

ФИЛИМОНОВА ТАМАРА АНДРЕЕВНА

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

14.01.11 – нервные болезни

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Пермь 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

Заведующая кафедрой неврологии им. В.П. Первушина  
ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера  
Минздрава России, д.м.н., профессор

**Каракулова Юлия Владимировна**

**Официальные оппоненты:**

Заведующий кафедрой неврологии и мануальной  
медицины ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский  
государственный медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова»  
Минздрава России, д.м.н., профессор

**Баранцевич Евгений Робертович**

Профессор кафедры нервных болезней ФГБВОУ ВО  
«Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»  
Министерства обороны Российской Федерации,  
д.м.н., профессор

**Живолупов Сергей Анатольевич**

**Ведущая организация:** Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «31» мая 2019 года в 10.00 часов на заседании Диссертационного совета Д 208.067.01 при ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России (г. Пермь, ул. Петропавловская, 26) и на сайте [www.psmu.ru](http://www.psmu.ru), с авторефератом на сайтах [www.psmu.ru](http://www.psmu.ru) и [www.vak.ed.gov.ru](http://www.vak.ed.gov.ru)

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2019 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор

**Мудрова Ольга Александровна**

## **Общая характеристика работы**

**Актуальность исследования.** Сахарный диабет (СД) представляет собой глобальную проблему здравоохранения ввиду неуклонно растущей распространенности, достигающей масштабов пандемии, значительных фармако-экономических затрат на своевременную диагностику и поиски эффективного лечения, высоких социальных потерь и смертности в том числе трудоспособного населения (Cho et al, 2018, Ziegler et al, 2015). 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 (НТГ) (Stino, 2017, Ziegler et al, 2014). 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 (Левин О.С., 2016, Храмин В.Н., 2012, Juster-Switlyk K. et al, 2016, Callaghan BC et al, 2015). Хронический нейропатический болевой синдром, характерный для болевой формы ДПН, ассоциирован с тревожно-астеническими и психоэмоциональными расстройствами и снижением качества жизни пациентов (Данилов А.Б., Давыдов О.С, 2007, Bouhassira D. et al, 2013, Callaghan BC. et al, 2017, Colloca L. et al, 2017). Исследования продемонстрировали высокую связь хронической боли со смертностью от сердечно-сосудистых осложнений, выраженность боли усиливала частоту летальных исходов (Fayaz A. et al, 2016).

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, биопсия нерва и другие (Dyck PJ. et al, 2010, Ziegler D. et al, 2014, Chen X. et al, 2015, Russell JW. et al, 2014). Однако на ранних этапах ДПН может протекать субклинически, что не позволяет использовать информативные методы инструментальной диагностики и приводит к несвоевременному выявлению полинейропатии (Tesfaye S. et al., 2010, Albers JW. et al, 2007, Callaghan BC. et al, 2017). 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 (Boulton A.J.M., Ziegler, D., 2013). 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 (Leininger G.M. et al, 2004). Основными регуляторами пластичности мозга являются нейротрофические и ростовые факторы (Гомазков О.А., 2014) 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 роста (Benjamin LE 2001, Sasi M.et al, 2017). Согласно данным современных экспериментальных и клинических исследований, выявляется определенная закономерность, проявляющаяся повышением активации данных факторов роста на ранних стадиях диабетической полинейропатии, как проявление компенсаторных механизмов, и значительное снижение их выработки при декомпенсации процесса, при этом дефицит нейротрофических факторов становится самостоятельным патогенетическим звеном (Euyiletan C.et al, 2017, Nakagawa T.et al, 2002, Leininger GM.et al,2004). Однако до сих пор не удается объяснить причину прогрессирования заболевания даже при повышенной экспрессии нейротрофинов (Apfel SC.et al, 1998, Boulton,AJM., Ziegler,D., 2013, Sasi M.et al, 2017). 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 (Shin J.et al, 2010). Наша гипотеза: в условиях дефицита тирозинкиназных рецепторов положительные эффекты нейротрофинов не могут реализоваться, что по механизму обратной связи обуславливает снижение выработки нейротрофинов, истощение их запасов в крови и 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 биомаркеров – 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 (BDNF), его специфического рецептора TrkB и васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF-A) 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. При 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.

**Методология и методы исследования.** Методологией диссертационной работы явилось последовательное применение методов научного познания наряду с использованием клинических, лабораторных, инструментальных, аналитических и статистических методов исследования. В соответствии с этапами проводимой диссертационной работы проведен анализ литературы, определена степень разработанности темы, определен дизайн, выделена гипотеза, предмет и субъекты исследования. Субъектом исследования стали пациенты с различными формами нарушения углеводного обмена. Предметом исследования явилась рационализация методических подходов к диагностике и раннему выявлению поражения нервной системы у пациентов с сахарным диабетом.

#### **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 VEGFA 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 результатов исследования.** О достоверности результатов исследования свидетельствуют репрезентативный объем выборки, научный дизайн, использование современных клинико-лабораторных, инструментальных методов исследования и статистической обработки результатов работы.

**Апробация работы.** Основные положения работы представлены на межрегиональных научно-практических конференциях «Актуальные вопросы неврологии. Роль дисфункциональных расстройств», посвященная 100-летию медицинского образования

на Урале (г. Пермь 2016); «Неврологические чтения в Перми», посвященной 95-летию кафедры неврологии ПГМУ (г. Пермь 2017), научных сессиях Пермского государственного медицинского университета (г. Пермь 2016, 2017, 2018), на конкурсе молодых ученых «Вейновские чтения» (г. Москва, 2017); на 10-м Конгрессе Европейской федерации боли (Дания, 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.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 22 печатные работы, в том числе 7 – в рецензируемых изданиях, рекомендуемых ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации; 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».

**Внедрение результатов исследования.** Материалы диссертационной работы внедрены в учебную программу и используются при подготовке практических занятий и лекций для студентов и ординаторов на кафедре неврологии им. В.П.Первушина (зав. кафедрой – проф. Ю.В.Каракулова), а также с курсантами в учебном процессе кафедры неврологии с курсом нейрореабилитологии ФДПО (зав. кафедрой – проф. В.В.Шестаков) ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера Минздрава России.

Способ ранней диагностики диабетической полинейропатии с использованием количественного определения количественного определения мозгового нейротрофического, васкулоэндотелиального факторов роста, тирозинкиназного рецептора В типа в сыворотке периферической крови применяется в клинко-диагностической лаборатории в качестве маркера субклинической стадии диабетической полинейропатии, в ГБУЗ ПК «ГКБ №3» (главный врач – А.С. Буторин). Методика прогнозирования тяжелого течения диабетической полинейропатии и развития синдрома диабетической стопы применяется в неврологическом, эндокринологическом отделениях и отделении сосудистой хирургии ГБУЗ ПК «Ордена «Знак Почета» Пермская краевая клиническая больница» (главный врач – А.В. Касатов).

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.01.11 Нервные болезни, в области исследований п.5 «Заболевания периферической нервной системы», п.15 «Неврология болевых синдромов».

**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, 77 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.).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

**Общая характеристика группы наблюдения.** Проведено простое одномоментное сравнительное рандомизированное исследование 83 пациентов с полинейропатией, страдающих различными формами нарушения углеводного обмена. Набор пациентов в исследование осуществлялся на базе ГБУЗ ПК Городской клинической больницы №3, неврологического и эндокринологического отделений ГБУЗ ПК «Ордена "Знак Почета" Пермской краевой клинической больницы» за период с 2015 по 2017 годы. Группа сравнения состояла из 14 лиц, страдающих различными формами нарушения углеводного обмена, без признаков нарушения нервного проведения. Группу контроля составили 14 практически здоровых лиц. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

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, онкологическая патология, острые инфекционные заболевания менее 4 недель до исследования, отказ пациента от участия в исследовании.

