

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Первый Московский Государственный Медицинский  
Университет имени И.М. Сеченова» Министерства Здравоохранения  
Российской Федерации  
(Сеченовский Университет)**

На правах рукописи

**Фокина Анастасия Сергеевна**

**Влияние контроля углеводного обмена на течение нейропатии и состояние  
микроциркуляции у пациентов с сахарным диабетом 2 типа**

Специальность

3.1.19. Эндокринология

3.1.24. Неврология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научные руководители:**

**Зилов Алексей Вадимович**

кандидат медицинских наук, доцент

**Строков Игорь Алексеевич**

кандидат медицинских наук, доцент

Москва, 2022 г.

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	- 4 -
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	- 10 -
<b>1.1. Эпидемиология диабетической периферической нейропатии</b> .....	- 10 -
<b>1.2. Патогенез диабетической нейропатии</b> .....	- 15 -
1.2.1. Микрососудистые нарушения, возникающие при СД и приводящие к развитию ДПН ..	- 18 -
<b>1.3. Классификация и клиника ДПН</b> .....	- 21 -
1.4.1. Электрофизиологический метод диагностики ДПН .....	- 25 -
1.4.2. Диагностика субклинической ДПН.....	- 28 -
<b>1.5. Лечение диабетической нейропатии</b> .....	- 32 -
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	- 36 -
<b>2.1. Клинические методы исследования</b> .....	- 39 -
<b>2.2. Лабораторные и инструментальные методы исследования</b> .....	- 42 -
2.2.2. Электронейромиография (ЭНМГ) .....	- 43 -
2.2.3. Исследование микроциркуляции крови .....	- 43 -
2.2.4. Исследование скорости распространения пульсовой волны, эндотелиальной функции и артериального давления .....	- 45 -
2.2.5. Биопсия кожи .....	- 46 -
2.2.6. Лазерная конфокальная микроскопия роговицы .....	- 48 -
<b>2.3. Морфологические методы оценки нейропатии тонких волокон</b> .....	- 52 -
2.3.1. Морфометрический метод.....	- 53 -
2.3.2. Иммуногистохимический метод .....	- 53 -
<b>2.3. Методы статистического анализа</b> .....	- 55 -
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	- 57 -
<b>3.1. ЭТАП 1. СКРИНИНГ</b> .....	- 57 -
3.1.1. Распространенность ДПН у пациентов с СД 2-го типа .....	- 58 -
3.1.2. Оценка влияния компенсации углеводного обмена и длительности СД 2-го типа на развитие и прогрессирование ДПН .....	- 62 -
3.1.3. Оценка влияния различных факторов риска на развитие ДПН у пациентов с СД 2-го типа ..	- 64 -

3.1.4. Оценка «позитивной» нейропатической симптоматики .....	- 71 -
3.1.5. Оценка «негативной» нейропатической симптоматики (неврологического дефицита) ...	- 74 -
3.2. Оценка показателей электронейромиографии (ЭНМГ) .....	- 80 -
3.3. Этап 2. Сравнительный анализ эффективности нормализации гликемии в течение 5-ти месяцев у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН .....	- 90 -
3.3.1. Оценка результатов ЭНМГ у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН на фоне достижения и удержания целевого уровня гликемии в течение 5 месяцев .....	- 91 -
3.3.2. Результаты исследования параметров микроциркуляции, жесткости артерий и функции эндотелия у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН .....	- 92 -
3.3.3. Результаты пункционной биопсии кожи .....	- 96 -
3.3.4. Результаты конфокальной микроскопии роговицы .....	- 106 -
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	- 110 -
ВЫВОДЫ .....	- 123 -
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	- 124 -
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	- 125 -
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	- 127 -
ПРИЛОЖЕНИЕ .....	- 146 -

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность проблемы и разработанность темы**

Актуальность данной работы определяется высоким прогрессирующим ростом распространенности сахарного диабета 2 типа в мире. Согласно последним данным Международной Федерации Диабета (IDF), в настоящий момент численность пациентов с сахарным диабетом (СД) во всем мире составляет 537 млн. человек, из них две трети трудоспособного возраста. В Российской Федерации – около 7,4 млн. пациентов, причем в каждом втором случае СД не диагностирован. По имеющимся прогнозам, к 2045 году СД будут страдать примерно 785 млн. человек [121]. Высокая заболеваемость и широкая распространенность сахарного диабета в популяции, не менее широкий спектр его осложнений и их высокая частота выявляемости, позволяет в настоящее время рассматривать СД как одну из наиболее значимых медико-социальных проблем. Эта проблема в социальном плане затрагивает все более широкие слои населения, а в медицинском – является проблемой междисциплинарной, так как борьба с СД касается врачей многих специальностей.

Диабетическая периферическая нейропатия (ДПН) представляет собой уникальное нейродегенеративное заболевание периферической нервной системы и является одним из наиболее частых и грозных осложнений СД. На её счет приходится около 75% поражений нервной системы при СД [43]. Наличие ДПН является одной из наиболее важных проблем с медико-социальной и экономической точек зрения, т.к. не только резко ухудшает качество жизни пациентов, но и представляет собой фактор, значительно повышающий риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и смертности [195].

По данным мировой литературы распространенность ДПН среди пациентов с СД представлена в очень широком диапазоне (5-100%) [191; 200; 132]. Столь большой разброс полученных результатов может быть обусловлен отсутствием четкого определения понятия диабетической нейропатии, многообразием ее проявлений, использованием различных диагностических методов и критериев постановки диагноза, а также различиями между исследуемыми группами пациентов. Важно отметить, что цифры распространенности ДПН будут варьировать ещё больше, при учёте субклинической формы ДПН [94]. Таким образом, ориентироваться можно только на результаты исследований, проведенных с применением нейрофизиологических методов обследования, при участии большого количества пациентов и использовании международных консенсусных критериев постановки диагноза ДПН [3; 15].

Частота возникновения нейропатии при СД в значительной степени имеет положительную корреляцию с гипергликемией, возрастом, ростом пациента и длительностью течения диабета [176; 110]. Кроме того, к независимым факторам риска развития

периферической нейропатии относятся висцеральное ожирение, артериальная гипертензия, гиперлипидемия, курение и микроальбуминурия [84; 97; 197; 76]. Влияние каждого возможного фактора риска на развитие ДПН дискутабельно.

Существует также доказанная взаимосвязь распространенности ДПН среди различных популяций пациентов с СД и влияния генетических факторов, которые либо обуславливают развитие ДПН, либо «предохраняют» от её возникновения [19; 127; 190; 3]. Однако, на данный момент известно, что только полиморфизмы *ACE* (ген, кодирующий ангиотензинпревращающий фермент) и *MTHFR* (ген, кодирующий метилентетрагидрофолатредуктазу) были изучены во многих популяциях, включая большие когорты. Для лучшего понимания роли генетики в развитии ДПН необходимо проведение дополнительных крупномасштабных клинических исследований, и, в настоящее время, проводится несколько из них [99; 166; 163].

Проведенные клинические исследования доказали, что изменения со стороны периферической нервной системы, соответствующие самой ранней (субклинической) стадии диабетической нейропатии, выявляются уже на стадии нарушения толерантности к глюкозе (НТГ) [185; 95; 232; 168]. По данным клинического исследования, проведенного среди пациентов со впервые выявленным СД, наличие нейропатических симптомов было обнаружено более чем у 70% обследуемых [202].

Для выявления ранних признаков нейропатии (на субклинической стадии) у пациентов с СД необходимо применять наиболее чувствительные методы диагностики [195]. К таким современным методикам относится анализ плотности интраэпидермальных нервных волокон (ПИНВ) и их морфологических изменений, а также лазерная конфокальная микроскопия нервных волокон роговицы (КМР). Диагностическая и предиктивная ценность данных методик очень высока, - полученные показатели достоверно отражают состояние тонких немиелинизированных нервных волокон, позволяют в динамике оценивать происходящие в них изменения, а, следовательно, появляется возможность максимально раннего назначения лечения, направленного на восстановление их структуры.

Следует отметить, что в настоящее время в России нет достаточного количества обобщенных данных о ранней (субклинической/бессимптомной) стадии ДПН, так как не проводилась оценка её нейрофизиологических и морфологических признаков. Также отсутствуют проспективные исследования, направленные на изучение морфологических изменений периферической нервной системы в динамике.

До сих пор многие вопросы остаются неизученными, например: насколько обратимы изменения, возникающие в нервном волокне и, обратимы ли они в принципе, при стойкой длительной нормализации углеводного обмена?

Таким образом, лучшее понимание патогенеза ДПН при помощи изучения морфологической структуры нервных волокон, в дальнейшем будет иметь решающее значение для успешного разрешения всех вопросов, касающихся данного заболевания: от профилактики до его лечения.

Все вышеизложенное определило цель и задачи настоящего исследования.

### **Цель исследования**

Охарактеризовать субклиническую стадию диабетической периферической нейропатии, используя функционально-морфологические методы, изучить возможность обратимости выявленных нарушений на фоне улучшения гликемического контроля.

### **Задачи исследования**

1. Оценить распространенность ДПН у пациентов с СД 2-го типа, находящихся в многопрофильном стационаре, используя клинические и электрофизиологические методы диагностики (электронейромиография).
2. Провести сравнительную оценку состояния тонких интраэпидермальных нервных волокон методом пункционной биопсии кожи («панч»-биопсия) и тонких нервных волокон роговицы с применением метода конфокальной микроскопии у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией нейропатии.
3. Изучить основные параметры макро- и микроциркуляции (в т.ч. жесткость артерий и функцию эндотелия) у пациентов СД 2-го типа и субклинической стадией нейропатии.
4. Проанализировать влияние улучшения гликемического контроля ( $HbA1c \leq 6,5\%$ ) на состояние тонких и толстых нервных волокон, состояние микроциркуляции у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией нейропатии.

### **Научная новизна**

Впервые в диссертационном исследовании в России были применены, оценены и объединены все актуальные методы по диагностике диабетической периферической нейропатии у пациентов с СД 2-го типа.

Продemonстрировано значение современных микроскопических методов, применяющихся для морфологической оценки состояния тонких немиелинизированных

нервных волокон, с целью раннего выявления поражения периферических нервов при СД 2-го типа.

Впервые проведена комплексная оценка основных параметров макро- и микроциркуляции у пациентов с СД 2-го типа и субклинической нейропатией при помощи диагностического метода цифровой капилляроскопии, а также применена авторская технология определения скорости распространения пульсовой волны и эндотелиальной функции.

Впервые в пилотном исследовании изучено влияние улучшения гликемического контроля на параметры микроциркуляции, на электрофизиологические характеристики толстых волокон и морфологические показатели тонких волокон периферических нервов у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией диабетической нейропатии.

### **Теоретическая и практическая значимость**

1. Выявлена высокая распространенность субклинической стадии диабетической периферической нейропатии у пациентов с СД 2-го типа, в том числе и при небольшой длительности течения СД.
2. Оценка состояния тонких нервных волокон методом «панч»-биопсии и конфокальной микроскопии роговицы в сочетании с исследованием системы микроциркуляции является прогностически значимой моделью, позволяющей выделить среди пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией нейропатии, нуждающихся в более интенсивном наблюдении/лечении.
3. Результаты нашей работы показывают, что нейрофизиологическое обследование является оптимальным для диагностики ДПН на субклинической стадии.
4. Приближение параметров углеводного обмена к физиологической норме ( $HbA1c \leq 6,3\%$ ) у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией нейропатии способно приводить к возможности реинервации тонких нервных волокон и улучшения состояния системы микроциркуляции.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Показана высокая частота встречаемости всех форм диабетической периферической нейропатии у пациентов с СД 2-го типа (75%): симптомная нейропатия выявлялась у 38% пациентов, субклиническая стадия нейропатии (бессимптомная) – у 37% обследуемых.

2. Несмотря на поиск новых диагностических методов для выявления ДПН на субклинической стадии, электронейромиография по-прежнему является «золотым стандартом», и может использоваться в научно-клинических исследованиях.
3. Метод пункционной биопсии кожи с определением плотности интраэпидермальных нервных волокон является информативным для раннего выявления субклинической формы ДПН, однако, в силу инвазивности процедуры, его повсеместное применение ограничено.
4. «Изменение хода и структуры тонких безмиелиновых нервных волокон при субклинической ДПН возможно анализировать при помощи неинвазивного метода конфокальной микроскопии роговицы, используя авторские коэффициенты и алгоритмы подсчёта».
5. Комплексное определение параметров макро- и микроциркуляции позволяет максимально рано выявить признаки сосудистых поражений при СД 2-го типа.
6. Оптимизация и удержание гликемического контроля (не менее 5 месяцев) может способствовать процессу реинервации тонких нервных волокон при ДПН.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность и обоснованность полученных результатов подтверждена достаточным числом обследованных пациентов, качественным анализом первичного материала с использованием современных диагностических методов исследования и последующей обработкой с применением адекватных статистических методов оценки полученных в ходе исследования научных результатов, которые согласуются с данными других авторов и отвечают современным представлениям о данной проблеме.

Положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации грамотно аргументированы результатами выполненных исследований.

Основные научные положения, выводы и рекомендации выполненной кандидатской диссертации внедрены в научную, учебную и практическую работу кафедры эндокринологии №1 и кафедры нервных болезней и нейрохирургии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

**Апробация диссертации проведена** на кафедре эндокринологии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.

Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва (протокол № 12 от 10 февраля 2022г.).

### **Публикации и внедрение**

По материалам диссертации опубликовано 7 научных работ в периодической печати, в том числе 4 публикации в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

### **Объем и структура работы**

Диссертация изложена на русском языке в объеме 147 страниц машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, главы результатов собственного исследования, главы обсуждения полученных результатов исследования, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 40 таблицами, 49 рисунками. Список литературы включает 241 источник отечественной и зарубежной литературы.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Эпидемиология диабетической периферической нейропатии

Поражение периферической нервной системы является одним из наиболее ранних и широко распространенных осложнений СД. Эпидемиология ДПН не так хорошо изучена по сравнению с другими осложнениями, возникающими в результате метаболических нарушений. Однако известно, что на долю ДПН приходится около 70% поражений нервной системы при СД [195].

Впервые диабетическая нейропатия (ДН) была описана *Marchal de Calvi* в 1864 г. как «одно из наиболее распространенных осложнений сахарного диабета» [63]. Максимально точное определение диабетической полинейропатии было принято на согласительной конференции в *San Antonio* в 1988-ом г.[31]: ДПН – специфическое для СД осложнение, сопровождающееся клинической симптоматикой или без неё, характеризующееся поражением как периферической, так и автономной нервной системы, при исключении других причин её развития [46; 78]. В 2009 году, по итогам экспертного съезда (19<sup>th</sup> annual Diabetic Neuropathy Study Group of the European Association for the Study of Diabetes – NEURODIAB and the 8<sup>th</sup> International Symposium on Diabetic Neuropathy in Toronto, Canada, 2009) [195], было принято решение охарактеризовать ДПН как «симметричную сенсомоторную полинейропатию с поражением длинных нервных волокон (length-dependent polyneuropathy), развивающуюся в результате метаболических и микрососудистых нарушений на фоне хронической гипергликемии и факторов сердечно-сосудистого риска» [195]. Чаще всего под термином «диабетическая нейропатия» понимают «комплекс клинических и субклинических синдромов, каждый из которых характеризуется диффузным или очаговым поражением периферических и/или автономных нервных волокон в результате СД» [224; 15].

Установлена чёткая взаимосвязь наличия ДПН и снижения качества жизни пациентов с СД, а также риском возникновения и развития инвалидизирующего осложнения СД – синдрома диабетической стопы (в частности остеоартропатии (стопы Шарко)) [3; 58; 219; 107; 82]. Существенно снизить количество летальных исходов и в целом риск инвалидизации, а также значительно улучшить качество жизни пациентов с СД можно при помощи выявления ДПН на ранней (доклинической) стадии, а также обеспечения своевременного лечения данного осложнения СД [147; 151].

Распространенность ДПН широко варьирует в разных странах и этнических группах, что вероятнее всего, определяется различием обследованных когорт пациентов, а также различиями

в критериях диагностики [28]. По данным эпидемиологических исследований, в зависимости от используемых методов обследования и критериев диагностики, частота встречаемости ДПН при СД составляет от 5 до 100% [28; 191; 44; 55]. Наиболее достоверные данные о распространенности диабетической нейропатии можно получить из репрезентативных эпидемиологических исследований, выявляющих наличие нейропатии, проведенных с большим количеством пациентов. Исходя из таких исследований, проецируемых на общую численность населения, можно получить реальные данные относительно актуальной распространенности ДПН [147].

В настоящий момент число взрослых людей во всем мире, страдающих СД, превысило 530 млн. человек, а число пациентов с симптоматической ДПН ~ 40 млн. Таким образом, при ожидаемом к 2045 году количестве людей с СД в 785 млн. человек, число пациентов с ДПН будет насчитывать сотни миллионов [29; 121; 135].

Клинические признаки ДПН выявляются у 10% пациентов уже на момент постановки диагноза СД 2-го типа, а через 5-10 лет – уже у 50% [162; 86; 131]. Это обусловлено тем, что длительное время заболевание часто протекает бессимптомно, пациенты не получают адекватной терапии или не выполняют рекомендации врача и, на протяжении 5-7-летнего периода пациент часто находится в состоянии хронической гипергликемии.

Чаще всего ДПН проявляется в виде субъективных неприятных ощущений пациента (боль, жжение, онемение, парестезии), но так же может характеризоваться бессимптомным течением, что нередко вызывает трудности в диагностике данного осложнения и, вероятно, обуславливает разброс данных по частоте выявления ДПН среди пациентов с СД [28; 29].

Выявляемость ДПН при СД 2-ого типа составляет 10-49% на момент постановки диагноза и 50% при длительности заболевания 10 лет, из них: 25% имеют выраженные клинические проявления ДПН, у 50% нейропатия выявляется при использовании стандартных методов неврологического обследования, а у 90% – при применении высокочувствительных методов диагностики [3; 164; 184; 210]. На основании данных клинических исследований можно считать, что отклонения, указывающие на наличие нейропатии или появление характерных жалоб, возникают уже на стадии нарушения толерантности к глюкозе (НТГ), что связано с высокой чувствительностью нервных клеток к повышенной концентрации глюкозы в плазме крови [188; 235; 54; 24].

*J.Singleton и соавт.*, анализируя пациентов с нейропатией неизвестного происхождения, подтвердили у 30% обследуемых наличие ранее не диагностированного СД, а у 17% - другие нарушения углеводного обмена, в частности НТГ. В качестве отдельной подгруппы были обследованы пациенты, имеющие болевую форму нейропатии, у 35% из которых

подтвердилось наличие НТГ [180; 180; 114]. Похожие результаты представила *S.Novella и соавт.*: среди 76-ти случаев нейропатий неизвестного происхождения обнаружили в 23% ранее не диагностированный СД, а в 27% - подтвердили наличие НТГ [156]. Таким образом, можно сделать вывод о том, что нейропатия, проявляющаяся на стадии НТГ, по клиническим проявлениям (сенсорные нарушения и боль наряду с автономной дисфункцией) похожа на нейропатию, выявляемую при СД.

По данным исследования, проведенного среди пациентов со впервые выявленным СД и ДПН, у 60-ти % пациентов было обнаружено нарушение сенсорной чувствительности: у ~40% диагностирована эректильная дисфункция, у 33% обследованных - другие автономные нарушения периферической нейропатии [202]. Эти данные указывают на вовлечение в патологический процесс тонких немиелинизированных нервных волокон уже на ранних этапах развития заболевания.

Первые эпидемиологические исследования по проблеме СД датируются 1940-1950-ми гг. Актуальность данных исследований, в частности при СД 2-го типа, заключается, прежде всего в том, что его доля среди других форм диабета достигает 85-90% [4]. Так же, важным обстоятельством является и то, что фактическая распространенность СД 2-го типа в 3-5 раз превышает регистрируемую по обращаемости [32; 121; 15]. Именно эти факторы определяют его медико-социальную значимость не только среди других форм диабета, но и среди всех хронических неинфекционных заболеваний. Согласно полученным данным Всероссийского эпидемиологического исследования по распространенности СД 2-го типа у взрослого населения в России (*NATION*), которое стало самым масштабным в области СД в России, охватив более 26 тыс. человек от 20 до 79 лет, - сегодня в России более 6 млн. человек с СД 2-го типа. При этом более половины из них (54%) не знает о своем заболевании, а каждый пятый житель нашей страны находится в состоянии предиабета [4; 32; 36].

В 2021 г. Международная Диабетическая Федерация (*International Diabetic Federation*) опубликовала подробную информацию о распространенности СД 2-го типа в мире. Эти данные являются расчетными, тем не менее, наглядно продемонстрирована неоднородность полученных результатов в различных регионах, обусловленная многими сопутствующими факторами (генетическими, демографическими и средовыми), а также географическим расположением [121].

В Российской Федерации, как и во всех странах мира, отмечается значимый рост распространенности СД [15]. В среднем, в РФ доля пациентов с СД 2-го типа составляет 92%, с СД 1-ого типа - 6%, с другими типами СД – 2%. Увеличение распространенности СД отмечается за счет СД 2-го типа (+835 тыс. пациентов за 5-летний период), что подтверждает

глобальные мировые тенденции роста распространенности и увеличения доли СД 2-го типа среди общего количества пациентов с СД [32; 15; 14; 224]. Диабетическая нейропатия выявлена у 38,4% пациентов с СД 1-го и у 19% пациентов с СД 2-го типа [14].

Одним из первых и наиболее полных исследований, изучающих распространенность диабетической нейропатии, является исследование *J.Pirart*, которое продолжалось в течение 25 лет и включало в себя 4400 пациентов с СД. На основании полученных результатов было выявлено, что нейропатия встречалась в 12% случаях после установления диагноза СД и в 50-ти% случаев через 25 лет наблюдения. Таким образом, результаты, полученные при исследовании относительно большого числа пациентов на протяжении длительного времени, наглядно продемонстрировали зависимость частоты возникновения ДПН от продолжительности СД и степени компенсации углеводного обмена [162].

По результатам крупномасштабного исследования *EURODIAB IDDM Complication Study* была доказана взаимосвязь ДПН с возрастом пациентов, длительностью заболевания СД, степенью компенсации углеводного обмена, а также, с факторами сердечно-сосудистого риска. Частота выявляемости ДПН при СД 1-го типа составила 28% [3; 201]. Эпидемиологическое исследование *The Rochester Diabetic Neuropathy Study (RDNS)* выявило широкую распространенность всех форм ДПН при СД 1-ого типа, составившую 60-65%. По полученным данным, наиболее часто выявлялась сенсорно-моторная стадия ДПН - 13-54% случаев [94]. При обследовании более 2000 пациентов с СД 1-го и 2-го типов *M.Gilliford и соавт.* обнаружили симптомы нейропатии в 49% случаев [112].

Как уже было сказано, в отношении наиболее значимых предиктивных факторов развития ДПН в литературных источниках идут дискуссии. Принято считать, что употребление алкоголя, а также известные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний, такие как висцеральное ожирение, артериальная гипертензия, гиперлипидемия и курение, играют определенную роль в развитии и прогрессировании диабетической нейропатии, в связи с чем особенно важно их своевременное предотвращение или лечение [224]. Обсуждаемые факторы, такие как рост и половая принадлежность чаще всего не подтверждают своего влияния на ДПН [34; 40; 62; 201].

С целью оценки распространенности различных форм ДПН, а также выявлению факторов относительного риска её развития, в Италии было проведено исследование, в которое вошли 364 пациента с СД 1-го ( $n = 66$ ) и СД 2-го ( $n = 308$ ) типов. Всем участникам проводилось неврологическое и электрофизиологическое обследование. В результате данного исследования было выявлено, что общая распространенность ДПН (согласно критериям конференции в Сан-Антонио) составила 44,9% без статистической разницы между сахарным диабетом 1-го и 2-го типа (46,43% и 37,88% соответственно); наиболее часто была диагностирована симптомная

(клиническая) стадия нейропатии (32,2%), бессимптомная (субклиническая) стадия составила 12,83%, наиболее редко выявлялась тяжелая форма. Было доказано, что наиболее значимым фактором риска развития ДПН является длительность СД более 20 лет ( $p \leq 0,0001$ ) [109].

В исследовании *Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)* были изучены осложнения СД и выявлено, что интенсифицированная инсулинотерапия у пациентов с СД 1-го типа на 34-76% снижала частоту клинически значимых микрососудистых осложнений (ретинопатии, нефропатии и нейропатии) по сравнению со стандартной схемой лечения этого заболевания, однако была не способна полностью исключить их возникновение или приводить к серьезному регрессу симптоматики [29; 85]. Также не всегда прослеживается взаимосвязь между степенью тяжести СД и выраженностью ДПН. Известны случаи развития тяжелой формы ДПН у пациентов с СД относительно легкого течения [62], что не исключает влияние и других эпигенетических факторов.

По мнению некоторых ученых, результаты исследования *DCCT* могут быть экстраполированы и на пациентов с СД 2-го типа [157]. Тем не менее, между диабетом 1-го и 2-го типа по многим параметрам наблюдаются существенные различия. В обзоре проспективных исследований влияния уровня гликемии на ДПН подчеркнуто, что длительное поддержание нормогликемии у пациентов с СД 1-го типа способно улучшить функцию соматических нервов. При СД 2-го типа убедительных данных о возможности уменьшения риска развития ДПН на фоне интенсификации проводимой терапии к настоящему времени не получено [29; 71]. В то же время, не вызывает сомнения, что строгий гликемический контроль СД является приоритетным в профилактике развития ДПН и обеспечении максимальной эффективности её патогенетической терапии [29].

Изучение влияния оптимального гликемического контроля при СД 2-го типа было проведено в крупнейшем и самом продолжительном рандомизированном клиническом исследовании *United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS)* с участием 5102 человек [206]. Наблюдение продолжалось около 20-ти лет, и, по его окончании был сделан вывод о том, что при стойкой длительной нормализации гликемии возникновение и прогрессирование микрососудистых осложнений, а также симптомов ДПН возможно предотвратить [186]. Результаты исследования *UKPDS* указывают на то, что в реальной клинической практике необходимо как можно раньше обеспечивать нормализацию показателей углеводного обмена и их удержание в целевом диапазоне, т.к. это способствует более позднему возникновению осложнений СД. Полученные результаты можно назвать «метаболической памятью» [124]. В 12-тилетнем исследовании *M.Coutinho*, при участии 95 783 пациентов с СД 2-го типа, было

показано, что повышение уровня гликемии до 7,8 ммоль/л сопровождается увеличением относительного риска неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов более чем в 1,5 раза [81].

В недавно проведенном *F.Ishibashi и соавт.* комплексном исследовании пациентов с СД 2-го типа, находившихся в состоянии неудовлетворительного гликемического контроля (средний уровень HbA1c составлял 9,6%), было оценено влияние интенсивного контроля уровня глюкозы в течение двух лет и выявлено, что нормализация и поддержание целевого уровня HbA1c за указанный период времени приводит к значительному улучшению течения нейропатии [237].

В другом исследовании, изучающем распространенность и факторы риска СД 2-го типа в Рио-де-Жанейро, было установлено, что ежеквартальное определение среднего уровня HbA1c (1 раз в 3 месяца) явилось более значимым фактором риска развития и проявления ДПН, тогда как среднесуточная вариабельность гликемии, оцененная вариабельностью HbA1c, была лучшим предиктором для выявления новых случаев ДПН [75].

Выявление СД 2-го типа во всё более раннем возрасте и растущая тенденция к увеличению его численности, привели к необходимости пристальной динамической оценке осложнений у пациентов детского и подросткового возраста [21].

## **1.2. Патогенез диабетической нейропатии**

Диабетическая нейропатия – «патогенетически связанное с СД сочетание синдромов поражения нервной системы, классифицируемое в зависимости от преимущественного вовлечения в процесс спинномозговых нервов (дистальная или периферическая нейропатия) и/или вегетативной нервной системы (автономная нейропатия) при исключении других причин» [15].

В большинстве периферических нервов параллельно и смешанно проходят толстые миелинизированные ( $d \sim 12-20$  мкм) и тонкие немиелинизированные аксоны ( $d \sim 1-6$  мкм), которые обеспечивают соматомоторную, соматосенсорную и вегетативные функции. Поэтому симптомокомплекс поражения нерва складывается из чувствительных, моторных (двигательных) и автономных расстройств [222]. Периферические аксоны полностью покрыты миелиновой оболочкой на всем своем протяжении. Миелиновая оболочка аксонов представляет собой специализированный мембранный отросток клеток олигодендроглии и имеет сегментарное строение. В периферической нервной системе функцию олигодендроглии выполняют клетки Шванна, которые закручиваются вокруг аксона. На отдельный участок

интернодального аксона приходится одна клетка Шванна, и, соответственно этому, у периферических нервов отмечается намного более высокая склонность к ремиелинизации. Немиелинизированный участок между соседними сегментами миелиновой оболочки аксона носит название узел (или перехват) Ранвье [24]. Безмиелиновые волокна отличаются тем, что в них не развивается миелиновая оболочка и их осевые цилиндры покрыты только шванновскими клетками (шванновской оболочкой).

Основополагающей функцией нервных волокон является проведение импульса. По особенностям строения и функциям нервные волокна подразделяются на два вида: миелиновые (покрытые миелиновой оболочкой) и безмиелиновые (не покрытые миелиновой оболочкой). Толстые миелиновые нервные волокна отвечают за восприятие ощущения тела в пространстве (проприоцепцию) и проведение вибрации; тонкие миелинизированные и немиелинизированные волокна проводят болевое возбуждения (С-волокна), а так же ответственны за ощущение прикосновения, температуры.

Нейропатии представляют собой дегенеративные нарушения периферических и вегетативных нервов вследствие различных патогенетических механизмов преимущественно полиоточной локализации, которые проявляются различными клиническими симптомами и субклиническими формами [67]. Общеизвестно, что патогенез ДПН многогранен и является результатом взаимодействия многочисленных метаболических (гипергликемия, дислипидемия, артериальная гипертензия, курение, дефицит витамина D), средовых и генетических факторов [177]. Первичным местом поражения при нейропатии является аксон и его оболочка с элементами соединительной ткани и эндоневральной сосудистой сетью. На начальных стадиях его поражения появляются признаки дегенерации тонких безмиелиновых волокон, при дальнейшем негативном воздействии истончается миелиновый слой, расширяется эндоневральное пространство, повреждаются шванновские клетки (леммоциты), формируются участки демиелинизации и ремиелинизации [5]. В возникновении нейропатии принимают участие в основном два механизма: функциональное или структурное поражение сосудистой сети, что, в конечном счете, приводит к хронической ишемии нервной ткани, а также действие факторов обмена веществ (например, гипергликемия). Вовлеченность в процесс микрососудистого русла объясняет также и то, что диабетические нейропатии относят к микрососудистым осложнениям СД.

Многофакторный патогенез ДПН был также подтвержден в ходе экспериментальных исследований [159]. Наше понимание патофизиологии заболевания в значительной степени было получено на животных моделях, которые определили ключевые потенциальные механизмы. На модели крыс с индуцированным СД были получены основные данные,

позволившие выработать два подхода к изучению патогенеза ДПН. Во-первых, была сделана попытка охарактеризовать патофизиологические, патобиохимические и структурные нарушения нерва, которые приводят к возникновению экспериментальной ДПН. Во-вторых, были проведены определенные лечебные мероприятия, направленные на предотвращение развития этих нарушений, их прогрессирования, а также стимуляцию их регресса, несмотря на сопутствующую гипергликемию [224]. Однако, эффективные методы лечения на доклинических моделях не были переведены в широкомасштабные клинические исследования, и, в настоящий момент у нас нет общепринятых методов лечения, влияющих на исход заболевания [182].

Согласно современным представлениям, в патогенезе ДПН играют роль шесть патогенетических механизмов. Однако, в отличие от моделей предыдущих лет, они рассматриваются не как отдельные гипотезы, а как сложное взаимодействие между метаболическими и сосудистыми факторами (так называемая «мультипатогенетическая» модель развития ДН) [224].

1. Полиоловый путь метаболизма глюкозы. Накопление сорбитола и фруктозы возникающее в результате запуска данного процесса приводит к истощению запасов миоинозитола в нерве, снижению активности  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATФазы}$  и как следствие, нарушению структурной целостности нервного волокна, снижению аксонального транспорта, что препятствует нормальному распространению потенциала действия. Сорбитол, точнее конечный продукт – кетоглюкоза, а также усиленное образование фруктозы с помощью совместных механизмов повреждения ткани, приводят к поражению функции нервной клетки. Образовавшаяся фруктоза подвергается гликолизу в 10 раз больше по сравнению с глюкозой, при этом также повышается способность к автооксидации, увеличивается освобождение свободных радикалов, одновременно повышается образование так называемых продуктов конечного гликолиза (*advanced glycaemia endproducts - AGE*) [213].
2. Недостаточность эндоневральной микроциркуляции в связи со снижением уровня NO, с последующей ишемией и гипоксией тканей, генерацией активных форм кислорода (оксидативный стресс), активацией редокс-чувствительного фактора транскрипции (NF- $\kappa$ B) и повышением активности протеинкиназы C (ПКС) и поли-(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP) непосредственно изменяют функцию многих генов, ответственных за синтез белков, являющихся компонентами клеток сосудистой стенки и других тканей организма [224; 204; 133; 142].

3. Снижение эндоневрального кровотока, приводящее к уменьшению экспрессии и истощению запасов нейротрофических факторов, таких как фактор роста нерва (ФРН), нейротрофин-3 (НТ-3), и инсулиноподобный фактор роста (ИФР), а также нарушению аксонального транспорта [224; 50].
4. Накопление (при многолетнем течении СД и хронической гипергликемии) конечных продуктов неферментативного гликозилирования на белках нервных клеток и/или клеток сосудов, питающих нейроны (*vasa nervorum*), приводящее к нарушению структурной целостности нейронов и эндотелиальной дисфункции [224; 105].
5. Иммунологические процессы, характеризующиеся развитием выраженного системного воспаления и появлением аутоантител к блуждающему нерву, симпатическим ганглиям и мозговому веществу надпочечников, а также их непосредственные изменения [224; 159; 234].
6. Периферическая нервная система обладает целым рядом цитолитических и липофильных систем, имеющих антиокислительную направленность. В развитии ДПН большое внимание уделяется гиперлипидемии и изменению состава жирных кислот. Нарушение обмена жирных кислот (гамма-линоленовой и арахидоновой) приводит к изменению метаболизма вазоактивных субстанций, которые в свою очередь снижают эндоневральный кровоток [3; 224; 175; 233].

Важно отметить, что принимая во внимание вышеописанные патогенетические механизмы, появляется возможность разработки таргетных терапевтических подходов [224].

### **1.2.1. Микрососудистые нарушения, возникающие при СД и приводящие к развитию ДПН**

Системные сосудистые осложнения СД являются основной причиной инвалидизации и смертности пациентов с СД [15]. Описание микрососудистых изменений, а именно утолщение сосудистой стенки и склеротических преобразований, происходящее в нервных волокнах пациентов СД, связано с именем *С.Фагерберга* [98]. В настоящее время уже известно, что причиной изменений является эндотелиальная дисфункция, приводящая к частичному повреждению сосудистой стенки и гемореологическим изменениям просвета сосудов. В результате этих процессов развиваются вазоконстрикция, отёк, ишемия и тканевая гипоксия, которые помимо увеличения риска сердечно-сосудистых заболеваний, приводят к нарушению

эндоневрального кровообращения [137]. Это позволяет считать эндотелиальную дисфункцию критическим звеном в микрососудистой этиологии сахарного диабета и одним из важнейших независимых факторов риска атеросклероза и тромбоза, следовательно, всех сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний.

Одним из основных механизмов, который участвует в запуске всех микро- и макрососудистых осложнений при диабете, безусловно, является гипергликемия. Уровень глюкозы, проникнувшей в клетку, повышается равномерно с повышением уровня глюкозы в плазме и не зависит от инсулина, а происходит при помощи молекулы GLUT-1 – транспортера глюкозы. Повышение содержания внутриклеточной глюкозы приводит к повышенному образованию митохондриями супероксида, ускорению гликолиза, увеличению образования свободных радикалов и также к усилению активности нуклеарного фактора каппа-В [133; 142]. При ограничении мощности ферментов на биологическом пути обмена веществ на передний план выступают альтернативные пути обмена глюкозы [69]. Дальнейшим следствием гипергликемии является повышенный неферментный гликолиз с активизацией протеинкиназы С (ПКС) и повышенным образованием, так называемых, конечных продуктов гликирования белков (AGEs), при котором ускоряется оксидация липидов [48; 68]. Вышеописанные процессы, протекающие одновременно в эндоневрии и клетках нервной системы, а также в нервных оболочках, в конечном счете, приводят к усиленному образованию свободных радикалов (антиоксидация глюкозы, процессы гликолиза, липидная пероксидация, образование AGE), и, ослаблению антиоксидантной защиты (замедление эндоневрального кровотока, гипоксия, мезангиальная пролиферация) [77; 111; 172].

Нарушение функции эндотелия приводит к увеличению факторов вазоконстрикции (например, эндотелин и ангиотензин), снижению уровня сосудорасширяющих агентов (например, простациклин, субстанция Р, эндотелиальный фактор гиперполяризации), а также повышению образования брадикинина [173]. В результате нарушения образования сосудорасширяющих факторов происходит поражение сосудистой стенки и гемостатической системы в целом, основанное на тромбоцитарном взаимодействии (первичный гемостаз). Важными факторами этого процесса, кроме поражения первичного гемостаза, являются изменение продукции некоторых компонентов коагуляционной системы (например, повышенное образование фактора Виллебранда), нарушение фибринолиза, повышение вязкости крови, а также нарушение эластичности эритроцитов. Перечисленные факторы изучались на протяжении длительного времени и неоспоримо доказывают, что вышеописанные изменения тесно связаны со степенью компенсации углеводного обмена. Современные данные подтверждают отрицательное действие гипергликемии на систему гемостаза, подчеркивая, что

наибольшим повреждающим действием обладают постпрандиальная гипергликемия и гиперлипидемия [172].

Всё это оказывает существенное влияние на микроциркуляторное русло, ухудшая его функцию и вызывая структурную перестройку. При микроангиопатии увеличивается объем клеток эндотелия и повышается их пролиферация. Утолщается базальная мембрана, развивается эндоневральный отек, просвет капилляров сужается, увеличивается сопротивление кровотоку, происходит замедление кровообращения и как следствие - развивается ишемия. Ишемия активирует протеинкиназу C и увеличивает продукцию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), повреждает NO-зависимую вазодилатацию. При этом, наблюдаемое при диабете нарушение функции эритроцитов приводит к нарушению связи и доставки кислорода в клетки, возникает ухудшение оксигенации и развивается тканевая гипоксия. Все эти факторы усиливают негативное влияние ишемии на ткани. Длительные повреждения приводят к функциональному, а затем и структурному нарушению метаболизма нервной ткани, а также к разрушению нервных оболочек, и, в конце концов, к демиелинизации и атрофии аксонов.

При морфологических исследованиях выявлено, что у пациентов с нейропатией отмечается утолщение капилляров разного калибра, иногда выявляются микротромбозы капилляров, частично или полностью закрыты просветы вен. Характерные изменения микрососудистого русла обусловлены отложением мукополисахарида в базальной мембране клеток, образующих капилляр, что приводит к её утолщению и вследствие этого нарушению газообмена и массопереноса веществ между кровью и тканями [105].

О механизме повреждений при микроангиопатиях долгое время не было прямых сведений. Но уже в 1980-х годах многие исследовательские группы отмечали значительное снижение эндоневрального кровотока при экспериментальном диабете, а также повышение сопротивления кровотоку, сопровождающее тканевое окисление. Они также показали, что применение кислорода увеличивает скорость нервной проводимости. В экспериментальных условиях было наглядно продемонстрировано, что гипоксия уже сама по себе приводит к электрофизиологическим изменениям, независимо от выявленных или не выявленных отклонений в обмене веществ, типичных для диабета [128]. Поэтому на сегодняшний день не возникает сомнений в том, что поражение мелких сосудов является важным патогенетическим фактором при развитии диабетической нейропатии.

Интересен также тот факт, что у некоторых пациентов с СД микрососудистые осложнения проявляются относительно быстро, в то время как у других пациентов осложнений либо нет вовсе, либо они возникают значительно позже. Вероятнее всего, эта разница зависит от генетических факторов. По гипотезе исследовательской группы *STENO* (*STENO-2 Study*, 2007)

генетическую причину необходимо искать в повреждении базальных мембран капилляров при протеогликогенном метаболизме, основой которого является образование дефективного изофермента. В результате этого снижается образование сульфатидных протеогликанов и меняется структура сосудистой стенки. Таким образом, микрососуды становятся чувствительными к действию оксидативного стресса [103].

### **1.3. Классификация и клиника ДПН**

В структуре неврологических осложнений сахарного диабета ДПН занимает первое место. Существуют различные варианты ДПН, которые отличаются «по клинике, патогенезу, гистологическим изменениям, течению, реакции на лечение, прогнозу» [24; 188].

Наиболее часто встречающейся причиной поражения периферической нервной системы при СД является дистальная симметричная сенсорно-моторная нейропатия с вовлечением в патологический процесс всех типов нервных волокон [88].

Несмотря на прогрессивное увеличение числа пациентов с ДПН, до сих пор отсутствует единое экспертное мнение в определении и диагностических критериях нейропатии. Одна из современных классификаций ДПН звучит следующим образом [11]:

#### **А. «Диффузные нейропатии.**

- Дистальная соматическая полинейропатия.
  - Преимущественное вовлечение тонких нервных волокон.
  - Преимущественное вовлечение крупных нервных волокон.
  - Смешанная, вовлечение тонких и крупных нервных волокон (наиболее частая форма).
- Автономная полинейропатия.
  - Кардиоваскулярная форма.
  - Гастроинтестинальная форма.
  - Урогенитальная форма.
  - Нарушение потоотделения.
  - Нарушение распознавания гипогликемии.
  - Нарушение функции сужения зрачка.

#### **В. Мононейропатии**

- Черепно-мозговых нервов.

- Множественные мононевриты.

### С. Радикулопатии или полирадикулопатии».

Выделяют определенные стадии ДПН, отражающие степень её тяжести [11, 89]: «стадия 0 – отсутствие признаков нейропатии (жалоб и неврологического дефицита), нет изменений по данным ЭНМГ; стадия 1 (субклиническая) – клинические признаки нейропатии отсутствуют (нет жалоб и неврологического дефицита), но есть изменения периферической нервной системы, выявляемые специальными количественными неврологическими тестами (стадия 1a и b); стадия 2 – наличие клинических проявлений нейропатии и типичной симптоматики (типичные жалобы на боль, жжение, онемение, парестезии нижних конечностей, а также наличие/отсутствие неврологического дефицита + наличие ЭНМГ-изменений); стадия 3 – нарушение трудовой и социальной адаптации из-за симптомов нейропатии» [29]. В последнее время стадия 3 в градацию выраженности нейропатии не включается [90].

У подавляющего большинства пациентов с ДПН выявляются признаки поражения крупных нервных волокон, что клинически проявляется онемением, покалыванием, потерей глубоких сухожильных рефлексов и наличием изменений при электрофизиологическом обследовании (ЭНМГ). По мнению зарубежных исследователей, наиболее значимым субъективным симптомом ДПН у пациентов с СД является боль [183; 227], которая существенно влияет на качество жизни и сна пациентов, и может приводить к нарушению трудоспособности, повседневной активности [80; 119; 82].

