactivating the tyrosine kinase receptor TrkB. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 17210–17215.

195. Wong Y-H, Lee C-M, Xie W, Cui B, Poo M. Activity-dependent BDNF release via endocytic pathways is regulated by synaptotagmin-6 and complexin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015;112(32):E4475-E4484. doi:10.1073/pnas.1511830112.
196. Wang X, Ratnam J, Zou B, England PM, Basbaum AI. TrkB signaling is required for both the induction and maintenance of tissue and nerve injury-induced persistent pain. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2009;29(17):5508-5515. doi:10.1523/JNEUROSCI.4288-08.2009.
197. Yacoubian, T.A.; Lo, D.C. Truncated and full-length TrkB receptors regulate distinct modes of dendritic growth. *Nat. Neurosci*. 2000, 3, 342–349.
198. Yamanaka M, Itakura Y, Ono-Kishino M, Tsuchida A, Nakagawa T, Taiji M. Intermittent administration of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) ameliorates glucose metabolism and prevents pancreatic exhaustion in diabetic mice. *J Biosci Bioeng*. 2008 Apr;105(4):395-402.
199. Yang J, Harte-Hargrove LC, Siao C-J, et al. ProBDNF negatively regulates neuronal remodeling, synaptic transmission and synaptic plasticity in hippocampus. *Cell reports*. 2014;7(3):796-806. doi:10.1016/j.celrep.2014.03.040.
200. Yang S. H., Sharrocks A. D., Whitmarsh A. J. MAP kinase signalling cascades and transcriptional regulation // *Gene*. —2013 Jan 15;513(1):1-13. doi: 10.1016.
201. Zhang YH, Chi XX, Nicol GD. Brain-derived neurotrophic factor enhances the excitability of rat sensory neurons through activation of the p75 neurotrophin receptor and the sphingomyelin pathway. *The Journal of Physiology*. 2008;586(Pt 13):3113-3127.
202. Zhang, L.; Hu, Y.; Sun, C.Y.; Li, J.; Guo, T.; Huang, J.; Chu, Z.B. Lentiviral shRNA silencing of BDNF inhibits in vivo multiple myeloma growth and angiogenesis via down-regulated stroma-derived VEGF expression in the bone marrow milieu. *Cancer Sci*. 2010, 101, 1117–1124.

203. Ziegler D, Papanas N, Vinik AI, Shaw JE. Epidemiology of polyneuropathy in diabetes and prediabetes. *Handb Clin Neurol.* 2014;126:3-22. doi: 10.1016/B978-0-444-53480-4.00001-1.
204. Ziegler D, Papanas N, Zhivov A, et al; German Diabetes Study (GDS) Group. Early detection of nerve fiber loss by corneal confocal microscopy and skin biopsy in recently diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes.* 2014 Jul;63(7):2454-63.
205. Zuccato, C.; Cattaneo, E. Role of brain-derived neurotrophic factor in Huntington's disease. *Progr. Neurobiol.* **2007**, *81*, 294–330
206. Zychowska M, Rojewska E, Przewlocka B, Mika J. Mechanisms and pharmacology of diabetic neuropathy - experimental and clinical studies. *Pharmacol Rep.* 2013;65(6):1601-10.