Среди обследованных основной группы были 61 женщина (73,5%) и 22 мужчины (26,5%) в среднем возрасте  $59,62 \pm 11,88$  лет. Длительность заболевания сахарным диабетом пациентами отмечена в среднем  $13,05 \pm 8,41$  лет. 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/м<sup>2</sup>. 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. 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 перорального теста толерантности к глюкозе (ПГТТ) была равна  $10,97 \pm 3,24$  ммоль/л, средний уровень гликированного гемоглобина -  $7,62 \pm 2,11\%$ . 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.

Группу сравнения составили 14 пациентов без признаков полинейропатии по данным инструментальных методов исследования, из них - 10 женщин и 4 мужчин в среднем



возрасте  $55,7 \pm 8,91$  лет, что соответствовало возрастному показателю пациентов основной группы ( $U=0,235$ ,  $p=0,814$ ). Средний ИМТ пациентов данной группы составил  $28,59 \pm 4,31$  кг/м<sup>2</sup>, что значимо ниже пациентов основной группы ( $U=-2,066$ ,  $p=0,038$ ). Длительность заболевания сахарным диабетом пациентов группы сравнения значимо не отличалась от основной группы и составила в среднем  $14,0 \pm 11,37$  лет ( $U=-0,312$ ,  $p=0,754$ ).

Группу контроля составили 14 практически здоровых лиц, соответствующих полу и возрасту основной группе, без признаков повреждения нервной системы и нарушения углеводного обмена, отобранные согласно критериям исключения, а также на основе подписания информированного добровольного согласия на участие в исследовании.

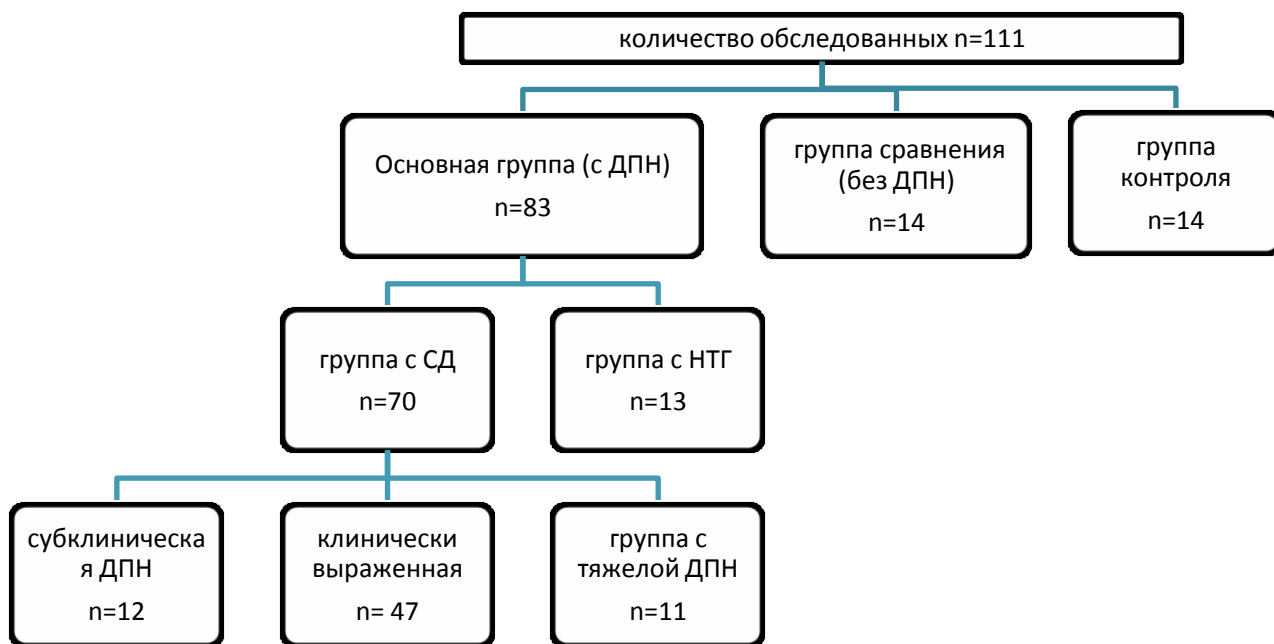


Рисунок 1. Дизайн исследования.

Дальнейшая оценка клиничко-нейрофизиологических параметров, согласно дизайну исследования, представленному на рисунке 1, позволила разделить пациентов основной группы на подгруппы по типу имеющегося нарушения углеводного обмена, таким образом, были выделены подгруппа 70 пациентов с сахарным диабетом и подгруппа, состоящая из 13 пациентов с нарушением толерантности к глюкозе. Пациенты подгруппы с сахарным диабетом в свою очередь были подразделены в зависимости от стадии диабетической полинейропатии на подгруппы с субклинической, клинически-манифестированной и тяжелой стадией заболевания.

**Методы исследования.** Клиническое обследование включало оценку жалоб, анамнеза, антропометрических данных. Оценка болевого статуса проводилась с помощью визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) и специализированной шкалы для выявления нейропатической боли PainDetect. Субъективная оценка степени нейропатии проводилась согласно опросникам общего симптоматического счета (Total Symptom Score, TSS), неврологического симптоматического счета (Neurological Symptoms Score, NSS). 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. Наличие полинейропатии подтверждалось путем проведения электронейромиографического

исследования (ЭНМГ) нижних конечностей, градация тяжести ДПН проводилась согласно классификации, разработанной P.Duck и P.Thomas.

Лабораторное исследование включало оценку 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. 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.

Статистические данные обрабатывались с помощью пакета программ Statistica-10. В исследовании использовались методы описательной статистики (значения медианы, стандартного отклонения), непараметрические методы исследования: 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 с критическим уровнем значимости  $p < 0,05$ . Изучение влияния нескольких независимых переменных на зависимую переменную и проверка значимости различия между средними значениями в разных группах проводилось методом многофакторного дисперсионного анализа ANOVA путем сравнения дисперсий этих групп. С целью моделирования гипотез с определением вклада отдельных независимых факторов в развитие признака и прогнозирования его развития использовался метод регрессионного анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Сравнительная оценка болевого статуса, клиничко-нейрофизиологических параметров обследованных пациентов

При сравнительном анализе показателей основной группы и группы сравнения не было получено достоверных отличий по возрасту ( $p > 0,05$ ), половой принадлежности, длительности диабета ( $p > 0,05$ ), однако пациенты без ДПН отличались более компенсированным уровнем углеводного обмена, см таблицу 1.

Таблица 1. 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±4,29	7,47±2,15	0,089	1,698
ПГТТ, моль/л	11,53±3,05	9,11±3,33	0,002	2,983
HbA1c, %	7,83±2,14	6,38±1,44	0,007	2,684

Отсутствие признаков повреждения периферических нервов согласно инструментальным данным ( $p > 0,05$ ) не исключало присутствия субъективной клинической симптоматики, соответствующей признакам возможной полинейропатии у пациентов группы сравнения. Средние значения оценки субъективной клинической симптоматики по шкалам TSS и NSS существенно не отличались от соответствующих показателей основной группы и могли свидетельствовать о наличии полинейропатии легкой степени, как показано в таблице 2. Проведенное неврологическое исследование периферической нервной системы исключило признаки полинейропатии у 11 пациентов, однако у 3 человек имелись легкие нарушения болевой и тактильной чувствительности у основания I пальцев обеих нижних конечностей. Среднее значение по шкале NDS составило  $3,28 \pm 1,86$  баллов, что многократно меньше соответствующего показателя пациентов основной группы ( $U=5,466$ ,  $p=0,000$ ).