Возникновение боли у пациентов с СД обусловлено повреждением периферических нервных волокон, обеспечивающих болевую чувствительность ноцицептивных нейронов дорзальных (корешковых) ганглиев и, подвергающихся воздействию длительной гипергликемии. При этом происходит чрезмерная стимуляция всех структур нервной системы, ответственных за болевое восприятие, что в конечном итоге приводит к появлению субъективной болевой симптоматики [151]. Не исключено так же вовлечение центральных структур в формирование нейропатической боли при ДПН [101; 200].

Болевой симптом при ДПН зависит от выраженности патологического процесса, а также класса, типа и калибра пораженных нервных волокон [79]. Наиболее часто пациенты описывают «жгучую», «ошпаривающую» боль, возникающую на постоянной основе [23]. На основании проведенных клинических исследований было подтверждено, что болевой синдром в нижних конечностях встречается чаще, чем в верхних (11,6% и 7,1% пациентов соответственно) [208].

При ДПН для локализации боли характерен так называемый «полинейропатический тип распределения»: изначально боль локализуется в дистальных отделах нижних конечностей (наиболее часто на подошвенной поверхности стоп), распространяясь затем в проксимальном направлении. Болевой симптом может возникнуть спонтанно, что обусловлено усилением болевой чувствительности (гипералгезия), либо при незначительном неболевом воздействии на кожу пациента – стимулзависимая боль (аллодиния). Нередко, постоянная, мучительная боль возникает в покое и может усиливаться в ночное время, приводя к эмоциональной угнетенности, депрессии и нарушению сна [23; 79]. Парадоксально, но спонтанное уменьшение болевого симптома или его полное исчезновение, с большой долей вероятности свидетельствует о дальнейшем ухудшении патологического процесса и возможной атрофии нервного волокна. По мере прогрессирования ДПН присоединяются моторные симптомы: «мышечная слабость, постепенная атрофия мышц. Хроническая сенсорная ДПН – необратимое прогрессирующее осложнение» [11].

Одновременно с поражением соматических (чувствительных и двигательных) нервных волокон при СД развивается поражение вегетативных (автономных) волокон, с формированием так называемой автономной нейропатии. Однако клинические проявления данных изменений выявляются реже и, преимущественно, при СД 1-го типа.

#### **1.4. Диагностика диабетической периферической нейропатии**

Вследствие изменчивой клинической картины нейропатии её диагностика является нелегкой задачей. Диагноз ДПН может быть выставлен только тем пациентам, у которых был диагностирован СД 1-ого или 2-ого типов на основании международных критериев [31].

Базовое неврологическое обследование для диагностики ДПН включает в себя оценку клинических симптомов (жалоб пациента), а также определение клинических признаков поражения периферических нервов (осмотр, оценка состояния периферической чувствительности при помощи различных методик) [15; 229]. При оценке жалоб используется шкала TSS (Total Symptom Score, шкала общей оценки симптомов), в которой суммируется частота и интенсивность различных сенсорных показателей (боль, чувство жжения, онемение и парестезии) за сутки [28]. Полученные значения могут варьировать от 0 до 14,64 баллов [223; 209].

В настоящее время наиболее точно о наличии ДПН у пациентов с СД позволяет судить разработанный в клинике Мейо «композиционный счет» – NIS LL (Neuropathy Impairment Score Low Limb – счет нейропатических симптомов в ногах) + 7 электрофизиологических тестов [29].

Шкала NIS была успешно применена при проведении различных клинических исследований, в частности когортного проспективного исследования *RDNS* в Рочестере, где продемонстрировала достаточно высокую чувствительность и специфичность (69% и 86,9% соответственно) [3; 28; 91]. Проведенное в ОАЭ пилотное исследование пациентов с СД без симптомов ДПН в 88% случаев выявило достоверную корреляцию данных, полученных по шкале NIS, с результатами электрофизиологического исследования [55].

Также для выявления ДПН может быть применен «*Мичиганский инструментальный скрининг нейропатии (MNSI)*» Данная шкала представляет собой краткий опросник жалоб в комплексе с физикальным обследованием (визуальный осмотр стоп, определение тактильной и вибрационной чувствительности, а также ахилловых рефлексов) [3; 28]. Диагностическая ценность данной шкалы была подтверждена проведенными исследованиями, которые определяли её высокую чувствительность и специфичность [117; 214].

Для оценки риска возникновения синдрома диабетической стопы (СДС) наиболее информативной является шкала *NDS (Neuropathy Disability Score, нейропатический дисфункциональный счет)*, которая может также применяться для оценки выраженности нейропатии в популяционных исследованиях [31; 37; 164]. Максимальное количество баллов по шкале NDS - 10, показатель равный 6 и более свидетельствует о высоком риске развития СДС [3; 28; 62].

Основными методами, применяющимися при неврологическом обследовании для выявления ДПН являются: определение тактильной, болевой и вибрационной чувствительности [222].

Для оценки вибрационной чувствительности, отражающей состояние толстых нервных волокон при ДПН, используется калиброванный камертон с частотой 128Гц (*Rydel-Seiffer*) [3; 28; 11; 178]. Большое количество проведенных исследований продемонстрировало чувствительность и специфичность метода определения порога вибрационной чувствительности как наиболее достоверного для диагностики ДПН [150; 160], подтвердило его ценность в диагностике субклинической нейропатии [92], а также выявлении пациентов с высоким риском развития СДС [37; 61].

Оценка тактильной чувствительности проводится при помощи монофиламента *Semmes-Weinstein* (10 гр.) [28; 241]. Данный инструмент важен для клинической диагностики ДПН, и используется, прежде всего, для выявления пациентов из группы повышенного риска по развитию язв и ампутации [11]. Тест с монофиламентом рекомендуют исследовать проводить на большом пальце стопы, а так же в проекции головок 1-ой, 3-ей и 5-ой метатарзальных костей, при этом необходима многократная оценка каждого участка [64].

Оценить болевую и тактильную чувствительность представляется возможным также при помощи устройства Нейропен (Neuropen) [159]. Оценить порог болевой температурной чувствительности представляется возможным посредством интенсивной стимуляции терморецепторов. Нарушение температурной чувствительности определяется у 75% пациентов со средней и тяжелой формой ДПН и часто сопровождается повышением порога болевой чувствительности [16].

Обзор литературы по диагностике и лечению болевой формы нейропатии при СД указывает на то, что анамнез и физикальный неврологический осмотр пациента, по-прежнему, являются «золотым стандартом» и, в некоторых случаях, проведение дальнейшего обследования может не потребоваться. Тем не менее, авторы предполагают, что обеспечить наиболее точное диагностическое подтверждение или получить дополнительные указания для более точной верификации диагноза может применение метода пункционной биопсии кожи и количественная оценка плотности интраэпидермальных нервных волокон [120].

#### **1.4.1. Электрофизиологический метод диагностики ДПН**

При диагностике нейромышечных заболеваний одним из важнейших дополнений клинического обследования является электрофизиологическое исследование - электронейромиография (ЭНМГ) [65]. Данный метод широко используется для диагностики ДПН и объективного подтверждения поражения соматических нервных волокон, он позволяет оценить распространение поражения нервного волокна, степень тяжести, динамику болезни, а также, возможно, распознать субклиническую ДПН [29; 66].

ЭНМГ является собирательным названием и состоит из двух, дополняющих друг друга, основных анализов: миография регистрирует электрические сигналы, возникающие в спокойном и функционирующем состоянии мышечных волокон (при помощи электродных игл), а нейрография регистрирует данные проводимости по волокнам двигательных периферических нервов и состояния нервно-мышечной передачи [31]. Проводимость электрического импульса по нервным волокнам определяется путем измерения скорости распространения возбуждения (СРВ) посредством электрической стимуляции нерва и последующим анализом параметров М-ответов, регистрируемых с иннервируемой им мышцы. Время, за которое волна возбуждения проходит между точками стимуляции называется резидуальной латенцией (РЛ) [28; 3; 22].

Согласно международным критериям за «норму» для двигательных нервов ног приняты следующие значения СРВ: для большеберцового и малоберцового нервов - более 40 м/с. Значения амплитуды М-ответа для нервов верхних и нижних конечностей в норме соответствуют более 3,5 мВ. Величина РЛ в норме не превышает 3,5 м/с [3; 28]. Пороговое значение СРВ по чувствительному икроножному нерву составляет более 40 м/с, значение амплитуды S-ответа - более 5мВ [3; 65; 22].

ЭНМГ-обследование представляет не только функциональную, но и структурную информацию, с помощью которой можно установить, имеет ли болезнь моторную или сенсорную доминанту, а также оценить характер поражения нервного волокна (аксональный или демиелинизирующий) [31].

При ДПН чаще всего отмечается снижение СРВ по двигательным (малоберцовый и большеберцовый нервы) и чувствительным (икроножный) нервам ног, снижение амплитуды моторного и сенсорного ответов, увеличение РЛ [29]. Для начальных изменений при ДПН характерен аксональный тип поражения, в дальнейшем, по мере прогрессирования заболевания - смешанный (Таблица 1).

**Таблица 1 – Критерии диабетической периферической нейропатии при ЭНМГ-исследовании [22]**

<b>Электронейромиографические критерии</b>	
<i>Аксональные нейропатии</i>	<i>Демиелинизирующие нейропатии</i>
Нормальные значения СРВ по моторным и сенсорным аксонам периферических нервов	Снижение СРВ по моторным и сенсорным аксонам периферических нервов
Снижение амплитуды М-ответа периферических нервов	Увеличение длительности и полифазии М-ответа при N амплитуде периферических нервов
Увеличение амплитуды F-волн	Рассыпанность F-волн
Наличие блоков проведения возбуждения	Наличие блоков проведения возбуждения
	Увеличение резидуальной латенции

*Примечание:* СРВ – скорость распространения возбуждения

Значимость показателя СРВ как эффективного диагностического критерия обсуждается в большом количестве литературных источников, например:

- снижение СРВ является чувствительным, но неспецифическим показателем начальных изменений в периферических нервных волокнах и может являться достоверным критерием для обнаружения субклинической ДПН [31; 51];
- СРВ отражает тяжесть ДПН, - изменение данного показателя может свидетельствовать о её прогрессировании [31; 51; 158];
- доказано, что изменения СРВ коррелируют со степенью гликемического контроля: изменение уровня HbA1c на 1% связано с изменением максимальной скорости проведения импульса по нервному волокну на 1,3 м/с [31];
- при эффективной терапии СД или после трансплантации поджелудочной железы и почки происходит достоверное увеличение значения СРВ [153].

Для подтверждения болевой формы ДПН проведение ЭНМГ с целью выявления нарушений проводимости со стороны толстых нервных волокон не требуется, так как при данном варианте нейропатии клинические проявления связаны исключительно с поражением тонких нервных волокон [31; 13]. Абсолютными показаниями к выполнению ЭНМГ являются выявленные при клиническом осмотре признаки моторной нейропатии, неэффективность применения стандартной терапии диабетической нейропатии в течение 6 мес., а также диагностика редких форм ДПН или сопутствующей неврологической патологии [15].

Преимуществами метода стимуляционной ЭНМГ являются неинвазивность и легкость выполнения процедуры, а также возможность проведения повторного обследования по мере необходимости, что имеет высокую прогностическую ценность. Однако, данная методика имеет и определенные недостатки: для её выполнения необходимы соответствующие технические условия, профессиональные навыки, позволяющие дать правильную оценку результатам, кроме того, процедура сопровождается неприятным чувством, вызываемым электрическим раздражением и может причинять легкую боль.

#### 1.4.2. Диагностика субклинической ДПН

«На сегодняшний день в клинической практике не существует единого надёжного инструмента для ранней диагностики ДПН, в то время как необходимость выявления начальных повреждений периферической нервной системы определяется возможностью более раннего назначения патогенетического лечения» [6].

Диагностические методы для выявления ДПН на ранней стадии должны быть безопасными для пациентов, простыми в использовании, выдавать точную количественную информацию о состоянии тонких нервных волокон, а также, предоставлять возможность проведения оценки эффективности применяемой патогенетической терапии в динамике [6].

В настоящее время, для изучения состояния тонких немиелинизированных нервных волокон применяются различные диагностические тесты и инструменты: количественное сенсорное тестирование (КСТ) температурной чувствительности [63], биопсия кожи [125], биопсия нерва [145], оценка функции потовых желез [106], лазерная доплеровская флоуметрия [139], конфокальная микроскопия роговицы [192], оценка степени выраженности аксонального отека [131]. Однако, интерпретация результатов некоторых используемых методик очень субъективна, другие тесты сложно выполнимы, а порой очень болезненны и недостоверны.

Диагностика субклинической стадии нейропатии при помощи метода ЭНМГ чаще всего применяется для научных целей в ходе проведения клинических исследований, и, в рутинной клинической практике данный метод широко не распространен.

За последнее десятилетие был разработан конкретный тест для прямой визуализации тонких немиелинизированных нервных волокон (в том числе интраэпидермальных нервных волокон) при помощи метода **пункционной биопсии кожи** с последующим иммуногистохимическим окрашиванием тканей [224; 198; 203]. Эта техника внесла большой вклад в понимание нейропатии тонких волокон, значительно улучшила качество проводимых исследований, - стало возможным эффективно идентифицировать и подсчитывать количество интраэпидермальных нервных волокон на единицу площади кожного лоскута, верифицировать начальные проявления нейропатии, определять степень выраженности дегенерации тонких нервных волокон, а также оценивать динамику репаративных процессов. В настоящее время, основываясь на результаты проведенных клинических исследований, метод пункционной биопсии кожи с определением плотности интраэпидермальных нервных волокон (ПИНВ) рассматривается как объективный метод («золотой стандарт») диагностики нейропатии тонких волокон [45]. Однако данный инвазивный подход редко требуется при рутинной диагностике ДПН и в основном используется в исследовательских целях.

В обзоре *Американской Ассоциации Клинических Эндокринологов (AACE)* по данным о ДПН представлены гендерные и возрастные нормативные значения, согласно которым ПИНВ в норме у мужчин может быть ниже, чем у женщин, но не зависит от массы тела или роста [6; 113; 140]. Экспертной комиссией был сделан вывод о том, что снижение ПИНВ является ранним признаком метаболического синдрома, предиабета и СД. Однако подчеркнуто, что регенерация интраэпидермальных нервов возможна лишь при стойкой компенсации углеводного обмена (желательно с первых дней постановки диагноза СД) и коррекции потенциальных факторов риска: отказ от курения и употребления алкоголя, снижение массы тела и соблюдение режима физической активности, коррекции дислипидемии [113; 181].

Проведенные исследования подтвердили достоверное прогрессивное снижение ПИНВ при утяжелении стадии ДПН [138; 143; 211; 231]. Также была выявлена линейная зависимость между ПИНВ и порогоми тепловой чувствительности, оцененными при помощи метода количественного сенсорного тестирования [7; 139; 173].

По данным исследования *C.Quattrini и соавт.* метод количественного определения ПИНВ оказался более чувствительным, чем исследование СРВ по сенсорным нервам и биопсия икроножных нервов для диагностики нейропатии тонких волокон [224; 167]. Возможность проведения пункционной биопсии кожи на различных участках тела, позволила *T.Umapathi и соавт.* сравнить ПИНВ на боковой поверхности латеральной лодыжки и бедре у пациентов с СД без клинических и электрофизиологических признаков ДПН с параметрами контрольной группы пациентов без СД. Проведенное исследование наглядно продемонстрировало достоверное снижение ПИНВ в дистальных отделах нижних конечностей у пациентов с СД по сравнению с контрольной группой здоровых лиц ( $p < 0,001$ ). Различий ПИНВ в области бедра у обеих групп выявлено не было [207].

Тем не менее, все же возникает вопрос в отношении данного диагностического теста, - будет ли объективное подтверждение клинического диагноза «нейропатия тонких волокон» влиять на дальнейшую лечебную тактику и приводить к прогностическому улучшению состояния здоровья пациентов? Несмотря на то, что в настоящий момент исследований по данной теме не проводилось, тем не менее, имеются некоторые косвенные доказательства в пользу этого метода. В систематическом обзоре *K.Kles и V.Bril* по современным методам диагностики ДПН и тактике её лечения сказано, что в настоящее время многие методы и варианты лечения ДПН направлены лишь на уменьшение проявления болевой симптоматики и не нацелены на основную этиологию заболевания. Авторы пришли к выводу, что метод пункционной биопсии кожи и/или нерва однозначно может быть полезен для выявления основных причин нейропатии, для лучшего понимания патофизиологических механизмов

развития ДПН в целом, однако не заменяет стандартные диагностические тесты, используемые в рутинной клинической практике [136].

Однако метод пункционной биопсии кожи не лишен существенных недостатков, лимитирующих его применение: наличие дорогостоящего оборудования и специализированной лаборатории, инвазивность манипуляции, отсутствие у пациента противопоказаний к проведению данной процедуры, возможный риск инфицирования, необходимость проведения процедуры в асептических условиях. Данный тест не применяется у детей, поскольку использование инвазивных методов диагностики у данной категории пациентов запрещено.

К малоинвазивному, безопасному и высокоточному методу диагностики ДПН на ранней стадии, относится метод **лазерной конфокальной микроскопии роговицы (КМР)**, основанный на изменениях хода и структуры тонких безмиелиновых нервных волокон роговицы (НВР) [30]. Роговица в качестве объекта для изучения выбрана не случайно, так как является наиболее иннервируемой тканью тела человека и содержит ~7000 чувствительных нервных окончаний на 1мм<sup>2</sup> эпителия (в то время как кожа имеет ~2000 нервных окончаний на 1мм<sup>2</sup>) [152]. Чувствительные нервные волокна роговицы (Аδ- и С-волокна) удобны для оценки изменений периферической нервной системы, возникающих при воздействии различных повреждающих факторов. В качестве оценочных критериев выступают такие показатели как ширина, плотность (количество), рефлективность, извилистость, ориентация и ветвление нервных волокон (при помощи так называемого коэффициента извитости) [30; 129; 192]. В норме, на темном фоне КМР-снимков визуализируются контрастные длинные, параллельно идущие тяжи или пучки нервов. Современные конфокальные микроскопы позволяют в реальном времени получать изображения всех слоёв роговицы с последующим анализом интересующих структур [6; 30; 144; 167].

На основании проведенных клинических исследований достоверно подтверждено, что чувствительность роговицы у пациентов с СД значительно ниже, чем у здоровых добровольцев без СД. Данный факт обусловлен снижением плотности НВР, и, является предиктором к возможному развитию язвенных дефектов роговицы. Данные изменения можно сравнить с патогенезом образования нейропатической формы синдрома диабетической стопы [6; 154; 171].

При использовании метода КМР в клинической практике удалось доказать, что тяжесть нейропатии достоверно взаимосвязана с уменьшением количества интраэпидермальных нервных волокон у пациентов с СД, а следовательно, данный метод может выявлять начальные признаки повреждения нервного волокна [224; 194; 220]. *М.Тавакoli и соавт.* провели сравнительное исследование, по завершению которого были сделаны выводы о том, что у лиц с нарушенной толерантностью к глюкозе (НТГ) чувствительность роговицы, плотность нервных волокон

роговицы (НВР), плотность ветвей НВР и длина НВР были снижены, а извитость НВР значительно увеличена по сравнению с группой пациентов без СД. Результаты электрофизиологического обследования, данные количественного сенсорного тестирования, а также полученные баллы по шкале NDS не отличались от результатов, полученных при обследовании контрольной группы здоровых лиц [6; 193].

По мнению профессора *R.A. Malik* метод КМР является приоритетным для оценки структуры тонких безмиелиновых нервных волокон при сравнении с методом «панч»-биопсии кожи из-за его доказанной чувствительности [30; 144]. Однако, в работе *C.Quattrini, M.Tavakoli и соавт.* на основании результатов обследования 54 пациентов с СД и ДПН и 15-ти здоровых добровольцев без СД с применением метода КМР, пункционной биопсии кожи, КСТ и нейрофизиологического тестирования было выявлено, что плотность тонких нервных волокон достоверно коррелировала со степенью выраженности неврологического дефицита ( $p < 0,001$ ) [6; 167].

В исследовании *D.Ziegler и соавт.* по комплексной оценке состояния толстых и тонких нервных волокон, а также выявлению ранних признаков ДПН у пациентов с СД 2-го типа, была дана обобщающая характеристика метода биопсии кожи, метода КМР и нейрофизиологических тестов (исследование нервной проводимости, КСТ и оценка автономной регуляции сердечно-сосудистой системы) [231]. В исследовании принимало участие 86 пациентов с недавно диагностированным СД 2-го типа и 48 человек, входящих в контрольную группу. В результате было выявлено раннее повреждение тонких нервных волокон, диагностированное как с помощью КМР, так и при биопсии кожи. Так же было выдвинуто предположение, что повреждения тонких и толстых нервных волокон на ранней стадии ДПН возникают параллельно, однако, необходимо проведение дальнейших проспективных исследований для определения точной временной последовательности. В данном исследовании также было отмечено, что некоторые показатели КМР коррелируют с ПИНВ и со скоростью проведения импульса по нервным волокнам срединного и локтевого нервов, а также икроножным нервам во всей исследуемой популяции, но выявленная связь была не сильной. Это согласуется с данными литературы, подтверждающая мнение, что патофизиология, лежащая в основе развития нейропатии роговицы, может отличаться от ДПН, поражающей нижние конечности [167; 96].

Последние экспериментальные данные по изучению метода КМР свидетельствуют о том, что чувствительные нервы и новообразованные сосуды подавляют друг друга в роговице. В момент стимуляции ангиогенеза нервное волокно исчезает, и наоборот, денервация индуцирует ангиогенез [100]. На этом основании, усиление ангиогенеза в роговице может быть обусловлено её возможной денервацией, в то время как развитие нейропатии нижних

конечностей может рассматриваться и как следствие снижения ангиогенеза, и, наоборот, быть обусловлено его стимуляцией [170]. На основании данных клинических исследований (например, в работе *S.Mehra и соавт*), изучающих влияние нормализации углеводного обмена на состояние тонких нервных волокон, было наглядно продемонстрировано, что метод КМР позволяет успешно проводить проспективные исследования в динамике, а длительная стойкая компенсация углеводного обмена (в течение 6 месяцев) достоверно приводит к увеличению плотности НВР [6; 149].

Обобщая результаты ряда проведенных исследований, можно сделать вывод о том, что КМР является современным чувствительным инструментом для выявления ДПН и оценки ее тяжести. По сравнению с методом пункционной биопсии кожи, метод КМР является малоинвазивным и безболезненным, что существенно расширяет возможность его применения, в частности у детей и подростков с СД. К противопоказаниям метода КМР могут быть отнесены следующие: недавно перенесенные оперативные вмешательства на органе зрения, нарушения целостности роговицы в результате заболевания или перенесенных хирургических вмешательств, наследственные дегенерации и дистрофии роговицы, а также воспалительные изменения роговицы глаза.

Нельзя также забывать, что нейропатия может быть проявлением одного из симптомов заболевания щитовидной железы, дефицита витамина В12, алкогольной интоксикации, следствием перенесённой химиотерапии и т.д., поэтому трактовать изменения в состоянии НВР у пациентов с СД, имеющих перечисленную сопутствующую патологию весьма сложно.

### **1.5. Лечение диабетической нейропатии**

Современные подходы к лечению и профилактике диабетической нейропатии сосредоточены, прежде всего, на улучшении гликемического контроля, изменении образа жизни (в основном у пациентов с СД 2-го типа), влиянию на потенциальные модифицируемые факторы риска и, при необходимости, купированию нейропатической боли [164]. Гликемический контроль подразумевает не только регулярное определение уровня гликированного гемоглобина, но и уменьшение вариабельности гликемии в течение суток. По последним имеющимся сведениям, данный маркер представляет собой дополнительный, более точный предиктор микрососудистых осложнений, в том числе и нейропатии [221; 118].

Изменение образа жизни пациентов с СД 2 типа подразумевает, в частности, диету и физические упражнения в сочетании с оптимальным контролем уровня липидов и артериального давления [181].

Лекарственные подходы при ДПН базируются на основных известных патофизиологических механизмах поражения периферических нервов при сахарном диабете [224]. В этой связи обсуждаются возможности применения: 1. Блокаторов альдоредуктазы с целью уменьшения утилизации глюкозы по полиоловому пути; 2. Препаратов  $\gamma$ -линоленовой кислоты для нормализации обмена эссенциальных жирных кислот и синтеза простагландинов; 3. Сосудорасширяющих препаратов и аналогов простагландинов, способствующих уменьшению гипоксии и увеличению эндоневрального кровотока; 4. Ингибиторов протеинкиназы C для улучшения эндотелий-зависимых реакций сосудистой стенки; 5. Факторов роста нервов; 6. Ингибиторов образования и накопления конечных продуктов избыточного гликирования AGEs; 7. Антиоксидантов и антигипоксантов; 8. Тиамин/Бенфотиамин [29].

Основной целью этиологического лечения, направленного на патогенетические механизмы возникновения ДПН является замедление, остановка или даже регресс нейропатического поражения. Традиционно, важнейшим компонентом профилактики и этиологического лечения ДПН является интенсивная гипогликемическая терапия и достижение индивидуального целевого значения гликемии. Так, в ходе исследований *DCCT* и *DCCT-EDIC* было продемонстрировано значительное снижение частоты развития ДПН у пациентов с СД 1-го типа (на 60%), частоты выявления нарушений проводимости по нервным волокнам (на 44%) и развития автономной дисфункции (на 53%) на фоне интенсивной инсулинотерапии через 5 лет наблюдения [3; 85]. Однако, по данным крупномасштабных исследований *UKPDS* и *ACCORD* с участием пациентов с СД 2-го типа, интенсификация терапии не приводила к достоверному снижению частоты развития ДПН [16; 206; 39].

Необходимо также помнить про наличие, так называемого, «гликемического порога», преодоление которого активизирует каскад патологических реакций и ведет к развитию и прогрессированию ДПН [56; 108; 141]. Как уже было сказано, важна не только степень гипергликемии, но и её длительность. Достижение целевых значений гликемии в течение длительного времени у пациентов с выраженными проявлениями ДПН замедляет прогрессирование повреждения периферических нервов, что чрезвычайно ценно, однако не способствует быстрой ликвидации ее проявлений [3; 16; 210; 225; 228].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что хороший контроль гликемии необходим при лечении СД, но целесообразность патогенетической терапии ДПН не вызывает сомнений.

При наличии болевого синдрома для улучшения качества жизни пациентов с СД требуется дополнительное симптоматическое лечение [16; 37; 41].

### ***Симптоматическое лечение.***

Препараты, применяемые для симптоматического лечения болевой формы ДПН, чаще всего, не влияют на патогенез и течение ДПН, однако способствуют эффективному устранению клинической симптоматики [195]. Важно помнить, что существует ряд других причин для развития болевой нейропатии (например, алкогольная/постгерпетическая/ВИЧ-ассоциированная нейропатия, нейропатия на фоне проводимой химиотерапии при онкологических заболеваниях и пр.), которые следует выявлять и дифференцировать перед началом симптоматической терапии [16].

В большинстве случаев результативность лечения нейропатической боли недостаточна – лишь половина пациентов достигают частичного облегчения болевого симптома. Количество проведенных сравнительных исследований, определяющих вопросы выбора и тактики лечения, мало. В настоящее время целью лечения нейропатической боли является снижение выраженности болевого симптома по Визуальной Аналоговой Шкале (ВАШ) в сравнении с исходными значениями на 50% и более. Уменьшение выраженности нейропатической боли по ВАШ менее 30-ти % требует пересмотра терапии и замены препарата. При снижении нейропатической боли более 30%, но менее 50-ти %, возможно назначение комбинированной терапии. Прием только одного препарата, направленного на устранение симптомов, может приводить к бессимптомному прогрессированию нейропатического поражения [115].

В настоящее время в качестве симптоматических препаратов с доказанной эффективностью (уровень рекомендаций А) рекомендованы два класса препаратов: антидепрессанты (амитриптилин, дулоксетин) и антиконвульсанты (габапентин, прегабалин) [195]. В случае неэффективности использования монотерапии указанными препаратами возможно назначение их комбинаций или сочетание с препаратами второй линии (трамадол, пластырь с лидокаином и др.) [52; 195].

В *Таблице 2* указаны данные о симптоматической терапии ДПН.

**Таблица 2 - Медикаментозная симптоматическая терапия [13]**

<b>Класс препаратов</b>	<b>Механизм действия</b>	<b>Препараты (ср. терапевт. доза)</b>
<b>Антидепрессанты:</b>  Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина  Трициклические антидепрессанты	Высокоспецифичное ингибирование обратного захвата серотонина и норадреналина  Ингибирование обратного захвата серотонина и норадреналина	Дулоксетин (60 мг\сут)  Амитриптилин (25-150 мг\сут)
Противосудорожные препараты	Модулирование электрического потенциала кальциевых каналов	Прегабалин (150-600 мг\сут) Габапентин (300-3600 мг\сут) Карбамазепин (200-800 мг\сут)
Опиаты	Блокада $\mu$ -опиоидных рецепторов	Трамадол (100-400 мг\сут)
Препараты местного действия	Местнораздражающее Местнообезболивающее	Капсаицин Лидокаин

Таким образом, при лечении болевой формы ДПН можно выделить следующие цели:

1. снижение выраженности болевого симптома;
2. замедление прогрессирования ДПН, профилактика развития синдрома диабетической стопы;
3. улучшение качества жизни пациентов (влияние на выраженность депрессии, тревоги, качество сна) [35].

## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Данная работа состоит из двух последовательно выполненных исследований: первое – одномоментное открытое поперечное исследование - скрининг когорты из 109-ти пациентов с СД 2-го типа с целью изучения распространенности всех стадий ДПН и определения факторов риска; второе - динамическое проспективное контролируемое исследование – оценка влияния стойкой длительной нормализации гликемии (в течение 5-ти месяцев) на функциональные и структурные изменения нервного волокна, а также состояние микроциркуляции у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН. Полученные результаты были сравнимы с показателями группы контроля.

### **Этап 1. Одномоментное открытое поперечное исследование (скрининг)**

В исследование по распространенности и изучению факторов риска развития ДПН у пациентов с СД 2-го типа были включены пациенты, находящиеся в многопрофильном стационаре Университетской Клинической Больницы №2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в период с 2012 по 2014-й гг.

#### Критерии включения:

1. пациенты обоих полов в возрасте от 40 до 75 лет;
2. наличие СД 2-го типа;
3. наличие или отсутствие неврологической симптоматики

#### Критерии исключения:

1. СД 1-го типа;
2. декомпенсация сопутствующих соматических заболеваний;
3. синдром диабетической стопы (СДС);
4. наличие кардиостимулятора (в связи с неоднократным проведением электрофизиологического исследования)

Проведение исследования было одобрено Межвузовским комитетом по этике (протокол № 10-11 от 17.11.2011). Все пациенты получали подробную информацию о проводимом исследовании и давали письменное информированное согласие на участие.

### Протокол исследования

В соответствии с критериями включения и исключения в исследование было набрано 109 пациентов с СД 2-го типа независимо от наличия или отсутствия нейропатической симптоматики. Контрольная группа наблюдения составила 10 человек без СД, соотносимых с основной группой по полу и возрасту.

Диагноз СД 2-го типа подтверждался на основании материалов первичной документации, на основе анамнестических данных и особенностей клинической картины заболевания.

Всем пациентам с СД 2-го типа был проведен композитный неврологический тест с использованием клинических диагностических шкал TSS и NIS-LL + 7 ЭНМГ-характеристик состояния периферических нервов ног [238]. ДПН классифицировалась по стадиям: 0,1,2,3 (*Приложение А, Таблица А.1*) [11].

Диагностика артериальной гипертензии (АГ) проводилась согласно рекомендациям ВНОК стандартными методами с учетом анамнеза заболевания, измерения АД. Всем пациентам проводилось ЭКГ-исследование.

## **Этап 2. Динамическое проспективное контролируемое исследование**

Основными задачами данного исследования было провести клинико-морфологическую оценку состояния тонких нервных волокон, оценить состояние макро- и микроциркуляции, а также оценить возможность обратимости выявленных нарушений на фоне улучшения гликемического контроля у пациентов с СД 2-го типа и субклинической (бессимптомной) стадией ДПН.

### Критерии включения:

1. пациенты с СД 2-го типа с подтвержденной субклинической стадией ДПН

### Критерии исключения:

1. периферические нейропатии недиабетической этиологии;
2. заболевания роговицы глаза

### Протокол исследования

Наличие субклинической стадии ДПН было подтверждено при ЭНМГ-обследовании: выявлены изменения не менее 2-х показателей в 2-х и более двигательных и чувствительных периферических нервах ног, при отсутствии позитивной и выраженной негативной неврологической симптоматики.

- ✓ Всем пациентам проводилось клинико-лабораторное обследование: исследование микроциркуляции ногтевого ложа пальца руки, определение скорости распространения пульсовой волны и эндотелиальной функции, а также измерение АД и пульса.
- ✓ Для исследования состояния тонких нервных волокон и сосудистого обеспечения кожи была выполнена перфорационная биопсия кожи голени с последующим иммуногистохимическим анализом плотности нервных волокон (маркер PGP 9.5) в эпидермисе и дерме, а также количественная оценка содержания эндотелиальных клеток в капиллярах кожи (маркер CD 34).
- ✓ Для оценки состояния тонких нервных волокон роговицы была проведена лазерная конфокальная микроскопия роговицы.

В основную группу наблюдения (n = 40) вошли пациенты с СД 2-го типа, достигшие целевого уровня гликированного гемоглобина ( $HbA1c \leq 6,5\%$ ) и, находившиеся в целевом диапазоне гликемии в течение всего периода наблюдения (5 месяцев).

В качестве контроля полученных результатов использовались показатели, оцененные у десяти (n = 10) условно здоровых добровольцев из **контрольной группы**, соотносимые с группой наблюдения по основным клинико-демографическим характеристикам.

Пациенты включенные в исследование получали следующую сахароснижающую терапию (Таблица 3):

**Таблица 3 – Сахароснижающая терапия пациентов исследуемой группы**

Терапия	Пациенты с СД 2 и ДПН-1, %
Метформин	100
иДПП-4	85
Преп. Сульфонилмочевины	55

*Примечание:* ДПН-1 – субклиническая стадия ДПН, иДПП-4 – ингибиторы дипептидилпептидазы-4

У большинства пациентов, включенных в исследование, было подтверждено наличие АГ, по поводу которой проводилось следующее медикаментозное лечение (Таблица 4):

**Таблица 4 – Антигипертензивная терапия пациентов исследуемой группы**

Терапия	Пациенты с СД-2 и ДПН-1, %
иАПФ/Сартаны	87
β-блокаторы	50

Терапия	Пациенты с СД-2 и ДПН-1, %
Диуретики	60
Антагонисты Ca <sup>2</sup>	24

*Примечание:* иАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, СД-2 – сахарный диабет 2-ого типа, ДПН-1 – субклиническая стадия диабетической периферической нейропатии

## 2.1. Клинические методы исследования

Всем пациентам проводилась диагностика диабетической нейропатии [15]: 1) оценка клинических симптомов (жалоб), 2) определение клинических признаков поражения периферических нервов (осмотр и оценка внешнего вида нижних конечностей (st.localis), оценка состояния периферической чувствительности).

Для оценки различных видов поверхностной (температурной, вибрационной, тактильной, болевой) и глубокой чувствительности (определение мышечно-суставного чувства), оценки сухожильных рефлексов (коленного, ахиллова), силы в различных группах мышц рук и ног, применялись стандартные методики [15].

Стадии диабетической нейропатии определялись согласно классификации, представленной в *Приложении А, Таблице А.1* [11].

Характерными нейропатическими жалобами принято считать боль в стопах различной интенсивности в покое, чаще в вечерние и ночные часы, онемение, парестезии, зябкость стоп, чувство жжения, судороги в мышцах голеней и стоп [11].

Клинические симптомы и признаки поражения периферических нервов оценивали при помощи диагностических шкал [223]:

- шкала TSS (Total Symptoms Score) - оценка выраженности нейропатических симптомов (боль, онемение, жжение, парестезии) за последние 24 часа (представлена в *Таблице 5*).

В настоящее время эта шкала широко применяется в клинической практике, а также обязательна при проведении фармакологических исследований [3; 228; 209].

**Таблица 5 - Шкала TSS для оценки выраженности позитивной нейропатической симптоматики**

Частота симптома	Интенсивность симптома, баллы			
	Отсутствие	Легкая	Средняя	Сильная
Отсутствие	0	1	2	3
Часто	0	1,33	2,33	3,33
Постоянно	0	1,66	2,66	3,66

Каждый нейропатический симптом имеет четыре степени интенсивности: отсутствие симптома, легкая, средняя и сильная выраженность. Частота симптома соответствует трем градациям – редкая, частая, постоянная. Каждый симптом по баллам варьирует от 0 до 3,66. После оценки 4-х симптомов проводилась суммация всех баллов. Сумма баллов по шкале TSS варьирует от 0 до 14,64 [3].

- шкала NIS LL (Neuropathy Impairment Score Low Limbs) - шкала нейропатических нарушений в ногах, с оценкой мышечной силы, сухожильных рефлексов и состояния чувствительности различных модальностей (*Приложение А, Таблица А.2*) [3; 91].

**Вибрационная чувствительность** нередко является единственным ранним диагностическим критерием, на основании которого можно выставить диагноз «нейропатия», при отсутствии других неврологических симптомов. Порог вибрационной чувствительности оценивался при помощи неврологического градуированного камертона с частотой 128 Гц (Rydel-Seiffer, Германия) [31]. Перед началом основного исследования инструмент устанавливался на запястье (или локтевой выступ) пациента, для понимания вызываемого ощущения, после чего, основание вибрирующего камертона устанавливалось на костную часть дорзальной поверхности дистальной фаланги большого пальца. На браншах камертона имеются шкалы с делениями от 1-го до 8-ми, при ударе по камертону обе шкалы раздвигаются, затем, по мере уменьшения вибрации, постепенно сливаются воедино. Пациента просили указать момент, когда ощущение вибрации исчезает, и, считывали значения со шкалы. Результат «6» расценивается как возможное наличие сенсорной нейропатии, «5» и ниже - достоверный показатель сенсорной нейропатии дистального типа. Если чувствительность на большом пальце отсутствовала, тест необходимо было повторить в более проксимальной точке (лодыжке, тиббиальной бугристости большеберцовой кости). Исследование проводилось по несколько раз с каждой стороны, полученные результаты усреднялись.

Определение **тактильной** чувствительности проводилось с помощью 10-ти гр. монофиламента (Thio-Feel, Германия) [31]. Вначале исследования необходимо дотронуться монофиламентом до кожи рук (и/или локтя/предплечья) для понимания пациентом вызываемого ощущения. Исследование проводилось на подошвенной поверхности обеих стоп в области концевых фаланг пальцев. Если пациент ощущал прикосновение монофиламента во всех исследуемых точках, в таком случае тактильная чувствительность считалась сохранной. В случае ошибочного результата - чувствительность расценивалась как сниженная. Отсутствие чувствительности диагностировалось в том случае, если пациент ни разу точно не определял точку прикосновения. Данный факт должен быть расценен как высокий риск возникновения синдрома диабетической стопы у пациента.

**Болевую** чувствительность определяли при помощи укола тупой неврологической иглы. Исследование проводили на тыльной поверхности стоп и в области концевой фаланги I-го пальца стопы. Болевая чувствительность считалась сохранной, если пациент ощущал одинаково острое прикосновение в обеих точках. Сниженной болевая чувствительность считалась в том случае, если в дистальных точках пациент ощущал менее острый укол. Невозможность отличить острый укол от тупого прикосновения расценивалось как отсутствие чувствительности [3].

**Температурную** чувствительность оценивали при помощи специального инструмента «Тип-Терм» (Thip-Term, Германия), один конец у которого металлический, а другой выполнен из пластика [31]. Путем чередующегося прикосновения инструментом к коже стоп в различных точках, пациента просили с закрытыми глазами определить, какое касание было более холодным (металлическая сторона ощущается как более холодная). Температурная чувствительность считалась сохранной, если пациент различал холодное и теплое прикосновение в 5-ти точках. При ошибке более 1-го раза - температурная чувствительность считалась сниженной, а её отсутствие регистрировалось в том случае, когда пациент затруднялся определить различия в температуре при 5-ти пробах.

**Мышечно-суставное** чувство исследовали в положении пациента лежа с закрытыми глазами. Врачом-исследователем выполнялись пассивные движения в концевых фалангах пальцев стоп исследуемого: пациент определял, в каком пальце было движение, и, указывал направление его движения (вверх/вниз). Мышечно-суставная чувствительность считалась сохранной, если пациент правильно указывал движение, производимое врачом при 5 пробах. Сниженной считалась чувствительность, если пациент ошибался более одного раза. Отсутствие чувствительности фиксировалось в том случае, если пациент ни разу точно не определял направление движения в суставе.

**Сухожильные рефлексy** исследовали по классической методике [212]. Коленные рефлексy исследовали в положении сидя, при этом голени пациента свободно свисали за край кушетки и находились под прямым углом к бедрам, стопы не касались пола. При нанесении легких ударов неврологическим молоточком по сухожилию надколенника, необходимо оценивать интенсивность сокращений четырехглавой мышцы.

**Ахиллов рефлекс** вызывался ударом неврологического молоточка по пяточному (ахиллову) сухожилию с обеих сторон, в результате происходило сокращение икроножной мышцы и подошвенное сгибание стопы. Рефлекс считался сниженным при недостаточной силе и амплитуде движения голени или стопы и отсутствующим в том случае, если сокращение мышц не происходило.

## **2.2. Лабораторные и инструментальные методы исследования**

### **2.2.1. Лабораторные исследования**

Исследования выполнялись на базе межклинической биохимической лаборатории ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Согласно рекомендациям ВОЗ (от 2011 года), в качестве диагностического критерия СД предложено использовать показатель гликированного гемоглобина ( $HbA_{1c}$ )  $\geq 6,5\%$ . Исследование было выполнено на анализаторе «Diastat» («BioRad», США) с использованием методики определения  $HbA_{1c}$ , сертифицированной в соответствии с National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) и стандартизированного в соответствии с референсными значениями, принятыми в Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). В качестве значения «нормы» принят уровень  $HbA_{1c}$  до 6,0% [15].

Динамический контроль уровня глюкозы крови проводился при помощи индивидуального глюкометра «Contour TS» («Bayer», Германия), соответствующий ГОСТ Р ИСО 15197-2015 по аналитической и клинической точности [15]. Биохимические анализы сыворотки крови выполнялись на биохимическом анализаторе «Hitachi» («Boehringer Mannheim», Япония) по стандартной методике фирмы производителя.

### 2.2.2. Электронейромиография (ЭНМГ)

Исследование проводилось на базе клиники нервных болезней УКБ №3 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

С целью объективизации состояния соматических нервных волокон (двигательных и чувствительных) был применен нейрофизиологический метод стимуляционной электронейромиографии на приборе «Viking IV P» Nicolet Biomedical (США). Оценка двигательных нервов проводилась путем стимуляции малоберцового (n.peroneus) и большеберцового нервов (n.tibialis) с анализом амплитуды М-ответа, скорости распространения возбуждения (СРВ) и резидуальной латентности (РЛ). В качестве сенсорного нервного волокна был исследован икроножный нерв (n.suralis) с последующим анализом амплитуды S-ответа и СРВ (пороговые значения для каждого показателя указаны в *Таблице 6*).