Таблица 2. Сравнительная характеристика болевого статуса, клинико-нейрофизиологических показателей пациентов основной группы и группы сравнения

Показатель	Основная группа	Группа сравнения	p-value	U-критерий
ВАШ, баллы	$4,58 \pm 3,21$	$4,75 \pm 2,66$	0,951	-0,061
PainDetect, баллы	$12,96 \pm 8,54$	$9,07 \pm 6,77$	0,141	1,473
TSS, баллы	$5,64 \pm 3,22$	$3,95 \pm 2,66$	0,092	1,683
NSS, баллы	$5,28 \pm 2,53$	$4,92 \pm 2,49$	0,967	0,041
NDS, баллы	$14,98 \pm 7,12$	$3,28 \pm 1,86$	0,000	5,466
C-ответ, мВ	$3,99 \pm 3,26$	$9,37 \pm 2,92$	0,000	-4,646
M-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
CPB, м/с	$45,33 \pm 10,02$	$67,6 \pm 16,58$	0,000	-3,591

Таким образом, 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.

Таблица 3. Сравнительная характеристика клинических показателей пациентов с признаками полинейропатии (ПН) в подгруппах с нарушением толерантности к глюкозе и сахарным диабетом

Показатель	НТГ + ПН	СД+ПН	U-критерий	p-value
возраст пациентов, лет	$58,77 \pm 13,83$	$60,62 \pm 11,74$	-0,293	0,769
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	$29,34 \pm 4,56$	$31,83 \pm 5,94$	-1,284	0,198
Гликемия натощак, ммоль/л	$6,86 \pm 0,73$	$9,82 \pm 4,59$	-2,901	0,003
ПГТТ, ммоль/л	$9,51 \pm 0,85$	$13,37 \pm 3,09$	-3,705	0,000
HbA1c, %	$5,88 \pm 0,71$	$8,12 \pm 2,11$	-4,134	0,000
ВАШ, баллы	$4,69 \pm 3,09$	$4,69 \pm 3,22$	0,942	0,071
PainDetect, баллы	$12,00 \pm 6,09$	$13,57 \pm 8,88$	-0,482	0,629
TSS, баллы	$4,09 \pm 2,31$	$5,89 \pm 3,36$	-1,864	0,062
NSS, баллы	$4,46 \pm 2,26$	$5,39 \pm 2,26$	-0,984	0,324
NDS, баллы	$6,38 \pm 2,06$	$16,67 \pm 6,67$	-4,525	0,000

Исследование показало возможность развития полинейропатии, соответствующей по клинико-нейрофизиологическим показателям ДПН, при нарушении толерантности к глюкозе. Пациенты подгруппы с НТГ не отличались от пациентов, наблюдавшихся с сахарным диабетом по возрасту, индексу массы тела и показателям болевой и субъективной клинической симптоматики, как видно из таблицы 3. Однако группа с НТГ характеризовалась более компенсированным уровнем углеводного обмена и отличалась минимальной объективной неврологической симптоматикой.

В таблице 4 продемонстрировано, что 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».

Таблица 4. Сравнительная характеристика показателей нервного проведения у пациентов признаками полинейропатии (ПН) при сахарном диабете и нарушении толерантности к глюкозе

	НТГ + ПН	СД+ПН	P-value	U-критерий
С-ответ, мВ	5,04±3,99	3,98±3,07	0,476	0,712
Латентность, мс	2,49±1,24	2,99±2,49	0,568	-0,571
М-ответ (лодыжка)	2,92±1,61	2,53±1,74	0,392	0,854
Латентность, мс	3,79±0,59	3,99±1,38	0,657	-0,443
СРВ, м/с	47,33±7,81	45,41±10,04	0,211	1,248

На ранних этапах развития ДПН может протекать асимптомно. Среди 12 пациентов основной группы отсутствие жалоб противоречило электрофизиологическим показателям, свидетельствовавшим о развитии полинейропатии, в результате чего пациенты были выделены в отдельную группу с субклинической стадией диабетической полинейропатии. Средний возраст пациентов с субклинической стадией ДПН составил 58,25±14,66 лет, в подгруппе с клинически выраженной ДПН 62,00±9,83 лет, в подгруппе с тяжелой стадией ДПН - 56,91±16,78 лет. Таким образом, пациенты всех трех подгрупп находились в одной возрастной категории (H=0,721, p=0,697). Средний ИМТ в подгруппе пациентов с субклинической стадией составил 30,42±4,24 кг/м<sup>2</sup> и значимо не отличался от среднего значения подгруппы с клинической ДПН, равного 32,23±6,3кг/м<sup>2</sup>, а также от среднего показателя подгруппы с тяжелой стадией, составившего 30,99±6,13кг/м<sup>2</sup> (H=1,266, p=0,531). Средняя длительность сахарного диабета статистически не отличалась во всех трех подгруппах и равнялась 9,92±5,77 лет у пациентов с субклинической ДПН, 14,08±8,39 лет - в подгруппе пациентов с манифестированной полинейропатией и 11,27±8,11 лет в подгруппе с тяжелой ДПН (H=3,514, p=0,172).

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±3,97 ммоль/л, что значимо не отличалось от среднего значения подгруппы с клинически манифестированной ДПН, равного 9,1±2,84 ммоль/л, и соответствующего показателя подгруппы с тяжелой стадией полинейропатии, составившего 12,73±8,64 ммоль/л (H=0,505, p=0,776). В средних значениях гликированного гемоглобина пациентов

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



Рисунок 2. Сравнительная характеристика терапии СД в подгруппах пациентов на разных стадиях ДПН.

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, см. таблицу 5.

Таблица 5. Сравнительная характеристика клинической симптоматики пациентов на разных стадиях ДПН

Показатель	Субклиническая ДПН	Клинически-манифестированная ДПН	Тяжелая ДПН	Н-критерий	p-value
количество пациентов	12	47	11	-	-
ВАШ, баллы	$3,67 \pm 2,71$	$5,25 \pm 3,25$	$2,55 \pm 2,94$	6,702	0,035
Pain Detect	$2,67 \pm 2,31$	$17,11 \pm 7,65$	$7,64 \pm 6,15$	31,175	0,000
TSS, баллы	$1,58 \pm 0,99$	$7,14 \pm 2,83$	$5,48 \pm 2,63$	26,423	0,000
NSS, баллы	$2,08 \pm 1,08$	$6,34 \pm 2,24$	$5,18 \pm 1,94$	29,288	0,000
NDS, баллы	$10,42 \pm 6,17$	$17,83 \pm 5,83$	$17,91 \pm 6,58$	10,812	0,004

Электронеуромиографическое исследование позволило верифицировать признаки симметричного 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 6.

Таблица 6. Сравнительная характеристика электронейромиографических показателей пациентов на разных стадиях ДПН

Показатель	Субклиническая ДПН	Клиническая ДПН	Тяжелая	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
СРВ икроножного нерва, м/с	53,40±19,07	44,29±19,71	33,33±64,46	1,685	0,430
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	0,081
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

Проведен анализ факторов, влияющих 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 - выявлены прямые связи между ИМТ и интенсивностью боли по ВАШ ( $R=0,235$ ,  $p=0,004$ ) и PainDetect ( $R=0,224$ ,  $p=0,001$ ). Кроме того, пациенты с высоким индексом массы тела демонстрируют более яркую оценку клинических симптомов ( $R=0,2515$ ,  $p=0,005$ ), что не коррелирует с выраженностью электрофизиологических изменений ( $p>0,05$ ). Примечательно, что в группе пациентов без ДПН болевая симптоматика по ВАШ обратно коррелирует с СРВ ( $R=-0,662$ ,  $p=0,000$ ), в то время как в группе пациентов с СДС получена прямая корреляция между данными показателями ( $R=0,789$ ,  $p=0,001$ ). 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.