**Таблица 6 - Пороговые значения показателей ЭНМГ [22]**

Показатели ЭНМГ	N.peroneus	N.tibialis	N.suralis
Амплитуда М-ответа, мВ	> 3,5	> 3,5	-
Амплитуда S-ответа, мкВ	-	-	> 5,0
СРВ, м/с	> 40	> 40	> 40
РЛ, м/с	< 3,0	< 3,0	-

*Примечание:* СРВ – скорость распространения возбуждения, РЛ – резидуальная латенция, N.peroneus – большеберцовый нерв, N.tibialis – малоберцовый нерв, N.suralis – икроножный нерв

### 2.2.3. Исследование микроциркуляции крови

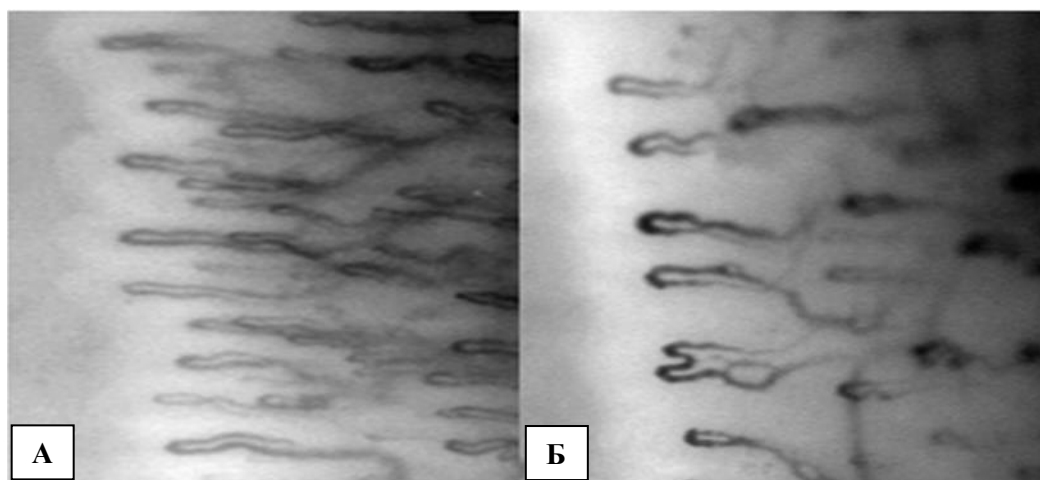
Исследование проводилось на базе Научного клинического центра ОАО «РЖД».

Для исследования параметров микроциркуляции применялся цифровой капилляроскоп «Капилляроскан-1» компании «Новые энергетические технологии» (Россия), который позволяет получить изображения капилляров ногтевого ложа руки с увеличением, достигающим 125 и 400 раз. Высокоскоростная видеокамера прибора (до 100 кадров в секунду) позволяет достаточно точно определять скорость кровотока в различных отделах капилляров. Капиллярный кровоток изучался в эпонихии 4-ого или 3-его пальцев левой руки при температуре кожи не менее 30 градусов по Цельсию и в условиях постоянной температуры в помещении (22-24 градуса по Цельсию) [12; 26].

Накануне исследования испытуемые воздерживались от курения и употребления кофеиносодержащих напитков. Перед началом процедуры пациент отдыхал в положении сидя в течение 15-20 минут в условиях постоянной температуры в помещении (22-24 градуса по Цельсию).

Обработка первичной информации проводилась при помощи программного обеспечения, позволяющего просматривать записанные изображения, измерять диаметры капилляров во всех отделах: артериальном (АО), переходном (ПО), венозном (ВО), определять скорость капиллярного кровотока (СКК), величину перикапиллярной зоны (ПЗ) – линейный размер от максимально удаленной точки периваскулярной зоны до наиболее близко стоящей точки переходного отдела капилляра [26; 12].

Оценка **плотности капиллярной сети (ПС)** проводилась при 125-кратном увеличении. Выполнялся общий панорамный снимок. ПС считалась низкой и оценивалась в «1 балл» при обнаружении в поле зрения не более 7 капилляров. При выявлении 8-10 капилляров в поле зрения, значение ПС считалось средним и равнялось «2 баллам». При выявлении 11 и более капилляров плотность считалась высокой - «3 балла» (*Рисунок 1*).

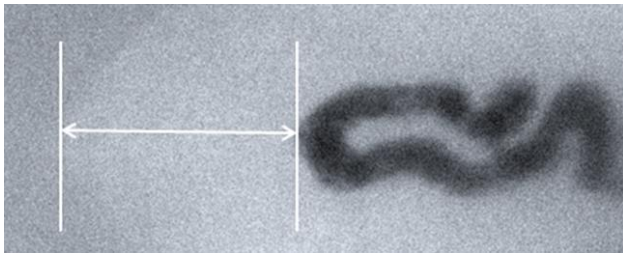


**Рисунок 1 - Сравнение капиллярной сети здорового добровольца (А) и пациента с СД 2-го типа и АГ (Б) (увеличение x125)**

Более детальное исследование размеров капилляров проводилось при увеличении в 400 раз. Оценивались средние значения диаметров капилляров в артериальном, переходном и венозном отделе. Проводилось по два замера в переходном отделе и по три измерения в артериальном и венозном отделах каждой капиллярной петли с вычислением средних значений.

Для оценки **степени сужения капилляров** используется коэффициент ремоделирования ( $K_{во/ар}$ ) – отношение диаметров капилляров в венозных отделах к диаметрам капилляров в артериальных отделах [26].

Размер **перикапиллярной зоны (ПЗ)** вычислялся с помощью программного обеспечения капилляроскопа как линейный размер от переходного отдела капиллярной петли до максимально удаленной точки окружающей капилляр ткани. Этот размер в норме не превышает 110 мкм (*Рисунок 2*) [26].

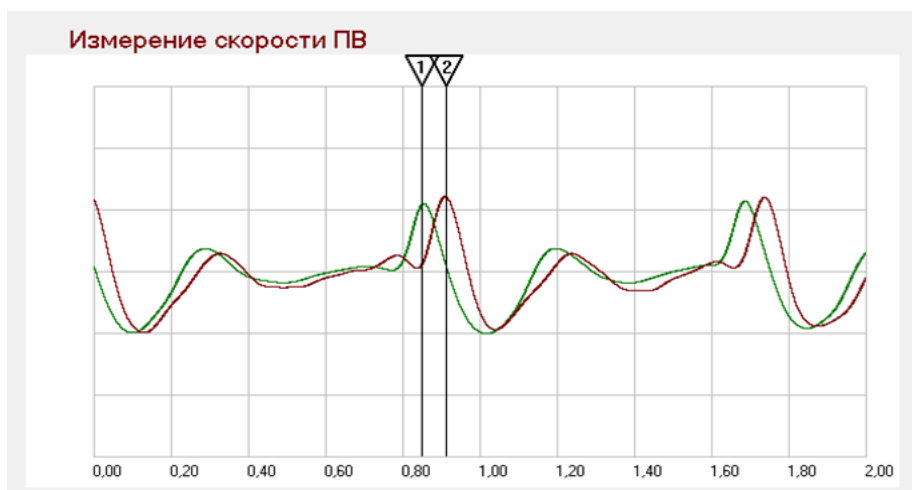


**Рисунок 2 - Измерение величины перикапиллярной зоны (определение линейного размера от переходного отдела капиллярной петли до максимально удаленной точки окружающей капилляр ткани)**

#### **2.2.4. Исследование скорости распространения пульсовой волны, эндотелиальной функции и артериального давления**

Измерение скорости распространения пульсовой волны (СРПВ), эндотелиальной функции (ЭФ), пульса и артериального давления проводилось на аппарате «Тонокард» (Россия), конструктивной особенностью которого является использование высокочувствительных датчиков, располагаемых в проекции плечевой артерии и артерии запястья. После того как манжеты, соединенные датчиками, закреплены на руке, в компьютер вводится точно измеренное расстояние между ними (L). Время (t), за которое пульсовая волна проходит это расстояние, определяется автоматически. СРПВ вычисляется как отношение  $L/t$ . Каждому пациенту проводится шесть последовательных измерений СРПВ [12].

Выбор области для исследования СРПВ объясняется относительной простотой измерения на плечевой артерии, по сравнению с изучением СРПВ на каротидно-фemorальном сегменте, и при этом достаточной информативностью, о чем свидетельствуют результаты, полученные при сравнительных измерениях [12] (*Рисунок 3*).



**Рисунок 3 - Интерфейс прибора «Тонокард»**

*Примечание:* метками 1 и 2 обозначен пик пульсовой волны на плечевой манжете (1) и манжете, наложенной на запястье (2). Видно, что между пиками 1 и 2 наблюдается задержка ( $t$ ). Скорость распространения пульсовой волны (ПВ) рассчитывается как отношение расстояния между центрами манжет, наложенных на плечо и запястье пациента ( $L$ ) ко времени ( $t$ )

Эндотелиальная функция определялась следующим образом: в течение 30-ти секунд с помощью манжеты, наложенной на запястье и соединенной с датчиком, производился автоматический замер амплитуд пульсовых волн артерий запястья. Затем в манжету, расположенную на плече, подавался воздух под давлением, превышающем САД на 30-40 мм рт.ст. По окончании 3-хминутной гиперемии в течение 60-ти секунд проводился повторный замер амплитуд пульсовых волн на артериях запястья. ЭФ определялась как отношение амплитуд пульсовых волн до и после пережатия, выраженное в процентах.

Двукратное измерение АД проводилось автоматически на другой руке через две минуты после пробы с гиперемией [12].

### **2.2.5. Биопсия кожи**

Исследование проводилась на базе нейрохирургического отделения клиники нервных болезней УКБ №3 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

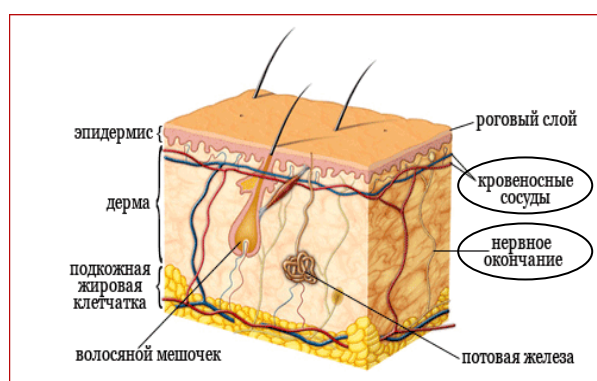
Для обнаружения ранних признаков сенсорной нейропатии и выявления поражения тонких немиелинизированных нервных волокон применялась методика прямой визуализации интраэпидермальных нервов – пункционная биопсия кожи [31].

В процессе обследования, при помощи специального инструмента “панча” (Рисунок 4), выполнялась перфорационная (инвазивная) биопсия кожи на боковой поверхности латеральной

лодыжки под местной анестезией 1% лидокаином (глубина перфорации составляет 3 мм, наложение швов не требуется). Полученный образец включал в себя эпидермис и поверхностные слои дермы (сосочковый и сетчатый) (Рисунок 5).



**Рисунок 4 - Инструмент для биопсии кожи «Панч»**



**Рисунок 5 - Послойное строение кожи человека**

*Примечание:* представленный биоптат состоит из эпидермиса, поверхностных слоёв дермы и находящихся в них нервных окончаний и сосудов, представляющих интерес для исследования

Наиболее часто используемый маркер нервных волокон – это антитела к нейропептиду PGP 9.5: убикитин-С-терминальная гидролаза (цитозольный фермент, удаляющий убикитин), которая находится, главным образом, в нейронах и сопровождает медленный аксональный транспорт. PGP 9.5 широко распространён в периферической нервной системе и является неспецифическим панаксональным маркером [239]. Выявление нервных волокон в биоптатах осуществлялось посредством иммуногистохимических методик.

Участок проведения биопсии является важным аспектом, так как в ряде исследований было показано, что плотность интраэпидермальных нервных волокон на дистальных участках имеет значительно бóльшую диагностическую ценность по сравнению с проксимальными отделами [31; 240; 140].

Диагностическая и предиктивная ценность данной методики очень высока – она точно отражает поражение тонких волокон и степень тяжести нейропатии [140].

### 2.2.6. Лазерная конфокальная микроскопия роговицы

Исследование проводилась на базе ФГБНУ «НИИ Глазных болезней» (отдел патологии оптических сред глаза).

Для проведения лазерной конфокальной микроскопии роговицы (КМР) использовался Гейдельбергский томограф (*HRT III*) с применением специального роговичного модуля RostockCornea (RC; HeidelbergEngineering, Heidelberg, Germany) (*Рисунок 6*).



**Рисунок 6 - Гейдельбергский томограф (*HRT III*)**

В томограф встроена видеокамера, позволяющая объективно оценивать положение глаза во время исследования. Поверхность глаза контактирует со специальным одноразовым контактным элементом ТомоСар. Анестезия проводится при помощи анестезирующих капель Алкаин («с.а. Алкон-Куврер н.в.» В-2870 Пуурс, Бельгия). Соединение между поверхностью глаза пациента и контактным элементом обеспечивается при помощи специального медицинского геля - Корнерегеля (химико-фармацевтическое предприятие ГмбХ, Германия). Исследование в среднем занимает от 5-ти до 15-ти минут, специальных ограничений после проведения манипуляции не требуется. Полученные конфокальные снимки имеют разрешение 384x384 пикселя.

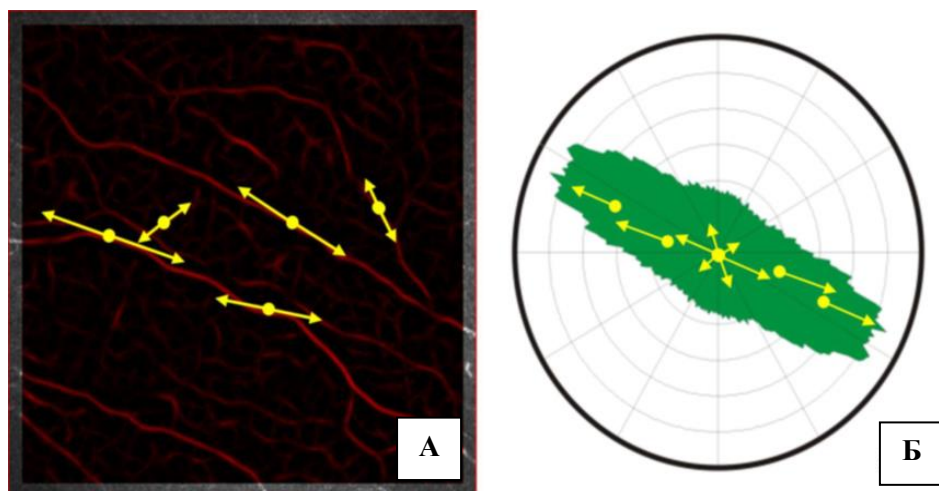
В исследовании применён оригинальный авторский алгоритм морфометрического описания нервов роговицы (изобретение №2014145271, разработанное в ФГБНУ «НИИ ГБ»),

численных показателей, характеризующих направленность НВР, а также создано программное обеспечение, позволяющее объективно оценивать эти показатели при анализе конфокальных изображений любого типа. В отличие от предложенных ранее алгоритмов диагностики поражений тонких нервных волокон роговицы (программный продукт "CCM Image Analysis Tool") [144], авторам удалось провести анализ конфокальных снимков без условного позиционирования предмета исследования и необходимости ручной трассировки (выделения участка нервного волокна). Таким образом, анализ конфокальных снимков был полностью лишён субъективной оценки получаемых данных [30, 1].

На первом этапе исследования проводилось автоматическое распознавание конфокальных цифровых снимков роговицы и картирование НВР: программа автоматически интерпретирует изображение и генерирует карту вероятности прохождения НВР на участке, соответствующем этому изображению. Важно отметить, что с помощью новой предлагаемой методики, участки нервных волокон, находящиеся вне фокуса, а также в областях недостаточной визуализации, выделяются лучше, чем при визуальном анализе [30].

Нервное волокно роговицы на конфокальном снимке представляет собой светлую полосу определенной ширины и извитости на более темном фоне. Компьютерная авторская программа на основании заданной математической формулы, автоматически генерирует предполагаемую траекторию прохождения нервного волокна на конкретном конфокальном снимке (так называемый «идеальный» участок нерва). Затем происходит последовательный анализ различных участков исходного снимка и оценка их сродства с заранее сгенерированной математически светлой полосой в черном квадратном поле. При этом нервное волокно, проходящее через определенную точку, может быть расположено под любым углом, поэтому исследуемый участок необходимо сравнить с серией «идеальных» модельных изображений, каждое из которых повернуто на некоторый угол  $\alpha$  относительно исходного изображения в пределах  $180^\circ$ . Нервное волокно на конфокальном изображении представляет собой относительно светлую полосу определенной ширины на темном фоне [10].

Для объективизации оценки сродства полученного изображения и модельной функции  $M$  был использован коэффициент корреляции с референсными значениями от -1 до 1. При этом, чем более похожи два изображения, тем большее значение имеет коэффициент корреляции. После сравнения исследуемого изображения с серией модельных функций можно получить набор коэффициентов корреляции, соответствующих различным углам  $\alpha$  (отрицательные значения коэффициента корреляции отбрасываются). Угол  $\alpha$ , при котором коэффициент корреляции максимальный, является наиболее вероятным углом расположения нерва в данной точке изображения (Рисунок 7) [10].



**Рисунок 7 - Карта вероятности прохождения нервных волокон роговицы на математически сгенерированном конфокальном снимке.**

*Примечание:* А - условное векторное обозначение, указывающее вероятное направление нервных волокон роговицы, Б - сумма всех векторов, отображенная в виде розы-диаграммы

Для характеристики степени извитости нервных волокон роговицы (НВР) были разработаны коэффициенты анизотропии направленности (упорядоченности) НВР ( $K_{\Delta L}$ ) и симметричности направленности НВР ( $K_{sym}$ ), для дальнейшей обработки полученной информации использовалось авторское программное обеспечение Liner 1.2S [10]. Данный метод может быть использован в диагностике ряда системных нейропатий (в том числе ДПН), а также как критерий локального состояния иннервации роговицы [2].

В *Таблице 7* и *8* представлены средние величины коэффициентов  $K_{\Delta L}$  и  $K_{sym}$ , полученные с помощью разработанного алгоритма анализа конфокальных снимков НВР у здоровых добровольцев и при СД 1-го и 2-го типов в различных возрастных группах [10].

**Таблица 7 – Средние показатели коэффициента  $K_{\Delta L}$  в разных возрастных группах ( $M \pm \delta$ )**

Группы	Возраст (годы)		
	13-34	35-56	57-83
Здоровые добровольцы	3,92±0,82	3,45±0,85	3,11±0,74
СД 1-го типа	2,49±0,79	1,75±0,63	---
СД 2-го типа	---	2,62±0,59	2,51±0,64

*Примечание:*  $K_{\Delta L}$  – коэффициент анизотропии направленности нервных волокон роговицы

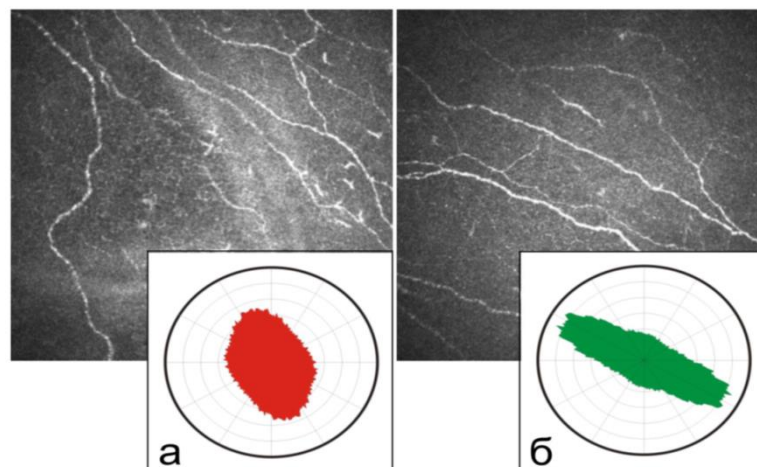
**Таблица 8 – Средние показатели коэффициента  $K_{\text{sym}}$  в разных группах ( $M \pm \delta$ )**

Группы	Возраст (годы)		
	13-34	35-56	57-83
Здоровые добровольцы	$0,8 \pm 0,07$	$0,84 \pm 0,11$	$0,87 \pm 0,11$
СД 1-го типа	$0,89 \pm 0,11$	$0,94 \pm 0,05$	---
СД 2-го типа	---	$0,88 \pm 0,11$	$0,9 \pm 0,07$

*Примечание:*  $K_{\text{sym}}$  – коэффициент симметричности направленности нервных волокон роговицы

В норме степень извитости НВР с возрастом возрастает, при этом до 35-40 лет изменение этого параметра происходит быстрее, чем у пожилых людей [30].

Для наглядной демонстрации возможного направления и структуры нервных волокон роговицы было использовано схематичное их изображение в виде так называемой «розы-диаграммы». Роза-диаграмма направленности нервных волокон роговицы представляет собой общую совокупность всех направлений НВР на конкретном конфокальном снимке; при этом, чем более разнонаправленный ход и структура нервных волокон (как бывает, например, при диабетической нейропатии), тем более округлую форму приобретает роза-диаграмма. На *Рисунке 8* продемонстрированы типичные варианты розы-диаграммы направленности НВР у пациента с СД и клинической (симптомной) стадией ДПН, а так же условно здорового добровольца без СД. В случае диабетического поражения тонких нервных волокон роза-диаграмма приобретает характерное изометричное строение, более приближенное по своей форме к кругу. Такую форму розы-диаграммы можно объяснить разнонаправленным и более извитым ходом НВР. В «норме» форма розы-диаграммы схожа с удлиненным овалом, вытянутым в ту или иную сторону, - что является достоверным проявлением однонаправленного хода НВР [1; 30].



**Рисунок 8 - Конфокальные снимки нервных волокон роговицы и соответствующие им розы-диаграммы у пациента с СД и клинической стадией ДПН (а) и условно здорового добровольца без СД (б)**

Известно, что при СД происходит усиление степени извитости НВР, соответственное уменьшение коэффициента анизотропии (упорядоченности) и увеличение коэффициента симметричности направленности НВР. При этом существует сильная обратная корреляционная связь между уровнем HbA1c, длительностью заболевания и коэффициентом анизотропии направленности НВР. Для коэффициента симметричности направленности НВР данная зависимость имеет прямой характер [10; 30].

### **2.3. Морфологические методы оценки нейропатии тонких волокон**

Исследование проводилось на кафедре патологической анатомии им. акад. А.И. Струкова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

В морфологическое исследование состояния интраэпидермальных нервных волокон и интрадермальных сосудов вошло 50 биоптатов: 40 пациентов основной группы с СД 2-го типа и субклинической ДПН (исходно и через 5 месяцев наблюдения) и 10 биоптатов от группы здорового контроля.

Материал, полученный от пациентов, фиксировался в 10% нейтральном формалине с фосфатным буфером, обрабатывался в аппарате гистологической проводки тканей фирмы «PoolScientificInstruments» (Швейцария) и заливался в парафин. Суммарное время фиксации, проводки и заливки материала, как правило, не превышало 48 часов. Затем подготавливались

серийные парафиновые срезы (не менее 22-х серийных срезов), толщиной 4–5 микрон [17]. Срезы фиксировали на предметные полилизинные стекла (MainzelGlaser, Polylysine, Германия) и инкубировали в термостате при 37<sup>0</sup>С в течение 12 часов. Далее срезы депарафинировали и обезвоживали в батарее из 3-х ксилолов, 2-х абсолютных спиртов, 2-х 95-типроцентных спиртов, 80% и 70% спирта и дистиллированной воды. По препарату от каждого случая окрашивали гематоксилином и эозином, толлуидиновым синим и пикрофуксином по Ван Гизон [17].

Для проведения иммуногистохимических реакций были изготовлены парафиновые срезы на адгезивных (полилизинных) стеклах [17].

### **2.3.1. Морфометрический метод**

Морфометрия гистологических срезов биоптатов кожи с оценкой среднего количества нервных окончаний, окрашенных PGP 9.5, и сосудов микроциркуляторного русла, окрашенных CD34, проводилась на микроскопе AXIOImagerA2 CarlZeiss с использованием установленной морфометрической программы в пяти полях зрения при увеличении x200.

### **2.3.2. Иммуногистохимический метод**

Иммуногистохимическое исследование выполнялось на парафиновых срезах, изготовленных из биопсийного материала, расположенных на стеклах, покрытых полилизинным слоем (MainzelGlaser, Polylysine, Германия).

Неокрашенные срезы от каждого случая обрабатывали с помощью стандартного метода иммуногистохимии с термической демаскировкой антигенов. Демаскировку проводили в водяной бане с микропроцессором BioOptica (Милан): полилизинные стекла с парафиновыми срезами депарафинировали и после ополаскивания в дистиллированной воде погружали в емкости с цитратным буфером (pH 6,0) и нагревали в водяной бане, разогретой до 95<sup>0</sup>С в течение 15-ти минут. Далее стекла остывали ~20 минут при комнатной температуре. Остывшие стекла помещали во влажные камеры (для предотвращения высыхания срезов) и инкубировали 15 минут с 3% раствором H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. После обработки перекисью предметные стекла ополаскивали в фосфатном буфере (pH 7,0-7,6) и инкубировали с Ultra-V-Block (LabVision, USA) во влажных

камерах в течение 30 минут. По окончании инкубации излишки реагента аккуратно стряхивали со стекол и раскапывали первичные антитела [20].

В качестве первичных антител использовали антитела к *PGP9.5 (Cell Marque, 1:100)* и *CD34 (Cell Marque, 1:100)* [17; 20].

Срезы инкубировали с первичными антителами от 30 минут до 1 часа, в зависимости от времени воздействия, предусмотренного фирмой производителем, указанном в спецификации к антителу. По окончании инкубации срезы тщательно отмывали в фосфатном буфере (pH 7,0-7,6) от первичных антител, не связавшихся с эпитопами, после чего раскапывали вторичные антитела [20]. Время инкубации со вторичными антителами во влажных камерах составляло 1 час. По окончании инкубации срезы ополаскивали в фосфатном буфере (pH 7,0-7,6). Для метки вторичных антител использовали авидин-биотиновый комплекс (ABK KIT, DAKO) [20]. Для визуализации мест связывания антител с антигенами использовали реакцию окисления субстрата 3,3-диаминобензидина (ДАБ) пероксидазой хрена в присутствии перекиси водорода с образованием водонерастворимого конечного продукта коричневого цвета системы «EnVision» (Dako). В результате образовывался нерастворимый в органических растворителях конечный продукт реакции, который визуализировался в виде коричневого окрашивания структур клеток и экстрацеллюлярного матрикса. Срезы инкубировали с диаминобензидином от 5 до 15 минут, в зависимости от интенсивности окрашивания. Далее стекла ополаскивали в дистиллированной воде и подкрашивали ядра гематоксилином в течение 2-3-х минут. Затем стекла проводили по батарее из дистиллированной воды, 70% спирта, 80% спирта, 2-х 95-типроцентных спиртов, 2-х абсолютных спиртов и 3-х ксилолов. После чего срезы заключали в синтетическую среду, используя покровные стекла [20].

Для иммуногистохимических реакций ставили положительные и отрицательные контроли. В качестве отрицательных контролей брали образцы исследуемых срезов, которые подвергались стандартной процедуре иммуногистохимии, но без добавления первичных антител. Положительные контроли для каждого антитела выбирали в соответствии со спецификациями от фирмы производителя [20]. После проведения ИГХ реакций срезы контрастировали гематоксилином и заключали в синтетическую среду «Shandon mount TM» (USA) [20].

Проводилась полуколичественная и количественная оценка результатов реакций. Результаты иммуногистохимической реакции оценивались количественным методом: PGP 9.5 оценивали по среднему количеству положительно окрашенных нервных окончаний в коже в 5 полях зрения при увеличении x200 и x400. **Маркер PGP 9.5 экспрессировался в виде коричневого окрашивания нервных волокон.**

Оценка иммуногистохимической экспрессии CD 34 осуществлялась путем подсчета положительно окрашенных эндотелиальных клеток в капиллярах кожи, а количество капилляров – по среднему числу положительно окрашенных капилляров в 5-ти полях зрения при увеличении  $\times 400$ . Оценка интенсивности реакции для CD 34 проводилась полуколичественным методом по 6-ти бальной системе: 2 балла – до 20% окрашенных клеток; 4 балла – от 20 до 40% окрашенных клеток; 6 баллов – более 40% окрашенных клеток. **CD 34 экспрессировался в виде коричневого окрашивания цитоплазмы эндотелиоцитов [20].**

Сосудистый индекс (СИ) подсчитывался по среднему количеству положительно окрашенных CD 34 сосудов в коже в 5-ти полях зрения при увеличении  $\times 200$ .

### 2.3. Методы статистического анализа

Статистический анализ проведен с использованием стандартного пакета статистических программ («Microsoft Excel», Origin 6.1, IBM SPSS 22).

Распределения ряда параметров были приближены к нормальному, эти данные представлены в виде «среднее  $\pm$  стандартное отклонение». Параметры, распределения которых были отличны от нормального, описывались как средняя  $\pm$  95-ти% доверительный интервал (ДИ) и в виде Me [25%; 75%], где Me – медиана, а 25 и 75 – первый и третий квартили. Для сравнения таких величин использовались непараметрические критерии: для сравнения зависимых групп использовался непараметрический критерий Вилкоксона, для сравнения независимых групп - критерий Манна-Уитни. Для сравнения независимых групп по количественным показателям использовался Т-критерий независимых выборок, для сравнения связанных групп - Т-критерий для парных выборок.

Сравнение частотных показателей выполнялось при помощи критерия Хи-квадрат, при ожидаемой частоте менее 5 - использовался точный критерий Фишера.

При сравнении трех и более независимых выборок при соблюдении однородности дисперсий (критерий Ливиня) применялся однофакторный дисперсионный анализ, при несоблюдении этого условия – ранговый критерий Краскала-Уоллиса для  $k$ -выборок, затем проводились попарные сравнения.

Для определения взаимозависимости двух переменных использовались коэффициенты корреляции по смешанным моментам Пирсона или ранговой корреляции Спирмена. Значимыми во всех случаях считались различия при  $p \leq 0,05$ . Связь между истинно числовыми

показателями анализировали при помощи расчета коэффициента корреляции ( $r$ ) и построения рисунка совместного распределения. Результаты исследований представлены в виде таблиц или диаграмм.

В исследовании проводился многофакторный анализ с использованием модели пропорциональных рисков Кокса. Эта модель позволяет оценить вероятность наступления события (в нашем случае возникновения ДПН на момент обследования) с учетом влияния различных независимых (не коррелирующих между собой) факторов. Величина  $\exp(V)$  соответствует спрогнозированному изменению риска возникновения ДПН при изменении независимой переменной на 1. Также, приведена значимость каждого фактора в риске возникновения ДПН и доверительный интервал для оценки  $\exp(V)$ .

В работе была построена логистическая регрессионная модель. В качестве регрессионной модели приводится функция:

$$p_i = \frac{1}{1 + e^{-z_i}},$$

где  $p_i$  – вероятность того, что произойдет интересующее событие,

$e$  – основание натурального логарифма,

$z_i$  – линейная комбинация предикторов;

$$z_i = b_0 + b_1 x_i^{(1)} + b_2 x_i^{(2)} + \dots + b_k x_i^{(k)}.$$

Для сравнения прогностической силы полученной модели и моделей, определяемых отдельными предикторами, влияющих на наличие ДПН был проведен ROC-анализ.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1. ЭТАП 1. СКРИНИНГ

В исследование было включено 109 пациентов с СД 2-го типа: 35 мужчин (32%) и 74 женщины (68%), контрольную группу условно здоровых лиц составили 5 мужчин и 5 женщин.

Значение медианы возраста пациентов в основной группе наблюдения составила 58 [52,5; 63], в контрольной группе – 52,5 [51; 56].

Значение медианы длительности заболевания СД 2-го типа составило 5 [2; 9]. Значение медианы уровня гликированного гемоглобина (HbA1c,%) у обследованных пациентов составило 7,2 [6,4; 8,4].

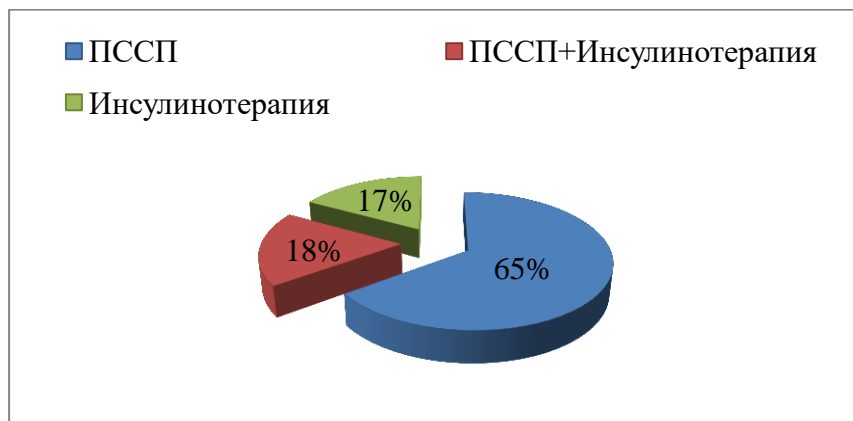
Данные по всем обследованным пациентам представлены в *Таблице 9*.

**Таблица 9 – Исходные антропометрические и клинические характеристики участников исследования**

Признак	Общая популяция n = 109	Группа контроля n = 10	p (t-критерий)
Пол (доля мужчин в популяции), %	32	50	Критерий хи-квадрат 0,252
Возраст, годы	58 [52,5; 63]	52,5 [51; 56]	0,001
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,3 ± 3,9	29 ± 2,8	0,009
HbA1c, %	7,2 [6,4; 8,4]	5,7 [5,4; 6,0]	0,000
Длительность СД2, годы	5 [2; 10]	0	-
Курение, %	16,5	30	0,205
Наследственность по СД, %	52,3	30	0,197
АГ, % (в популяции)	75,7	60	0,232
Длительность АГ, годы	8,5 [3,8;12,0]	3,1 []	0,02
САД, мм рт.ст.	131 ± 12	126±17	0,280
ДАД, мм рт.ст.	79 ± 9	79±7	0,891
ЧСС, уд/мин	73± 6	73±6	0,024
Соп. заб. (кол-во, мода)	(17; 1)	(4; 2)	-
Самоконтроль осуществляют, %	75,2	0	-

*Примечание:* данные в этой и последующих таблицах представлены в виде М±SD, Ме [25%;75%], где М – среднее, SD – стандартное отклонение, Ме – медиана, ИМТ – индекс массы тела, HbA1c – гликированный гемоглобин, СД2 – сахарный диабет 2-го типа, АГ – артериальная гипертензия, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений

Большая часть пациентов (65%) с СД 2-го типа находились на пероральной сахароснижающей терапии, 18% пациентов получали комбинированную терапию (ПССП + Инсулинотерапия), 17% - использовали базис-болюсную инсулинотерапию (Рисунок 9).



**Рисунок 9 - Проводимая сахароснижающая терапия у пациентов с СД 2-го типа**

*Примечание:* ПССП – пероральные сахароснижающие препараты

### 3.1.1. Распространенность ДПН у пациентов с СД 2-го типа

Проведенное когортное исследование 109-ти пациентов с СД 2-го типа, наблюдавшихся в многопрофильном стационаре, выявило высокую распространенность ДПН, составившую 75% ( $n = 83$ , из них 34% мужчин и 66% женщин). Средний возраст пациентов в группе с ДПН  $59,5 \pm 8,5$  лет, Ме длительности СД 2-го типа 5,0 [2; 10] лет.

ДПН не выявлено у 24% ( $n = 26$ ) пациентов (23% мужчин и 77% женщин), чей средний возраст составил  $55,7 \pm 8,1$  лет, при Ме длительности СД 2-го типа 5,0 [2,8; 8,0] лет. Статистически значимого различия по гендерному признаку между группой пациентов с ДПН и группой без ДПН не выявлено.

Краткая характеристика пациентов приведена в *Таблице 10*.

**Таблица 10 - Распределение пациентов по полу, возрасту, длительности СД 2-го типа и наличию/отсутствию ДПН**

Параметры	Общая группа n = 109	Мужчины n = 35	Женщины n = 74
Возраст, годы	58,5 ± 8,6	55,9 ± 8,6	59,7 ± 8,5
Длительность СД 2-го типа, годы [95-й% ДИ]	5 [2; 10]	5 [2; 7]	5 [2; 10]
Пациенты с ДПН, n (%)	83 (75)	28 (34)	55 (66)
Пациенты без ДПН, n (%)	26 (24)	7 (23)	19 (77)

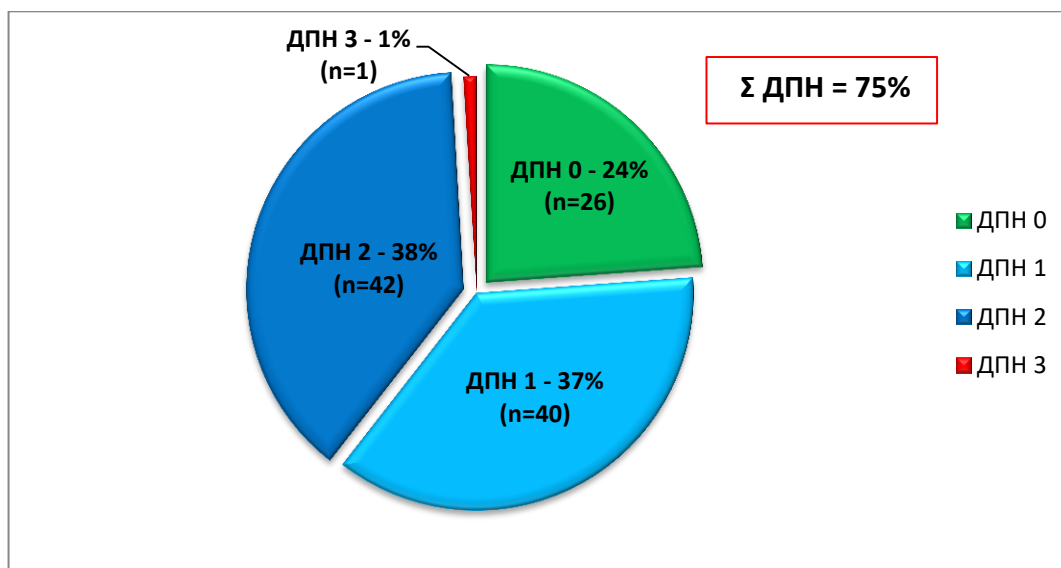
К группе **ДПН 0** были отнесены 24% (n = 26) пациентов, у которых отсутствовали симптомы и признаки ДПН, при нейрофизиологическом исследовании (ЭНМГ) патологии моторных и сенсорных периферических нервов не выявлялось.

**Субклиническая** стадия ДПН (ДПН-1) была выявлена у 37-ми% (n = 40) пациентов. К данной группе относились пациенты, у которых не было жалоб, симптомов и объективных признаков ДПН, однако при проведении ЭНМГ выявлялись сочетания 2-х любых изменений двигательных и сенсорных нервов на одной стороне.

**Клиническая** стадия ДПН (ДПН-2) была диагностирована у 38-ми% (n = 42) пациентов. При данной стадии выявляются характерные для ДПН жалобы, а так же чувствительные/двигательные/автономные нарушения с признаками или без признаков слабости разгибателей стопы (способность устоять на пятках).

**Тяжелая** стадия ДПН (ДПН 3) была диагностирована у одного пациента (n = 1), при которой нарушена трудоспособность и/или социальная адаптация (*Рисунок 10*).

Столь высокий процент пациентов с ДПН, возможно, связан с тем, что в группе обследованных пациентов отмечалась средняя длительность заболевания СД 2-го типа (5 лет).



**Рисунок 10 - Различия стадий диабетической периферической нейропатии среди обследованных пациентов с СД 2-го типа (n=109)**

*Примечание:* ДПН 0 – отсутствие клинических признаков периферической нейропатии, ДПН 1 – субклиническая стадия ДПН, ДПН 2 - клиническая стадия ДПН, ДПН 3 – тяжелая стадия ДПН

Клинические характеристики пациентов, включенных в различные группы в зависимости от наличия или отсутствия симптомов, а так же стадии ДПН представлены в *Таблице 11*.

Учитывая малую численность пациентов со стадией ДПН-1а (4 человека), при дальнейшей статистической обработке, данная группа была объединена с группой пациентов ДПН-1б, а пациент с ДПН-3 (1 человек) исключен из обработки данных.

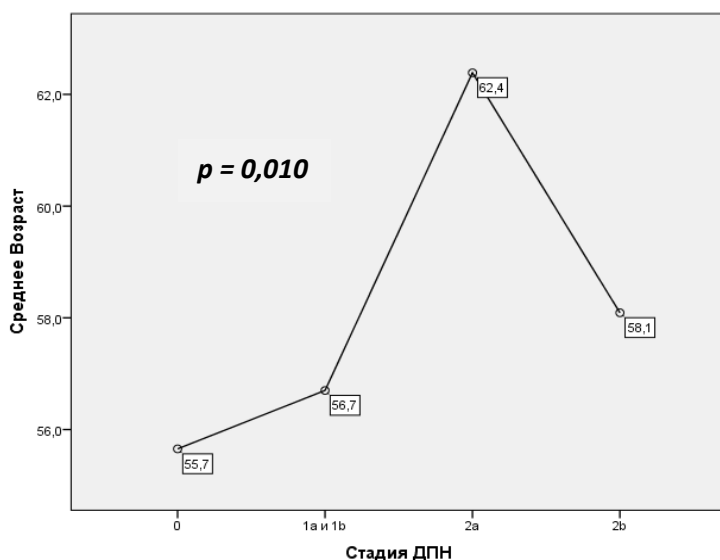
**Таблица 11 – Антропометрические и клинические характеристики пациентов с СД 2-го типа и стадии ДПН**

Исследуемые параметры	Стадия ДПН (n=108)				p критерий межгрупповых эффектов (ANOVA)
	0 n = 26 (24%)	1а-1б n = 40 (37%)	2а n = 31 (29%)	2б n = 11 (10%)	
Мужчины, n = 32 (31%)	7 (27%)	12 (30%)	14 (45%)	2 (18%)	p (критерий Хи-квадрат) 0,286
Женщины, n = 70 (69%)	19 (73%)	28 (70%)	17 (55%)	9 (82%)	
Возраст, годы	55,7±8,1	48±9	62,4±8,3	58,1±9	<b>0,010</b>
Ме длительности СД2, годы	5 [2,8;8,0]	3[0,3; 6,0]	7[5,0;10,0]	10[6,0;11,0]	<b>0,002*</b>

Исследуемые параметры	Стадия ДПН (n=108)				p критерий межгрупповых эффектов (ANOVA)
	0 n = 26 (24%)	1a-1б n = 40 (37%)	2a n = 31 (29%)	2б n = 11 (10%)	
HbA1c, %	7,3±1,5	7,0±0,3	7,5±1,3	8,4±1,5	<b>0,000*</b>
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,9±4,0	30,6±1	31,3±3,9	31,8±2,4	0,376
Рост, см	169±9	170±1	173±9	169±9	0,445
Вес, кг	94,4±11,7	87,7±2,1	93,7±15,6	91,8±11,1	0,871
Креатинин, мг/дл	0,92±0,29	0,9±0,1	0,95±0,27	0,91±0,14	0,547

Примечание: \* - критерий Краскала-Уоллиса, СД2 – сахарный диабет 2-го типа, HbA1c – гликированный гемоглобин, ИМТ – индекс массы тела

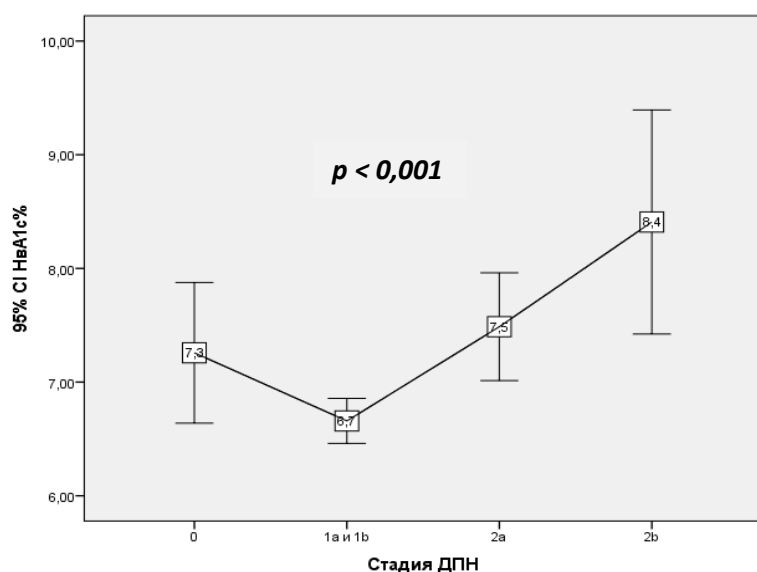
При анализе полученных результатов выявлены статистически значимые различия между группами ДПН-1 (a/b) и ДПН-2 (a/b) по возрасту пациентов ( $p = 0,010$ ) (Рисунок 11), уровню HbA1c ( $p < 0,001$ ) и длительности СД 2-го типа ( $p = 0,002$ ).