Корреляционный анализ в группе пациентов с клинически манифестированной ДПН продемонстрирован негативное влияние длительности сахарного диабета ( $R=-0,441$ ,  $p=0,001$ ) на степень аксонального повреждения нервных волокон (М-ответ). Также была выявлена прямая зависимость между латентностью С-ответа и уровнем гликемии натощак ( $R=0,349$ ,  $p=0,015$ ). Доказано, что декомпенсация гликемии (по уровню HbA1c) играет значительную роль в формировании демиелинизирующих изменений нервных волокон (СРВ) у пациентов с СДС ( $R=-0,682$ ,  $p=0,000$ ). Тем не менее, в группе пациентов в субклинической стадии ДПН и у пациентов с НТГ подобные корреляции не подтвердились ( $p>0,05$ ). Подробный мультифакториальный дисперсионный анализ, представленный в графике на рисунке 3, позволил прийти к заключению, что повреждение нервного волокна зависит не только от длительности процесса, вида сахароснижающей терапии и достигнутого уровня компенсации углеводного обмена, поскольку построенная модель статистически

недостоверна ( $p=0,643$ ), и  $R^2=0,213$  свидетельствует об учете в модели не более 21,3% факторов, влияющих на нервное проведение. Это требует дальнейшего поиска факторов, потенциально влияющих на целостность периферических нервов.

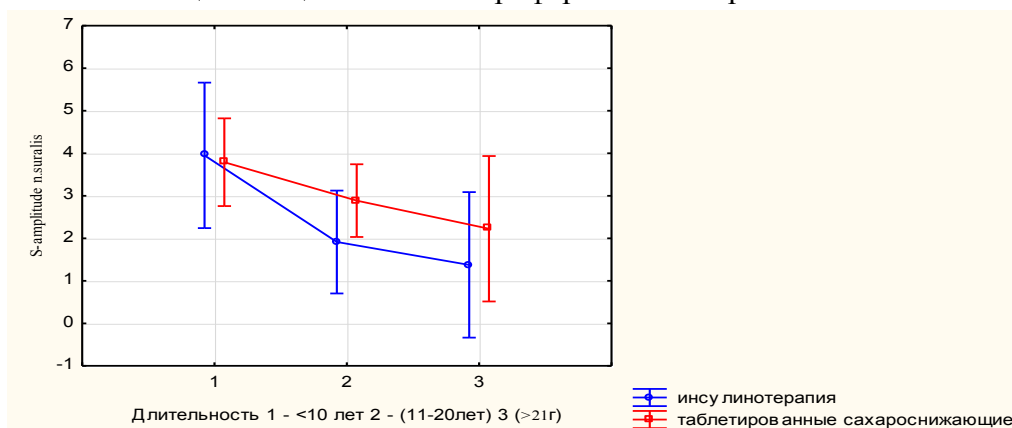


Рисунок 3. Анализ влияния инсулинотерапии на степень повреждения нервного волокна с учетом длительности диабета.

### Сравнительный анализ содержания нейротрофических факторов и рецепторов с тирозинкиназной активностью в сыворотке пациентов исследованных групп

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, рецептора TrkB и васкулоэндотелиального фактора роста в сыворотке. Усиление экспрессии происходит вне зависимости от наличия клинической симптоматики и вне зависимости от вида нарушения углеводного обмена. Как показано в таблице 7, сывороточные уровни BDNF и TrkB в подгруппах с субклинической стадией ДПН и у пациентов с полинейропатией при НТГ значительно превышают соответствующие показатели группы здоровых лиц и лиц без признаков полинейропатии.

Таблица 7. Сравнительный анализ содержания факторов роста в сыворотке пациентов сравниваемых групп

Показатель	Группа контроля	Группа сравнения	Группа с ПН при НТГ	Субклиническая стадия ДПН	Клиническая стадия ДПН	p-value
BDNF, нг/мл	1,07±0,64	0,85±0,44	2,18±0,74	2,74±1,89	4,70±2,68	0,000
TrkB, нг/мл	1,66 ± 0,63	1,95±1,01	3,97±2,02	4,68±1,93	4,72±2,75	0,000
VEGFA, пг/мл	25,22±12,8 6	28,36±9,8 1	25,33±8,2 2	37,62±17,10	49,41±28,7 8	0,000
VEGFR2, нг/мл	16,59±4,53	17,49±5,0 3	15,04±4,8 6	20,42±7,69	21,29±8,27	0,016

По результатам статистического анализа, возраст, пол пациентов основной группы не влияли на содержание нейротрофических факторов и их рецепторов ( $p>0,05$ ). Выявлены прямые корреляционные связи между уровнем гликемии натощак и сывороточным количеством BDNF ( $R=0,327$ ,  $p=0,001$ ) и VEGF-A ( $R=0,252$ ,  $p=0,000$ ). Значимого влияния

уровня глюкозы натощак в крови на содержание рецепторов факторов роста (TrkB, VEGFR2) в сыворотке не было выявлено ( $R=0,176$ ,  $p=0,981$  и  $R=0,082$ ,  $p=0,509$ , соответственно). Длительность диабета влияет на уровни BDNF ( $R=0,303$ ,  $p=0,002$ ), VEGF-A ( $R=0,436$ ,  $p=0,000$ ) и VEGFR2 ( $R=0,399$ ,  $p=0,000$ ), однако не коррелирует с содержанием TrkB ( $R=0,051$ ,  $p=0,276$ ). Степень неврологического дефицита, объективизированная с помощью шкалы NDS, прямо коррелирует с уровнем BDNF ( $R=0,288$ ,  $p=0,004$ ), VEGF-A ( $R=0,301$ ,  $p=0,002$ ) и VEGFR2 ( $R=0,273$ ,  $p=0,006$ ).

По мере прогрессирования полинейропатии, в стадии развернутой клинической симптоматики, определяется максимальное количество мозгового нейротрофина в сыворотке ( $4,70 \pm 2,68$  нг/мл), однако поздняя стадия отличается его резким дефицитом ( $0,34 \pm 0,23$  нг/мл.  $N=32,025$ ,  $p=0,000$ ). Графический анализ содержания BDNF в исследованных группах представлен на рисунке 4.

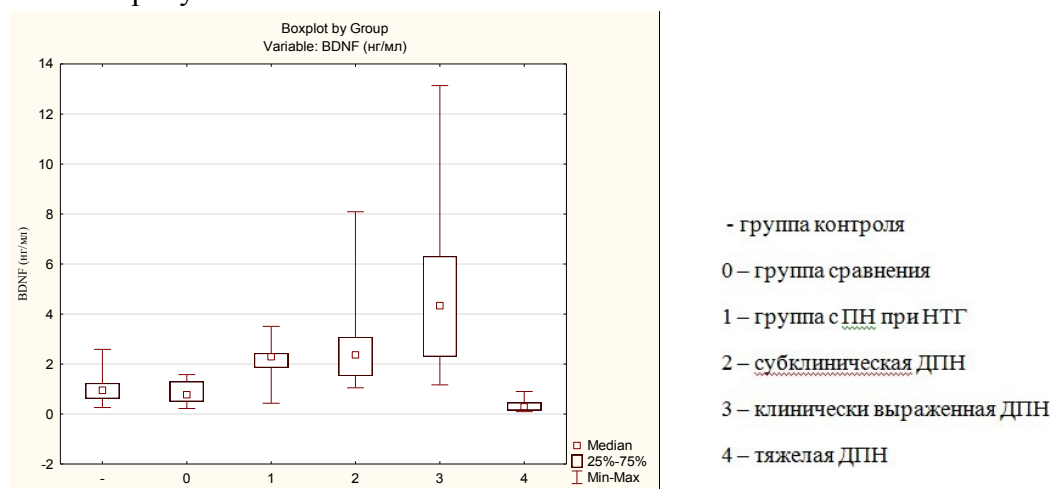


Рисунок 4. Сравнительное содержание BDNF у пациентов исследованных групп.

В отличие от BDNF, содержание рецептора TrkB в сыворотке, повышаясь на ранних этапах повреждения нервной системы, в том числе, при субклинической стадии ДПН ( $4,68 \pm 1,93$  нг/мл) и при НТГ ( $3,97 \pm 2,02$  нг/мл), остается стабильно высоким при развернутой симптоматике ( $4,72 \pm 2,75$  нг/мл) и на поздней стадии ( $5,11 \pm 3,04$  нг/мл). Достоверных межгрупповых различий выявлено не было, однако имеется тенденция к повышению содержания TrkB при тяжелой стадии, как показано на рисунке 5 ( $N=0,231$ ,  $p=0,891$ ).

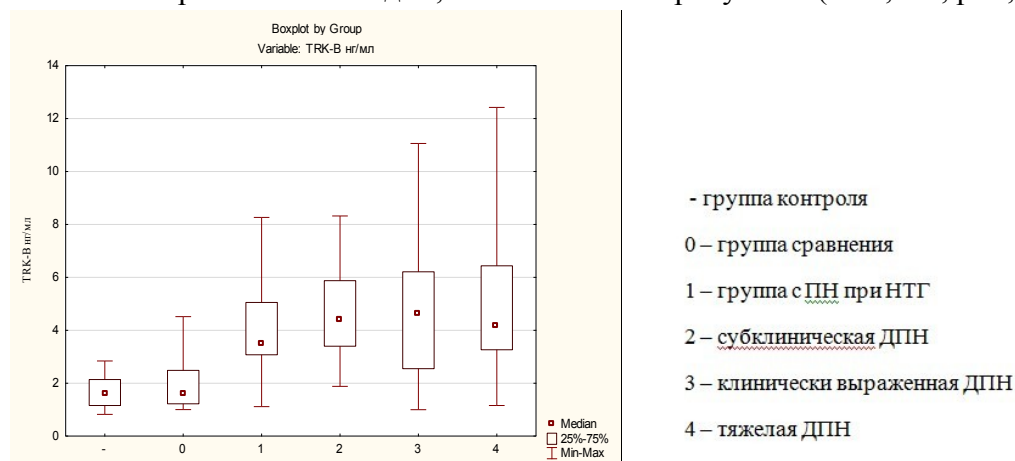


Рисунок 5. Сравнительное содержание TrkB у пациентов исследованных групп.



Кроме того, количество рецептора, фиксируемого в сыворотке, коррелирует с выраженностью демиелинизирующего повреждения нервного волокна по данным ЭНМГ и зависит от степени уровня HbA1C ( $R=0,264$ ,  $p=0,015$ ). Выявлена обратная зависимость между индексом массы тела и TrkB ( $R=-0,345$ ,  $p=0,001$ ). Получены корреляции содержания TrkB с показателями нервного проведения: прямая связь с латентностью малоберцового нерва в дистальном отделе ( $R=0,311$ ,  $p=0,001$ ), обратные зависимости с амплитудой С-ответа ( $R=-0,235$ ,  $p=0,023$ ) и амплитудой М-ответа малоберцового нерва на протяжении: на уровне лодыжки ( $R=-0,246$ ,  $p=0,015$ ), под головкой малоберцовой кости ( $R=-0,228$ ,  $p=0,024$ ) и в подколенной ямке ( $R=-0,238$ ,  $p=0,024$ ). Эти зависимости, а также имеющиеся теоретические 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. При прогрессировании полинейропатии, проявляющейся разрушением миелиновой оболочки и, соответственно, рецепторного аппарата нейротрофических факторов, неизбежно вторичное снижение выработки факторов роста, что означает срыв компенсаторных возможностей нервной системы.

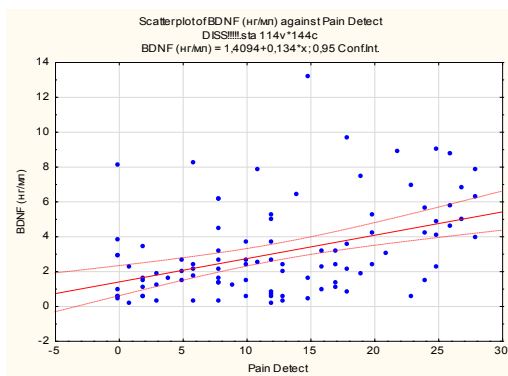


Рисунок 6. Зависимость нейропатической боли от BDNF сыворотки.

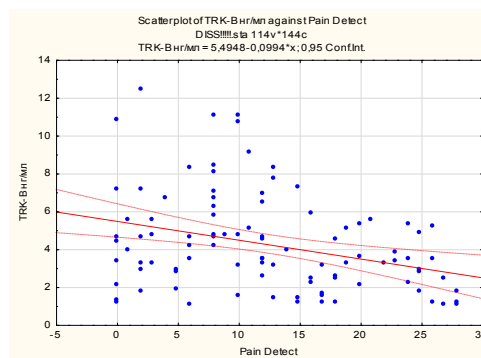


Рисунок 7. Зависимость нейропатической боли от TrkB сыворотки.

Стадия клинической манифестации диабетической полинейропатии проявляется нейропатическим болевым синдромом, и мозговой нейротрофический фактор проявляет себя как активатор центральной сенситизации болевого синдрома. В отличие от своего биоглианда, прямо коррелирующего с выраженностью боли по PainDetect ( $R=0,426$ ,  $p=0,000$ , рисунок 6) содержание TrkB в сыворотке обратно пропорционально интенсивности данного вида болевого синдрома ( $R=-0,305$ ,  $p=0,002$ , рисунок 7).

Показано, что экспрессия васкулоэндотелиального фактора роста изменяется на разных стадиях ДПН пропорционально изменениям сывороточного BDNF ( $R=0,446$ ,  $p=0,000$ ). Таким образом, на ранней стадии полинейропатии отмечается тенденция к увеличению содержания VEGF-A в сыворотке ( $37,62 \pm 17,10$  пг/мл), которое достигает максимума в стадии развернутой клинической симптоматики ( $49,41 \pm 28,78$  пг/мл), и истощению сывороточных запасов на поздней стадии ( $29,62 \pm 28,84$  пг/мл,  $N=12,271$ ,  $p=0,002$ ), как показано на рисунке 8.

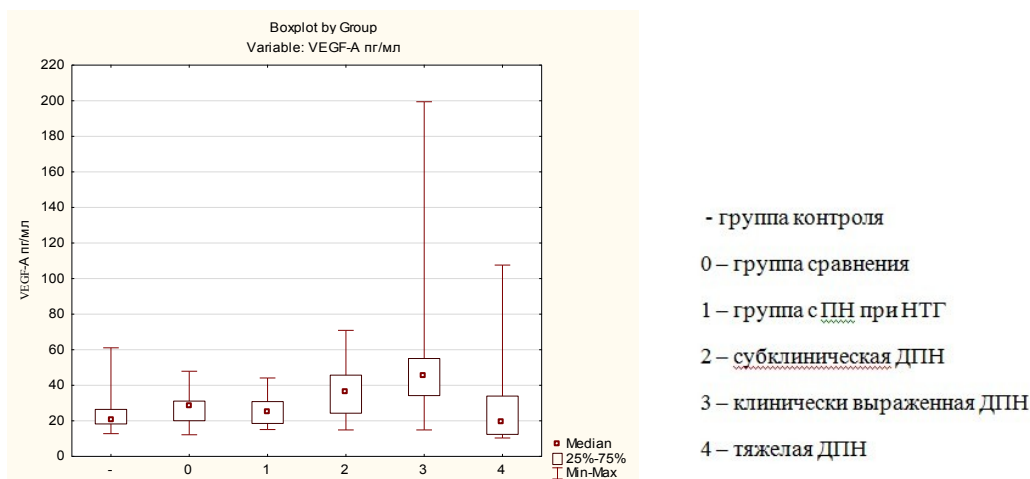


Рисунок 8. Сравнительное содержание VEGFA в сыворотке пациентов исследованных групп.