**Рисунок 11 - Соотношение Ме возраста пациентов и стадий ДПН среди пациентов с СД 2-го типа**

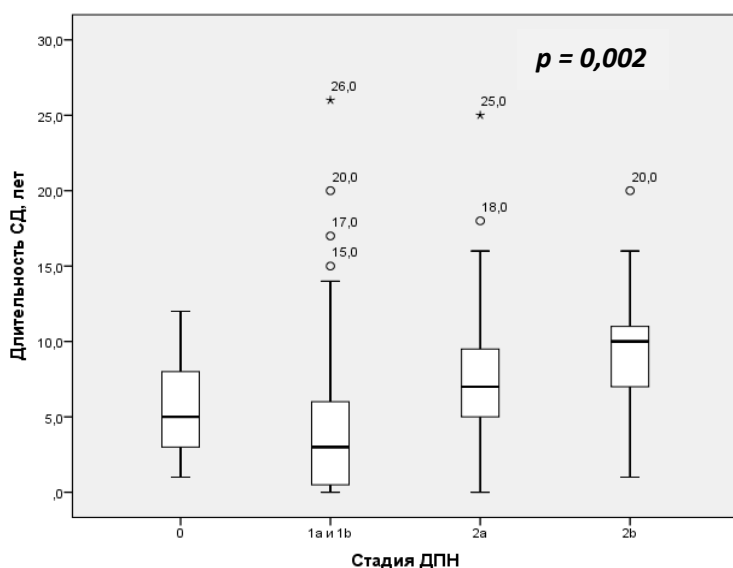
### 3.1.2. Оценка влияния компенсации углеводного обмена и длительности СД 2-го типа на развитие и прогрессирование ДПН

На основании анализа полученных данных выявлена достоверная взаимосвязь между средним показателем компенсации углеводного обмена (HbA1c,%) и утяжелением стадии ДПН (Рисунок 12).



**Рисунок 12 - Соотношение показателя нормализации углеводного обмена (HbA1c,%) и стадии диабетической периферической нейропатии**

Несмотря на то, что средний возраст пациентов в группе ДПН-2а был выше, чем в группе пациентов ДПН-2b, в группе ДПН-2b преобладали пациенты с большей длительностью заболевания СД 2-го типа (более 10-ти лет (63%)), а в группе ДПН-2а – пациенты с длительностью заболевания СД 2-го типа от 5-ти до 10-ти лет (52%) (Рисунок 13).

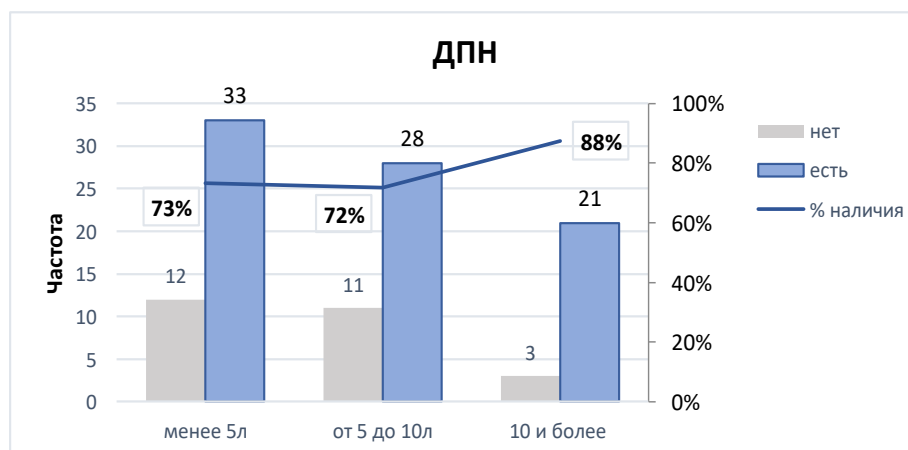


**Рисунок 13 – Взаимосвязь длительности СД 2-го типа и стадии диабетической периферической нейропатии**

В группе пациентов с длительностью СД 2-го типа менее 5-ти лет и от 5-ти до 10-ти лет ДПН либо не диагностировалась, либо выявлялась субклиническая стадия (ДПН-1 a/b) (так, в группе ДПН-0 было 46% пациентов с длительностью СД 2-го типа < 5 лет и 42% пациентов с СД 2-го типа от 5-ти до 10-ти лет; в группе с ДПН-1 – 60% с СД 2-го типа менее 5 лет и 25% пациентов с СД 2-го типа от 5-ти до 10-ти лет, соответственно).

В группах с клинической стадией ДПН (ДПН-2 a/b) преобладали пациенты с длительностью СД 2-го типа от 5-ти до 10-ти лет (70%) и более 10-ти лет (90%).

Таким образом, в нашем исследовании было подтверждено, что длительность заболевания СД 2-го типа является основным прогностическим фактором развития ДПН (наиболее тяжелая стадия ДПН наблюдалась у пациентов со стажем заболевания более 10-ти лет) (Рисунок 14).



**Рисунок 14 - Соотношение распространенности диабетической периферической нейропатии и длительности СД 2-го типа**

### 3.1.3. Оценка влияния различных факторов риска на развитие ДПН у пациентов с СД 2-го типа

Все пациенты включенные в исследование ( $n = 108$ ) были поделены на две группы:

- 1) пациенты с подтвержденной ДПН ( $n = 82$ ),
- 2) пациенты без ДПН ( $n = 26$ ).

Всем участникам определялся уровень гликированного гемоглобина ( $HbA1c, \%$ ), средний показатель которого в исследуемой популяции составил  $7,2 \pm 1,3\%$ . Целевой уровень  $HbA1c$ , приближенный к нормальным значениям ( $HbA1c \leq 6,5\%$ ), был выявлен у 34-х пациентов, в то время как большинство пациентов ( $n = 74$ ) находились в состоянии декомпенсации углеводного обмена. Была проанализирована взаимосвязь частоты самостоятельных измерений гликемии пациентами (т.н. «самоконтроль») и наличием ДПН. Проведена оценка распространенности ДПН в зависимости от пола пациентов, также оценивалось влияние антропометрических данных на развитие ДПН. Из 108-ми обследованных пациентов, 18 человек (60% мужчин и 40% женщин) курили, а 13 – регулярно употребляли алкоголь (Таблица 12).

**Таблица 12 - Влияние различных факторов на развитие и прогрессирование ДПН**

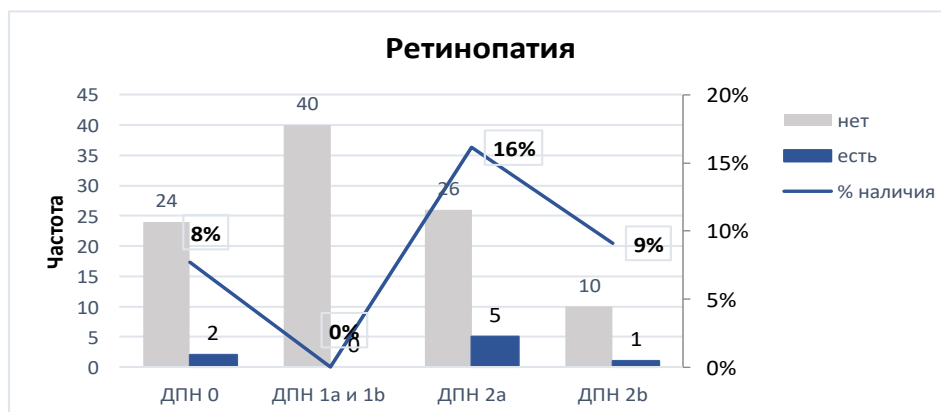
	<b>Пациенты без ДПН (n = 26)</b>	<b>Пациенты с ДПН (n = 82)</b>	<b>P</b>
Рост, см	169±9	171±9	0,403
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,9±4,0	32,0±3,8	0,343
HbA1c ≤ 6,5% (на момент обследования), n	9	25	0,693
HbA1c > 6,5% (на момент обследования), n	17	57	
Самоконтроль постоянный, n	19	62	0,795
Самоконтроль эпизодический, n	7	19	0,796
Мужчины (n=35)	7	28	0,493
Женщины (n=73)	19	54	
Курение (n=18)	4	14	0,840
Употребление алкоголя (n=13)	2	11	0,730

*Примечание:* ИМТ – индекс массы тела, HbA1c – гликированный гемоглобин

На основании анализа полученных данных было выявлено, что ни один из предикторов не влиял на развитие и прогрессирование ДПН в данном исследовании.

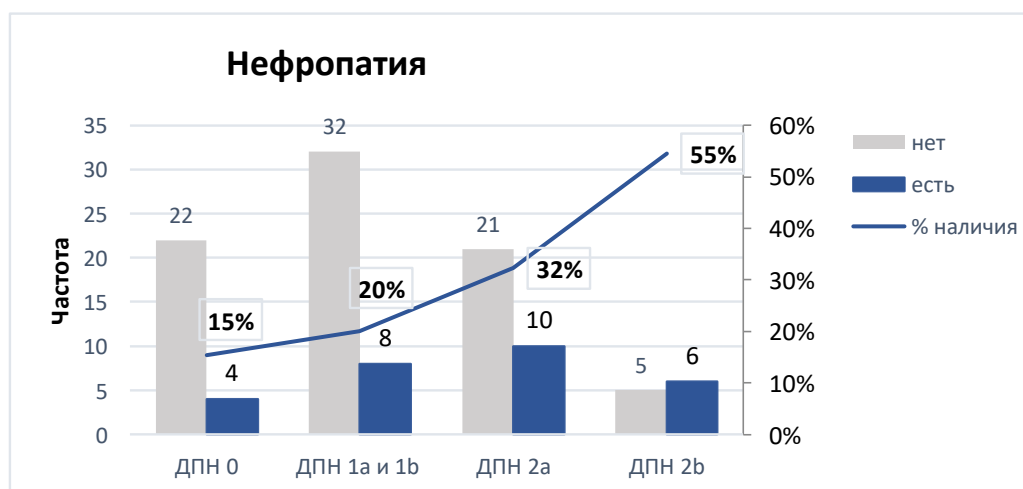
Все пациенты были обследованы на наличие других осложнений СД 2-го типа: диабетической ретинопатии и диабетической нефропатии.

Диабетическая ретинопатия была диагностирована у 8-ми пациентов (7%): два случая в группе без ДПН и 6 случаев в группе ДПН-2 (a/b) (*Рисунок 15*).



**Рисунок 15 – Частота выявляемости диабетической ретинопатии в зависимости от стадии диабетической периферической нейропатии (n = 108)**

Диабетическая нефропатия (стадия ХБП С2 (СКФ 60-89 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>)) подтверждена у 28-ми пациентов с СД 2-го типа: в группе без ДПН – 15% (n = 4), на стадии субклинической ДПН - 20% (n = 8), а в группе ДПН-2 – 38% (16 пациентов из 42-х) (Рисунок 16).



**Рисунок 16 - Соотношение распространенности диабетической нефропатии (в %) и стадии ДПН (n=108)**

Были выявлены статистически значимые различия, свидетельствующие о том, что количество диагностируемых случаев диабетической ретинопатии и диабетической нефропатии достоверно увеличивается с утяжелением стадии ДПН (Таблица 13).

**Таблица 13 - Частота поздних осложнений СД 2-го типа и стадии ДПН**

Признак	Пациенты без ДПН (n = 26)	Пациенты с ДПН 1 (n = 40)	Пациенты с ДПН 2 (n = 42)	Точный критерий Фишера, <i>p</i>
	1	2	3	
Диабетическая ретинопатия	2	0	6	$p_{12}=0,152$ $p_{23}=0,026$ $p_{13}=0,701$
Диабетическая нефропатия (ХБП С2)	4	8	16	$p_{12}=0,751$ $p_{23}=0,072$ $p_{13}=0,046$ (Хи квадрат)

*Примечание:* значения *p* скорректированы (метод Бонферрони), ХБП – хроническая болезнь почек, стадия С2 – незначительно сниженная функция почек (СКФ 60-89 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>)

При анализе полученных данных была выявлена достоверная взаимосвязь между длительностью течения СД 2-го типа и наличием специфических диабетических осложнений: диабетической ретинопатии и диабетической нефропатии (ХБП С2) ( $p = 0,001$  и  $p < 0,007$ , соответственно) (Таблица 14, Рисунки 17-18).

**Таблица 14 – Частота выявляемости поздних осложнений и длительность СД 2-го типа**

Осложнения СД	Кол-во пациентов с длительностью СД 2-го типа, n			Критерий Краскала-Уоллиса, <i>p</i>
	< 5 лет (n = 45)	от 5 до 10 лет (n = 39)	10 и более лет (n = 24)	
Диабетическая Ретинопатия	0	3	5	0,001
Диабетическая нефропатия (ХБП С2)	2	6	21	0,007

*Примечание:* ХБП – хроническая болезнь почек, стадия С2 – незначительно сниженная функция почек (СКФ 60-89 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>)



**Рисунок 17 - Соотношение распространенности диабетической ретинопатии в зависимости от длительности СД 2-го типа**



**Рисунок 18 - Соотношение распространенности диабетической нефропатии и длительности СД 2-го типа**

При длительности течения СД 2-го типа от 5 до 10 лет диабетическая нейропатия (ДПН) выявлена в 72% случаев (см. *Рисунок 14*), диабетическая нефропатия (ХБП С2) - у 15% обследуемых пациентов, диабетическая ретинопатия - у 8%.

При длительности течения СД 2-го типа от 10 и более лет у большинства пациентов наряду с ДПН диагностирована диабетическая нефропатия (ХБП С2) – в 88-ми% случаев, и более чем у 20% - диабетическая ретинопатия.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод о том, что среди всех поздних осложнений СД 2-го типа именно ДПН является наиболее распространенным осложнением.

В Таблице 15 представлены результаты многофакторного анализа независимых предикторов, ассоциированных с наличием ДПН у пациентов с СД 2-го типа на момент обследования.

**Таблица 15 - Независимые факторы, ассоциированные с наличием ДПН у пациентов с СД 2-го типа на момент обследования**

Показатель	<i>p</i>	Exp(B)	95%-й ДИ для Exp(B)
Пол	0,637	-	-
ИМТ	0,326	-	-
<b>НbA1с</b>	<b>0,000</b>	<b>0,7</b>	<b>[0,51; 0,98]</b>
Наследственность	0,294	-	-
Самоконтроль	0,525	-	-
Курение	0,135	-	-
Алкоголь	0,730	-	-
Физическая активность	0,179	-	-
ОНМК в анамнезе	0,698	-	-
Креатинин	0,303	-	-
<b>Диаб.нефропатия (ХБП С2)</b>	<b>0,000</b>	<b>8,26</b>	<b>[3,76; 18,15]</b>
Ретинопатия	0,342	-	-

*Примечание:* ИМТ - индекс массы тела, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, ХБП – хроническая болезнь почек, стадия С2 – незначительно сниженная функция почек (СКФ 60-89 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>)

Значимый вклад в изменение риска возникновения ДПН вносит изменение уровня НbA1с и наличие диабетической нефропатии (ХБП С2), при которой риск ДПН увеличивается в 8 раз (от 3,8 до 18-ти).

Наиболее распространенными сопутствующими заболеваниями в обследованной когорте пациентов с СД 2-го типа являлись артериальная гипертензия (АГ) и ишемическая болезнь сердца (ИБС), которые были диагностированы у 83% пациентов с ДПН и у 73% без ДПН (Таблица 16, Рисунок 19).

**Таблица 16 - Частота сопутствующих заболеваний при СД 2-го типа (n = 108)**

	<b>Пациенты без ДПН (n = 26)</b>	<b>Пациенты с ДПН (n = 82)</b>	<b>Хи-квадрат Пирсона, <i>p</i></b>
Сердечно-сосудистые заболевания (АГ, ИБС), частота	19	68	0,269
Патология щитовидной железы, частота	2	3	0,394
Заболевания ЖКТ, частота	0	2	0,422
Заболевания печени, частота	0	4	0,251
Болезни органов дыхания, частота	1	1	0,387
Заболевания костно-суставного аппарата, частота	2	6	0,949
Синдром карпального канала, частота	2	1	0,080
Длительность АГ, годы [95-й% ДИ]	7 [3;12]	9 [4;11,5]	0,481

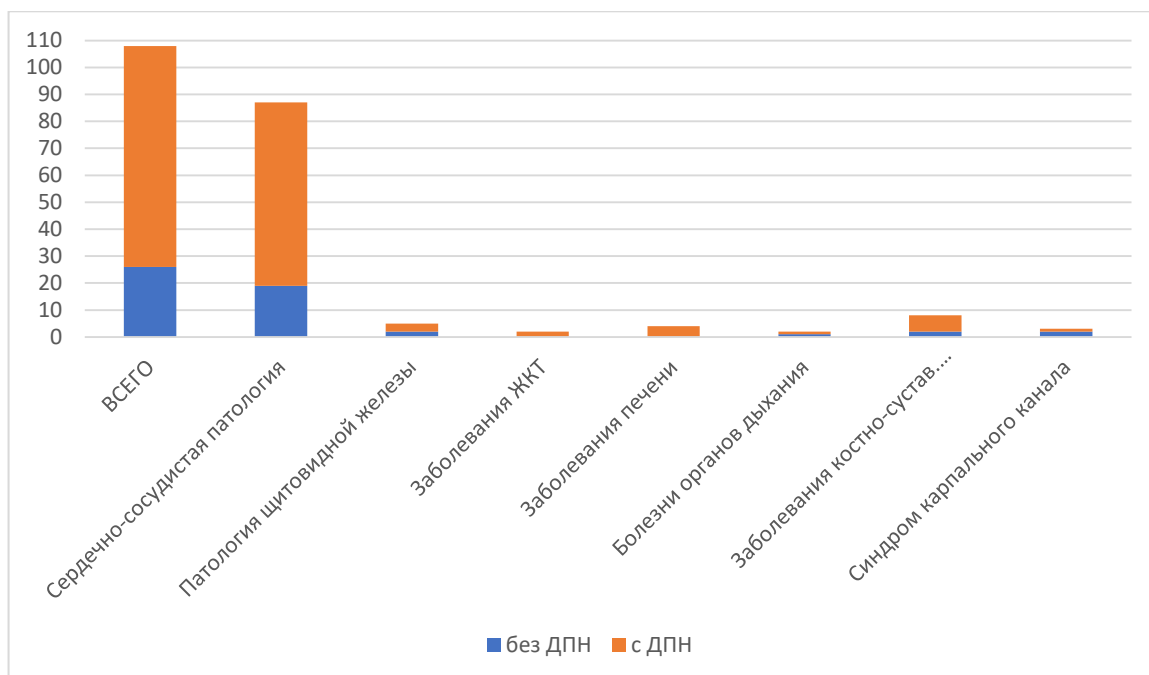
*Примечание:* АГ – артериальная гипертензия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

При анализе данных отмечено, что в настоящей работе не выявлено статистически значимых различий ( $p = 0,481$ ) во взаимосвязи длительности АГ и наличия/отсутствия ДПН в исследуемых группах пациентов с СД 2-го типа.

Также не выявлено значимого различия ( $p = 0,339$ ) между длительностью АГ и степенью тяжести ДПН (стадии 1a/b; 2a/b) (критерий Краскала-Уоллиса для  $k$ -независимых выборок).

Патология щитовидной железы (первичный гипотиреоз, узловой зоб), заболевания костно-суставного аппарата и синдром «карпального канала» обнаружены у 8% пациентов с СД 2-го типа без ДПН.

Среди 82-х пациентов с ДПН выявлены заболевания костно-суставного аппарата у 7%, заболевания печени (вирусные гепатиты, неалкогольный стеатогепатоз) - у 5%.



**Рисунок 19 - Частота сопутствующих заболеваний у пациентов с СД 2-го типа**

Таким образом, значимого влияния сопутствующих заболеваний на риск возникновения ДПН в данной работе не выявлено.

### **3.1.4. Оценка «позитивной» нейропатической симптоматики**

Как известно, основными клиническими проявлениями ДПН являются боль, онемение, парестезии и жжение нижних конечностей (т.н. «позитивная» нейропатическая симптоматика) [3]. В настоящей работе для оценки выраженности «позитивной» нейропатической симптоматики ДПН использовалась диагностическая шкала TSS (Total Symptoms Score).

Среди обследованных пациентов с СД 2-го типа ( $n = 108$ ) ДПН отсутствовала у 26-ти человек, у 40-ка пациентов была диагностирована субклиническая стадия, 42 пациента имели клиническую стадию ДПН. Выявлено, что при клинической стадии ДПН «позитивная» нейропатическая симптоматика наблюдалась у 90,5 % пациентов.

В *Таблице 17* представлена частота встречаемости и выраженность нейропатических жалоб в исследуемой когорте пациентов.

**Таблица 17 - Влияние частоты и выраженности жалоб по шкале TSS на проявления ДПН**

	Без ДПН (n = 26)	Стадия ДПН 1a/b (n = 40)	Стадия ДПН 2a (n = 31)	Стадия ДПН 2b (n = 11)	Выраженность жалоб при ДПН2
Боль	1	0	6	7	2,3 [2,2; 2,3]
Онемение	2	0	27	11	1,3[1,3; 2,3]
Парестезии	1	0	15	7	2,0[1,3; 2,3]
Жжение	1	0	9	7	1,3[1,3; 2,3]

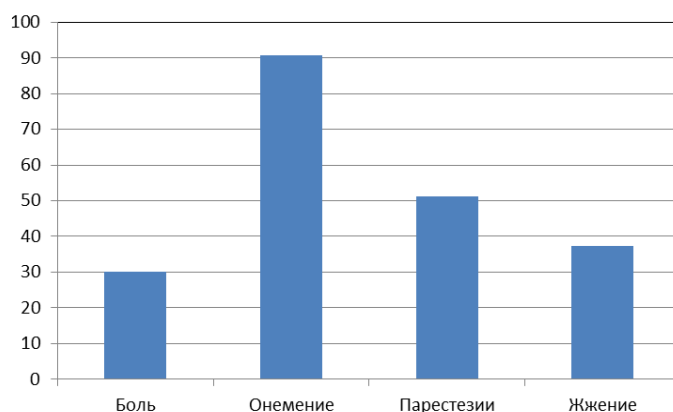
Наиболее часто пациенты предъявляли жалобы на *онемение* в области стоп - 38 пациентов (90,5%), при незначительной выраженности симптома – 1,3 [1,3; 2,3] баллов.

Не менее часто пациенты предъявляли жалобы на *парестезии* в нижних конечностях – 22 пациента (51,2%), при этом выраженность ощущений была средней – 2,0 [1,3; 2,3] балла.

*Жжение* в области стоп наблюдалось у 16 пациентов (37,2%), причём выраженность ощущения жжения в области стоп также была средней – 2,3 [1,5; 2,3] баллов.

Жалобы на *боль* предъявляли 13 пациентов (20,2%), выраженность боли была средней – 2,3 [1,3; 2,3] баллов.

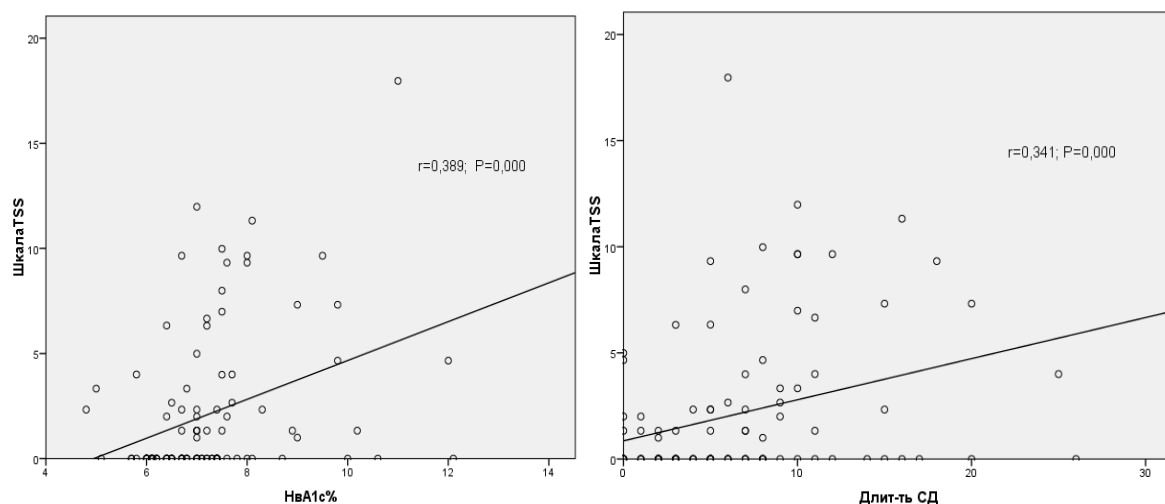
На *Рисунке 20* представлена частота встречаемости нейропатических жалоб у пациентов с клинической стадией ДПН (ДПН-2 а/б).



**Рисунок 20 - Частота нейропатических жалоб у пациентов с СД 2-го типа и клинической стадией ДПН (%)**

Выявлена слабая значимая ( $p = 0$ ) линейная корреляция между значениями TSS и уровнем HbA1c,% ( $r$  Спирмана = 0,389), а также длительностью СД 2-го типа ( $r$  Спирмана = 0,341). Частота и спектр жалоб пациентов возрастает по шкале TSS в зависимости от

длительности СД 2-го типа (Рисунок 21). Повышение уровня HbA1c соответствует более высоким баллам по TSS (Таблица 18).



**Рисунок 21 - Зависимость «позитивной» нейропатической симптоматики (по Шкале TSS) от степени компенсации СД 2-го типа в момент обследования (слева) и длительности заболевания (справа)**

**Таблица 18 - Взаимосвязь между количеством баллов по шкале TSS и степенью компенсации СД 2-го типа**

Исследуемые параметры	HbA1c $\leq$ 6,5%	HbA1c $>$ 6,5%	P
TSS (баллы)	2,5 [1,5; 4,6]	4,0 [1,3; 7,8]	0,000

Выявлены значимые различия показателей шкалы TSS для трёх групп в зависимости от длительности СД 2-го типа (критерий Краскала-Уоллиса для k-независимых выборок). При попарном сравнении значений TSS (критерий Манна-Уитни) статистически значимые различия выявлены между группой пациентов с длительностью СД 2-ого типа до 5-ти лет и, группой пациентов с длительностью СД 2-го типа более 10-ти лет (Таблица 19).

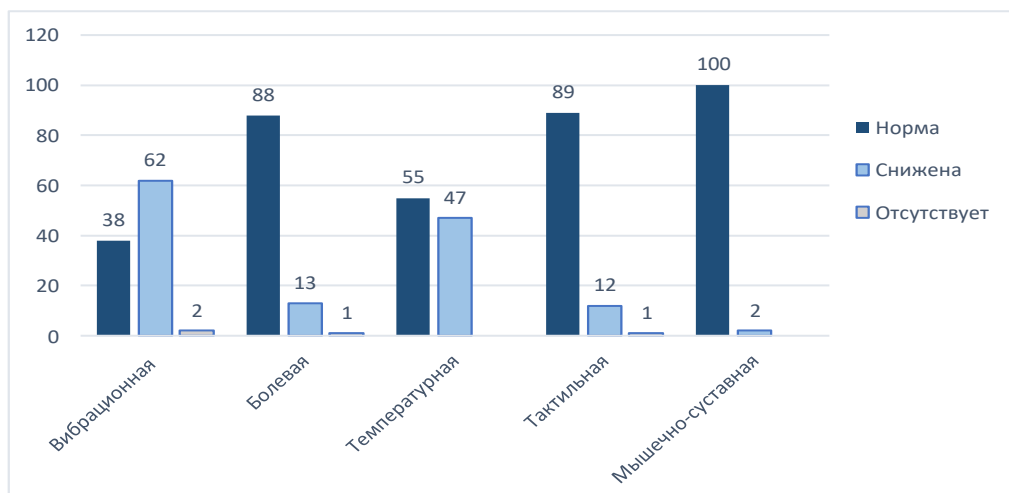
**Таблица 19 - Взаимосвязь между количеством баллов по шкале TSS и длительностью заболевания СД 2-го типа**

Исследуемые параметры	До 5 лет	От 5 – 10 лет	Более 10 лет	<i>P</i>
	1	2	3	
TSS, баллы [95-й% ДИ]	1,3 [1,3; 4,8]	2,5 [1,3; 6,7]	7,0 [3,3; 9,7]	<b>0,001</b> (критерий Краскала-Уоллиса) $p_{12}=0,039$ $p_{23}=0,041$ $p_{13}=0,000$

### **3.1.5. Оценка «негативной» нейропатической симптоматики (неврологического дефицита)**

Всем пациентам, включенным в исследование проводилась оценка поверхностной и глубокой чувствительности, исследование сухожильных рефлексов и силы мышц нижних конечностей.

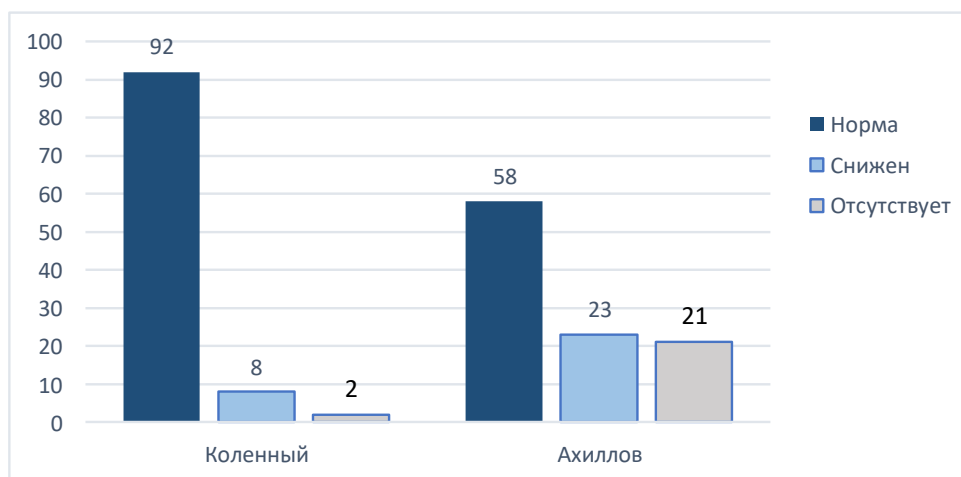
Наиболее часто отмечалось изменение вибрационной чувствительности – у 64,7% пациентов (снижена в 62,7%, отсутствовала в 2-х% случаев); снижение температурной чувствительности было выявлено у 46-ти % пациентов, нарушение болевой чувствительности - у 13,7% пациентов (снижена в 12,7%, отсутствовала в 1% случаев), изменение тактильной чувствительности – у 12,8% пациентов (снижена в 11,8%, отсутствовала в 1% случаев), нарушение суставно-мышечного чувства было диагностировано у 2% пациентов (*Рисунок 22*).



**Рисунок 22 - Частота снижения различных видов чувствительности у пациентов с СД 2-го типа (n = 108), %**

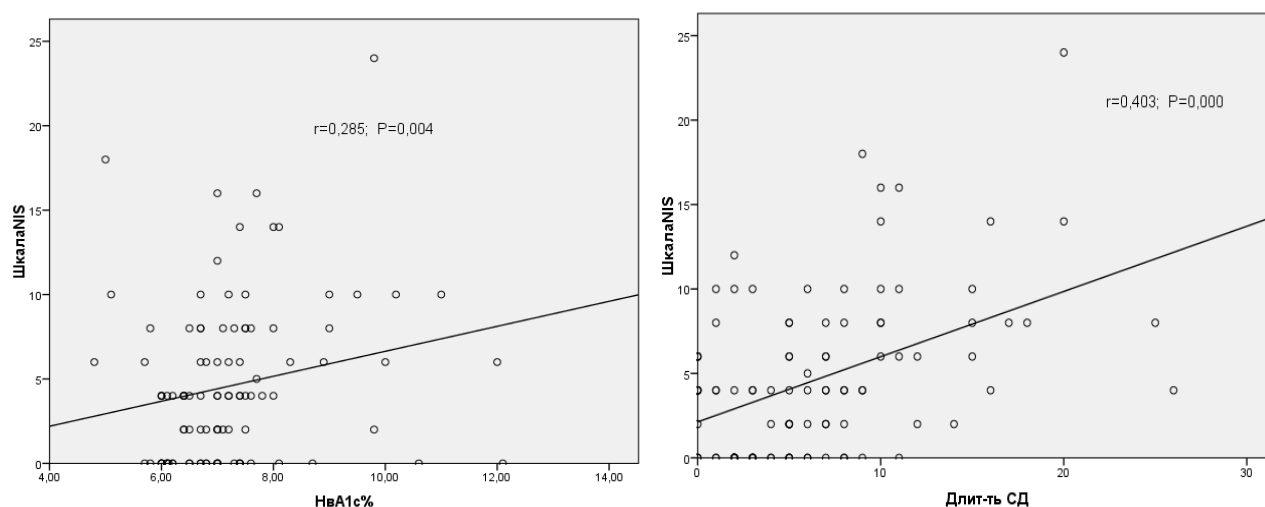
При диагностике ахилловых рефлексов, их изменение выявлено у 43,1% пациентов (снижен в 22,5% случаев, отсутствовал - в 20,6%), изменение коленных рефлексов отмечено у 9,7% пациентов (снижен в 7,8%, отсутствовал в 1,9% случаев) (Рисунок 23).

Снижение мышечной силы ног отмечено у 11 (10,8%) пациентов.



**Рисунок 23 - Частота снижения рефлексов у пациентов с СД 2-го типа и ДПН, %**

Отмечено достоверное влияние степени компенсации углеводного обмена ( $p = 0,004$ ) и длительности течения СД 2-го типа ( $p \leq 0,001$ ) на выраженность неврологического дефицита (Рисунок 24).



**Рисунок 24 - Зависимость «негативной» нейропатической симптоматики (по Шкале NIS LL) от степени компенсации СД 2-го типа на момент обследования (слева) и длительности заболевания (справа)**

В *Таблице 20* приведены данные по степени выраженности симптомов нейропатии (количество баллов по Шкале NIS) для двух групп пациентов - с удовлетворительными и неудовлетворительными показателями гликемического контроля. Отмечено, что  $HbA1c > 6,5\%$  соответствовал более высоким баллам по шкале NIS LL ( $p = 0,006$ ).

**Таблица 20 - Взаимосвязь между количеством баллов по шкале NIS и степенью компенсации СД 2-го типа**

Исследуемые параметры	$HbA1c \leq 6,5\%$	$HbA1c > 6,5\%$	<i>P</i>
NIS (баллы)	2,0[0,0;4,0]	4,0[1,5;8,0]	0,006

Выявлены значимые различия ( $p = 0$ ) показателей NIS для трех групп по длительности СД 2-го типа: до 5-ти лет, от 5-ти до 10-ти лет и более 10-ти лет (*Таблица 21*).

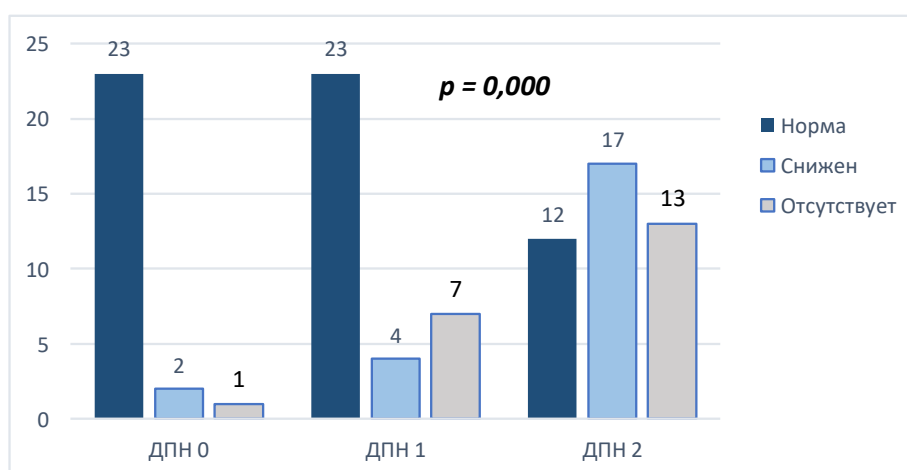
**Таблица 21 - Взаимосвязь между количеством баллов по шкале NIS и длительностью СД 2-го типа**

Исследуемые параметры	До 5 лет	От 5 – 10 лет	Более 10 лет	$p^*$
	1	2	3	
NIS (баллы), [95-й% ДИ]	2,0[0,0;4,0]	4,0[0,0;6,0]	8,0[6,0;13,0]	$p = 0,000$ Попарное сравнение критерий Манна-Уитни $p_{12}=0,199$ $p_{23}=0,000$ $p_{13}=0,000$

*Примечание:* \*критерий Краскала-Уоллиса для к-независимых выборок

При попарном сравнении значений TSS статистически значимые различия выявлены между группой пациентов с длительностью СД 2-го типа до 5-ти лет и группой пациентов, с длительностью СД более 10-ти лет, и, между группой с длительностью СД 2-го типа от 5-ти до 10-ти лет и группой более 10 лет. Таким образом, при увеличении длительности заболевания СД 2-го типа усиливаются проявления симптоматики неврологического дефицита.

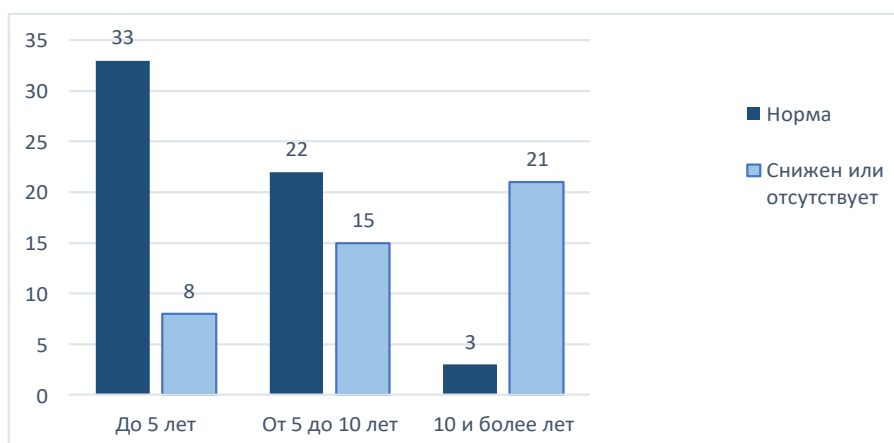
В группе без ДПН нарушение ахилловых рефлексов выявлено у 3-ех пациентов (11,5%) с СД 2-го типа. При субклинической ДПН снижение ахилловых рефлексов отмечено у 11-ти пациентов (32,4%). При клинической ДПН изменения ахиллова рефлекса диагностированы у 30-ти пациентов (71,4%) (Рисунок 25).



**Рисунок 25 – Доля пациентов со сниженным ахилловым рефлексом в группе пациентов без ДПН, с субклинической и клинической стадией ДПН**

По мере прогрессирования ДПН значительно возрастает ( $p = 0,000$ ) доля пациентов с нарушением (снижением и полным исчезновением) ахилловых рефлексов.

При обследовании групп пациентов с различной длительностью течения СД 2-го типа выявлено, что в группе с длительностью заболевания менее 5-ти лет снижение ахилловых рефлексов было отмечено у 8-ми пациентов (19,5%), от 5-ти до 10-ти лет - отмечалось снижение рефлекса у 16-ти пациентов (42,1%), с длительностью заболевания более 10-ти лет снижение ахилловых рефлексов было зафиксировано у 21 пациента (87,5%) (Рисунок 26).



**Рисунок 26 - Частота изменений ахиллова рефлекса в зависимости от длительности заболевания СД 2-го типа**

В Таблице 22 представлена частота выявляемости «негативной» нейропатической симптоматики (снижение или полное отсутствие чувствительности) у пациентов с различной длительностью СД 2-го типа.

Сравнение частоты снижения или полного исчезновения ахиллова рефлекса у пациентов с длительностью СД до 5 лет, от 5 до 10 лет и более 10 лет (с помощью критерия Хи-квадрат) указывает на значимое увеличение числа пациентов со сниженным ахилловым рефлексом по мере увеличения длительности СД 2-го типа ( $p \leq 0,001$ ).

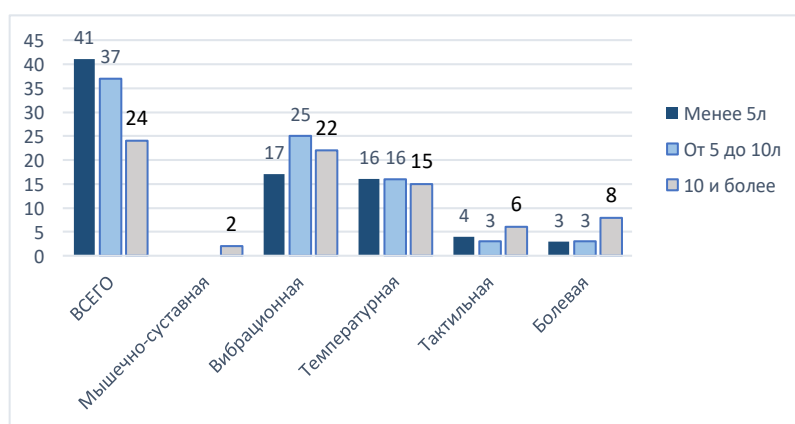
**Таблица 22 – Частота выявляемости «негативной» нейропатической симптоматики у пациентов с различной длительностью СД 2-го типа**

Исследуемые параметры	До 5 лет (n = 41)	От 5 – 10 лет (n = 37)	Более 10 лет (n = 24)	p критерий Краскала-Уоллиса
	1	2	3	
Нарушение	17	25	22	$p=0,000$

вибрационной чувствительности, n				крит. Хи-квадрат $p_{12}=0,021$ $p_{23}=0,027$ <b><math>p_{13}=0,000</math></b>
Нарушение температурной чувствительности, n	16	16	15	$p=0,173$
Нарушение тактильной чувствительности, n	4	3	6	$p=0,109$
Нарушение болевой чувствительности, n	3	3	8	$p=0,006$ Крит. Фишера $p_{12}=0,612$ $p_{23}=0,018$ <b><math>p_{13}=0,014</math></b>
Частота снижения, либо исчезновения ахиллова рефлекса, n	8	15	21	$p=0,000$ Крит. Хи-квадрат <b><math>p_{12}=0,008</math></b> <b><math>p_{23}=0,000</math></b> <b><math>p_{13}=0,000</math></b>

Наибольшее число пациентов с нарушением вибрационной и болевой чувствительности наблюдалось в группе пациентов с длительностью течения СД 2-го типа от 10 и более лет.