Несмотря на незначительные колебания содержания рецептора VEGFR2 в сыворотке на разных стадиях ДПН и отсутствие усиления экспрессии в дебюте заболевания, содержание данного рецептора изменяется синхронно с количеством собственного биологанда ( $R=0,495$ ,  $p=0,000$ ) и уровнем BDNF ( $R=0,283$ ,  $p=0,004$ ), таким образом, имея тенденцию к повышению в стадии развернутой клинической симптоматики ( $21,29 \pm 8,27$  нг/мл) и к дефициту при синдроме диабетической стопы ( $14,89 \pm 4,54$  нг/мл,  $N=6,496$ ,  $p=0,038$ ).

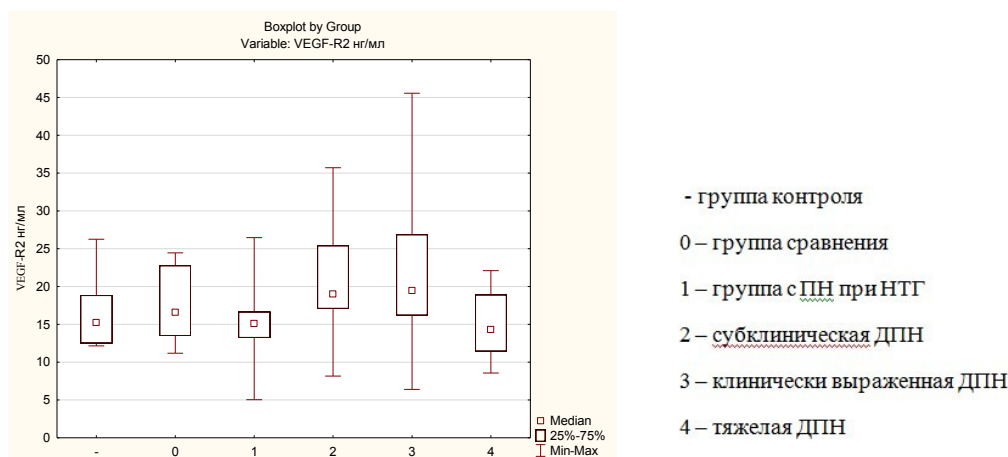


Рисунок 9. Сравнительное содержание VEGFR2 в сыворотке пациентов исследованных групп.

У пациентов с клинически манифестированной полинейропатией VEGFR2 показал обратные корреляционные зависимости с показателями аксонального повреждения (М-ответ,  $R=-0,346$ ,  $p=0,016$ ), а в группе пациентов с субклинической стадией – обратную корреляцию с показателем демиелинизации нервного волокна (CPB,  $R=-0,618$ ,  $p=0,015$ ). Поскольку, в отличие от трансмембранного рецептора TrkB, VEGFR2 способен существовать в сыворотке в свободной форме, полученные данные свидетельствуют о потенциальном действии свободного рецептора VEGFR2 как эндогенной ловушки 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 ( $R=-0,611$ ,  $p=0,046$ )

может свидетельствовать о снижении синтеза свободного рецептора в ответ на дефицит его биолиганда – фактора роста эндотелия сосудов.

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

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 10).

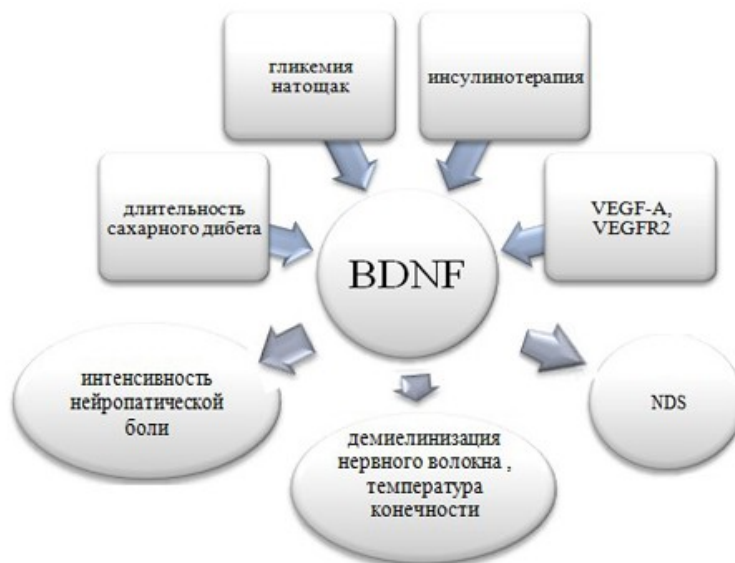


Рисунок 10. Корреляции содержания BDNF с клинко-нейрофизиологическими параметрами.

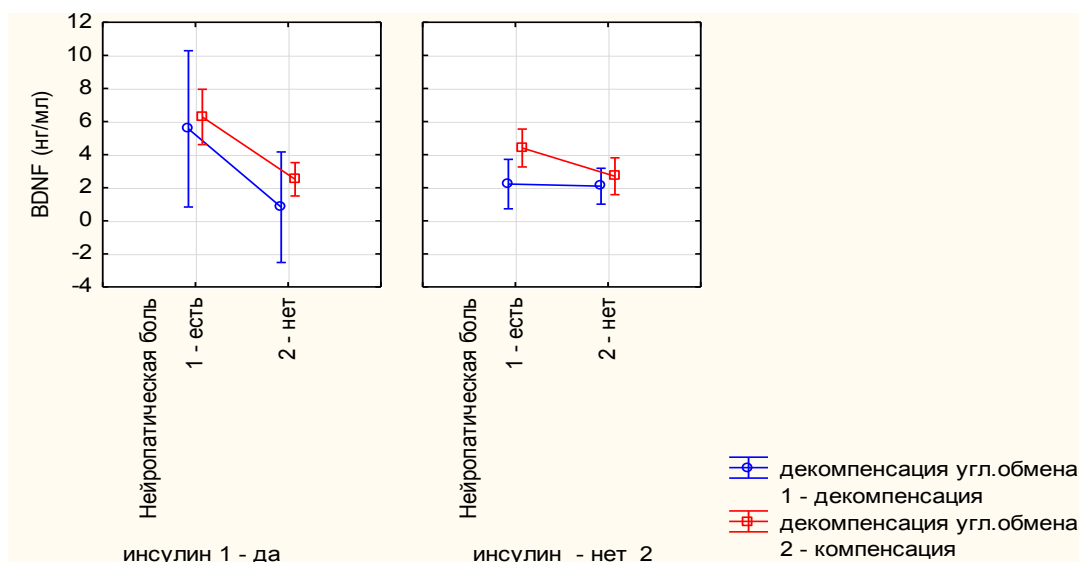


Рисунок 11. График зависимости BDNF от нейропатической боли, углеводного обмена и назначения инсулина в терапии.

Из графика, представленного на рисунке 11, следует, что уровень BDNF выше у пациентов с болевой формой ДПН при декомпенсированном диабете и наличии инсулина в

терапии. При оценке качества модели значение  $R^2=0,445$  свидетельствует об учете порядка 44,5% факторов, влияющих на содержание BDNF в сыворотке.

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 12).



Рисунок 12. Корреляции количества TrkB с клиничко-anamнестическими и нейрофизиологическими данными.

Исходя из графика, приведенного на рисунке 13, наиболее важным фактором, влияющим на содержание TrkB в сыворотке, является нейропатический компонент боли - у пациентов с безболевым формой ДПН рецептор обнаруживается в сыворотке в максимальных 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. Практически половина факторов, влияющих на содержание TrkB (51%), учтена в данной модели ( $p=0,028$ ).

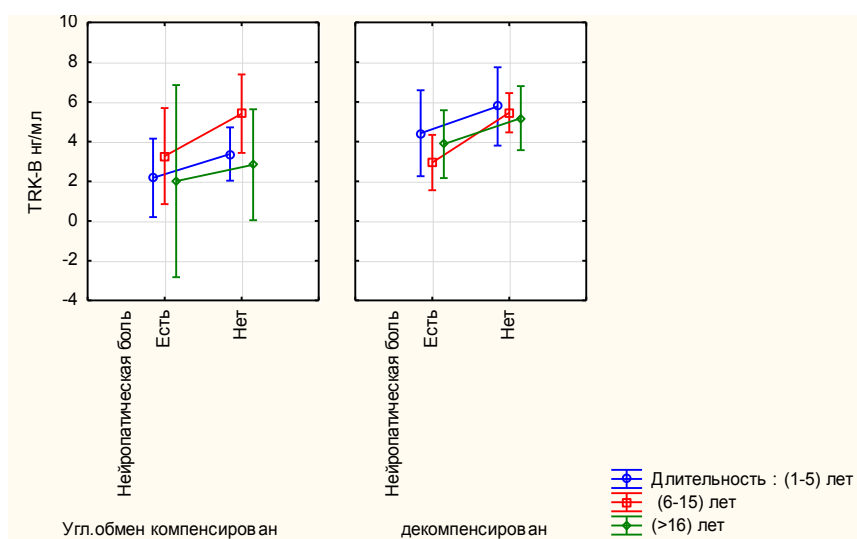


Рисунок 13. График зависимости содержания TrkB от длительности диабета, углеводного обмена и наличия нейропатической боли.

Корреляционный анализ исследованных подгрупп выявил наличие взаимосвязи уровня сывороточного васкулоэндотелиального фактора роста и длительностью диабета, степенью декомпенсации углеводного обмена, степенью неврологического дефицита по NDS, макроангиопатическими осложнениями в анамнезе, температурой конечности при оценке нервной проводимости и уровнем сывороточного мозгового нейротрофина и собственного рецептора VEGFR2 (см рисунок 14).

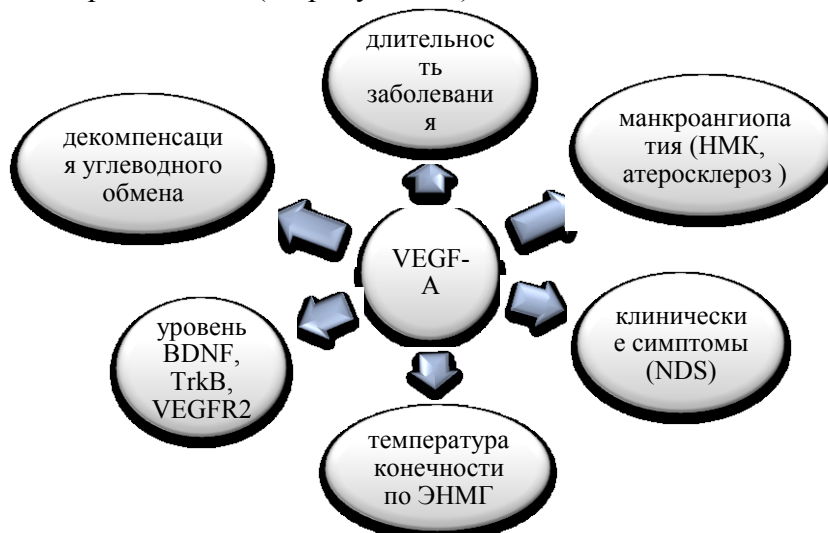


Рисунок 14. Корреляции VEGF-A и клинико-anamнестических, нейрофизиологических показателей.

Длительность сахарного диабета влияла также на содержание VEGFR2, уровень последнего коррелировал с выраженностью неврологического дефицита по шкале NDS, температурой конечности и аксонально-демиелинизирующими показателями (рисунок 15), однако статистически достоверных моделей ANOVA не было построено.

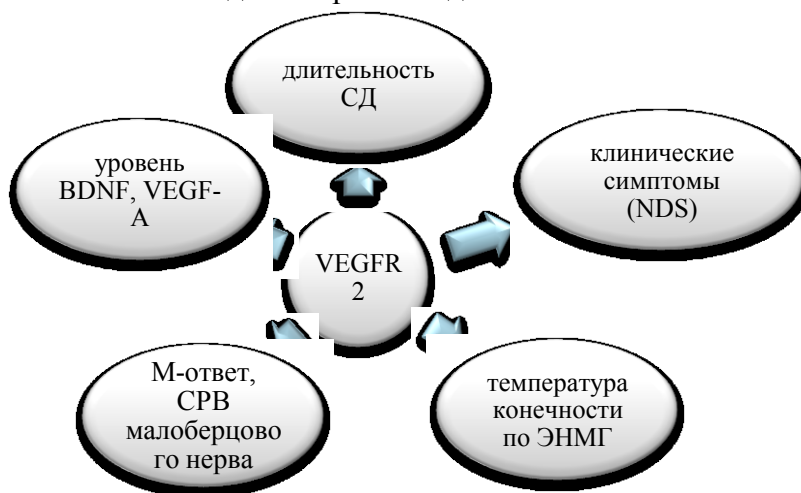


Рисунок 15. Корреляции VEGFR2 и клинико-anamнестических, нейрофизиологических показателей.

Таким образом, пол, возраст, тип диабета, а также показатели общего анализа крови не влияли на содержание нейротрофических факторов и их рецепторов. 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. Инсулин может опосредованно улучшать

выработку нейротрофических факторов при ДПН, что подтверждает его нейротрофин-подобные эффекты, а его дефицит можно рассматривать как независимый фактор прогрессирования полинейропатии при сахарном диабете 1 типа. Назначение инсулинотерапии при декомпенсированном течении сахарного диабета 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 диабетической 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 B, что происходит вне зависимости от наличия клинической симптоматики и расширяет диагностические возможности в отношении скрининга субклинической стадии диабетической полинейропатии. Повышение экспрессии мозгового нейротрофина прямо коррелирует с уровнем нейропатической боли и достигает максимума в стадии развернутой клинической симптоматики.
3. У пациентов на поздней стадии диабетической полинейропатии определяется выраженная дисфункция системы мозговой нейротрофин - рецептор, что обуславливает характерную безболевою клиническую симптоматику и демонстрирует необратимое нарушение нейрорепаративных процессов. Количественное содержание рецептора мозгового нейротрофина в сыворотке крови отражает повреждение рецепторного аппарата мозгового нейротрофина, коррелирует со степенью демиелинизации нервного волокна и может использоваться в качестве предиктора развития тяжелой стадии диабетической полинейропатии и синдрома диабетической стопы.
4. Синхронное изменение уровней мозгового нейротрофического и васкулоэндотелиального факторов роста в сыворотке указывает на их взаимосвязь в патогенезе диабетической полинейропатии и важную роль эндотелиальной дисфункции в развитии аксонопатии. Доказана способность свободной сывороточной формы рецептора сосудистого фактора роста дезактивировать положительные нейротрофические эффекты своего биолиганда, что негативно сказывается на трофике нервного волокна при диабетической полинейропатии.
5. К факторам, влияющим на клинико-нейрофизиологические показатели диабетической полинейропатии, 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 СОКРАЩЕНИЙ