Таким образом, по мере увеличения длительности СД 2-го типа происходит достоверно более частое изменение вибрационной и температурной чувствительности ( $p \leq 0,0001$  и  $p = 0,014$ , соответственно) (Рисунок 27).

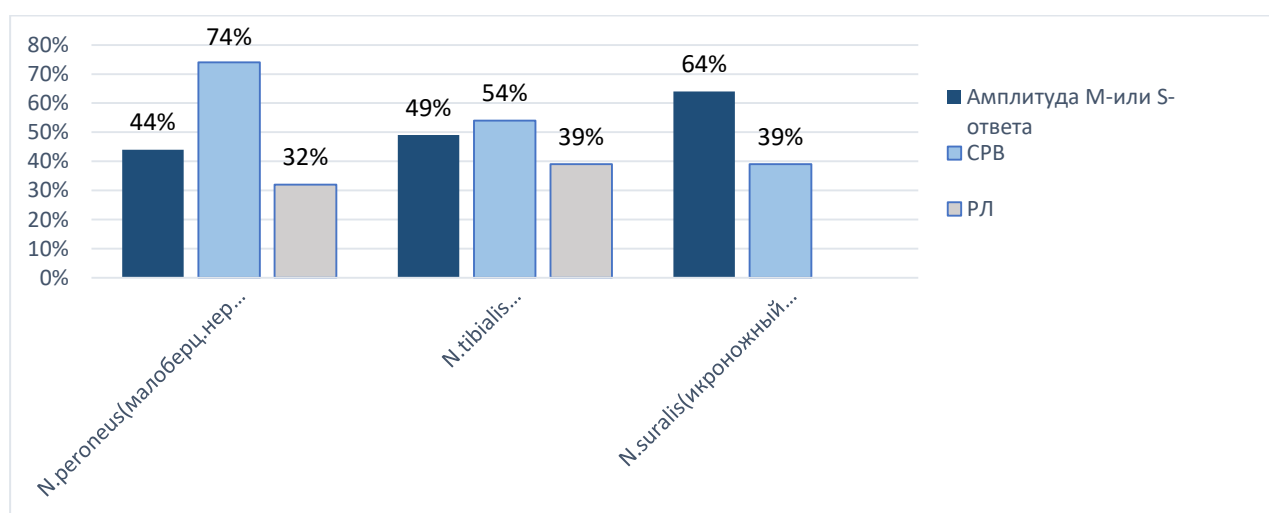


**Рисунок 27 - Зависимость частоты выраженности нарушений видов чувствительности от длительности СД 2-го типа**

### 3.2. Оценка показателей электронейромиографии (ЭНМГ)

Оценка состояния соматических волокон периферических нервов проводилась при помощи нейрофизиологического тестирования, которое позволяет уточнить характер и выраженность их поражения.

При анализе полученных результатов было отмечено, что наиболее часто выявлялись изменения амплитуды двигательного (М-) и сенсорного (S-) ответов, а также отмечалось снижение скорости распространения возбуждения (СРВ) по нервному волокну (*Рисунок 28*).



**Рисунок 28 - Частота нарушений показателей электрической проводимости по двигательным и чувствительным нервным волокнам у пациентов с СД 2-го типа (%)**

*Примечание:* СРВ – скорость распространения возбуждения, РЛ – резидуальная латенция

Сопоставление выраженности изменений различных параметров ЭНМГ с учетом выраженности клинических проявлений ДПН показало, что усугубление неврологического дефицита сопровождается достоверно более значительными изменениями практически всех показателей функционального состояния двигательных и чувствительного нервов (*Таблица 23*).

**Таблица 23 - Показатели ЭНМГ пациентов с СД 2-го типа без ДПН и в зависимости от стадий ДПН**

Исследуемые параметры	Без ДПН (n=26)	Класс ДПН (n=108)			<i>p</i> (критерий Манна-Уитни для к-выборок)
		1а-1б (n=40)	2а (n=31)	2б (n=11)	
	1	2	3	4	
N.peroneus амплитуда М-ответа, мВ (n > 3,5 мВ)	5,1[3,9;7,2]	3,6[1,8;5,5]	3,0 [2,3;4,3]	2,0 [1,6;4,7]	<i>p</i> =0,001 <i>p</i> <sub>12</sub> =0,029 <b><i>p</i><sub>13</sub>=0,000</b> <i>p</i> <sub>23</sub> =0,488 <i>p</i> <sub>34</sub> =0,264
N.peroneus СРВ, м/с (n > 40 м/с)	47,0[43,5;49,0]	44,5[38,3;51,8]	42,0[37,5;44,1]	38,0[37,0;21,9]	<i>p</i> =0,000 <i>p</i> <sub>12</sub> =0,539 <b><i>p</i><sub>13</sub>=0,000</b> <i>p</i> <sub>23</sub> =0,102 <i>p</i> <sub>34</sub> =0,285
N.peroneus РЛ, мс (n < 3,0 мс)	2,4 [2,1;3,1]	2,4 [1,8;3,0]	2,4 [1,9;2,9]	2,5 [2,4;3,6]	<i>p</i> =0,317
N.tibialis амплитуда М-ответа, мВ (n > 3,5 мВ)	6,5[4,5;9,1]	2,0 [0,5;6,8]	2,4 [0,9;4,1]	2,7 [0,7;4,4]	<i>p</i> =0,001 <i>p</i> <sub>12</sub> =0,009 <b><i>p</i><sub>13</sub>=0,000</b> <i>p</i> <sub>23</sub> =0,901 <i>p</i> <sub>34</sub> =0,677
N.tibialis СРВ, м/с (n > 40 м/с)	43,7[41,4;47,8]	41,5[35,8;41,8]	36,0[33,5;38,4]	37,6[34,0;40,0]	<i>p</i> =0,000 <i>p</i> <sub>12</sub> =0,222 <b><i>p</i><sub>13</sub>=0,000</b> <b><i>p</i><sub>23</sub>=0,005</b> <i>p</i> <sub>34</sub> =0,111
N.tibialis РЛ, мс (n < 3,0 мс)	2,0 [1,5; 2,3]	2,7 [2,1;3,5]	2,1 [1,8;2,8]	3,2 [2,2;3,5]	<i>p</i> =0,017 <b><i>p</i><sub>12</sub>=0,007</b> <i>p</i> <sub>13</sub> =0,033 <i>p</i> <sub>23</sub> =0,136 <i>p</i> <sub>34</sub> =0,161
N.suralis амплитуда S-ответа, мкВ (n > 5,0 мкВ)	6,9 [5,7;8,3]	4,0 [1,8;5,6]	0,0 [0; 3,5]	0,0 [0;2,6]	<i>p</i> =0,000 <b><i>p</i><sub>12</sub>=0,001</b> <b><i>p</i><sub>13</sub>=0,000</b> <i>p</i> <sub>23</sub> =0,023 <i>p</i> <sub>34</sub> =0,487
N.suralis СРВ, м/с (n > 40 м/с)	51,5[46,0;56,7]	47,0[40,5;56,5]	0,0 [0; 43,0]	0,0 [0;41,0]	<i>p</i> =0,000 <i>p</i> <sub>12</sub> =0,267 <b><i>p</i><sub>13</sub>=0,000</b> <b><i>p</i><sub>23</sub>=0,005</b> <i>p</i> <sub>34</sub> =0,711

*Примечание:* значимые отличия в таблице выделены жирным шрифтом, с учетом того, что критический уровень значимости при попарном сравнении 4-х групп – 0,0085; N.tibialis – большеберцовый нерв (двигательный); N.peroneus – малоберцовый нерв (двигательный); N.suralis – икроножный нерв (чувствительный); CPB – скорость распространения возбуждения, РЛ – резидуальная латенция

Среди пациентов с СД 2-го типа в группах без ДПН и с субклинической стадией ДПН были выявлены статистически значимые различия по следующим показателям: 1) по РЛ большеберцового нерва ( $p = 0,007$ ), при этом значение Ме в двух группах соответствует норме; 2) по амплитуде S-ответа икроножного нерва ( $p = 0,001$ ) – в этом случае Ме амплитуды в группе без ДПН соответствует норме, а в группе пациентов с ДПН 1- находится ниже нормы.

При сравнении групп пациентов с СД 2-го типа без ДПН и с клинической стадией ДПН, статистически значимые различия были обнаружены по следующим показателям: 1) амплитуде М-ответа малоберцового нерва ( $p = 0,000$ ), 2) по CPB по малоберцовому нерву ( $p = 0,000$ ), 3) амплитуде М-ответа большеберцового нерва ( $p = 0,000$ ), 4) по CPB по большеберцовому нерву ( $p = 0,000$ ), 5) по амплитуде S-ответа икроножного нерва ( $p = 0,000$ ), а также 6) по CPB по икроножному нерву ( $p = 0,000$ ).

Между группой пациентов с субклинической и клинической формами ДПН выявлено статистически значимое изменение CPB по большеберцовому нерву ( $p = 0,005$ ). Следует отметить статистически значимую корреляцию, существующую между указанными показателями (Таблица 24).

Статистически значимых различий приведенных параметров ЭНМГ между стадиями ДПН 2а и ДПН 2б не выявлено.

**Таблица 24\* - Существующие парные корреляции между предикторами ДПН**

Показатель	Ампл. М-ответа n. peroneus	CPB n. peroneus	Ампл. М-ответа n.tibialis	РЛ n.tibialis	Ампл. S-ответа n.suralis	CPB n.suralis	CPB n.tibialis
Ампл. М-ответа n. peroneus		<b><math>k=0,578</math> <math>p=0,000</math></b>	$k=0,385$ $p=0,001$		$k=0,298$ $p=0,013$	$k=0,392$ $p=0,001$	$k=0,458$ $p=0,000$
CPB n. peroneus, м/с	$k=0,578$ $p=0,000$				$k=0,421$ $p=0,000$	$k=0,637$ $p=0,000$	<b><math>k=0,659</math> <math>p=0,000</math></b>
Ампл. М-ответа n.tibialis	$k=0,385$ $p=0,001$			$k=-0,242$ $p=0,045$	$k=0,318$ $p=0,008$	$k=0,358$ $p=0,003$	<b><math>k=0,605</math> <math>p=0,000</math></b>
Ампл. S-ответа n.suralis	$k=0,298$ $p=0,013$	$k=0,421$ $p=0,000$	$k=0,318$ $p=0,008$			<b><math>k=0,766</math> <math>p=0,000</math></b>	<b><math>k=0,518</math> <math>p=0,000</math></b>
CPB n.suralis, м/с	$k=0,392$ $p=0,001$	<b><math>k=0,637</math> <math>p=0,000</math></b>	$k=0,358$ $p=0,003$		$k=0,766$ $p=0,000$		<b><math>k=0,733</math> <math>p=0,000</math></b>
CPB n.tibialis,							

м/с							
-----	--	--	--	--	--	--	--

*Примечание:* \*в таблице приведены только значимые корреляции, а жирным шрифтом выделены наиболее сильные значимые парные корреляции;  $k$  - коэффициент корреляции Спирмана; N.tibialis – большеберцовый нерв (двигательный); N.peroneus – малоберцовый нерв (двигательный); N.suralis – икроножный нерв (чувствительный); CPB – скорость распространения возбуждения; РЛ – резидуальная латенция

При анализе частных корреляций было установлено, что при исключении влияния CPB по большеберцовому нерву, CPB по малоберцовому нерву и CPB по икроножному нерву на остальные показатели, мультиколлинеарность пропадает. Оставшиеся четыре показателя (амплитуда М-ответа n.peroneus, амплитуда М-ответа n.tibialis, РЛ n.tibialis, амплитуда S-ответа n.suralis) были использованы как независимые предикторы при построении логистической регрессионной модели, которая объяснила около 67% дисперсии ДПН и правильно классифицировала 84% случаев.

Результаты логистического регрессионного анализа приведены в *Таблице 25*.

**Таблица 25 – Регрессионная модель влияния независимых предикторов на возникновение ДПН у пациентов с СД 2-го типа**

Параметры	B	Exp(B) (95-ти% ДИ)	P
Амплитуда М-ответа n.peroneus	-0,507	0,603 (0,410-0,886)	0,010
Амплитуда М-ответа n.tibialis	-0,249	0,779 (0,632-0,962)	0,020
РЛ n.tibialis	-0,099	-	0,228
Амплитуда S-ответа n.suralis	-0,465	0,628 (0,475-0,831)	0,001

Снижение амплитуды М-ответа малоберцового нерва, как и снижение амплитуды М-ответа большеберцового нерва и снижение амплитуды S-ответа икроножного нерва в значительной степени связано с повышенным риском развития ДПН.

На основании полученных данных можно сделать заключение о том, что на начальном этапе формирования ДПН у пациентов с СД 2-го типа происходит уменьшение амплитуды сенсорного ответа икроножного нерва, при последующем усугублении ДПН снижается амплитуда М-ответа малоберцового и большеберцового нерва.

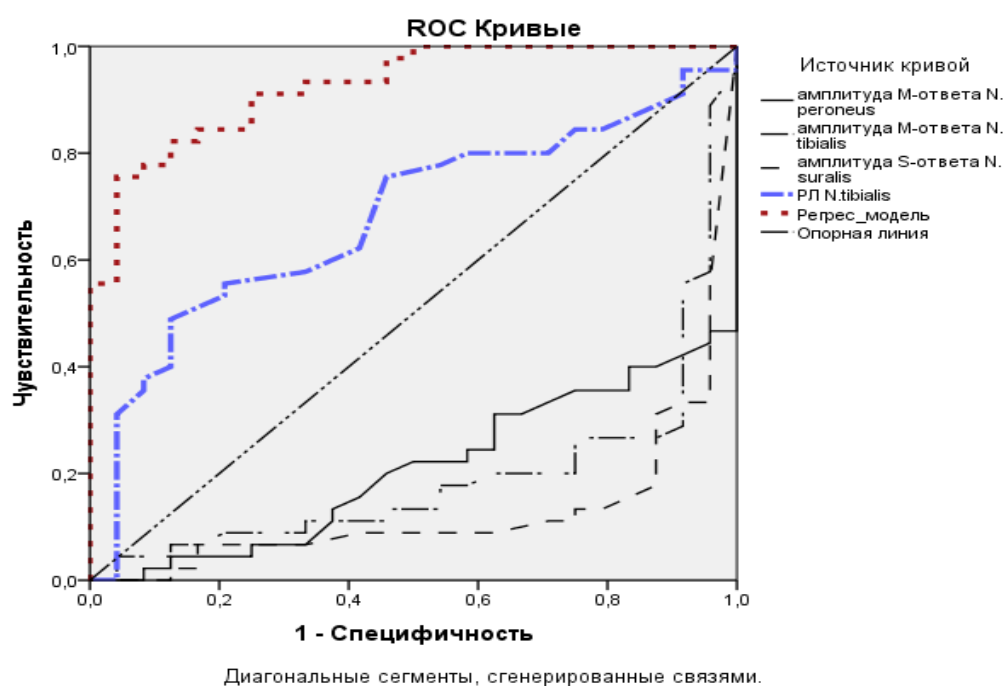
В нашей работе при помощи корреляционного анализа были выделены наиболее значимые факторы, связанные с развитием ДПН (амплитуда М-ответа малоберц. нерва (мВ), амплитуда М-ответа большеберц. нерва (мВ), амплитуда S-ответа икроножн. нерва (мВ)), они

были включены в прогностическую модель, которая была построена при помощи многофакторного анализа по методу линейной регрессии:

*ПРОГНОЗ вероятности развития ДПН (Z) = 6,24 - 0,504 × «амплитуда М-ответа малоберц.нерва» - 0,213 × «амплитуда М-ответа большеберц.нерва» - 0,454 × амплитуда S-ответа икроножн. нерва.*

Ни один из предикторов регрессионной модели в отдельности не обладает прогностической силой (AUC (площадь под кривой) < 0,5), в то время как совокупность трёх показателей (амплитуда М-ответов мало- и большеберцового нерва, амплитуда S-ответа икроножного нерва) обладает высокой прогностической ценностью.

Качество полученной регрессионной модели очень высокое (интервал AUC 0,8-0,9), прогностическая сила данной модели значительно превосходит модель, определяемую предиктором РЛ большеберцового нерва (Рисунок 29, Таблица 26).



**Рисунок 29 - ROC-кривые соотношения чувствительность/специфичность модели прогнозирования вероятности развития ДПН**

**Таблица 26 - Площадь под кривой**

Переменные	Область	95%-й ДИ	<i>p</i>
Амплитуда М-ответа n.tibialis	0,193	0,083-0,303	0,000
Амплитуда М-ответа n.peroneus	0,208	0,105-0,311	0,000
Амплитуда S-ответа n.suralis	0,128	0,037-0,219	0,000
РЛ n.tibialis	0,678	0,549-0,807	0,016
Регрессионная модель	0,925	0,866-0,984	0,000

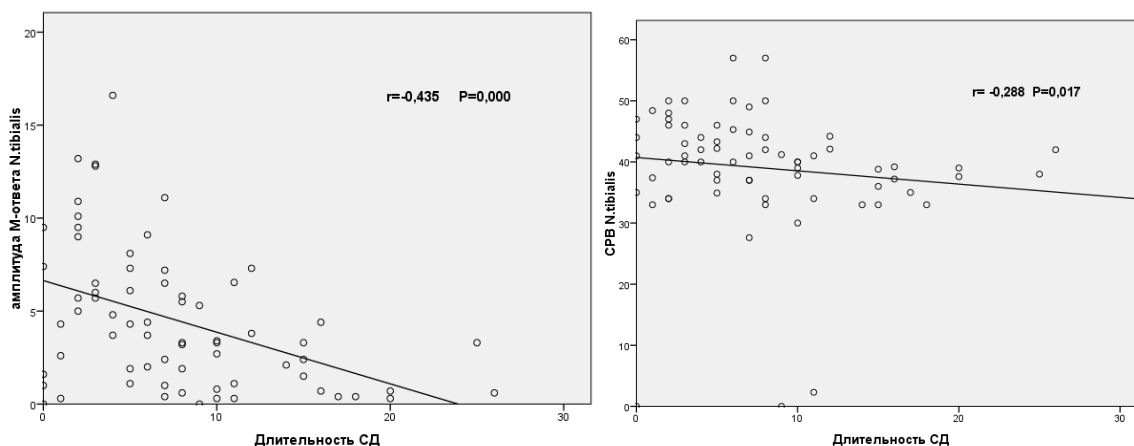
*Примечание:* N.tibialis – большеберцовый нерв (двигательный); N.peroneus – малоберцовый нерв (двигательный); N.suralis – икроножный нерв (чувствительный).

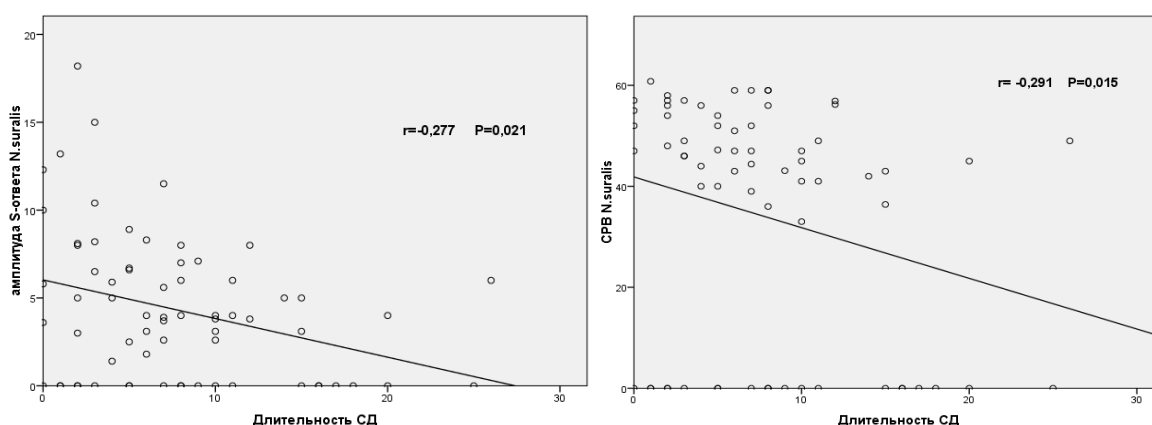
Оптимальным порогом отсечения является значение функции  $Z = 0,7$ , при котором достигается 82% чувствительности и 88% специфичности (Таблица 27).

**Таблица 27 – Координаты ROC-кривой для оценки чувствительности и специфичности функции наличия ДПН на основе значения факторов влияния**

Верно, если больше или равно <sup>a</sup>	Чувствительность	1 - Специфичность	Специфичность
0,6780	0,822	0,167	0,833
<b>0,7288</b>	<b>0,822</b>	<b>0,125</b>	<b>0,875</b>
0,8804	0,800	0,125	0,875

С увеличением длительности СД 2-го типа отмечается общее снижение верхней границы разброса значений для показателей М- и S-ответа большеберцового и икроножного нерва, а также снижение СРВ по этим нервам (Рисунок 30).





**Рисунок 30 - Взаимосвязь параметров ЭНМГ и длительности СД 2-го типа**

Анализ групповых различий при попарном сравнении (Таблица 28) указывает на то, что не существует значимых различий параметров ЭНМГ между группами пациентов с длительностью заболевания СД 2-го типа менее 5-ти лет и от 5-ти до 10 лет, также как и между показателями ЭНМГ пациентов с длительностью заболевания от 5-ти до 10 лет и более 10 лет.

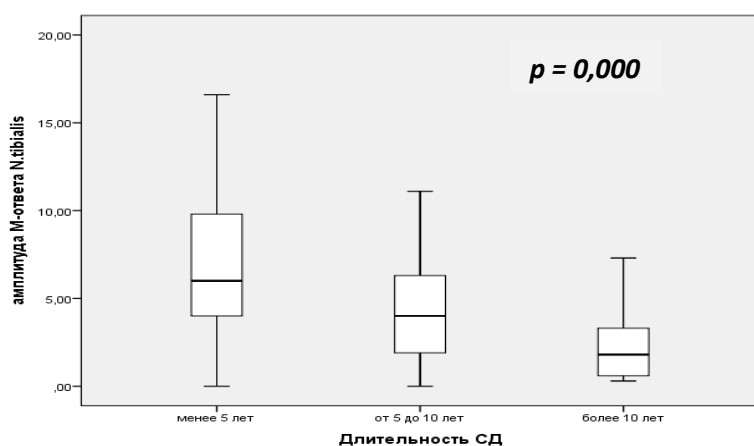
Статистически значимое различие существует по амплитуде М-ответа большеберцового нерва и СРВ по большеберцовому нерву между группой пациентов с длительностью СД 2-го типа до 5 лет и группой пациентов с СД 2-го типа 10 и более лет ( $p = 0,000$  и  $p \leq 0,005$ , соответственно) (Рисунок 31). При этом, несмотря на обнаруженную значимую обратную корреляцию между длительностью заболевания СД 2-го типа и амплитудой S-ответа и СРВ по икроножному нерву, статистически значимого отличия по этим показателям между группами выявлено не было.

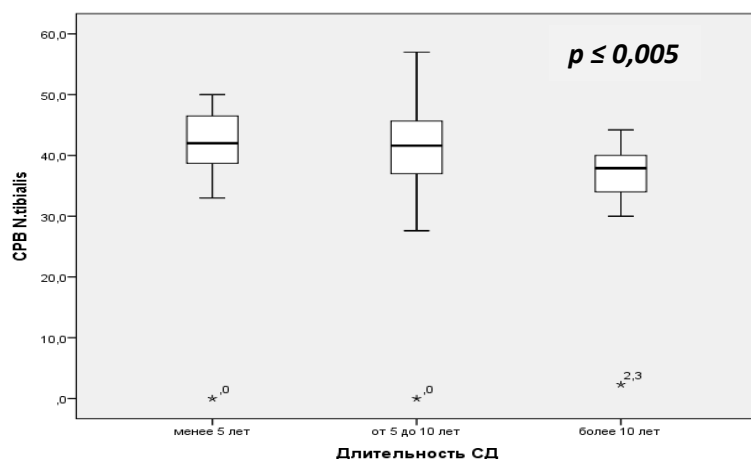
**Таблица 28 – Показатели ЭНМГ в зависимости от длительности СД 2-го типа**

Исследуемые параметры	Длительность СД2 типа		$p^*$	Длительность СД2 типа	$p^{**}$	$p^{***}$
	Менее 5 лет (n = 23)	От 5 до 10 лет (n = 24)		Более 10 лет (n = 22)		
N.peroneus амплитуда М-ответа, мВ (n > 3,5 мВ)	5,1 [2,3;7,1]	4,1 [3,1;5,1]	0,443	3,4 [1,8;4,4]	0,086	0,059
N.peroneus СРВ, м/с (n > 40 м/с)	45,0 [40,0;49,0]	44,4 [42,0;47,5]	0,865	40,0 [38,0;44,1]	0,044	0,152
N.peroneus РЛ,	2,5 [1,9;3,2]	2,4 [2,1;2,8]	0,881	2,5 [1,9;3,2]	0,700	0,909

мс (n < 3,0 мс)						
N.tibialis амплитуда М- ответа, мВ (n > 3,5 мВ)	6,0 [3,7;10,1]	4,0 [1,9;6,4]	0,047	1,8 [0,6;3,3]	0,022	<b>0,000</b>
N.tibialis СРВ, м/с (n > 40 м/с)	42 [37,4;47,0]	41,6 [37,0;45,8]	0,848	37,9 [33,8;40,0]	0,027	<b>0,005</b>
N.tibialis РЛ, мс (n < 3,0 мс)	2,1 [1,5;2,9]	2,2 [1,8;]±0,9	0,848	2,7 [2,1;3,6]	0,034	0,053
N.suralis амплитуда S- ответа, мкВ (n > 5,0 мкВ)	5,8 [0,0;10,0]	4,0 [0,5;6,9]	0,329	3,1 [0,0;4,3]	0,122	0,024
N.suralis СРВ, м/с (n > 40 м/с)	48,0 [0,0;56,0]	45,7 [9,0;53,5]	0,577	38,7 [0,0;45,5]	0,071	0,023

*Примечание:* \*- значимость различий между группами пациентов с длительностью СД 2-го типа до 5-ти лет и от 5-ти до 10 лет; \*\*- значимость различий между группами пациентов с длительностью СД 2-го типа от 5-ти до 10 лет и старше 10 лет; \*\*\*- значимость различий между группами пациентов с длительностью СД 2-го типа до 5-ти лет и старше 10 лет; N.tibialis – большеберцовый нерв (двигательный); N.peroneus – малоберцовый нерв (двигательный); N.suralis – икроножный нерв (чувствительный); СРВ – скорость распространения возбуждения; РЛ – резидуальная латенция

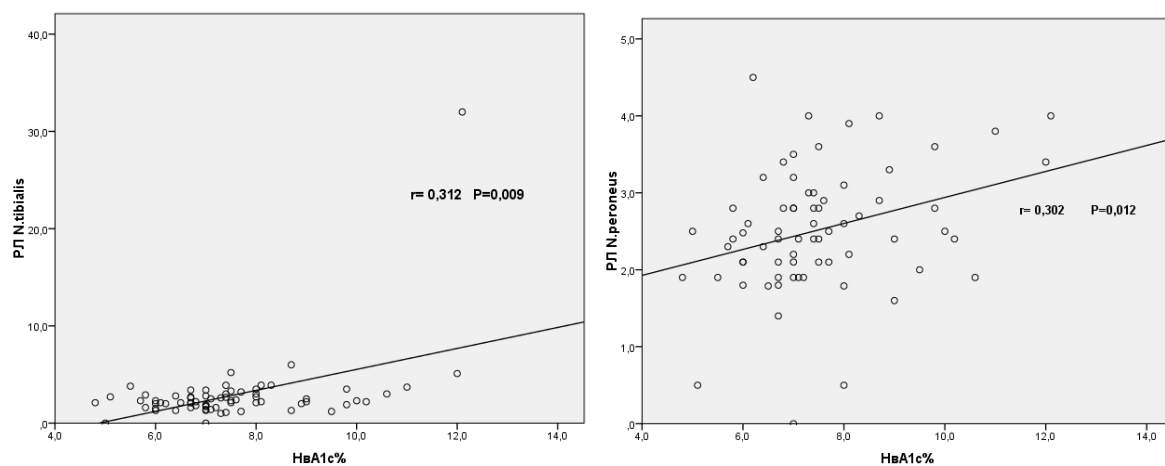


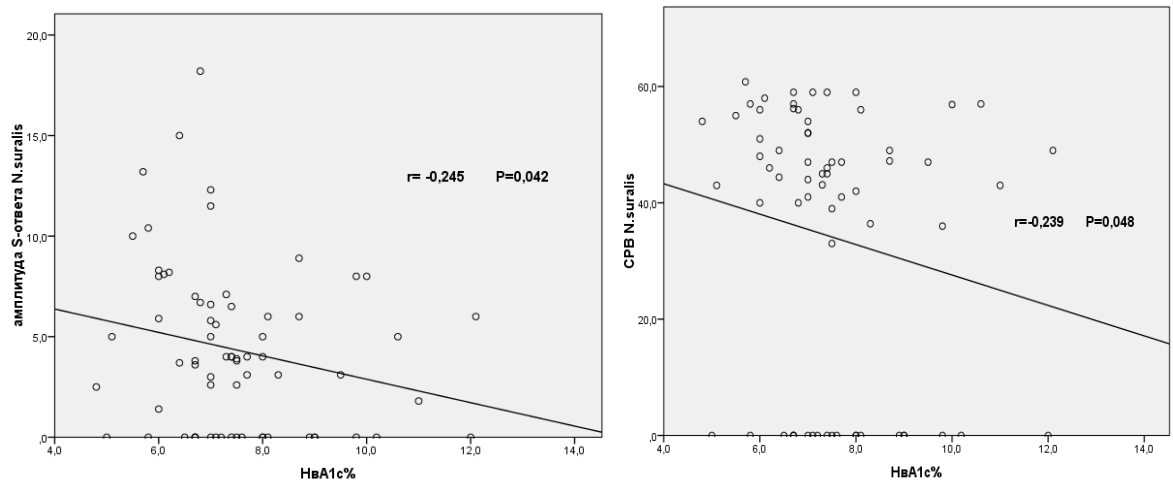


**Рисунок 31 – Изменение (ухудшение) показателей ЭНМГ при увеличении длительности СД 2-го типа**

Полученный результат позволяет утверждать, что при увеличении длительности СД 2-го типа достоверно чаще наблюдается ухудшение показателей ЭНМГ.

Также подтверждается статистически значимая прямая линейная корреляция между уровнем HbA1c и РЛ малоберцового и большеберцового нервов, а также обратная корреляция между уровнем HbA1c и значениями амплитуды S-ответа и CPB икроножного нерва (корреляции везде слабые – Рисунок 32).





**Рисунок 32 - Взаимосвязь показателей ЭНМГ и уровня HbA1c (%)**

### 3.3. Этап 2. Сравнительный анализ эффективности нормализации гликемии в течение 5-ти месяцев у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН

В данной части исследования была проведена клинко-морфологическая оценка состояния тонких нервных волокон, оценка состояния макро- и микроциркуляции и, определена возможность обратимости выявленных нарушений на фоне длительной нормализации углеводного обмена у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН (ДПН-1).

В исследовании приняли участие 40 пациентов с СД 2-го типа и подтвержденной (при помощи ЭНМГ) субклинической стадией ДПН, находившиеся в целевом диапазоне гликемии ( $HbA1c \leq 6,5\%$ ) на момент включения в исследование, и, в течение всего периода наблюдения (5 месяцев).

У большинства пациентов, включенных в исследование, было подтверждено наличие АГ, по поводу которой проводилось следующее медикаментозное лечение: ингибиторы АПФ или сартаны (87%),  $\beta$ -блокаторы (50%), диуретики (60%), антагонисты кальциевых каналов (24%). В связи с наличием дислипидемии почти половина обследованных пациентов (48%) получала терапию статинами.

Характеристика участников исследования представлена в *Таблице 29*.

**Таблица 29 – Характеристика участников исследования**

Параметры	n = 40
Возраст, годы [95-й% ДИ]	56,5 [51,3;61,0]
Пол (м/ж)	8/32
Длительность СД 2, годы [95-й% ДИ]	2,5 [1,0;5,0]
Наличие АГ, n (%)	35 (88%)
Длительность АГ, годы [95-й% ДИ]	10,0 [5,0;12,5]
Курение, n (%)	4 (10%)
Терапия статинами, n (%)	19 (48%)
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,6 ± 4,0
HbA1c, исходно, %	6,5 ± 0,7

Параметры	n = 40
HbA1c, через 5 мес., %	6,3 ± 0,7
Общ.Хс (до 6,2 ммоль/л)	5,3 ± 3,2 5,4 [4,6;6,0]
ЛПНП (0-3,3 ммоль/л)	3,2 ± 0,96
САД, исходно, мм рт.ст.	120,8 ± 12,7
САД, через 5 мес., мм рт.ст.	121,1 ± 13,5
ДАД, исходно, мм рт.ст.	74,6 ± 13,6
ДАД, через 5 мес., мм рт.ст.	73,8 ± 8,0
ЧСС, уд/мин	74 ± 8
ЧСС через 5 мес., уд/мин	72 ± 7

*Примечание:* СД 2 – сахарный диабет 2-го типа, АГ – артериальная гипертензия, ИМТ – индекс массы тела, HbA1c – гликированный гемоглобин, Общ. Хс – общий холестерин, ЛПНП – липопротеиды низкой плотности, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений

### 3.3.1. Оценка результатов ЭНМГ у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН на фоне достижения и удержания целевого уровня гликемии в течение 5 месяцев

Проанализированы результаты ЭНМГ у пациентов с СД 2-го типа и ДПН-1 исходно и через 5 месяцев на фоне стойкой нормализации углеводного обмена (Таблица 30).

Статистически значимое отличие было выявлено по показателю амплитуды S-ответа икроножного нерва ( $p = 0,010$ ).

**Таблица 30 - Результаты ЭНМГ пациентов с СД 2-го типа и субклинической ДПН исходно и через 5 месяцев на фоне достижения целевых значений гликемии ( $HbA1c \leq 6,5\%$ )**

Исследуемые параметры	Исходно (n = 40)	Через 5 месяцев (n = 40)	p-критерий знаковых рангов Вилкоксона
N.peroneus амплитуда М-ответа, мВ (n > 3,5 мВ)	4,2 [2,8; 6,7]	4,1 [2,9;7,5]	0,058
N.peroneus СРВ, м/с (n > 40 м/с)	45,1 [43,0;48,1]	46,0 [44,0;50,0]	0,100
N.peroneus РЛ, мс (n < 3,0 мс)	2,5 [1,9;2,8]	2,3 [1,7;2,8]	0,057
N.tibialis амплитуда М-ответа, мВ (n > 3,5 мВ)	6,4 [3,7;7,7]	6,5 [4,1;7,9]	0,067
N.tibialis СРВ, м/с (n > 40 м/с)	44,0 [41,0;46,0]	44,0 [42,0;46,0]	0,837

Исследуемые параметры	Исходно (n = 40)	Через 5 месяцев (n = 40)	p-критерий знаковых рангов Вилкоксона
N.tibialis РЛ, мс (n < 3,0 мс)	1,6 [1,4;2,4]	1,7 [1,4;2,2]	0,904
N.suralis амплитуда S-ответа, мкВ (n > 5,0 мкВ)	3,7 [2,8;5,2]	4,6 [3,6;8,0]	<b>0,010</b>
N.suralis СРВ, м/с (n > 40 м/с)	46,0 [40,0;49,9]	46,9 [39,3;52,0]	0,421

Примечание: СРВ – скорость распространения возбуждения; РЛ – резидуальная латенция

### 3.3.2. Результаты исследования параметров микроциркуляции, жесткости артерий и функции эндотелия у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН

Проведено сравнительное исследование параметров микроциркуляции, жесткости артерий и функции эндотелия у пациентов с СД 2-го типа исходно и на фоне поддержания целевых значений гликемии в течение 5-ти месяцев.

В *Таблицах 31 и 32* представлены результаты сравнения основной (далее группа «А», n = 40) и контрольной групп (далее группа «Б», n = 10) по параметрам макро- и микроциркуляции.

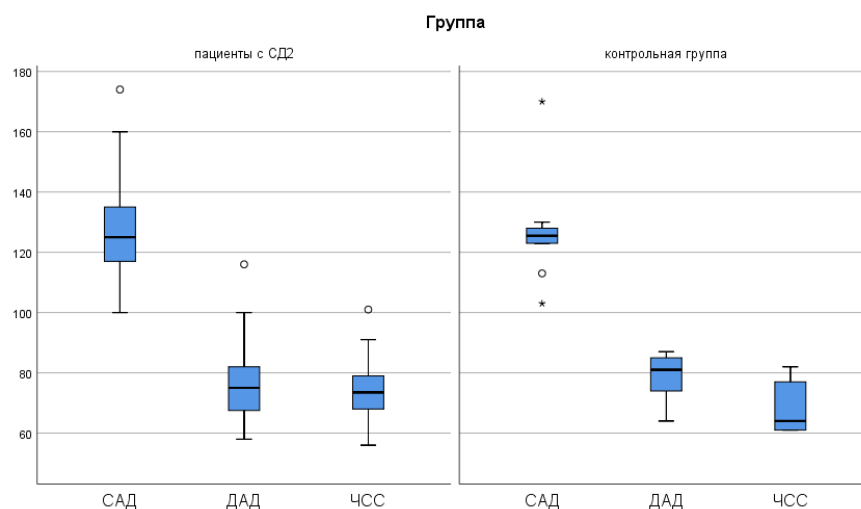
**Таблица 31 - Параметры центральной гемодинамики в исследуемых группах пациентов**

Параметры	Группа «А» исходно (n = 40)	Группа «Б» (n = 10)	p <sub>12</sub> критерий Манна-Уитни	Группа «А» через 5 мес.	p <sub>14</sub> критерий знаковых рангов Вилкоксона для связ.выборок
	1	2	3	4	
САД, мм рт.ст.	125 [117; 136]	123 [118; 135]	0,952	121 [116; 133]	0,467
ДАД, мм рт.ст.	75 [67; 83]	75 [71; 80]	0,296	79 [70; 82]	0,594
ЧСС, мм рт.ст.	74 [68; 80]	74 [70; 77]	0,119	72 [69; 77]	0,477

Примечание: p – уровни значимости различий между параметрами, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений

Достоверного различия по основным гемодинамическим показателям (САД, ДАД и ЧСС) между основной исследуемой группой (группа «А», исходно) и группой здорового контроля (группа «Б») не обнаружено (*Рисунок 33*).

При нормализации гликемии в течение пяти месяцев у пациентов из группы «А» также не выявлено статистически значимых различий по сравнению с исходными значениями.



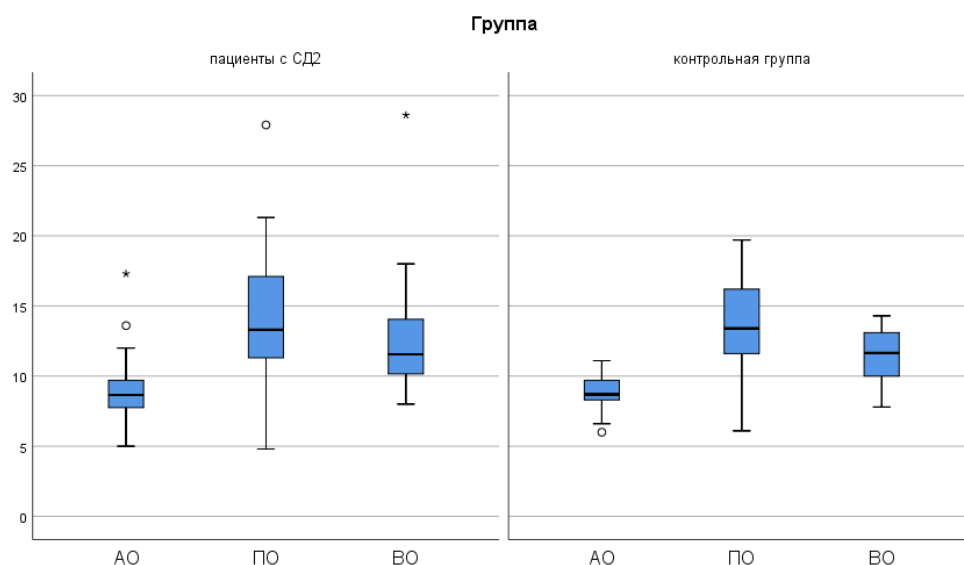
**Рисунок 33 – Основные параметры макроциркуляции (САД, ДАД, ЧСС) у пациентов с СД 2-го типа (исходно) и контрольной группы здоровых лиц**

**Таблица 32 - Параметры микроциркуляции в исследуемых группах**

Параметры	Группа «А» n = 40	Группа «Б» n = 10	<i>p</i> <sub>12</sub> критерий Манна-Уитни	Группа «А» через 5 мес.	<i>p</i> <sub>14</sub> критерий знаковых рангов Вилкоксона для связ.выборок
	1	2	3	4	
ПЗ, мкм	104[91; 132]	103 [86; 122]	0,574	103 [88;118]	0,126
АО, мкм	8,7 [7,7; 9,7]	8,7 [7,9; 10,0]	0,952	9,6 [8,8; 10,9]	<b>0,007</b>
ПО, мкм	13,3 [11,3; 17,2]	13,4 [10,83; 16,6]	0,821	13,9 [11,3; 13,9]	0,666
ВО, мкм	11,6 [10,1; 14,1]	11,7 [9,9; 13,3]	0,558	12,9 [11,6;15,1]	0,094
К <sub>во/ао</sub>	1,35 [1,26; 1,55]	1,30 [1,17; 1,49]	0,264	1,33 [1,24; 1,42]	0,154
Усредн.	<b>679</b> <b>[353; 1123]</b>	<b>406</b> <b>[371; 707]</b>	0,338	<b>459</b> <b>[219; 739]</b>	<b>0,040</b>

*Примечание:* ПЗ – перикапиллярная зона, АО – артериальный отдел капилляра, ПО – переходный отдел капилляра, ВО – венозный отдел капилляра, К<sub>во/ао</sub> – коэффициент ремоделирования капиллярного русла, Усредн. – средняя скорость капиллярного кровотока

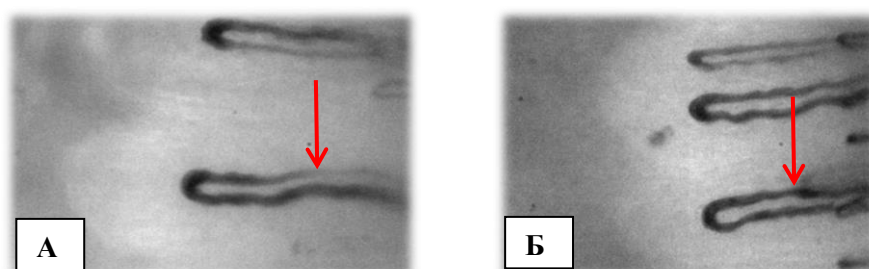
При сравнении исходных параметров микроциркуляции в группах «А» и «Б» значимых различий обнаружено не было (Рисунок 34).