ВАШ – визуальная аналоговая шкала  
ДПН – диабетическая полинейропатия  
ИМТ – индекс массы тела  
ИФА – иммуноферментный анализ  
НТГ – нарушение толерантности к глюкозе  
ПГТТ – пероральный глюкозотолерантный тест  
ПН - полинейропатия  
СД – сахарный диабет  
СДС – синдром диабетической стопы  
СРВ – скорость распространения возбуждения  
ЭНМГ – электронейромиография  
ANOVA - ANalysis Of VAriance, дисперсионный анализ  
BDNF – brain-derived neurotrophic factor, мозговой нейротрофический фактор  
DCCT - Diabetes Control and Complications Trial  
HbA1c – гликированный гемоглобин  
IFCC - International Federation of Clinical Chemists  
NDS - Neuropathy Disability Score, шкала нейропатического дисфункционального счета  
NGSP - National Glycohemoglobin Standardization Program  
NSS – Neurological Symptoms Score, шкала неврологического симптоматического счета  
TrkB – tropomyosin receptor kinase B  
TSS - Total Symptom Score, шкала общего симптоматического счета  
VEGF-A – Vascular endothelial growth factor A  
VEGFR2 – vascular endothelial growth factor receptor 2

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Филимонова Т.А., Каракулова Ю.В. Корреляции болевого статуса и нейрофизиологических показателей при диабетической полинейропатии. Российский журнал боли. №1 (52) 2017, стр.56.
2. Каракулова Ю. В., Филимонова Т. А. Мониторинг клинико-нейрофизиологических показателей при диабетической полинейропатии в процессе метаболической терапии // Доктор.Ру. 2017. № 1 (130). С. 25–29.
3. Филимонова Т.А, Каракулова Ю.В.. Роль мозгового нейротрофического фактора в формировании синдрома диабетической стопы. Неврологический Вестник. Том L, выпуск 2. Казань, «Медицина», 2018, с.111-112.
4. Каракулова Ю.В., Филимонова Т.А., Каракулов А.О., Васильев Ю. Нейротрофины и боль в профилактике синдрома диабетической стопы. Российский журнал боли. №2 (56) 2018, стр.125-126.
5. Филимонова Т.А. Возможности лабораторной диагностики субклинической стадии диабетической полинейропатии. Трансляционная Медицина, 2018 (3) – Санкт-Петербург, с 358.
6. Каракулова Ю.В., Филимонова Т.А. Нейротрофическая терапия болевой формы диабетической полинейропатии. ДокторРу, №9(153), 2018, с19-22.
7. Филимонова Т.А., Каракулова Ю.В., Каракулов А.О. Васкулоэндотелиальный фактор роста в диагностике диабетической полинейропатии и профилактике синдрома диабетической стопы. Медицинский Альманах № 6 (57) ноябрь 2018, с.134-136.
8. Филимонова Т.А., Каракулова Ю.В. Клинико-нейрофизиологические корреляции у пациентов с диабетической полинейропатией// Сборник Научной сессии ПГМУ-2016.
9. Филимонова Т.А., Каракулова Ю.В. Клинико-психометрическое тестирование пациентов с диабетической полинейропатией/ Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы неврологии. Роль дисфункциональных расстройств», посвященной 100-летию медицинского образования на Урале, Пермь, 2016, с.167
10. Каракулова Ю.В., Филимонова Т.А. Новые возможности патогенетического лечения диабетической полинейропатии», научно-практический журнал «Manage Pain» 4/16, 2016, стр.52-56.
11. Каракулова Ю.В., Филимонова Т.А. Динамическое исследование показателей нейропатии у пациентов сахарным диабетом в процессе метаболической терапии.// Материалы Конкурса молодых ученых в рамках 13 ежегодной конференции посвященной памяти академика А.М.Вейна. г.Москва, 9-11 февраля 2017г.
12. Филимонова Т.А., Каракулова Ю.В. Корреляции электрофизиологических показателей и степени нейропатии при сахарном диабете. // Материалы Средневолжской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Молодая наука – практическому здравоохранению». Пермь, 2017.
13. Филимонова Т.А. Определение уровня мозгового нейротрофического фактора в сыворотке пациентов с диабетической полинейропатией./ Актуальные вопросы профилактики и лечения сосудистой патологии головного мозга: сборник научно-



исследовательских работ межрегиональной научно-практической конференции неврологов и нейрохирургов.- Киров: Кировский ГМУ, 2017. -45-48с.

14. Филимонова Т.А, Каракулова Ю.В. Анализ клинико-нейрофизиологический показателей полинейропатии при различных формах нарушения углеводного обмена. Неврологические чтения в Перми: сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции/под ред. проф. Ю.В.Каракуловой, д.м.н. Н.В.Селяниной. – Уфа: Аэтерна, 2017. - 144с.
15. Каракулова Ю.В., Филимонова Т.А. Нейрофизиологические маркеры ранней диагностики полинейропатии при различных формах нарушения углеводного обмена. Материалы VII Научно-практической конференции с международным участием «Кайшибаевские чтения». Алматы, Казахстан, 2017.- 66-69с.
16. T. Filimonova, J. Karakulova. Pathogenetic mechanisms of pain syndromes in patients with diabetic neuropathy and their correction. 10<sup>th</sup> Congress of the European Pain Federation EFIC, Abstract E-Book, Abstract: 469. Copenhagen, Denmark, 2017.
17. Филимонова Т.А. Влияние мозгового нейротрофического фактора на развитие нейропатической боли при диабетической полинейропатии. Молодая наука – практическому здравоохранению : тезисы докладов 91-й итоговой научно-практической конференции студентов, ординаторов, аспирантов, молодых ученых (до 35 лет) ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера / ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России. – Пермь : Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2018. с.210-211.
18. Ю.В.Каракулова, Ю.В.Васильев, А.О.Каракулов, О.Г.Каракулов, Т.А.Филимонова. Нейротрофины и боль в профилактике синдрома диабетической стопы. Материалы всероссийской научной конференции с международным участием. Том II. Актуальные вопросы медицинской науки. Пермь, 2018. стр.78-81.
19. А.О.Каракулов, О.Г.Каракулов, Т.А.Филимонова. Механизмы формирования синдрома диабетической стопы. Материалы всероссийской научной конференции с международным участием. Том I. Инновационные технологии в хирургии. Пермь, 2018. стр.46-48.
20. Филимонова Т.А., Каракулов О.Г, Каракулов А.О. Влияние трофических факторов на здоровье пациентов с сахарным диабетом// Вестник терапевта. 2018. № 10 (34).
21. Т.А.Филимонова, А.О.Каракулов. Клинико-нейрофизиологическая характеристика полинейропатии при сахарном диабете 1 и 2 типов. Неврологические чтения в Перми: сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции / под ред. проф. Ю.В.Каракуловой, Н.В.Селяниной. – Пермь: Изд-во «МиГ», 2018. с.125-132.
22. Каракулова Ю.В., Филимонова Т.А., Каракулов О.Г., Васильев Ю.В. Способ диагностики субклинической стадии диабетической нейропатии. патент на изобретение RUS 2671630 31.01.2018.