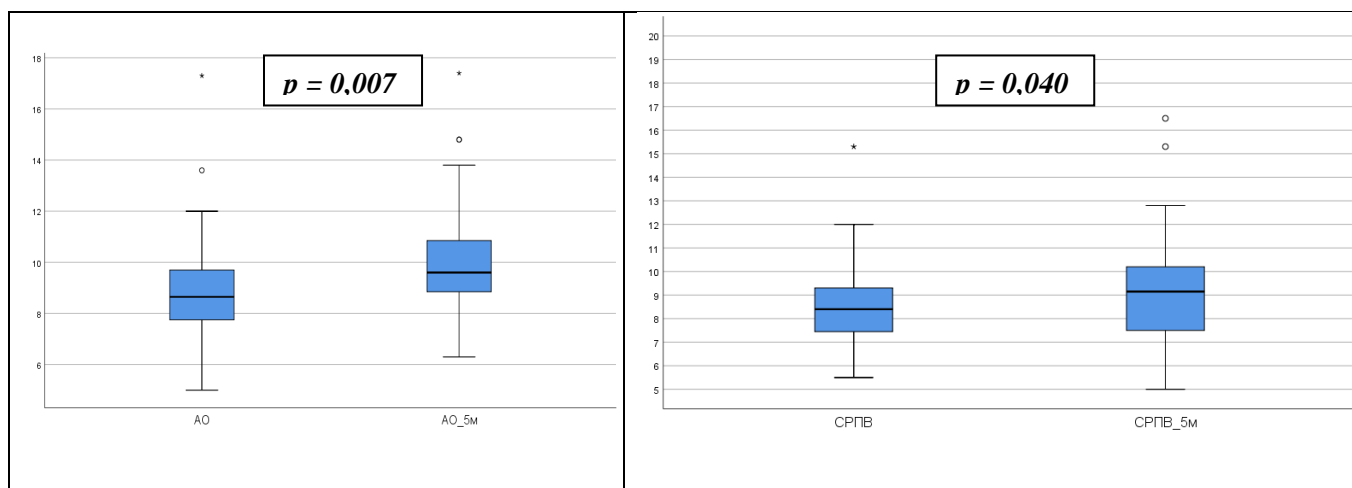
**Рисунок 34 - Средние диаметры артериального, переходного и венозного отделов капилляров у пациентов с СД 2-го типа и контрольной группы здоровых лиц**

*Примечание:* АО - артериальный отдел капилляров, ПО – переходный отдел капилляров, ВО – венозный отдел капилляров

Однако, на фоне достижения и удержания целевых значений гликемии в течение пяти месяцев было выявлено статистически значимое изменение (увеличение) средних размеров артериального отдела (АО) капилляров у пациентов с СД 2-го типа ( $p = 0,007$ ) (Рисунок 35), а также отмечено увеличение средней скорости капиллярного кровотока ( $p = 0,040$ ) (Рисунок 36).



**Рисунок 35 - Динамика состояния артериального отдела капилляра пациента с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН исходно (А) и через 5 месяцев на фоне улучшения гликемического контроля (Б)**



**Рисунок 36 – Изменение средних диаметров артериальных отделов капилляров и средней скорости капиллярного кровотока ( $V_{ср.}$ ) у пациентов с СД 2-го типа исходно и через 5 месяцев**

*Примечание:* АО – артериальный отдел капилляров,  $V_{ср.}$  – средняя скорость капиллярного кровотока

**Таблица 33 – Параметры жесткости артерий и функции эндотелия в исследуемых группах**

Параметры	Группа «А» исходно n = 40	Группа «Б» n = 10	$p_{12}$ критерий Манна-Уитни	Группа «А» через 5 мес.	$p_{14}$ критерий знаковых рангов Вилкоксона для связ.выборок
	1	2	3	4	
CRPB, м/с	8,4 [7,4; 9,3]	8,5 [7,4; 10,7]	0,344	9,2 [7,5; 10,3]	0,066
$\Delta$ CRPB, %	-4,8 [-14,7; 2,4]	-2,61 [-6,1; 12,8]	0,693	-7,6 [-14,0; 2,6]	0,726
ЭФ, %	33 [13; 52]	40 [35,5; 47,6]	0,183	32,9 [21; 42,1]	0,811

*Примечание:* CRPB – скорость распространения пульсовой волны;  $\Delta$ CRPB – соотношение CRPB до и после пережатия; ЭФ – эндотелиальная функция

Как следует из *Таблицы 33*, значимых изменений по параметрам жесткости артерий и функции эндотелия в исследуемых группах выявить не удалось.

### 3.3.3. Результаты пункционной биопсии кожи

Кожный лоскут обследуемых пациентов (40 человек с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН и 10 условно здоровых добровольцев без СД) был представлен эпидермисом и верхними слоями дермы (сосочковый и сетчатый слой).

Проводилась оценка основных морфологических показателей строения кожного лоскута: степень выраженности акантоза и гиалиноза базальной мембраны (БМ), гиперкератоза, фиброза и гиалиноза сосудистой стенки.

Общая характеристика основных морфологических показателей кожного лоскута в исследуемых группах представлена в *Таблице 34*.

**Таблица 34 - Сравнение основных морфологических показателей кожного лоскута в контрольной группе и в группе пациентов с СД 2-го типа и субклинической ДПН**

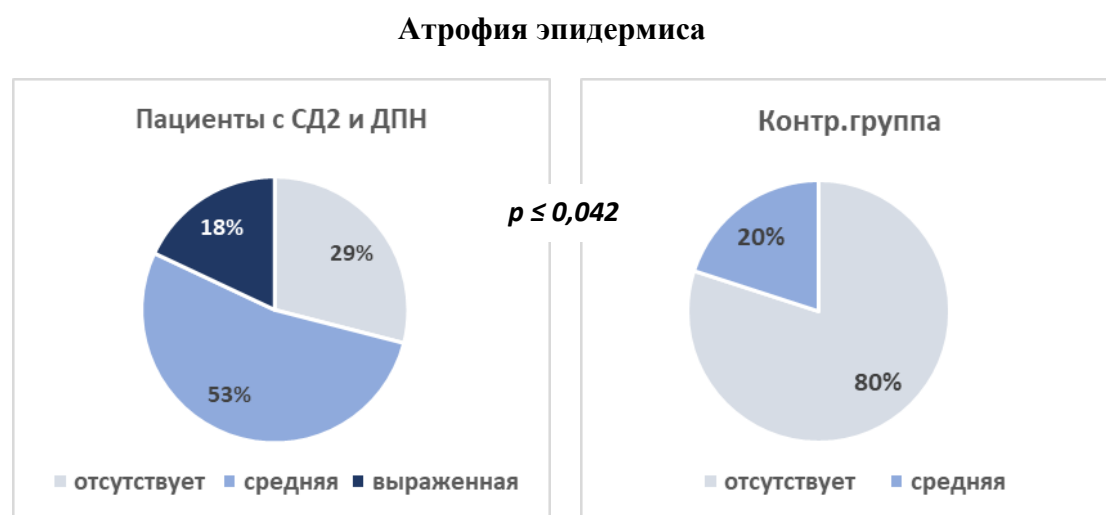
Параметр	Контрольная группа (n = 10)			Пациенты с СД 2 и ДПН1 (n = 40)			Точный критерий Фишера, <i>p</i>
	отс.	средн.	выраж.	отс.	средн.	выраж.	
Эпидермис							
Кол-во слоев в баллах (атрофия)	80%	20%		29%	53%	18%	0,042
Акантоз	50%	50%		17,6%	70,6%	11,8%	0,245
Гиалиноз	60%	40%		53%	47%		1,000
Гиперкератоз		100%			94%	6%	1,000
Дерма							
Фиброз	50%	50%		17,6%	70,6%	11,8%	0,245
Гиалиноз стенок сосудов	60%	40%		23,5%	76,5%		0,101
Ангиогенез		100%		64,7%	29,4%	5,9%	0,001
СИ	19,9±5,6			16,4±7,3			(t-критерий) 0,204
PGP 9.5							
В баз. слое эпидермиса		90%	10%	6%	94%		0,823
В собственно дерме	11,6±0,7			7,2±5,0			0,016
CD-34							
Эндотелий сосудов		90%	10%		6%	94%	1,000
Ангиогенез	20%	50%	30%	23,5%	58,8%	17,6%	0,867
Макрофаги, фибробласты			100%	6%	29	65%	0,060

*Примечание:* СИ – сосудистый индекс, PGP 9.5 – маркер нервных волокон, CD 34 – маркер эндотелия сосудов

В группе пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН выявлялась умеренная атрофия эпидермиса (у 53% пациентов), выраженный гиперкератоз (у 93%) и акантоз (у 82%), а также умеренный гиалиноз БМ (у 43% пациентов). В собственно дерме определялся выраженный фиброз, а также, практически во всех наблюдениях (90%), определялись сосуды с утолщенной гиалинизированной стенкой. Среднее количество мелких артериол (сосудистый индекс (СИ)) составляло менее 15-ти на единицу площади в пяти полях зрения (при увеличении  $\times 200$ ).

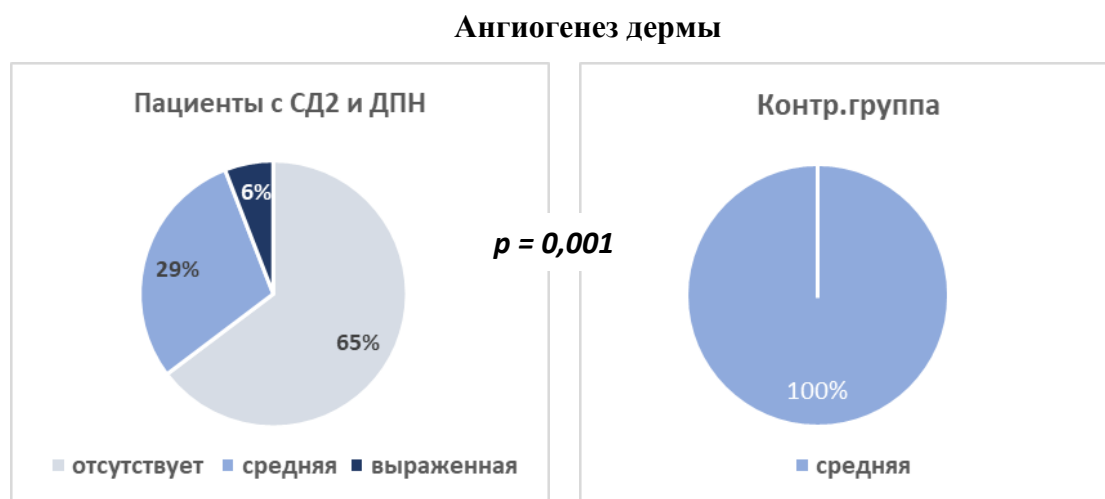
В группе контроля ( $n = 10$ ) в 80-ти% случаев выявлялся эпидермис без признаков атрофии, акантоз встречался в 50-ти%, а гиалиноз БМ – в 40% случаев. Признаки гиперкератоза обнаруживались во всех наблюдениях (100%). В собственно дерме отмечался невыраженный фиброз и гиалиноз сосудистых стенок. Сосудистый индекс (СИ) соответствовал 20.

При статистической обработке полученных данных, выявлено, что достоверно значимые различия были выявлены по признаку атрофии эпидермиса: данный показатель был выраженнее у пациентов с СД 2-го типа и ДПН 1 по сравнению с контрольной группой ( $p \leq 0,042$ ) (Рисунок 37).



**Рисунок 37 - Выраженность атрофии эпидермиса у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН и в контрольной группе здоровых лиц**

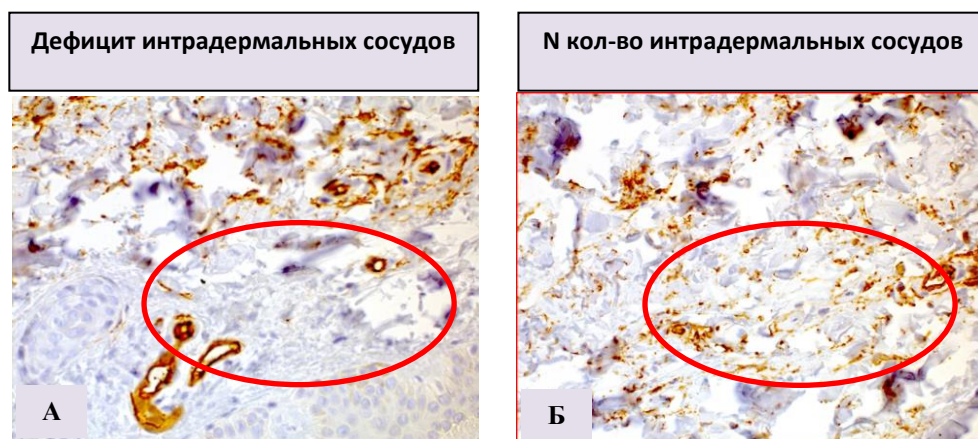
В собственно дерме статистически значимые отличия были выявлены по менее выраженному показателю ангиогенеза в группе пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН по сравнению с группой контроля ( $p = 0,001$ ) (Рисунок 38).



**Рисунок 38 – Выраженность ангиогенеза собственно дермы у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН и в контрольной группе здоровых лиц**

Ангиогенез в коже оценивался по экспрессии маркера CD-34 в цитоплазме клеток эндотелия сосудов, фибробластов и макрофагов в дерме. Маркер выявлялся в виде коричневого окрашивания эндотелия сосудов.

Экспрессия CD-34 в контрольной группе здоровых лиц была высокой во всех исследуемых клетках (Рисунок 39)



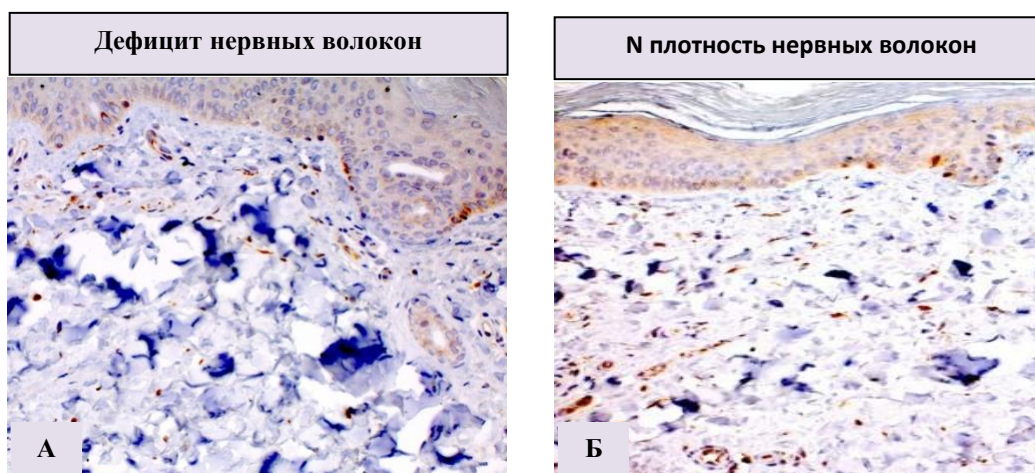
**Рисунок 39 - Иммуногистохимическое исследование маркера CD-34 (выявляется в виде коричневого окрашивания эндотелия сосудов) в биоптатах кожи пациента с СД 2-го типа**

**и субклинической стадией ДПН (А) и условно здорового добровольца (Б) (увеличение x400). Иммунопероксидазная реакция.**

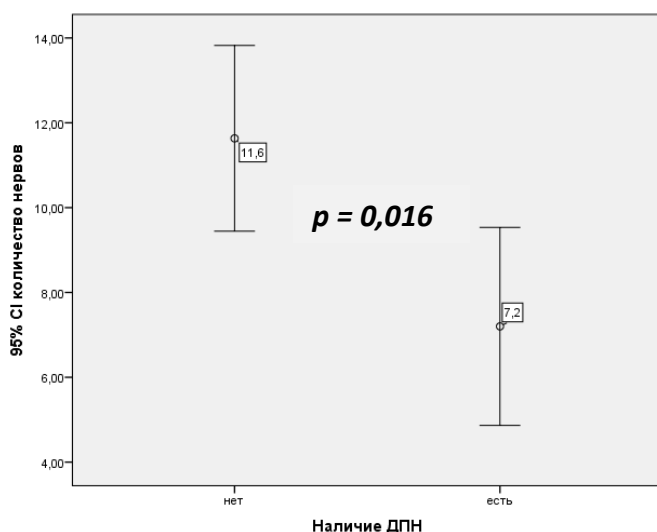
Количество нервных окончаний в коже оценивали путем подсчета положительно окрашенных нервных волокон РGP 9.5 (иммунопероксидазная реакция) в пяти полях зрения при увеличении x200. Отдельно оценивались нервные волокна в базальном слое эпидермиса и в собственно дерме (увеличение x400). Маркер выявлялся в виде коричневого окрашивания нервных волокон.

Отличий по количеству нервных волокон в базальном слое эпидермиса в исследуемых группах не отмечено.

Статистически значимое отличие выявлено в собственно дерме пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН, проявляющееся меньшим количеством нервных волокон по сравнению с контрольной группой здоровых лиц ( $p = 0,016$ ) (Рисунок 40-41).



**Рисунок 40 - Иммуногистохимическое исследование маркера РGP 9.5 (выявляется в виде коричневого окрашивания нервных волокон) в биоптатах кожи пациента с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН (А) и здорового добровольца (Б) (увеличение x400). Иммунопероксидазная реакция.**



**Рисунок 41 - Сравнение количества тонких нервных волокон в собственно дерме у пациента с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН и здорового добровольца (маркер PGP 9.5)**

Таким образом, между пациентами с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН и контрольной группой условно здоровых лиц без СД существуют статистически значимые различия по трём морфологическим показателям: количеству слоёв эпидермиса (наличия/отсутствия атрофии) ( $p = 0,042$ ), ангиогенезу дермы ( $p = 0,001$ ) и количеству нервных окончаний (экспрессии маркера PGP 9.5) в собственно дерме ( $p = 0,016$ ).

Многофакторный анализ с использованием логистической регрессии был применен для определения влияния независимых предикторов на наличие ДПН (анализировались пациенты с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН и контрольная группа условно здоровых добровольцев без СД). Выявленные различия экспрессии маркера CD-34 макрофагов и фибробластов были близки к статистически значимым ( $p = 0,06$ ), поэтому этот предиктор тоже был включен в модель регрессии.

При этом существовала значимая, но слабая обратная линейная корреляция между количеством слоёв эпидермиса и экспрессии макрофагов и фибробластов в собственно дерме ( $p = 0,044$ , коэффициент корреляции Спирмана  $= -0,391$ ), в связи с чем один из данных показателей из независимых предикторов в анализируемых моделях был исключен. В полученной модели R-квадрат Хэйджелкера равен 0,511. Таким образом, модель объясняет около 51% дисперсии ДПН и правильно классифицирует 77,8% случаев.

Отмечено, что уменьшение количества микрососудов на единицу площади кожного лоскута (снижение ангиогенеза), как и снижение экспрессии макрофагов и фибробластов в

собственно дерме, в значительной степени связано с повышенным риском возникновения ДПН у пациентов с СД 2-го типа. Таким образом, снижение ангиогенеза дермы на 1 балл увеличивает вероятность развития ДПН в среднем на 91% (от 99% до 9%) при отсутствии изменений в других показателях, а снижение экспрессии макрофагов и фибробластов в собственно дерме на 1 балл увеличивает вероятность возникновения ДПН на 39% (от 62% до 2%) у пациентов с СД 2-го типа.

Результаты логистического регрессионного анализа приведены в *Таблице 35*.

**Таблица 35 – Регрессионная модель влияния независимых предикторов на возникновение ДПН у пациентов с СД 2-го типа**

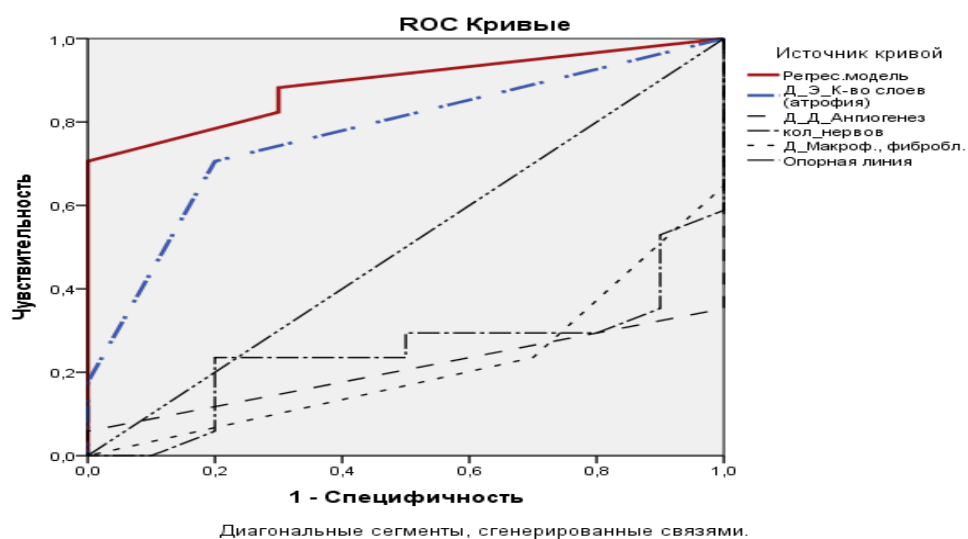
Параметры	В	Ехр(В) (95-ти % ДИ)	Р
Кол-во слоев эпидермиса	1,51	--	-
Ангиогенез дермы	-2,361	0,094 (0,010-0,912)	0,041
PGP 9.5	-0,17	--	-
Макрофаги, фибр-ты в дерме (CD-34)	-0,493	0,611 (0,378-0,978)	0,044

*Примечание:* PGP 9.5 – маркер нервных волокон, CD-34 – маркер эндотелия сосудов, фибр-ты – фибробласты

Для сравнения прогностической силы полученной модели и моделей, определяемых отдельными предикторами, влияющими на наличие ДПН был проведен ROC-анализ (*Рисунок 42*).

*ПРОГНОЗ вероятности развития ДПН (Z) = 4,187 - 0,493 × Макрофаги, фибробласты в дерме (CD-34) × Ангиогенез дермы.*

Ни один из предикторов регрессионной модели в отдельности не обладает прогностической силой (AUC (площадь под кривой) < 0,5). Качество полученной регрессионной модели очень высокое (интервал AUC 0,8-0,9), прогностическая сила данной модели превосходит модель, определяемую предиктором «атрофия эпидермиса» (*Таблица 36*).



**Рисунок 42 – ROC-кривые соотношения чувствительность/специфичность модели прогнозирования вероятности развития ДПН**

**Таблица 36 – Площадь под ROC-кривой**

Переменные	Область	95-ти % ДИ	<i>P</i>
Регрессионная модель	0,888	0,764-1,000	0,001
Кол-во слоев эпидермиса (атрофия)	0,771	0,589-0,952	0,021
PGP 9.5 (собст. дерма)	0,250	0,064-0,436	0,033
Ангиогенез дермы (CD-34)	0,206	0,034-0,378	0,012
Макрофаги, фибр-ты в дерме	0,215	0,042-0,387	0,015

Примечание: PGP 9.5 – маркер нервных волокон, CD-34 – маркер эндотелия сосудов, фибр-ты - фибробласты

Оптимальным порогом отсечения является значение функции  $Z = -1,0$ , при котором достигается 88% чувствительности и 70% специфичности (Таблица 37).

**Таблица 37 – Координаты ROC-кривой для оценки чувствительности и специфичности функции наличия ДПН на основе значения факторов влияния**

Верно, если больше или равно <sup>a</sup>	Чувствит-ть	1 – Специфичность	Специфичность
-2,1320	1,000	1,000	0
-1,0800	,882	,300	0,7

-,0940	,824	,300	0,7
1,0345	,706	,000	1,0
1,2810	,588	,000	1,0
2,2670	,529	,000	1,0

В Таблице 38 представлена характеристика морфологических показателей кожного лоскута пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН (n = 40) исходно и после достижения и удержания целевых значений гликемии ( $HbA1c \leq 6,5\%$ ) в течение 5-ти месяцев.

**Таблица 38 - Сравнение основных морфологических показателей кожного лоскута пациентов с СД 2-го типа и субклинической ДПН исходно и после улучшения гликемического контроля в течение 5-ти месяцев**

Параметр	Пациенты с СД 2-го типа и ДПН-1 исходно (n = 40)			Пациенты с СД 2-го типа и ДПН-1 через 5 мес. (n = 40)			Критерий знаковых рангов Вилкоксона
	отс.	средн.	выраж.	отс.	средн.	выраж.	
Эпидермис							
Кол-во слоев (атрофия), баллы	29%	53%	18%	47%	53%		0,107
Акантоз	17,6%	70,6%	11,8%	35%	59%	6%	0,157
Гиалиноз	53%	47%		70,6%	29,4%		0,178
Гиперкератоз		94%	6%	23,5%	76,5%		<b>0,025</b>
Дерма							
Фиброз	17,6%	70,6%	11,8%	23,5%	76,5%		0,180
Гиалиноз стенок сосудов	23,5%	76,5%		47%	53%		0,102
Ангиогенез	64,7%	29,4%	5,9%	47%	47%	6%	0,467
СИ	16,4±7,3			21,1±6,6			<b>0,049</b>
PGP 9.5							
Базальный слой эпидермиса	6%	94%		11,8%	70,6%	17,6%	0,305
Собственно дерма	7,2±5,0			10,9±3,6			<b>0,004</b>
CD 34							
Эндотелий сосудов		6%	94%		6%	94%	0,257
Ангиогенез	23,5%	58,8%	17,6%	29,4%	58,8%	11,8%	<b>0,007</b>
Макрофаги, фибробласты	6%	29%	65%		23,5%	76,5%	0,163

Примечание: СИ – сосудистый индекс, PGP 9.5 – маркер нервных волокон, CD 34 – маркер эндотелия сосудов

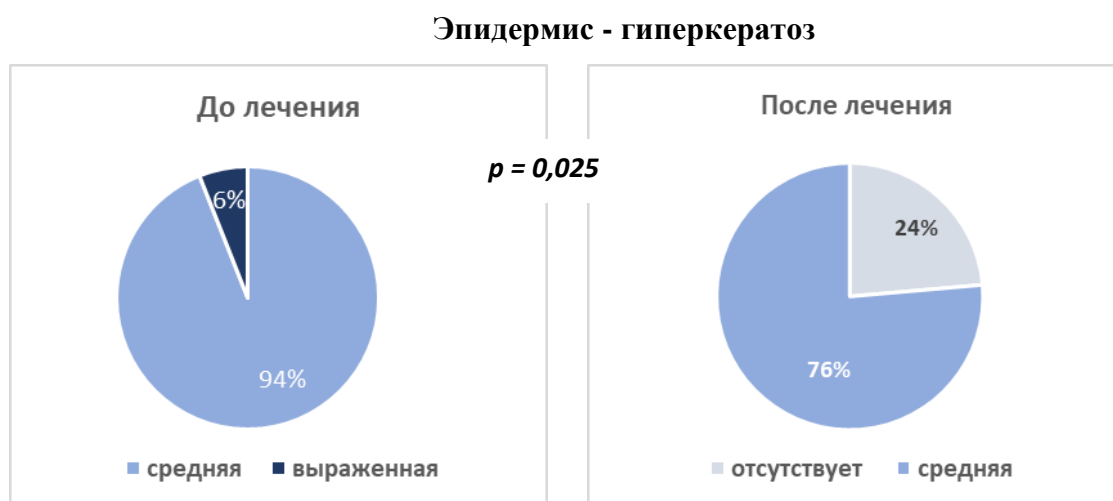
Через пять месяцев наблюдения, на фоне достижения и удержания показателей гликемии в пределах целевых значений, у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН

практически не выявлялась атрофия эпидермиса, гиперкератоз и акантоз носили умеренный характер, а гиалиноз БМ встречался крайне редко.

В собственно дерме выявлялся умеренный фиброз, а также, в половине наблюдений, определялись сосуды с гиалинизированной стенкой. Среднее количество мелких артериол составило более 20-ти на единицу площади в пяти полях зрения (при увеличении  $\times 200$ ).

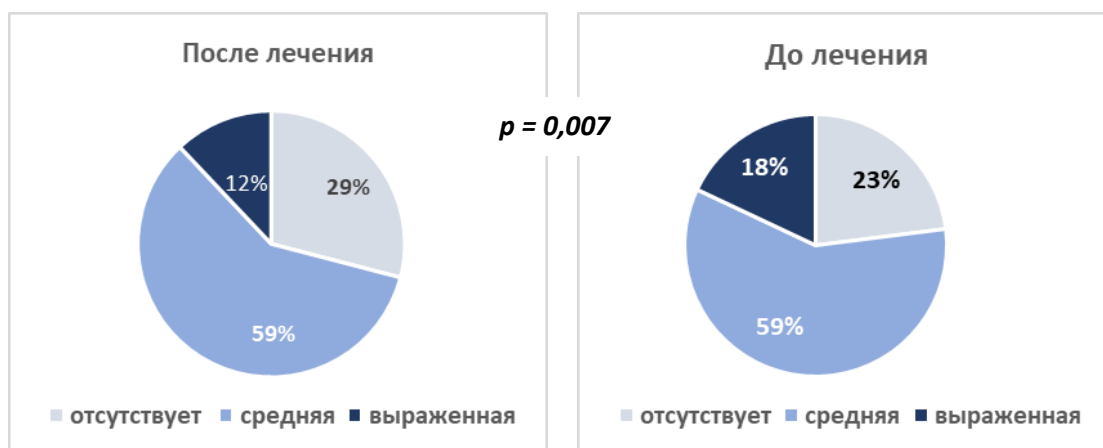
При статистической обработке данных значимые различия между группами наблюдения были выявлены: в эпидермисе по признаку гиперкератоза – после достижения и удержания гликемии в целевом диапазоне в течение 5-ти месяцев этот показатель достоверно снизился ( $p = 0,025$ ), в собственно дерме - по возросшим после лечения маркерам PGP 9.5 ( $p = 0,004$ ) и CD-34 ( $p = 0,007$ ), а также увеличившемуся СИ ( $p \leq 0,049$ ).

На *Рисунках 43-46* представлено сравнение параметров кожного лоскута пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН исходно и через 5 месяцев наблюдения на фоне достижения и удержания гликемии в пределах целевых значений ( $HbA1c \leq 6,5\%$ ).

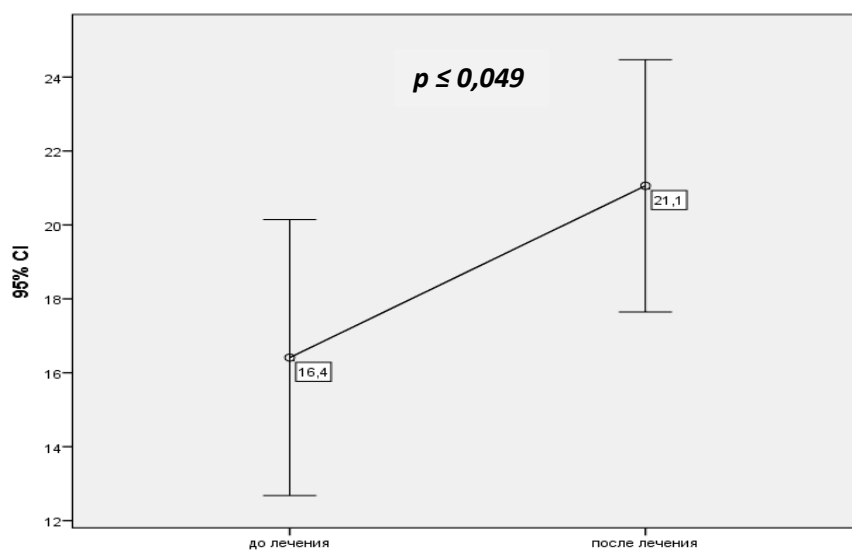


**Рисунок 43 – Изменение структуры эпидермиса (уменьшение степени выраженности гиперкератоза) у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН на фоне достижения и удержания гликемии в пределах целевых значений в течение 5-ти месяцев**

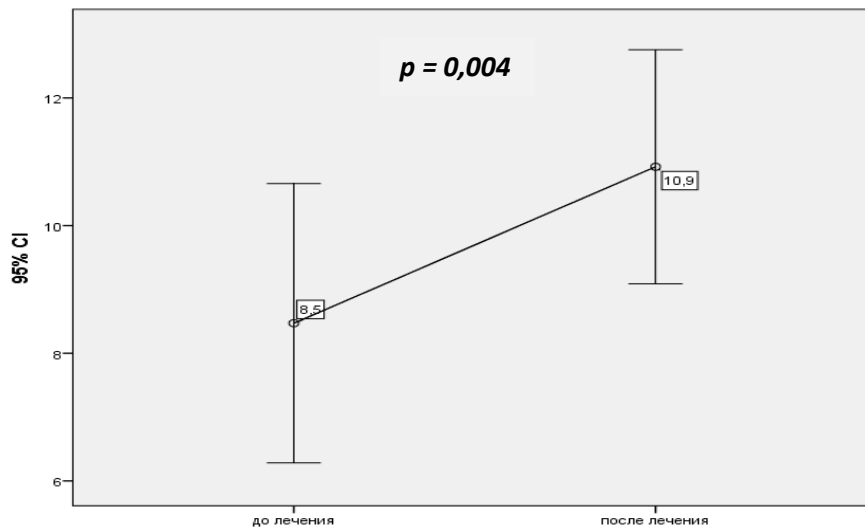
### CD-34 – ангиогенез



**Рисунок 44 – Изменение степени выраженности ангиогенеза (усиление) у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН на фоне улучшения гликемического контроля в течение 5-ти месяцев**



**Рисунок 45 - Динамика среднего количества сосудов в кожном лоскуте у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН исходно и через 5 месяцев на фоне улучшения показателей гликемии**



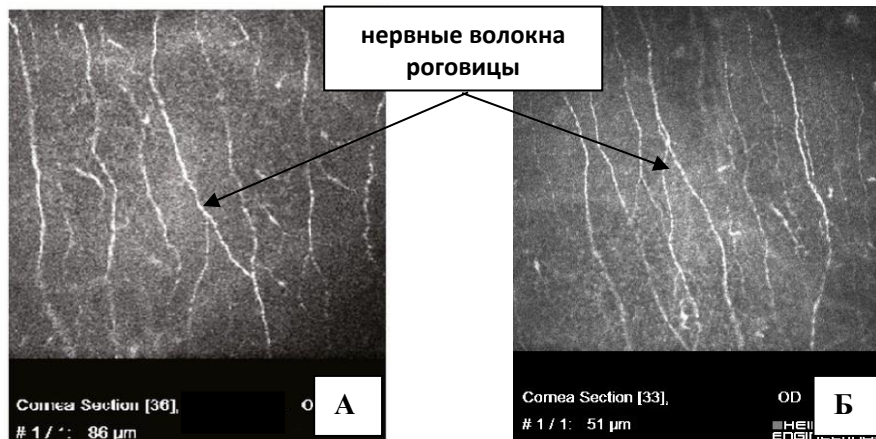
**Рисунок 46 - Среднее количество нервных окончаний (маркированных RGP 9.5) в кожном лоскуте у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН исходно и через 5 месяцев на фоне нормализации показателей гликемии**

#### **3.3.4. Результаты конфокальной микроскопии роговицы**

Лазерная конфокальная микроскопия роговицы была проведена у 68-ми пациентов с СД 2-го типа и признаками ДПН разной степени выраженности, из них: 40 человек с субклинической стадией ДПН (1a/b), 28 человек – с клинической стадией ДПН (2 a/b).

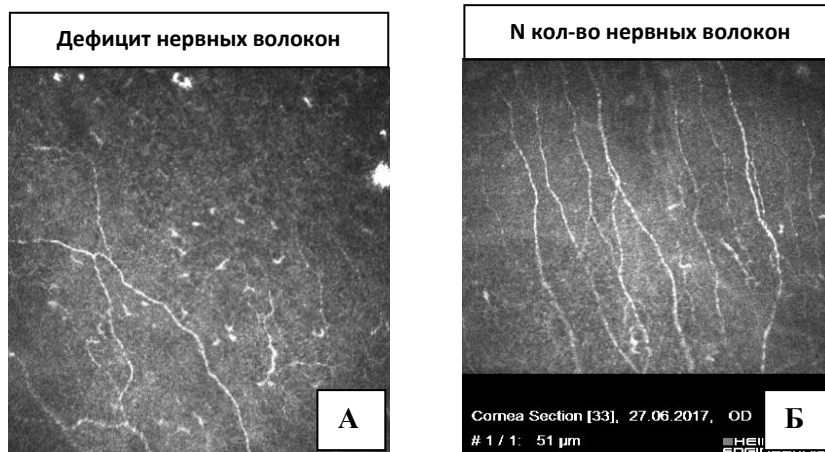
Изменения показателей коэффициентов анизотропии ( $K_{\Delta L}$ ) и симметричности направленности ( $K_{sym}$ ) нервных волокон роговицы (НВР) были отмечены у 37-ми из 40-ка пациентов с субклинической стадией ДПН, в то время как у всех пациентов с клинической стадией ДПН были диагностированы значительные изменения хода и структуры НВР.

По сравнению с контрольной группой здоровых лиц при субклинической ДПН количество НВР было незначительно уменьшено (Рисунок 47), коэффициенты анизотропии направленности и симметричности направленности НВР составили  $3,13 \pm 0,81$  и  $0,88 \pm 0,1$ , соответственно (Таблица 39).



**Рисунок 47 – Конфокальные снимки нервных волокон роговицы пациента с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН (А) и условно здорового добровольца (Б)**

При клинической стадии ДПН имелось значительное изменение хода и структуры НВР, число их уменьшалось на единицу площади, НВР были более извитые и тонкие, в некоторых местах визуализировались «штопорообразные» НВР (Рисунок 48). При этом коэффициенты анизотропии направленности НВР и симметричности направленности НВР составили  $2,55 \pm 0,61$  и  $0,9 \pm 0,05$  соответственно (Таблица 40).



**Рисунок 48 – Конфокальные снимки нервных волокон роговицы пациента с СД 2-го типа и клинической стадией ДПН (А) и условно здорового добровольца (Б)**

**Таблица 39 – Средние показатели коэффициента анизотропии направленности ( $K_{AL}$ ) нервных волокон роговицы у пациентов с СД 2-го типа с субклинической и клинической стадией ДПН ( $M \pm \delta$ )**

Стадия ДПН	$K_{AL}$ (N 3,45±0,85)	Наличие признаков нарушения хода и структуры НВР, %
Субклиническая	3,13±0,81	86
Клиническая	2,55±0,61	100

Примечание: НВР – нервные волокна роговицы

**Таблица 40 – Средние показатели коэффициента симметричности направленности ( $K_{sym}$ ) нервных волокон у пациентов с СД 2-го типа с субклинической и клинической стадией ДПН ( $M \pm \delta$ )**

Стадия ДПН	$K_{sym}$ (N 0,84±0,11)	Наличие признаков нарушения хода и структуры НВР, %
Субклиническая	0,88±0,1	86
Клиническая	0,9±0,05	100

Примечание: НВР – нервные волокна роговицы

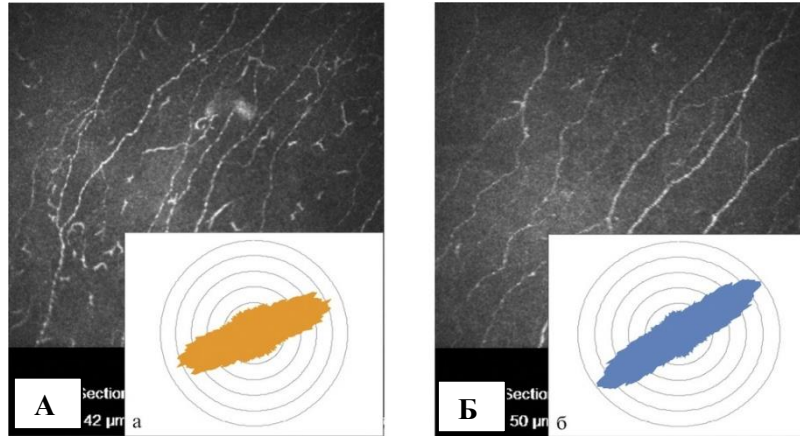
Известно, что степень извитости НВР возрастает по мере утяжеления ДПН, таким образом, коэффициент анизотропии направленности НВР ( $K_{AL}$ ) закономерно снижается, а коэффициент симметричности направленности НВР ( $K_{sym}$ ) увеличивается.

Изменение количества НВР на единицу площади, полученное при анализе конфокальных снимков пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН, коррелировало с изменениями количества нервных окончаний, которые были получены при биопсии кожи ( $p \leq 0,05$ ,  $r^2 = 0,64$ ).

При сравнении данных полученных при КМР и ЭНМГ у пациентов с субклинической стадией ДПН, достоверной корреляции не выявлено ( $p \geq 0,005$ ). Однако при клинической (симптомной) стадии ДПН данные ЭНМГ сильно коррелировали с данными КМР ( $p \leq 0,05$ ,  $r^2 = 0,81$ ). При этом, чем выраженнее была извитость НВР по данным КМР (соответственно, чем ниже коэффициент анизотропии и выше коэффициент симметричности направленности НВР), тем ниже была скорость проведения возбуждения по нервному волокну по данным ЭНМГ.

У группы пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН на фоне достижения и удержания гликемии в пределах целевых значений ( $HbA1c \leq 6,5\%$ ) в течение 5-ти месяцев было выявлено уменьшение выраженности извитости НВР и незначительное изменение показателей коэффициентов анизотропии и симметричности направленности НВР (роза-диаграмма приобрела более вытянутую форму, приближенную к норме) (Рисунок 49).

Однако, следует отметить, что полученные изменения были выявлены не у всех обследованных пациентов.



**Рисунок 49 – Состояние нервных волокон роговицы пациента с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН исходно (А) и через 5 месяцев на фоне достижения и удержания гликемии в пределах целевых значений (Б)**

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Дистальная симметричная сенсорно-моторная нейропатия является самым частым неврологическим осложнением сахарного диабета со стороны периферической нервной системы и, имеет наибольшее медико-социальное значение в связи со значимым снижением продолжительности и качества жизни пациентов с СД [222; 31; 196].

Развитие ДПН зависит от множества сопутствующих факторов, а также образа жизни пациента и, может возникать в разные сроки течения сахарного диабета. В некоторых случаях ДПН выявляется уже в первый год после манифестации СД, а в некоторых – не формируется даже при длительности заболевания более 20-30 лет [3; 198; 93].

Распространенность диабетической периферической нейропатии варьирует от 5% до 100% в зависимости от используемых диагностических методов [3; 191; 200; 196]. Вариабельность данных, вероятно, обусловлена недостаточной диагностикой и выявляемостью ДПН, отсутствием консенсуса в отношении скрининга и критериев диагностики [146; 229]. Клиническая оценка ДПН должна быть стандартизирована путём применения различных валидизированных шкал для объективизации тяжести симптомов и выявления степени нейропатического дефицита (например, шкалы TSS, NIS LL, NCS и пр.) [224; 3; 229]. Окончательный диагноз ДПН подтверждается с помощью электрофизиологического исследования (ЭНМГ), которое позволяет также выявить наличие субклинической стадии нейропатии [16; 198].

Следует отметить, что выявление нейропатических симптомов при отсутствии неврологического дефицита не является достаточным критерием для постановки диагноза ДПН [224]. В связи с этим, при выявлении субклинической стадии ДПН, необходимо уточнение диагноза путем выполнения более точных диагностических методик исследования нервов малого калибра, например, таких как биопсия кожи или лазерная конфокальная микроскопия роговицы [224; 167; 196].

Одной из главных задач данного исследования была необходимость поиска диагностических тестов, достаточно простых в применении, и при этом обладающих высокой чувствительностью и специфичностью для выявления ДПН на доклинической стадии.

При комплексном обследовании 109-ти пациентов с СД 2-го типа, находящихся на стационарном лечении в профильном эндокринологическом отделении Университетской Клинической Больницы №2 Сеченовского Университета, распространенность все форм ДПН составила 75% (n = 83). Высокая частота выявления ДПН в обследованной группе пациентов,

вероятно, связана с включением в когорту исключительно стационарных пациентов, однако, полученные результаты совпадают с данными некоторых зарубежных исследователей [57; 202]. Вместе с тем, по данным некоторых исследований частота выявления ДПН у стационарных пациентов составляет чуть более 30-ти% и, у 20-ти% пациентов с СД в общей популяции [32]. Нельзя исключить, что в последние годы пациенты с хроническими осложнениями СД госпитализируются в стационар лишь при острой необходимости, а не для ежегодных плановых осмотров, что, вероятно, и определило столь высокую распространенность ДПН у обследованной когорты [33; 176; 232].

В настоящем исследовании было выявлено, что основным фактором риска развития ДПН при СД 2-го типа является длительность сахарного диабета ( $p = 0,002$ ). Показано, что наиболее часто ДПН диагностируется у пациентов с выраженной декомпенсацией СД 2-го типа и длительностью течения заболевания более 10-ти лет. Другими значимыми факторами, ассоциированными с риском развития ДПН у пациентов с СД 2-го типа, являются текущая степень компенсации углеводного обмена ( $p < 0,001$ ) и возраст пациентов ( $p = 0,010$ ). Полученные результаты согласуются с данными других авторов и, свидетельствуют о том, что вышеперечисленные факторы являются основными предикторами в развитии сенсорно-моторной формы ДПН при СД 2-го типа [123; 9; 92].

На основании результатов проведенного исследования было отмечено достоверное влияние длительности СД на тяжесть ДПН: в дебюте заболевания СД 2-го типа и при небольшой длительности его течения наиболее часто диагностируется субклиническая стадия ДПН (1a/b), при более длительном течении заболевания выявляется симптомная (2a/b) и тяжелая стадии ДПН (3 стадия). Эти данные согласуются с результатами исследований других авторов [3; 99].

Обсуждаемые факторы, такие как рост, ИМТ, половая принадлежность, а также наследственность не имели достоверной связи с развитием ДПН при СД 2-го типа в данном исследовании. Схожие данные были получены и у других исследователей, подтвердивших мнение о том, что пол, антропометрические характеристики и отягощенный наследственный анамнез по СД не являются факторами риска развития ДПН [3; 169; 147].

Проведенное нами исследование продемонстрировало, что употребление алкоголя и курение так же не являются статистически значимыми параметрами в формировании ДПН у пациентов с СД 2-го типа. В литературе существуют разные мнения относительно значимости каждого из этих предикторов, вносящих свой вклад в развитие ДПН: некоторые исследователи всё же относят их к факторам риска развития ДПН [134; 42; 161], другие - не нашли достоверного подтверждения их влияния [3; 169; 147].

При анализе исследований с участием пациентов с СД 1-го типа было отмечено достоверное влияние гиперлипидемии, повышенного диастолического давления, курения и злоупотребления алкоголем на развитие ДПН, т.е. вышеперечисленные параметры являлись возможными факторами риска поражения периферических нервов [109; 83; 201].

Взаимосвязь артериальной гипертензии (АГ) и ДПН в настоящий момент неясна [230]. Проведенные клинические исследования среди пациентов с СД 1-го типа доказали наличие АГ как независимого фактора риска в возникновении ДПН [102; 199]. Однако при СД 2-го типа большинство проведенных исследований не подтвердили их корреляцию [73; 72], за исключением лишь одного [235]. Таким образом, имеющиеся данные подтверждают наличие достоверной взаимосвязи между АГ и ДПН при СД 1-го типа, но не при СД 2-го типа. Проведенное нами исследование пациентов с СД 2-го типа также не выявило влияние АГ на развитие и тяжесть ДПН.

В нашей работе при помощи корреляционного анализа была оценена взаимосвязь развития ДПН с другими хроническими осложнениями СД, такими как ретинопатия и нефропатия, - было выявлено, что значимый вклад в изменение риска возникновения ДПН вносит наличие диабетической нефропатии (ХБП С2), при которой риск ДПН увеличивается в 8 раз ( $p \leq 0,001$ ). Данный факт нашёл подтверждение в ранее проведенных исследованиях [130]. При этом, наиболее частое выявление ДПН по сравнению с ретинопатией и нефропатией наглядно свидетельствует о том, что поражение периферических нервов развивается уже на стадии НТГ, а при СД 2-го типа является его характерным ранним осложнением. Полученные нами данные сопоставимы с результатами ранее проведенных исследований [147; 188; 156; 179; 180].

В нашем исследовании были выявлены значимые различия, свидетельствующие о возрастании удельного веса поздних осложнений с утяжелением ДПН. Также было отмечено, что с увеличением длительности СД 2-го типа возрастает количество пациентов с наличием ретинопатии и нефропатии ( $p = 0,007$  и  $p < 0,001$ , соответственно).

В настоящее время, одним из самых актуальных остается вопрос о влиянии улучшения гликемического контроля на развитие ДПН. Данные многочисленных РКИ с участием большого количества пациентов с СД 1-го типа наглядно продемонстрировали, что риск развития диабетических осложнений напрямую связан со значениями гликированного гемоглобина (HbA1c) [42; 85; 147]. Что касается исследований, направленных на изучение СД 2-ого типа, то на сегодняшний день количество достоверной информации очень ограничено. Долгое время полагали, что жёсткий гликемический контроль снижает риск развития ДПН у пациентов с СД 2-го типа, однако, в ряде работ зарубежных исследователей, подтверждения

значимого влияния интенсивного контроля гликемии по сравнению со стандартным контролем на указанные риски не найдено [70]. Достоверно то, что поддержание нормогликемии препятствует возникновению микрососудистых осложнений или замедляет их прогрессирование, при этом необходимо одновременно проводить лечение АГ и коррекцию дислипидемии [122].

В проведенном нами исследовании было подтверждено влияние уровня гликированного гемоглобина на риск возникновения и прогрессирования ДПН у пациентов с СД 2-го типа ( $p < 0,001$ ). В связи с этим, во второй части нашего исследования была проведена динамическая оценка эффективности влияния длительной нормализации гликемии ( $HbA1c \leq 6,3\%$ ) на течение и исходы нейропатии у пациентов с СД 2-го типа.

Нейропатические жалобы при СД чаще всего представлены симметричным чувством «онемения» и ощущением «парестезии» в нижних конечностях [9; 209]. Данный факт полностью совпадает с результатами настоящей работы: в 90,5% случаев неврологическая симптоматика была представлена «чувством онемения стоп», жалобы на «парестезии» нижних конечностей предъявляли 51,2% пациентов, «жжение» в области стоп беспокоило 37,2% пациентов, жалобы на «боль в ногах» предъявляли 20,2% обследуемых.

В проведенном исследовании была достоверно подтверждена взаимосвязь степени выраженности «позитивной» нейропатической симптоматики и уровнем  $HbA1c$  ( $p < 0,001$ ), а также длительностью СД 2-го типа на момент обследования ( $p \leq 0,003$ ).

И все же, при выявлении ДПН важно опираться не на сенсорные феномены, отмечаемые пациентом, а на наличие неврологического дефицита, который в большей мере отражает функциональное и морфологическое состояние соматических нервных волокон [32; 33]. В данной работе оценка нарушений всех видов чувствительности, рефлексов и мышечной силы в ногах («негативная» нейропатическая симптоматика) проводилась при помощи диагностической Шкалы NIS LL, эффективность и чувствительность которой были неоднократно подтверждены [205; 34; 94].

Наиболее ранними признаками повреждения периферических нервов при ДПН у пациентов с СД 1-го типа являются снижение вибрационной и болевой чувствительности, что неоднократно было подтверждено данными литературных источников [165; 148]. На основании данных описательного исследования распространенности ДПН было выявлено, что нарушение вибрационной чувствительности при биотензиометрии у пациентов с СД 2-го типа отмечается вдвое чаще, чем у лиц с СД 1-го типа [9]. По данным мировой литературы известно, что нарушение температурной чувствительности диагностируется у 75-ти% пациентов с симптомной (клинической) и тяжелой формой ДПН как при СД 1-го типа, так и

при СД 2-го типа. Также известно, что в случае поражения тонких сенсорных нервных волокон, выявляется чёткая корреляция между ДПН и повышением порога температурной чувствительности [188]. В проведенном нами исследовании среди пациентов с СД 2-го типа отмечено прогрессивное снижение всех видов чувствительности: снижение вибрационной чувствительности отмечается у 64,7% пациентов, температурной – у 46%, болевой – у 13,7%, тактильной – у 12,8%, мышечно-суставной – у 2% пациентов. Снижение или полное исчезновение ахилловых рефлексов диагностировано у 52,8% пациентов, снижение коленных рефлексов – у 9,7%. По мере увеличения длительности СД 2-го типа и прогрессирования стадий ДПН, возрастает количество пациентов со сниженным или полностью отсутствующим ахилловым рефлексом ( $p \leq 0,001$  и  $p \leq 0,001$ , соответственно).

В проведенном исследовании была выявлена статистически достоверная взаимосвязь между уровнем HbA1c ( $p \leq 0,004$ ), длительностью течения СД 2-го типа ( $p \leq 0,001$ ) и выраженностью неврологического дефицита.

Наше исследование подтвердило, что у пациентов с СД 2-го типа прежде всего происходит нарушение (снижение) вибрационной и температурной чувствительности. А частота снижения/исчезновения ахиллова рефлекса, превалирующая над частотой снижения коленного рефлекса, подтверждает гипотезу о том, что при ДПН прежде всего развивается повреждение именно дистальных отделов периферической нервной системы (т.н. полинейропатия, зависящая от длины нервов).

Резюмируя всё вышесказанное, можно сделать вывод о том, что для диагностики ДПН у пациентов с СД 2-го типа, прежде всего, необходимо проводить оценку вибрационной и температурной чувствительности, а также ахилловых рефлексов.

Оценить степень тяжести и характер повреждений периферических нервов у пациентов с СД возможно при проведении электрофизиологического исследования – электронейромиографии (ЭНМГ). По данным экспертного заключения (от 2010 г.) - ЭНМГ является обязательным методом диагностики при подозрении на наличие любой стадии ДПН у пациентов с СД [198].

В нашей работе была отмечена достаточно высокая выявляемость как клинической (симптомной) стадии ДПН (стадия 2a/b) – 38% случаев, так и субклинической стадии (1a/b) - 37% обследуемых пациентов. Данное распределение стадий ДПН среди пациентов с СД 2-го типа существенно отличается от данных, выявленных при обследовании стационарных пациентов с СД 1-го типа: частота выявления ДПН-1 составляла 45,8%, а ДПН-2 встречалась только у 17,5% пациентов [28]. Диагностика субклинической стадии ДПН представляется возможной при проведении электрофизиологического метода исследования –

электронейромиографии (ЭНМГ). Данный диагностический метод позволяет впоследствии проводить оценку состояния периферических нервных волокон по мере необходимости, то есть обуславливает применение данного метода для обследования пациентов с СД в динамике [46; 28].

На какие же ЭНМГ-показатели следует обращать внимание в первую очередь при выявлении ДПН на субклинической стадии?! В настоящем исследовании, при сравнении групп пациентов с СД 2-го типа без ДПН и подтвержденной субклинической ДПН были отмечены важные статистически значимые различия: 1) по РЛ большеберцового нерва ( $p = 0,007$ ); 2) по амплитуде сенсорного ответа икроножного нерва ( $p = 0,001$ ). Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать закономерный вывод о том, что при возникновении и развитии ДПН в первую очередь происходит поражение тонких немиелинизированных нервных волокон. Данный факт подтверждается большим количеством проведенных РКИ [234; 231].

Ключевую роль в развитии ДПН играют метаболические нарушения, обусловленные гипергликемией. Изменения, возникающие в эндотелии микрососудов и всей сосудистой стенке на фоне хронической гипергликемии, а также обусловленное этим дальнейшее развитие ишемии и гипоксии, играют самостоятельную роль в возникновении аксональной дегенерации, сегментарной демиелинизации нервного волокна и, как следствие, нарушение процессов проведения импульсов по нерву [27; 213]. В проведенном исследовании выявлена достоверная корреляция клинических признаков ДПН и электронейромиографических показателей проводимости и возбудимости нервов нижних конечностей. Результаты проведенного исследования позволяют утверждать, что при увеличении длительности СД 2-го типа достоверно чаще наблюдается ухудшение всех показателей ЭНМГ ( $p \leq 0,005$ ). Данный факт подчеркивает значимость метаболических нарушений в развитии и прогрессировании ДПН [27; 28]. Доказано, что развитие патологического процесса в периферических нервах начинается с аксонального повреждения, что также было подтверждено результатами данной работы, - у большинства пациентов с СД 2-ого типа на стадии субклинической ДПН регистрировалось снижение амплитуды сенсорного ответа икроножного нерва. Таким образом, наше исследование подтвердило, что электрофизиологический метод диагностики ДПН может широко применяться в клинической практике для выявления ранних повреждений периферических нервных волокон с учетом тех ЭНМГ-показателей, на которые необходимо обращать внимание в первую очередь.

Долгое время определение скорости нервной проводимости было «золотым стандартом», используемым для постановки диагноза диабетической периферической нейропатии у

пациентов с СД [87], однако данная методика не дает полномасштабного представления о состоянии чувствительных нервов малого калибра, в частности отвечающих за поверхностную чувствительность (температура, боль). Учитывая это, в последние годы наиболее актуальным методом раннего выявления патологии тонких нервных волокон становится пункционная биопсия кожи голени с дальнейшим иммуногистохимическим исследованием интраэпидермальных нервов, и, неинвазивная методика исследования тонких нервов - лазерная конфокальная микроскопия роговицы в качестве суррогатного маркера диабетической нейропатии [144; 187]. Суть методов заключается в количественной оценке мелких немиелинизированных нервных волокон, что позволяет использовать данные методики для визуализации динамики изменений и оценке эффективности проводимого лечения. Максимальный интерес представляет использование данных методик на раннем этапе развития ДПН.

В нашем исследовании для морфологической оценки состояния тонких нервных волокон при СД 2-го типа были прицельно изучены пациенты с подтвержденной субклинической ДПН (методом ЭНМГ). На основании данных, полученных при пункционной биопсии кожи, было выявлено, что по морфологическим характеристикам структура кожного лоскута у пациентов с СД 2-го типа и субклинической ДПН существенно отличается от структуры кожного лоскута пациентов без СД. Полученные результаты совпадают с данными зарубежных исследователей [231]. Также была выявлена атрофия эпидермиса ( $p \leq 0,042$ ), выраженный гиперкератоз и гиалиноз базальной мембраны эпидермиса. В артериолах и капиллярах собственно дермы обнаружены характерные для диабетической микроангиопатии явления плазматического пропитывания, утолщения БМ и гиалиноза сосудистой стенки. Статистически значимые отличия также были выявлены в более выраженном показателе ангиогенеза в контрольной группе по сравнению с группой пациентов с СД 2-го типа и субклинической ДПН ( $p = 0,001$ ). Все эти особенности соответствуют характерному для СД понятию преждевременного «старения» тканей.

При подсчете плотности интраэпидермальных нервных волокон, положительно окрашенных маркером PGP 9.5, в собственно дерме пациентов без СД выявлена достоверно бо́льшая экспрессия маркера по сравнению с группой пациентов с СД 2-го типа и субклинической ДПН ( $p = 0,016$ ). При проведении многофакторного анализа морфометрических показателей, выявлены дополнительные факторы риска возникновения ДПН: снижение ангиогенеза в собственно дерме (на 1 балл) для пациентов с СД 2-го типа увеличивает шанс развития ДПН в среднем на 91% при отсутствии изменений в других показателях, а снижение экспрессии макрофагов и фибробластов в собственно дерме на 1 балл

увеличивает шансы возникновения ДПН на 39%. Таким образом, основываясь на полученные данные, можно сделать вывод о том, что у пациентов с СД 2-го типа развивается диабетическая микроангиопатия (ДМА) кожи. Аналогичные изменения были описаны в ряде экспериментальных исследований [25; 126; 236]. Подавляющее большинство исследователей считают, что морфологический метод выявления ДМА имеет несомненное преимущество перед клиническими методиками, так как позволяет выявить изменения непосредственно в сосудистой стенке прежде, чем возникнет клиническая симптоматика [8; 59].

В нашей работе было выявлено, что потеря тонких немиелинизированных нервных волокон обнаруживается у пациентов с недавно диагностированным СД 2-го типа. Это подтверждается морфологическими и морфометрическими методами при биопсии кожи, а так же при выполнении лазерной КМР. Наряду с поражением нервов малого калибра было так же выявлено повреждение крупных нервных волокон (по данным ЭНМГ исследования), которое проявлялось в изменении проводимости по нервному волокну. Данный факт позволил предположить, что параллельное поражение мелких и крупных нервных волокон возникает уже на доклинической стадии ДПН. Однако, необходимо проведение дальнейших крупных проспективных исследований, чтобы определить точную временную последовательность выявленных поражений.

Насколько нам известно, данное исследование – первое в России, в котором было проведено одномоментное исследование плотности интраэпидермальных нервных волокон (при помощи метода «панч»-биопсии кожи) и описаны изменения тонких нервов роговицы (с использованием метода КМР) у пациентов с СД 2-го типа и субклинической ДПН. В нашей работе отмечено, что у некоторого количества пациентов были диагностированы изменения в нервах роговицы, одновременно с этим выявлялась нормальная ПИНВ и наоборот. Следовательно, можно сделать вывод о том, что поражение тонких нервных волокон развивается неодновременно в разных органах. Тем не менее, остается неясным, почему у некоторых пациентов прежде возникает нейропатия роговицы, в то время как у других, потеря малых нервных волокон сначала наблюдается в коже нижних конечностей. Это следует более подробно рассмотреть в дальнейших проспективных исследованиях.

В проведенной работе было выявлено, что при субклинической стадии ДПН некоторые показатели КМР коррелируют с плотностью интраэпидермальных нервных волокон и со скоростью проводимости по икроножным нервам, но данная взаимосвязь была слабой. Однако, при клинической (симптомной) стадии ДПН результаты ЭНМГ достоверно ( $p \leq 0,05$ ) коррелировали с результатами, полученными при КМР. Полученные результаты согласуются с данными мировых исследований [167; 155; 96; 231], и, подтверждают мнение о том, что

механизм развития нейропатии роговицы может отличаться от такового при развитии нейропатии периферических нервов нижних конечностей.

Известно, что значимый вклад в патогенез ДПН вносят микрососудистые изменения, в том числе снижение эндоневрального кровотока [167; 189]. Несмотря на это, роговица является наиболее густо иннервируемой тканью в организме человека (в несколько сот раз больше чем кожа) [60], хотя и полностью лишена кровеносных сосудов. Последние экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в роговице сенсорные нервы и новообразованные сосуды подавляют друг друга: во время стимуляции ангиогенеза происходит исчезновение нервных волокон, и наоборот, активное образование нервных волокон блокирует ангиогенез [100]. Однако клинически доказано, что многие аномалии роговицы могут приводить к усиленному ангиогенезу. Таким образом, наиболее очевидно, что денервация роговицы может быть следствием возникшего ангиогенеза, в отличие от нейропатии нижних конечностей, которая практически всегда является следствием снижения ангиогенеза [170].

Учитывая различия в механизме возникновения повреждений тонких и толстых нервных волокон, можно сделать вывод об отсутствии тесной корреляции между показателями КМР и состоянием периферических нервов, выявленном при ЭНМГ. Эти выводы совпадают с заявленными результатами исследования *HOORN* у пациентов с недавно диагностированным СД 2-го типа [184].

Тем не менее, обобщая всё вышесказанное, метод конфокальной микроскопии роговицы может являться мощным инструментом для неинвазивной ранней диагностики нейропатии, но, прежде чем рекомендовать данный метод для широкого использования в клинической практике, необходимо проведение дополнительных исследований для уточнения его значения в прогнозировании ДПН. Также необходимо уточнить, что данный метод требует наличия специального дорогостоящего оборудования и подготовленного специалиста-офтальмолога.

Как известно, глюкоза является основным источником энергии, и незначительное повышение её уровня в крови не оказывает явного негативного воздействия на организм в краткосрочной перспективе, однако хроническая гипергликемия является основной причиной развития инвалидизирующих осложнений [104]. Уменьшение количества нервных волокон - наиболее характерный признак прогрессирующей диабетической нейропатии, и, вопрос о возможном восстановлении их количества путем нормализации гликемического контроля на данный момент остается открытым.

В настоящее время основной мерой профилактики и лечения ДПН является достижение и поддержание устойчивых показателей гликемии на фоне коррекции сочетанных факторов риска (ожирение, АГ, дислипидемия) [182]. Учитывая всё вышесказанное, основной задачей

второго этапа нашего исследования было оценить возможность обратимости выявленных неврологических и микрососудистых нарушений у пациентов с СД 2-го типа и субклинической (бессимптомной) стадией ДПН путём достижения и удержания гликемического контроля ( $HbA1c \leq 6,5-6,3\%$ ) в течение длительного времени (5 месяцев).

На фоне улучшения показателей гликемии и их стабилизации в течение 5-ти месяцев, по данным ЭНМГ было выявлено статистически значимое улучшение показателя амплитуды S-ответа икроножного нерва ( $p = 0,010$ ). Данный результат отражает возможный процесс восстановления аксонального транспорта по чувствительному нервному волокну, а значит возможность обратимости патологического процесса (реинервацию). Попытка оценить состояние периферических нервов на фоне удержания длительной нормогликемии была также предпринята в 8-милетнем исследовании, оценивающем неврологические функции и плотность нервных волокон у пациентов СД 1-го типа после одновременной трансплантации поджелудочной железы и почки. На основании полученных результатов было отмечено улучшение некоторых электрофизиологических параметров, однако статистическая значимость была достигнута лишь для скорости проведения возбуждения по срединному двигательному нерву [116]. Результаты одного из наиболее длительных наблюдательных исследований ДПН, при котором пациентов с недавно возникшим СД 1-го типа наблюдали при почти нормогликемии ( $HbA1c \leq 6,5-6,7\%$ ) в течение 24 лет, продемонстрировали, что снижение функции нервов было полностью предотвращено [226]. Эти результаты сопоставимы с данными японского исследования, показывающего, что все нейрофизиологические параметры улучшались при достижении нормогликемии у пациентов с СД 2 типа (среднее значение  $HbA1c \leq 6,5\%$ ) [122]. Таким образом, на основании большого числа проведенных РКИ можно сделать вывод о том, что улучшение гликемического контроля и достижение целевых значений гликемии, по-прежнему, являются основным необходимым условием для предотвращения ухудшения электрофизиологических параметров.

По данным биопсии кожи было отмечено, что на фоне удержания гликемии в пределах целевых значений в течение 5-ти месяцев, в исследуемой группе пациентов с СД 2-ого типа и субклинической стадией ДПН произошло улучшение морфологии кожного лоскута, в частности выявлено статистически значимое уменьшение гиперкератоза эпидермиса ( $p = 0,025$ ). В собственно дерме достоверно возросло количество тонких нервных волокон ( $p = 0,004$ ) и микрососудов ( $p = 0,007$ ) на единицу площади кожного лоскута, оценивающимися по возросшим маркерам PGP 9.5 и CD 34, а также увеличившемуся сосудистому индексу ( $p \leq 0,049$ ).

При оценке влияния строгого гликемического контроля на изменение плотности нервных волокон в роговице по данным КМР было выявлено, что нормализация и удержание

целевых значений гликемии в течение 5-ти месяцев ( $HbA1c \leq 6,3\%$ ) приводит к достоверному уменьшению выраженности извитости НВР ( $p \leq 0,05$ ), исчезновению клеток воспалительного характера (клеток Лангерганса) и незначительному изменению показателей коэффициентов анизотропии и симметричности направленности НВР. Однако, полученные данные были выявлены не у всех обследованных пациентов, что может говорить либо о недостаточности указанного временного отрезка для более значимых изменений в состоянии нервных волокон, либо о том, что только нормализации уровня глюкозы в крови может быть недостаточно для предотвращения развития нейропатических изменений. Похожие результаты были получены в исследовании *Yorek и соавт.*, изучавшем влияние гликемического контроля на состояние тонких нервов роговицы и периферическую нейропатию на модели стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета у мышей [217]. Для подтверждения или опровержения полученных результатов, рекомендовано проведение дальнейших клинических исследований с участием большего количества пациентов с СД 2-го типа и нейропатическими изменениями.

Как было сказано ранее, весомый вклад в патогенез развития ДПН вносят микрососудистые изменения, в том числе снижение эндоневрального кровотока и как следствие, развитие гипоксии и ишемии нервного волокна [167; 189; 159; 215]. Также не вызывает сомнения тот факт, что расстройства микроциркуляции играют важную, а во многих случаях и решающую роль в патогенезе многих заболеваний сердечно-сосудистой системы у пациентов с СД. В нашей работе была проведена оценка состояния микроциркуляторного русла, жесткости артерий и эндотелиальной функции у пациентов с СД 2-го типа и субклинической ДПН. Учитывались следующие признаки патологических изменений капилляров: изменение диаметра, изменение артерио-венулярного коэффициента, неравномерность калибра, извитость микрососуда, оценивалась плотность капиллярной сети. Также были оценены внутрисосудистые гемодинамические (изменение скорости кровотока) и перикапиллярные изменения (перикапиллярный отёк).

При проведении капилляроскопии у всех пациентов с СД 2-го типа и ДПН-1 были выявлены следующие микрососудистые нарушения: выраженные дегенеративные изменения сосудистой стенки (неравномерность калибра, извилистость капилляров; динамические вазомоторные нарушения - значительное сужение артериального и переходного отдела, расширение венозного отдела капилляров; замедление капиллярного кровотока, изменение функции сосудистого эндотелия), отмечен выраженный перикапиллярный отёк, наличие агрегации эритроцитов и тромбоцитов. Только совокупность количественной и качественной оценки отдельных патологических признаков, наблюдаемых в микрососудистом русле, позволяет достаточно достоверно судить о процессах, происходящих в системе

микроциркуляции в целом. Так как известно, что микроциркуляторное русло всегда реагирует на воздействие патогенного агента как единая целостная система [18].

Таким образом, учитывая полученные данные, можно говорить о том, что нарушения в системе микроциркуляции возникают на самых ранних этапах развития СД, а, вероятно, уже и при НТГ. Изменение реологии крови, выраженные дегенеративные изменения сосудистой стенки, замедление скорости капиллярного кровотока обуславливают не только развитие тканевой гипоксии, но и приводят к массивным тромбозам у пациентов с СД. В связи с исключительной важностью, исследование микроциркуляции необходимо проводить всем пациентам с СД.

В нашем исследовании было выявлено, что на фоне достижения и удержания целевых значений гликемии в течение 5-ти месяцев у пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией ДПН отмечаются значимые изменения параметров микроциркуляции. Выявлено статистически достоверное расширение артериального отдела капилляров ( $p = 0,007$ ). Кроме того, отмечено достоверное увеличение средней скорости капиллярного кровотока ( $p = 0,040$ ). В настоящей работе не выявлено влияния строгого гликемического контроля на показатели жесткости артерий и эндотелиальной функции, а также на параметры центральной гемодинамики у пациентов с СД 2-го типа и ДПН-1, что, вероятно, свидетельствует либо о недостаточности указанного временного отрезка для более значимых изменений в состоянии микроциркуляторного русла, либо о том, что лишь нормализации уровня глюкозы в крови может быть недостаточно для восстановления указанных параметров.

Полученные результаты требуют проведения дальнейших исследований по изучению и определению клинической ценности цифровой капилляроскопии как дополнительного метода диагностики макро- и микрососудистых осложнений у пациентов с СД 2-го типа, так как доподлинно известно, что определение состояния эндотелиальной функции у пациентов с СД является значимым предиктором в оценке вероятности сердечно-сосудистого риска, и, позволяет выделить пациентов, нуждающихся в более интенсивном наблюдении/лечении [216]. Значение функции эндотелия, определённое до начала медикаментозной терапии может являться отправной точкой для оценки состояния микроциркуляции и может служить ориентиром при оценке эффективности проводимой терапии [26].

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод о том, что при выявлении и наличии СД 2-го типа необходимо на самых ранних этапах проводить комплексную оценку состояния периферической нервной системы и системы микроциркуляции: активно выявлять субклиническую стадию ДПН, оценивать состояние тонких немиелинизированных нервных волокон (используя метод лазерной КМР и/или

пункционной биопсии кожи), проводить оценку показателей микроциркуляции с целью диагностики диабетической микроангиопатии.

В связи с тем, что имеющееся понимание патофизиологии ДПН в настоящий момент во всем мире остается недостаточным, эффективных фармакотерапевтических средств, устраняющих повреждение нерва, восстанавливающих его структуру и влияющих на исход данного заболевания, к сожалению, нет. Таким образом, основой современного терапевтического подхода к лечению ДПН является контроль факторов риска, а также профилактика и лечение ее осложнений [215; 164].

Проведенное исследование имело некоторые ограничения. Во-первых, это было когортное исследование с относительно небольшим числом участников. Для консолидации настоящих результатов необходимы будущие проспективные исследования с использованием большей когорты пациентов. Во-вторых, доказано, что развитие ДПН зависит от так называемой «метаболической памяти» [49]. Выбранный в нашем исследовании период наблюдения может быть слишком коротким, чтобы отражать метаболическую память об изменениях показателей исхода нейропатии.

## ВЫВОДЫ

1. По данным проведенного исследования распространенность ДПН среди пациентов с длительностью СД 2-го типа не более 10 лет, находящихся в многопрофильном стационаре, составила 75%. Одинаково часто встречается как клиническая (симптомная) стадия ДПН – 38%, так и субклиническая стадия ДПН - 37% обследуемых пациентов.
2. Субклиническая стадия ДПН у пациентов с СД 2-го типа характеризуется:
  - по данным пункционной биопсии кожи - изменением морфологических показателей в структуре кожного лоскута (атрофия эпидермиса ( $p \leq 0,042$ ), гиперкератоз и гиалиноз базальной мембраны эпидермиса); снижением плотности интраэпидермальных нервных волокон ( $p = 0,016$ ); уменьшением скорости ангиогенеза ( $p = 0,001$ ).
  - по данным конфокальной микроскопии роговицы – снижением плотности нервных волокон роговицы, изменением их хода и структуры; снижением коэффициента анизотропии (упорядоченности) и увеличением коэффициента симметричности направленности.
3. У всех обследованных пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией нейропатии выявлены изменения показателей микроциркуляции (сужение артериального отдела капилляров, расширение венозного отдела капилляров, наличие перикапиллярного отека, ухудшение показателей СРПВ и ЭФ).
4. На фоне улучшения и удержания гликемического контроля в пределах целевых значений приближенных к норме ( $HbA1c \leq 6,5\%$ ) в течение 5-ти месяцев, в группе пациентов с СД 2-го типа и субклинической стадией нейропатии отмечено: увеличение амплитуды S-ответа по икроножному нерву ( $p = 0,010$ ) по данным ЭНМГ; достоверное улучшение показателей микроциркуляции в виде расширения артериального отдела капилляров ( $p = 0,007$ ) и увеличении скорости капиллярного кровотока ( $p = 0,040$ ) на основании данных цифровой капилляроскопии; улучшение морфологии кожного лоскута ( $p = 0,025$ ), увеличение плотности интраэпидермальных нервных волокон в 1,5 раза ( $p = 0,004$ ), а также увеличение количества интрадермальных сосудов на единицу площади ( $p = 0,007$ ) на основании результатов биопсии кожи; уменьшение выраженности извитости тонких нервов роговицы по данным КМР ( $p \leq 0,05$ ). Все это позволяет говорить о возможности развития реинервации и улучшении системы микроциркуляции.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Диагностика ДПН на субклинической стадии должна включать не только клиническое, но и нейрофизиологическое обследование.
2. В рамках клинических исследований, у пациентов с СД 2-го типа на стадии субклинической ДПН с целью выявления раннего поражения тонких нервных волокон возможно использование пункционной биопсии кожи и/или конфокальной микроскопии роговицы в качестве основных диагностических методик.
3. Необходимо проведение дальнейших исследований по определению клинической ценности цифровой капилляроскопии как дополнительного метода диагностики микрососудистых осложнений у пациентов с СД 2 типа.
4. Максимальное приближение гликемического контроля к физиологическим значениям глюкозы у пациентов с СД 2 типа и субклинической стадией ДПН свидетельствует о возможной обратимости нарушений периферической нервной системы при раннем вмешательстве.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ	- Артериальная гипертензия
АД	- Артериальное давление
БМ	- Базальная мембрана
ВОЗ	- Всемирная Организация Здравоохранения
ДАБ	- Диаминобензидин
ДАД	- Диастолическое артериальное давление
ДАН	- Диабетическая автономная нейропатия
ДМА	- Диабетическая микроангиопатия
ДПН	- Диабетическая периферическая нейропатия
ЖКТ	- Желудочно-кишечный тракт
ИМТ	- Индекс массы тела
ИБС	- Ишемическая болезнь сердца
$K_{во/ао}$	- Коэффициент ремоделирования капиллярного русла
КМР	- Конфокальная микроскопия роговицы
КСТ	- Количественное сенсорное тестирование
НВР	- Нервные волокна роговицы
НТВ	- Нейропатия тонких волокон
НТГ	- Нарушение толерантности к глюкозе
ОНМК	- Острое нарушение мозгового кровообращения
РЛ	- Резидуальная латенция
РКИ	- Рандомизированное клиническое исследование
САД	- Систолическое артериальное давление
СД	- Сахарный диабет
СДС	- Синдром диабетической стопы
СИ	- Сосудистый индекс
СРВ	- Скорость распространения возбуждения
СРПВ	- Скорость распространения пульсовой волны
$\Delta$ СРПВ	- Соотношение скорости распространения пульсовой волны до и после пережатия
ПВЧ	- Порог вибрационной чувствительности
ПИНВ	- Плотность интраэпидермальных нервных волокон
ПКС	- Протеинкиназа С
ЧСС	- Частота сердечных сокращений

Шкала НДС – Нейропатическая дисфункциональная шкала

ЭКГ - Электрокардиограмма

ЭНМГ - Электронейромиография

ЭФ - Эндотелиальная функция

ACCORD – the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes trial

DCCT - Diabetes Control and Complication Trial

EDIC - Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study

HbA1c - Гликированный гемоглобин

IDF - International Diabetic Federation

NGSP - National Glycohemoglobin Standardization Program

NIS LL - Neuropathy Impairment Score Low Limbs-Шкала невропатических нарушений в ногах

RDNS - Rochester Diabetic Neuropathy Study

TSS - Total Symptom Score

K<sub>A</sub>L - Коэффициент анизотропии направленности нервных волокон роговицы

K<sub>sym</sub> - Коэффициент симметричности направленности нервных волокон роговицы

VEGF - Фактор роста эндотелия сосудов

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветисов С.Э., Новиков И.А., Махотин С.С. и др. Новый принцип морфометрического исследования нервных волокон роговицы на основе конфокальной биомикроскопии при сахарном диабете. // Вестник офтальмологии. – 2015. - №131(4). – С. 5-14.
2. Аветисов С.Э., Сурнина З.В., Новиков И.А. и др. Новые подходы к оценке состояния нервных волокон роговицы. // Российский общенациональный офтальмологический форум. – 2015. - №2. – С. 761-765.
3. Альбекова Ж.С. Распространенность диабетической полинейропатии у больных сахарным диабетом 1 типа. Клинико-электрофизиологическое, генетическое исследование: дисс...канд.мед.наук: 14.01.02 – Эндокринология: 14.01.11 – Нервные болезни. Москва, 2011.
4. Аметов А.С. Сахарный диабет 2-го типа. Проблемы и решения. Том 7 / А. С. Аметов. - 3-е изд., перераб. и доп. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2017. - 240 с.
5. Аметов А.С., Косян А.А. Роль и место нарушенного окислительно-восстановительного баланса в развитии диабетической невропатии и антиоксидантные эффекты альфа-липоевой кислоты // Эндокринология: новости, мнение, обучение. - 2020. - №2(9). - С. 70-79.
6. Артемова Е.В., Галстян Г.Р., Атарщиков Д.С. и др. Конфокальная микроскопия роговицы - новый неинвазивный метод диагностики начальных проявлений повреждения периферической нервной системы при сахарном диабете. // Проблемы Эндокринологии. – 2015. - №61(2). – С. 32-38.
7. Ахметжанова Л.Т. По материалам XXII международной конференции по диабетической полиневропатии «НЕЙРОДИАБ» (27-30 Сентября 2012г., Дрезден, Германия) // Неврологический журнал. – 2012. - №5. – С. 48-51.
8. Бокарев И.Н., Великов В.К., Салтыков Б.Б. и др. Нарушения свертывающей системы крови при сахарном диабете. // Симпозиум «Сахарный диабет сегодня: научные исследования, лечение и организация помощи». - М., 1995. - С.51.
9. Галстян Г.Р. Диабетическая нейропатия. Этиология, патогенез особенности клинического течения и лечения: дисс...докт.мед.наук: 14.00.03 – Эндокринология. Москва, 2006.

10. Сурнина З.В. Состояние нервных волокон роговицы при сахарном диабете по данным световой и лазерной конфокальной микроскопии: автореф.дисс...канд.мед.наук: 14.01.07 – Глазные болезни. Москва, 2015. С.
11. Галстян Г.Р., Старостина Е.Г., Яхно Н.Н. и др. Диагностика и рациональная терапия болевой формы диабетической периферической нейропатии: междисциплинарный консенсус экспертов. // Сахарный диабет. – 2019. - №22(4). - С. 305-327.
12. Гурфинкель Ю.И., Атьков О.Ю., Сасонко М.Л., Саримов Р.М. Новый подход к интегральной оценке состояния сердечно-сосудистой системы у пациентов с артериальной гипертензией // Российский кардиологический журнал. - 2014. - №1 (105). – С.101-106.
13. Дедов И.И. Российские клинические рекомендации. Эндокринология / под ред. Дедова И.И., Мельниченко Г.А. – Москва, 2018. - 592 с.
14. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. Государственный регистр сахарного диабета в Российской Федерации: статус 2014 г. и перспективы развития. // Сахарный диабет. – 2015. - №18(3). – С. 5-23.
15. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю. Алгоритмы специализированной медицинской помощи пациентам сахарным диабетом. 9-й выпуск (дополненный). // Москва, 2019. – С. 104-126.
16. Демидова И.Ю., Храмин В.Н., Игнатова О.Ю. Диабетическая дистальная полинейропатия // Эндокринная хирургия. – 2008. - №1(2). – С. 29 - 39.
17. Демура Т.А. Морфофункциональные и молекулярно-генетические особенности недифференцированной формы дисплазии соединительной ткани в акушерско-гинекологической практике: дисс...канд.мед.наук: 14.03.02 – Патологическая анатомия. Москва, 2014.
18. Ефимов А.С., Сергиенко А.А., Воробец З.Д. и др. Активность мембраносвязанной протеинкиназы С и АТФаз эритроцитов при диабетической ангиопатии. // Проблемы Эндокринологии. – 1993. - №39(1). – С. 11-14.
19. Зилов А.В. Гены главного комплекса гистосовместимости в прогнозировании риска и в развитии инсулинзависимого сахарного диабета: автореф. дис... канд.мед.наук. – М., 1998. – 24 с.
20. Кайибханова К.М. Сравнительная оценка функционального состояния яичников и эндометрия у женщин репродуктивного возраста до и после миомэктомии: дисс...канд.мед.наук. 14.01.01 – Акушерство и гинекология. Москва, 2017.
21. Касаткина Э.П. Сахарный диабет у детей и подростков. – Москва. - 1996. – 240 с.

22. Команцев В.Н., Заболотных В.А. Методические основы клинической электронейромиографии. // Руководство для врачей. - Санкт-Петербург. – 2001. – 349 с.
23. Левин О.С. Болевой синдром при полиневропатиях: подходы к лечению. // Справочник поликлинического врача. – 2007. - №1. – С. 56-62.
24. Левин О.С. Полиневропатии: Клиническое руководство. 3-е изд. – М.: Медицинское информационное агентство. – 2016. – С. 156-213.
25. Салтыков Б.Б. Пато- и морфогенез диабетической микроангиопатии: автореф.дис...докт.мед.наук. – Москва, 1992.
26. Сасонко М.Л. Интегральная оценка состояния сердечно-сосудистой системы у пациентов с артериальной гипертензией на основе параметров макроциркуляции и микроциркуляции: дисс...канд.мед.наук. 14.01.05 – Кардиология. Москва, 2014.
27. Строков И.А., Зилов А.В., Альбекова Ж.С., Фокина А.С. Диабетическая автономная кардиоваскулярная невропатия. // РМЖ. – 2011. - №30. – С. 1874.
28. Строков И.А., Мельниченко Г.А., Альбекова Ж.С. и др. Распространенность и факторы риска развития диабетической полиневропатии у стационарных пациентов сахарным диабетом 1-го типа // Нервно-мышечные болезни – 2012 - № 1 – С. 25-31.
29. Строков И.А., Фокина А.С., Федорова О.С., Головачева В.А. Диабетическая полиневропатия: эффективность актовегина. // Медицинский совет. - 2013. - №4. - С. 48-53.
30. Сурнина З.В. Состояние нервных волокон роговицы при сахарном диабете по данным световой и лазерной конфокальной микроскопии: автореф.дисс...канд.мед.наук. 14.01.07 – Глазные болезни. Москва, 2015.
31. Фокина А.С., Строков И.А., Демура Т.А. Диагностика диабетической периферической нейропатии. Методы ее раннего выявления. // РМЖ. - 2017. - № 9(25). - С. 572-578.
32. Фокина А.С., Зилов А.В., Строков И.А. и др. Анализ влияния длительной нормализации гликемического контроля на течение субклинической диабетической периферической нейропатии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. // РМЖ. – 2022. - №3. – С.28-33.
33. Фокина А.С., Строков И.А., Зилов А.В., и др. Алгоритм персонализированного лечения дистальной симметричной сенсорно-моторной полиневропатии у больных сахарным диабетом 2 типа. // Эффективная фармакотерапия. - 2017. - № 29. - С. 30-38.
34. Храмин В., Демидова И., Игнатова О. Распространенность диабетической полинейропатии при впервые выявленном сахарном диабете типа 2 // Врач. – 2009. - №5. – С. 40 - 43.

35. Храмилин В.Н. Актуальные вопросы ведения пациентов с диабетической полинейропатией // Consilium Medicum. – 2016. - №18(9). – С. 110 - 115.
36. Шестакова М.В., Чазова И.Е., Шестакова Е.А. Российское многоцентровое скрининговое исследование по выявлению недиагностированного сахарного диабета 2 типа у пациентов с сердечно-сосудистой патологией // Сахарный диабет. – 2016. - №19(1). – С. 24-29.
37. Abbott C.A., Carrington A.L., Ashe H. et al. The North-West Diabetes Foot Care Study: incidence of, and risk factors for, new diabetic foot ulceration in a community-based patient cohort. Diabet Med. 2002;19:377–384.
38. Левин О.С. Диабетическая полиневропатия: современные подходы к диагностике и патогенетической терапии. // Клиницист. - №2. – С. 54-63.
39. Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) Study Group. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. New Engl J Med. 2008;358:2545-2559.
40. Adler A.I., Boyko E.J., Ahroni J.H., et al. Risk factors for diabetic peripheral sensory neuropathy. Results of the Seattle Prospective Diabetic Foot Study. Diabetes Care. 1997;7(20):1162-1167.
41. Aiyer R., Barkin R.L., Bhatia A. Treatment of Neuropathic Pain with Venlafaxine: A Systematic Review. Pain Medicine. 2017;18(10):1999–2012.
42. Albers J.W., Herman W.H., Pop-Busui R., 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. 2010;33(5):1090-1096.
43. Albers J.W., Pop-Busui R. Diabetic neuropathy: mechanisms, emerging treatments, and subtypes. Curr Neurol Neurosci Rep. 2014;14(8):473.
44. Al-Kateb H., Boright A.P., Mirea L., et al. Multiple Superoxide Dismutase 1/Splicing Factor Serine Alanine 15 Variants Are Associated With the Development and Progression of Diabetic Nephropathy: The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Genetics Study. Diabetes. 2008;57(1):218 – 228.
45. American Academy of Neurology. Practice Guidelines. Neurology. 2009; Vol. 72.
46. American Diabetes Association, American Academy of Neurology. Consensus Statement: Report and recommendations of the San Antonio conference on diabetic neuropathy. Diabetes Care. 1988;11(7):592–597.

47. American Diabetes Association, American Academy of Neurology: Report and recommendations of the San Antonio Conference on Diabetic Neuropathy (Consensus Statement). *Diabetes Care*. 1988;11:592–597.
48. Androne L., Gavan N.A., Veresiu I.A., et al. In vivo effect of lipoic acid on lipid peroxidation in patient with diabetic neuropathy. *In vivo*. 2000;14:327–330.
49. Ang L., Jaiswal M., Martin C., et al. Glucose control and diabetic neuropathy: lessons from recent large clinical trials. *Curr Diab Rep*. 2014;14(9):528.
50. Apfel S.C., Arezzo J.C., Brownlee M., et al. Nerve growth factor administration protects against experimental diabetic sensory neuropathy. *Brain Res*. 1994;634:7-12.
51. Arezzo J.C., Zotova E. Electrophysiologic measure of diabetic neuropathy: mechanism and meaning. *Int. Rev. Neurobiol*. 2002;50:229–255.
52. Attal N., Cruccu G., Baron R., et al. EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision. *Eur J Neurol*. 2010;17(9):1113-1188.
53. Avetisov S.E., Novikov I.A., Makhotin S.S., Surnina Z.V. New approach to corneal nerve fibers morphometry in diabetes mellitus on the basis of confocal biomicroscopy. *Annals Of Ophthalmology*. 2015;4:1-9.
54. Azmi Sh., Ferdousi M., Petropoulos I.N., Ponirakis G., et al. Corneal Confocal Microscopy Identifies Small-Fiber Neuropathy in Subjects With Impaired Glucose Tolerance Who Develop Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2015;38(8):1502-1508.
55. Baba M., Ozaki I. Electrophysiological changes in diabetic neuropathy: from subclinical alteration to disabling abnormalities. *Arch of Physiol. and Biochem*. 2001;109(3):234-240.
56. Backonja M., Beydoun A., Edwards K.R., et al. Gabapentin for the symptomatic treatment of painful neuropathy in patients with diabetes mellitus. *JAMA*. 1998;280:1831-1836.
57. Bansal V., Kalita J., Misra U.K. Diabetic neuropathy. *Postgrad Med J*. 2006;82(964):95–100.
58. Benbow S.J, Wallymahmed M.E., MacFarlane I.A. Diabetic peripheral neuropathy and quality of life. *QJM: An International Journal of Medicine*. 1998;91(11):733–737.
59. Bertani T., Gambara V., Remuzzi G. Structural basis of diabetic nephropathy in microalbuminuric NIIDM patients: a light microscopy study. *Diabetol*. 1996;39(12):1625-1628.
60. Bonini S., Rama P., Olzi D., Lambiase A. Neurotrophic keratitis. *Eye (Lond)*. 2003;17:989-995.
61. Boulton, A.J.M. The diabetic foot: from art to science. The 18th Camillo Golgi lecture. *Diabetologia*. 2004;47:1343–1353.

62. Boulton A.J., Vinic A.I., Arezzo J.C., et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2005;28(4): 956-962.
63. Boulton A.J.M., Malik R. A., Arezzo J. C., Sosenco J. M. Diabetic Somatic Neuropathies. *Diabetes Care*. 2004;6(27):1458-1486.
64. Boulton A.J., Armstrong D.G., Albert S.F., et al. Comprehensive foot examination and risk assessment: a report of the task force of the foot care interest group of the American Diabetes Association, with endorsement by the American Association of Clinical Endocrinologists. *Diabetes Care*. 2008;31(8):1679-1685.
65. Bril V. Electrophysiologic testing. In *Textbook of Diabetic Neuropathy*. Gries F.A., Cameron N.E., Low P.A., Ziegler D., Eds. Stuttgart, Thieme. – 2003;177–184.
66. Bromberg M.B. An electrodiagnostic approach to the evaluation of peripheral neuropathies. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. – 2013;24:153–168.
67. Brownlee M. Diabetic complications: pathobiology of hyperglycemic damage and potential impact on treatment // Thornalley P.J., Kempler P./eds/: *Complications of diabetes mellitus: pathophysiology and pathogenetically-based treatment options*. - Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, 2009;1-8.
68. Brownlee M. Negative consequences of glycation. *Metabolism*. – 2000;49(2):9-13.
69. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications. A unifying mechanism. *Banting Lecture 2004. Diabetes*. 2005;54:1615-1625.
70. Callaghan B.C., Hur J., Feldman E.L., et al. Diabetic neuropathy: one disease or two? *Curr. Opin. Neurol*. – 2012;5(25):536-541.
71. Callaghan B.C., Little A.A., Feldman E.L., et al. Enhanced glucose control for preventing and treating diabetic neuropathy. *Cochrane Database Syst Rev*. – 2012.
72. Callaghan B.C., Xia R., Banerjee M., et al. Metabolic Syndrome Components Are Associated With Symptomatic Polyneuropathy Independent of Glycemic Status. // *Diabetes Care*. – 2016;39(5):801–807.
73. Callaghan B.C., Xia R., Reynolds E., et al. Association Between Metabolic Syndrome Components and Polyneuropathy in an Obese Population. *JAMA Neurol*. – 2016;73(12): 1468-1476.
74. Calles-Escandon J., Lovato L.C., Simons-Morton D.G., et al. Effect of intensive compared with standard glycemia treatment strategies on mortality by baseline subgroup characteristics: the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) trial. *Diabetes Care*. – 2010;33:721-727.

75. Cardoso C.R.L., Leite N.C., Moram C.B.M., et al. Long-term visit-to-visit glycemic variability as predictor of micro- and macrovascular complications in patients with type 2 diabetes: The Rio de Janeiro Type 2 Diabetes Cohort Study. *Cardiovasc Diabetol.* - 2018;17(1):33.
76. Carvalho Machado Aguiar P., Vinicius Della Coletta M., Silva de Souza J.J. The association of dyslipidemia and peripheral diabetic neuropathy: the influence of urea. *Diabetol Metab Syndr.* - 2015;7(1):30.
77. Casellini C.M, Vinik A.I. Clinical manifestations and current treatment options for diabetic neuropathies. *Endocr Pract.* - 2007;13(5):550–566.
78. Chan A.C.Y., Wilder-Smith E. P. Small fiber neuropathy: Getting bigger! *Muscle Nerve.* - 2016;53(5):671-682.
79. Colloca L., Ludman T., Bouhassira D., Baron R. Neuropathic pain. *Nat Rev Dis Primers.* - 2017;3:170-172.
80. Corbett C.F. Practical Management of patients with painful diabetic neuropathy. *The Diabetes Educator.* - 2005;31(4):523-524;526-528;530.
81. Coutinho M., Genstein H.C. The relationship between glucose and incident cardiovascular events; met regression analysis of published data from 20 studies of 95783 individuals followed for 12,4 years. *Diabetes Care.* - 1999;23:233-240.
82. Davies M., Brophy S., Williams R., Taylor A. The Prevalence, Severity, and Impact of Painful Diabetic Peripheral Neuropathy in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* - 2006;29:1518-1522.
83. DCCT Research Group (1995). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* - 1995;333:977-986.
84. Deshpande A.D., Harris-Hayes M., Schootman M. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Physical Therapy.* - 2008;88.
85. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* - 1993;329:977–986.
86. Duby J.J., Campbell R.K., Setter S.M., et al. Diabetic neuropathy: an intensive review. *Am J Health Syst Pharm.* - 2004;61:160-173.
87. Dunnigan S.K., Ebadi H., Breiner A., et al. Conduction slowing in diabetic sensorimotor polyneuropathy. *Diabetes Care.* - 2013;36:3684–3690.
88. Dyck J.B., Dyck P.J. Diabetic Polyneuropathy. // *Diabetic Neuropathy.* - Philadelphia, WA Saunders, 1999;264-267.

89. Dyck P.J. Detection, characterization and staging of polyneuropathy: assessed in diabetic. *Muscle Nerve*. – 1998;11(1):21-32.
90. Dyck P.J., Albers J.W., Anderson H., et al. Diabetic polyneuropathy: update on research definition, diagnostic criteria and estimation of severity. *Diabetes Metab Res Rev*. – 2011;27:620-628.
91. Dyck P.J., Davis J.L., Litchy W.J., et al. Longitudinal assessment of diabetic polyneuropathy using a composite score in the Rochester Diabetic Neuropathy Study cohort. *Neurology*. – 1997;49:229-239.
92. Dyck P.J., Dyck P.J.B., Larson T.S., et al. Patterns of quantitative sensation testing of hypoesthesia and hyperalgesia are predictive of diabetic polyneuropathy: a study of three cohorts. *Diabetes Care*. – 2000;23(4):510–517.
93. Dyck P.J., Gries F.A., Cameron N.E., et al.(eds). Severity and staging of diabetic polyneuropathy. In *Textbook of Diabetic Neuropathy*. Stuttgart, Thieme. – 2003;170–175.
94. Dyck P.J., Kratz K.M., Lehman K.A., Karnes J.L. The Rochester Diabetic Neuropathy Study: design, criteria for types of neuropathy, selection bias, and reproducibility of neuropathic test. *Neurology*. – 1991;41:799-807.
95. Dyck P.J., Klein C.J., Weigand S.D. Does impaired glucose metabolism cause polyneuropathy? Review of previous studies and design of a prospective controlled population-based study. *Muscle Nerve*. – 2007;36:536–541.
96. Edwards K., Pritchard N., Vagenas D., et al. Utility of corneal confocal microscopy for assessing mild diabetic neuropathy: baseline finding of the LANDMark study. *Clin Exp Ophtam*. – 2012;95:348-354.
97. Elliot J., Tesfaye S., Chaturvedi N., Gandhi R.A., et al. and on behalf of the EURODIAB Prospective Complications Study Group. Large-fiber dysfunction in diabetic peripheral neuropathy is predicted by cardio-vascular risk factors. *Diabetes Care*. – 2009;32.
98. Fagerberg S-E. Studies on the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *J Inc Med*. – 1956;154: 145 – 150.
99. Feldman E.L., Callaghan B.C., Pop-Busui R., et al. Diabetic neuropathy. *Nat Rev Dis Primers*. – 2019;5(1):42.
100. Ferrari G., Hajrasouliha A.R., Sadrai Z., et. al. Nerves and neovessels inhibit each other in the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. – 2013;54:813-820.
101. Fisher T.Z., Waxman S.G. Neuropathic pain in diabetes-evidence for a central mechanism. *Nature Rev Neurology*. – 2010;6:462-466.

102. Forrest K.Y., Maser R.E., Pambianco G., et al. Hypertension as a risk factor for diabetic neuropathy: a prospective study. *Diabetes*. – 1997;46(4):665–670.
103. Gæde P., Lund-Andersen H., Parving H-H., et al. Effect of a Multifactorial Intervention on Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. – 2008;358:580-591.
104. Gero D. Hyperglycemia-Induced Endothelial Dysfunction. // In book: *Endothelial Dysfunction - Old Concepts and New Challenges*. – 2018;179-210.
105. Gianni C., Dyck P.J. Pathologic alterations in human diabetic polyneuropathy. *Diabetic neuropathy* / ed. by P.J. Dyck, P.K. Thomas. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999;279-295.
106. Gibbons C.H., Illigens B.M., Wang N., et al. Quantification of sweat gland innervation: a clinical-pathologic correlation. *Neurology*. – 2009;64:199-207.
107. Girach A., Julian TH, Varrassi G., Paladini A. et al. Quality of Life in Painful Peripheral Neuropathies: A Systematic Review. *Pain Research and Management. Review Article Open Access*. - 2019.
108. Goldstein D.J., Lu Y., Detke M.J., Lee T.C., Iyengar S. Duloxetine vs. placebo in patients with painful diabetic neuropathy. *Pain*. – 2005;116:109–118.
109. Gomes-Viera N., Soto-Lavastida A., Rosello-Silva H., et al. Risk factors involved in symmetrical distal diabetic neuropathy. *Rev. Neurol*. – 2001;32:806-812.
110. Groener J.B., Johann M.E., Jende F., Kurz T., et al. Understanding Diabetic Neuropathy: From Subclinical Nerve Lesions to Severe Nerve Fiber Deficits. A Cross-Sectional Study in Patients with Type 2 Diabetes and Healthy Controls. – *Diabetes*. – 2019.
111. Guigliano D., Ceriello A., Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications // *Diabetes Care*. – 1996;19:257–267.
112. Gulliford M.C., Mahabir D. Diabetic foot disease and foot care in a Caribbean community // *Diabetes Reserch and Clinical Practice*. – 2002;56(1):35–40.
113. Handelsman Y., Mechanic J.I., Blonde L., et al. AACE Task Force for Developing Diabetes Comprehensive Care Plan, American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for Developing a Diabetes Mellitus Comprehensive Care Plan. *Endocr Pract*. – 2011;17(2):1-53.
114. Harris M.I., Flegal K.M., Cowie C.C. Et al. Prevalence of diabetes, impaired factor glucose, and impaired glucose tolerance test in U.S.adults. *Diabetes Care*. – 1998;21:518-524.
115. Hartemann A., Attal N., Bouhassira D. et al. Painful diabetic neuropathy: diagnosis and management. *Diabet Metab*. – 2011;37(5):377-388.

116. Havrdova T., Boucek P., Saudek, L., et al. Severe Epidermal Nerve Fiber Loss in Diabetic Neuropathy Is Not Reversed by Long-Term Normoglycemia After Simultaneous Pancreas and Kidney Transplantation. *American Journal of Transplantation*. – 2016;16(7):2196-2201.
117. Herman W.H., Pop-Busui R., Braffett B.H., et. al. Use of the Michigan Neuropathy Screening Instrument as a measure of distal symmetrical peripheral neuropathy in Type 1 diabetes: results from the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications. *Diabet Med*. – 2012;29(7):937–944.
118. Hirsch I.B. Glycemic Variability and Diabetes Complications: Does It Matter? Of Course It Does! // *Diabetes Care*. - 2015;38(8):1610–1614.
119. Hoffman D.L., Sadosky A., Alvir J. Cross-National Burden of Painful Diabetic Peripheral Neuropathy in Asia, Latin America, and the Middle East. *Pain Practice*. – 2008;1(9):35–42.
120. Hovaguimian A., Gibbons C.H. Diagnosis and treatment of pain in small-fiber neuropathy. *Curr Pain Headache Rep*. – 2011;15(3):193-200.
121. IDF Diabetes Atlas – 10th ed., 2021.
122. Ishibashi F., Tavakoli M. Impact of normoglycemia in reducing microvascular complications in patients with type 2 diabetes: a follow-up study. *Front. Endocrinol*. – 2018;9:52.
123. Jaiswal M., Divers J., Pop-Busui R., et al. Response to Comment on Jaiswal et al. Prevalence of and Risk Factors for Diabetic Peripheral Neuropathy in Youth With Type 1 and Type 2 Diabetes: SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Diabetes Care*. – 2017;40(9):1226-1232.
124. Jermendy Gy. Late effects of treatment for reducing cardiovascular risk – a hypothesis on cardiometabolic therapeutic memory. *Med Hypotheses*. – 2009;73:73-79.
125. Joint Task Force of the EFNS and the PNS. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a join task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society. *Peripher Nerv Syst*. – 2010;15:79-92.
126. Jorreskog G., Brismar K., Fagrell B. Skin capillary circulation severely impaired in toes of patients with IDDM, with and without late diabetic complications. *Diabetol*. – 1995;38(4):474-480.
127. Joslin Diabetes Center. Genetic marker linked to increased risk of diabetic peripheral neuropathy. *ScienceDaily*. – 2019.

128. Julu P.O.O. The correlation between sensory nerve conduction velocities and three metabolic indices in rats treated with streptozotocin. *Diabetologia*. – 1988;31:247–253.
129. Kallinikos P. Corneal Nerve Tortuosity in Diabetic Patients with Neuropathy // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. – 2004;45:418-422.
130. Karabouta Z., Barnett S., Shield J.P., et.al. Peripheral neuropathy is an early complication of type 2 diabetes in adolescence. *Pediatr Diabetes*. – 2008;9:110-114.
131. Karlsson P., Gylfadottir S.S., Kristensen A., et al. Axonal swellings are related to type 2 diabetes, but not to distal diabetic sensorimotor polyneuropathy. *Diabetologia*. – 2021;64(4):923–931.
132. Karlsson P., Gylfadottir S.S., Tesfaye S., et al. 320-OR: Axonal Swellings in Diabetic Patients With and Without Neuropathy. *Diabetes*. – 2019;68.
133. Kempler P., Stirban A., Czupryniak L., et al. Need for pathogenetically oriented therapy of neuropathy in diabetes mellitus // *Diabetes Stoffwechsel und Herz*. – 2011;20:143-150.
134. Keresztes K., Istenes I., Folhoffer A., et al. Autonomic and sensory nerve dysfunction in primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol*. – 2004;10(20):3039–3043.
135. King H., Aubert R.E., Herman W.H. Global Burden of Diabetes, 1995–2025. Prevalence, Numerical Estimates and Projections. *Diabetes Care*. – 1998;21:1414–1431.
136. Kles K.A., Bril V. Diagnostic tools for diabetic sensorimotor polyneuropathy. *Curr Diabetes rev*. – 2006;2(3):353–361.
137. Kles K.A., Vinik A.I. Pathophysiology and treatment of diabetic peripheral neuropathy: the case for diabetic neurovascular function as essential component. *Curr Diab Rev*. – 2006;2:131–145.
138. Krishnan S.T., Quattrini C., Jeziorska M., et al. Abnormal LDIf flare but normal quantitative sensory testing and dermal nerve fiber density in patient with painful diabetic neuropathy // *Diabetes Care*. – 2009;32(3):451-455.
139. Krishnan S.T., Rayman G. The LDIf flare: a novel test of C-fiber function demonstrates early neuropathy in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. – 2004;27:2930-2935.
140. Lauria G., Bakkers M., Schmits C. et al. Intraepidermal nerve fiber density at the distal leg: a worldwide normative reference study // *J Peripher Nerv Syst*. – 2010;15(3):202-207.
141. Lesser H., Sharma U., LaMoreaux L., Poole R.M. Pregabalin relieves symptoms of painful diabetic neuropathy: a randomized controlled trial. *Neurology*. – 2004;63:2104–2110.
142. Lukic I.K., Humpert P.M., Nawroth P.P., et al. The RAGE pathway. Activation and perpetuation in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Ann NY Acad Sci*. – 2008;1126:76-80.

143. Malik R. Small fiber: forgotten endpoint. Abstracts // 22nd Annual Meeting of the Diabetic Neuropathy Study Group. – 2012;27-30:52.
144. Malik R.A., Kallinikos P., Abbott C.A., et al. Corneal confocal microscopy: a non-invasive surrogate of nerve fibre damage and repair in diabetic patients. *Diabetologia*. – 2003;46:683-688.
145. Malik R.A., Tesfaye S., Newrick P.G., et al. Sural nerve pathology in diabetic patients with minimal but progressive neuropathy. *Diabetologia*. – 2005;48:578-585.
146. Malik R.A., Andag-Silva A., Dejthevaporn C., et al. Diagnosing peripheral neuropathy in South-East Asia: a focus on diabetic neuropathy. *J Diabetes Investig*. – 2020;11:1097–1103.
147. Manes C., Papazoglou N., Sossidou E., et al. Prevalence of Diabetic Neuropathy and Foot Ulceration: Identification of Potential Risk Factors – A Population-Based Study. *Wounds*. – 2002;14:11-15.
148. Martin C.L., Waberski B.H., Pop-Busui R., et al. Vibration perception threshold as a measure of distal symmetrical peripheral neuropathy in type 1 diabetes: results from the DCCT/EDIC study. *Diabetes Care*. – 2010;33(12):2635-2641.
149. Mehra S., Tavakoli M., Kallinikos P.A., et al. Corneal Confocal Microscopy Detects Early Nerve Regeneration After Pancreas Transplantation in Patients With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. – 2007;30:2608-2612.
150. Meijer J.W., Smit A.J., Lefrandt J.D., et al. Back to basics in diagnosing diabetic polyneuropathy with the tuning fork. *Diabetes Care*. – 2005;28:2201-2205.
151. Miranda-Palma B., Basu S., Mizel M.D., et al. The monofilament as the gold standard for foot ulcer risk screening: a reappraisal (Abstract). *Diabetes*. – 2003;52(1):63.
152. Müller L.J., Marfurt C.F., Kruse F., Tervo T. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res*. – 2007;76:521-542.
153. Muller-Felber W., Landgraf R., Scheuer R., et al. Diabetic neuropathy 3 years after successful pancreas and kidney transplantation. *Diabetes*. – 1993;42:1482–1486.
154. Murphy P.J., Patel S., Kong N., et al. Noninvasive assessment of corneal sensitivity in young and elderly diabetic and nondiabetic subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. – 2004;45:1737-1742.
155. Nitoda E., Kallinikos P., Pallikaris A., et al. Correlation of diabetic retinopathy and corneal neuropathy using confocal microscopy. *Curr Eye Res*. – 2012;37:898-906.
156. Novella S.P., Inzucchi S.E., Goldstein J.M. The frequency of undiagnosed diabetes and impaired glucose tolerance in patients with idiopathic sensory neuropathy. *Muscle Nerve*. – 2001;24:1229-1231.

157. Ohkubo Y., Kishikawa H., Araki E., et al. Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: a randomized prospective 6-year study. *Diab Res Clin Pract.* – 1995;28:103-117.
158. Padua L., Saponara C., Ghirlanda R., et al. Lower limb nerve impairment in diabetic patients: multiperspective assessment. *Eur. J. Neurol.* – 2002;9:69-73.
159. Paisley A.N., Abbott C.A., van Schie C.H., et al. A comparison of the Neuropen against standard quantitative sensory-threshold measures for assessing peripheral nerve function. *Diabet Med.* – 2002;19(5):400-405.
160. Perkins B.A., Olaleye D., Zinman B., et al. Simple screening tests for peripheral neuropathy in the diabetes clinic. *Diabetes Care.* – 2001;24(2):250-256.
161. Peters T.J., Kotowicz J., Nyka W., et al. Treatment of alcoholic polyneuropathy with vitamin B complex: a randomized controlled trial. *Alcohol Alcohol.* – 2006;41:636-642.
162. Pirart J. Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4400 patients observed between 1947-1973. *Diabetes Care.* – 1978;1:168-188.
163. Politi C. Recent advances in exploring the genetic susceptibility to diabetic neuropathy. *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2016;120:198–208.
164. Pop-Busui R., Boulton A.J., Feldman E.L., et al. Diabetic neuropathy: a position statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* – 2017;40:136–54.
165. Pop-Busui R., Herman W.H., Feldman E.L., et al. DCCT and EDIC studies in type 1 diabetes: lessons for diabetic neuropathy regarding metabolic memory and natural history. *Curr Diab Rep.* – 2010;10(4):276-282.
166. Prabodha L., Sirisena N., Dissanayake V. Susceptible and prognostic genetic factors associated with diabetic peripheral neuropathy: a comprehensive literature review. *Int. J. Endocrinol.* – 2018;8641942.
167. Quattrini C., Tavakoli M., Jeziorska M., et al. Surrogate markers of small fiber damage in human diabetic neuropathy. *Diabetes.* – 2007;56:2148-2154.
168. Rajabally Y.A. Neuropathy and impaired glucose tolerance: an updated review of the evidence. *Acta Neurol Scand.* – 2011;124:1–8.
169. Hanewinckel R., van Oijen M., Ikram M.A., et al. The epidemiology and risk factors of chronic polyneuropathy. *Eur J Epidemiol.* – 2016;31:5–20.
170. Ropper A.H., Gorson K.C., Gooch C.L., et al. Vascular endothelial growth factor gene transfer for diabetic polyneuropathy: a randomized, double-blinded trial. *Ann Neurol.* – 2009;65:386-393.

171. Rosenberg M.E., Tervo T.M., Immonen I.J., et al. Corneal structure and sensitivity in type 1 diabetes mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2004;41:2915-2921.
172. Saydah S.H., Miret M., Sung J., et al. Postchallenge hyperglycemia and mortality in a national sample of U.S.adults. *Diabetes Care.* – 2001;24:1397-1402.
173. Scherens A., Maier C., Haussleiter I.S., et al. Painful or painless lower limb dysesthesias are highly predictive of peripheral neuropathy: comparison of different diagnostic modalities. *Eur J Pain.* – 2009;13(7):711-718.
174. Schneider J.G., Tilly N., Hierl T., et al. Elevated plasma endothelin-1 levels in diabetes mellitus. *Am J Hypertens.* – 2002;15:967-972.
175. Sharma A., Khab S., Chugh S.N. Evaluation of oxidative stress before and after control of glycemia and after vitamin E supplementation in diabetic patients. *Metabolism.* – 2000;49:160-162.
176. Shaw J.E., Zimmet P.Z., Gries F.A., Ziegler D. Epidemiology of Diabetic Neuropathy. In: Gries F.A., Cameron N.E., Low P.A., Ziegler D. (eds.). *Textbook of diabetic neuropathy.* Stuttgart / New York: Thieme, 2003;64-82.
177. Shillo P., Selvarajah D., Greig M., et al. Reduce vitamin D levels in painful diabetic peripheral neuropathy. *Diabet. Med.* 2019; 36. 1:44-51.
178. Shin J.B., Seong Y.J., Lee H.J., et al. Foot screening technique in diabetic populations. *J. Korean Med. Sci.* – 2000;15:78–82.
179. Singleton J.R., Smith A.G., Bromberg M.B. Increased prevalence of impaired glucose tolerance in patients with painful sensory neuropathy. *Diabetes Care.* – 2001;24:1448-1453.
180. Singleton J.R., Smith A.G., Bromberg M.B. Painful sensory polyneuropathy associated with impaired glucose tolerance // *Muscle Nerve.* – 2001. - №24. – P. 1225 - 1228.
181. Singleton J.R. Exercise increases cutaneous nerve density in diabetic patients without neuropathy. *Ann. Clin. Transl Neurol.* – 2014;1:844–849.
182. Sloan G., Selvarajah D., Tesfaye S. Pathogenesis, diagnosis and clinical management of diabetic sensorimotor peripheral neuropathy. *Nature Reviews Endocrinology.* – 2021;17:400-420.
183. Sorensen L., Molyneaux L., Yue D.K. Insensate versus painful diabetic neuropathy: the effects of height, gender, ethnicity and glycaemic control. *Diabetes Res Clin Pract.* – 2002;57:45-51.
184. Spijkerman A.M., Dekker J.M., Nijpels G., et al. Microvascular complications at time of diagnosis of type 2 diabetes are similar among diabetic patients detected by targeted

- screening and patients newly diagnosed in general practice: the Hoorn screening study. *Diabetes Care*. – 2003;26(9):2604-2608.
185. Stino A.M., Smith A.G. Peripheral neuropathy in prediabetes and the metabolic syndrome. *J. Diab. Invest.* – 2017;8(5):646-655.
186. Stratton I.M., Adler A.I., Neil H.A.W., et.al. on behalf of the UKPDS Group. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): Prospective observational study. *Br Med J*. – 2000;321:405-412.
187. Sullivan K.A., Feldman E.L. New developments in diabetic neuropathy. // *Curr Opin Neurol*. – 2005;18(5):586–590.
188. Sumner C.J., Sheth S., Griffin J.W., et al. The spectrum of neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance. *Neurology*. – 2003;60:108-111.
189. Sytze Van Dam P., Cotter M.A., Bravenboer B., et al. Pathogenesis of diabetic neuropathy: focus on neurovascular mechanisms. *Eur J Pharmacol*. – 2013;719:180-186.
190. Tang Y., Lenzini P.A., Pop-Busui R. et al. A Genetic Locus on Chromosome 2q24 Predicting Peripheral Neuropathy Risk in Type 2 Diabetes: Results From the ACCORD and BARI 2D Studies. *Diabetes*. – 2019;68(8):1649-1662.
191. Tapp R., Shaw J.E. Epidemiology of diabetic neuropathy. In: Tesfaye S., Boulton A (eds). *Diabetic neuropathy*. - Oxford University Press Inc, New York, - 2009.
192. Tavakoli M., Kallinikos P.A., Efron N., Boulton A.J., et al. Corneal sensitivity is reduced and relates to the severity of neuropathy in patients with diabetes. *Diabetes Care*. – 2007;30:1895-1897.
193. Tavakoli M., Marshall A., Pitcealhy R., et al. Corneal confocal microscopy: a novel means to detect nerve fiber damage in idiopathic small fiber neuropathy. *Exp Neurol*. – 2010;223:245-250.
194. Tavakoli M., Quattrini C., Abbott C., et al. Corneal confocal microscopy: a novel noninvasive test to diagnose and stratify the severity of human diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. – 2010;33:1792-1797.
195. Tesfaye S. Diabetic Neuropathies: Update on Definitions, Diagnostic Criteria, Estimation of Severity, and Treatments. *Diabetes Care*. – 2010;33:2285-2293.
196. Tesfaye S. Neuropathy in diabetes. *Complications of diabetes*. – 2019;47(2):92-99.
197. Tesfaye S. Neuropathy in diabetes. *Medicine*. – 2015;43(1):26–32.
198. Tesfaye S., Boulton A.J., Dyck P., Freeman R., et al. Toronto Diabetic Neuropathy Expert Group. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care*. - 2010.

199. Tesfaye S., Chaturvedi N., Eaton S.E., et al. Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N Engl J Med.* - 2005;352(4):341–350.
200. Tesfaye S., Selvarajahb D., Gandhi R. et al. Diabetic peripheral neuropathy may not be as its name suggests evidence from magnetic resonance imaging. *Pain.* – 2016;157:72-80.
201. Tesfaye S., Stevens L.K., Stephenson J.M, et al. Prevalence of diabetic peripheral neuropathy and its relation to glycemic control and potential risk factors: the EURODIAB IDDM Complication Study. *Diabetologia.* – 1996;11(39):1377-1384.
202. Thomas P.K. Classification, differential diagnosis, and staging of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes.* – 1997;2:54-57.
203. Thompson R.J., Doran J.F., Jackson P., et al. PGP 9.5—a new marker for vertebrate neurons and neuroendocrine cells. *Brain Res.* – 1983;278:224–228.
204. Tomlinson D.R., Gardiner N.J. Diabetic neuropathies: components of etiology. 2007. PNS plenary lecture and review. *Periph Nerv Syst.* – 2008;13:112–121.
205. Treede R.D., Jensen T.S., Campbell J.N., et al. Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology.* - 2008;70(18):1630-1635.
206. UK Prospective Diabetes Study Group (UKPDS 33). Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet.* – 1998;352:837-853.
207. Umaphathi T., Tan W.L., Loke S.C. et al. Intraepidermal nerve fiber density as a marker of early diabetic neuropathy. *Muscle Nerve.* – 2007;35:591-598.
208. Veves A., Backonja M., Malik R.A. Painful diabetic neuropathy: epidemiology, natural history, early diagnosis, and treatment options. *Pain Med.* – 2008;9(6):660-674.
209. Vinik A. The approach to the management of the patient with neuropathic pain. *J Clin Endocrinol Metab.* – 2010;95(11):4802-4811.
210. Vinik A.I., Park T.S., Stansberry K.B., Pittenger G.L. Diabetic neuropathy. *Diabetologia.* – 2000;43:957-973.
211. Walk D., Wendelschafer-Crabb G., Davey C., Kennedy W.R. Concordance between epidermal nerve fiber density and sensory examination in patients with symptoms of idiopathic small fiber neuropathy. *Neurol Sci.* – 2007;255:23-26.
212. Walker H.K. Deep tendon reflexes. In: Walker H.K., Hall W.D., Hurst J.W. *Clinical methods: the history, physical, and laboratory examinations.* 3rd edition. Boston: Butterworth. – 1990;72.
213. Yagihashi S., Mizukami H., Sugimoto K. Mechanism of diabetic neuropathy: Where are we now and where to go? *J Diabetes Investig.* – 2011;2(1):18–32.

214. Yajnik C.S., Kantikar V.V., Pande A.J., et al. Quick and Simple Evaluation of Sudomotor Function for Screening of Diabetic Neuropathy. *International Scholarly Research Notices*. 2012; 2012:1-7.
215. Yang H., Sloan G., Ye Y., et al. New perspective in diabetic neuropathy: from the periphery to the brain, a call for early detection, and precision medicine. *Front. Endocrinol.* – 2020;10:929.
216. Yeboah J., Crouse J.R., Hsu F.C., et al. Brachial flow-mediated dilation predicts incident cardiovascular events in older adults: the Cardiovascular Health Study. *Circulation.* – 2007;115:2390-2397.
217. Yorek M., Obrosova A., Shevalye H. Effect of glycemic control on corneal nerves and peripheral neuropathy in streptozotocin-induced diabetic C57Bl/6J mice. *Peripher Nerv Syst.* – 2014;19(3):205–217.
218. Young L.H., Wackers F.J., Chyun D.A., et al. DIAD Investigators. Cardiac outcomes after screening for asymptomatic coronary artery disease in patients with type 2 diabetes: the DIAD study: a randomized controlled trial. *JAMA.* – 2009;301:1547-1555.
219. Zelman D.C. Sleep impairment in patients with painful diabetic peripheral neuropathy. *Clin J Pain.* – 2006;22(8):681-685.
220. Zhivov A., Blum M., Guthoff R., Stachs O. Real-time mapping of the subepithelial nerve plexus by in vivo confocal laser scanning microscopy. *Br J Ophthalmol.* – 2010;94:1133-1135.
221. Zhou Z., Sun B., Huang S., et al. Glycemic variability: adverse clinical outcomes and how to improve it? *Cardiovasc Diabetol.* – 2020;19(1):102.
222. Ziegler D. Current Concepts in the Management of Diabetic Polyneuropathy. *Current Diabetes Reviews.* – 2011;7:208–220.
223. Ziegler D. Painful diabetic neuropathy: treatment and future aspect. *Diabetes Metabolism.* – 2008;24(1):52-57.
224. Ziegler D. Современные принципы ведения больных с диабетической полинейропатией. Нервно-мышечные болезни. – 2012;2:7-20.
225. Ziegler D., Ametov A., Barinov A. et al. Oral treatment with alpha-lipoic acid improves symptomatic diabetic polyneuropathy: the SYDNEY 2 trial. *Diabetes care.* – 2006;29(11):2365-2370.
226. Ziegler D., Behler M., Schroers-Teuber M., et al. Near-normoglycaemia and development of neuropathy: a 24-year prospective study from diagnosis of type 1 diabetes. *BMJ Open.* – 2015;5(6).

227. Ziegler D., Gries F.A., Spuler M., Lessmann F. The epidemiology of diabetic neuropathy: DiaCAN Multicenter Study Group. *Diabet Med.* – 1993;10(2):414-419.
228. Ziegler D., Hanefeld M., Ruhnau K.J., et al. Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the anti-oxidant alpha-lipoic acid. A 3-week multicentre randomized controlled trial (ALADIN Study). *Diabetologia.* – 1995;38(12):1425-1433.
229. Ziegler D., Papanas N., Schnell O., et al. Current concepts in the management of diabetic polyneuropathy. *J Diabetes Investig.* – 2021;12 (4):464–475.
230. Ziegler D., Papanas N., Vinik A.I., et al. Epidemiology of polyneuropathy in diabetes and prediabetes. *Handb Clin Neurol.* – 2014;126:3–22.
231. Ziegler D., Papanas N., Zhivov A., et al. Early detection of nerve fiber loss by corneal confocal microscopy and skin biopsy in recently diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes.* – 2014;63(7):2454-2463.
232. Ziegler D., Rathmann W., Dickhaus T., et al. KORA Study Group. Neuropathic pain in diabetes, prediabetes and normal glucose tolerance: the MONICA/KORA Augsburg Surveys S2 and S3. *Pain Med.* – 2009;10:393–400.
233. Ziegler D., Reljanovic M., Mehnert H., et al.  $\alpha$ -Lipoic acid in the treatment of diabetic polyneuropathy in Germany: current evidence from clinical trials. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* – 1999;107:421–430.
234. Ziegler D., Siekierka-Kleiser E., Meyer B., et al. Validation of a novel screening device (NeuroQuick) for quantitative assessment of small nerve fiber dysfunction as an early feature of diabetic polyneuropathy. *Diabetes Care.* – 2005;28(5):1169-1174.
235. Ziegler D., Wolfgang R., Meisenger C., et al. Prevalence of polyneuropathy in pre-diabetes and diabetes is associated with abdominal obesity and macroangiopathy: the MONICA/KORA Augsburg Surveys S2 and S3. *Diabetes Care.* – 2008;31:464-469.
236. Zou C., Wang S., Huang F., et al. Advanced glycation end products and ultrastructural changes in corneas of long-term streptozotocin-induced diabetic monkeys. *Cornea.* – 2012;31:1455-1459.
237. Ishibashi F., Taniguchi M., Kosaka A., et al. Improvement in neuropathy outcomes with normalizing HbA1c in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* – 2018;42(1):110–8.
238. Строков И.А., Фокина А.С., Зилов А.В. Актовегин в лечении неврологических осложнений сахарного диабета. // Эффективная фармакотерапия. - 2015. - № 5(43). - С. 20-27.
239. Wilkinson K.D., Lee K.M., Deshpande S. et al. The neuron-specific protein PGP 9.5 is a ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase. *Science.* – 1989;246:670-673.

240. Nebuchennykh M., Loseth S., Lindal S., et al. The value of skin biopsy with recording of Intraepidermal nerve fiber density and quantitative sensory testing in the assessment of small fiber involvement in patients with different causes of polyneuropathy. *Neurol.* – 2009;256:1067-1075.
241. Mayfield J.A., Sugarman J.R.: The use of Semmes-Weinstein monofilament and other threshold tests for preventing foot ulceration and amputation in people with diabetes. *J. Fam. Pract.* – 2000;49:517–529.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

**Таблица А1. Классификация ДПН по степени тяжести**

<b>Стадия ДПН</b>	<b>Характеристика</b>
<b>Стадия 0</b>	Симптомов и признаков ДПН нет, автономные тесты отрицательные, при ЭНМГ исследовании моторных и сенсорных периферических нервов (не менее 2х на одной стороне) патологии не выявляется.
<b>Стадия 1 Субклиническая (1 А, 1 Б)</b>	1 А. Симптомов и объективных неврологических признаков ДПН нет. Сочетание 2-х любых изменений, выявленных при ЭМГ исследовании двигательных и сенсорного нервов на одной стороне, либо положительные автономные тесты (покой, проба с глубоким дыханием). 1Б. Жалоб нет. При клиническом обследовании выявляют 2 и более объективных неврологических признака ДПН на одной стороне.
<b>Стадия 2 Клиническая (2А, 2Б)</b>	2А. Характерные для ДПН жалобы. Чувствительные, двигательные, автономные нарушения, без признаков слабости сгибателей стопы (пациент может стоять на пятках). 2Б. Тоже + признаки слабости сгибателей стопы (пациент не может стоять на пятках).
<b>Стадия 3 Тяжелая</b>	Невропатия с нарушением трудоспособности и/или социальной адаптации.

**Таблица А2. Комбинированная шкала симптомов нейропатии в ногах (NIS LL)**

<b>Мышечная сила</b>	<b>Оценка (0-4 баллов)</b>		<b>Итого</b>
	<b>Справа</b>	<b>Слева</b>	
Сгибание бедра			
Разгибание бедра			
Сгибание колена			
Разгибание колена			
Тыльное сгибание стопы			
Подошвенное сгибание стопы			
Разгибание 1 пальца			
Сгибание 1 пальца			
<i>Суммарная оценка мышечной силы</i>			
<b>Рефлексы</b>	<b>Оценка (0-2 баллов)</b>		<b>Итого</b>
	<b>Справа</b>	<b>Слева</b>	
Коленный			
Ахиллов			
<i>Суммарная оценка рефлексов</i>			
<b>Чувствительность</b>	<b>Оценка (0-2 баллов)</b>		<b>Итого</b>
	<b>Справа</b>	<b>Слева</b>	
Прикосновение (10-граммовый монофиламент)			
Укол тупой иглой (Нейропен)			
Вибрация (Камертон 128 Гц)			
Суставно-мышечное чувство			
<i>Суммарная оценка чувствительности</i>			
<b>Суммарная оценка по шкале NIS LL</b>			
<b>Общий счет Правая сторона + Левая сторона = Сумма</b>			

*Примечание:* оценка мышечной силы проводилась по следующим критериям: 0 - мышечная сила в норме; 1 - снижение силы не более, чем на 25%; 2 - снижение силы не более, чем на 50%; 3 - снижение силы более, чем на 50%; 4 - отсутствие активных действий (паралич).

Рефлексы и чувствительность оценивались как: 0 - норма; 1 - снижены; 2 - отсутствуют. Оценка результатов по шкале NIS LL проводилась на обеих ногах с суммацией всех полученных баллов (максимальное значение - 28 баллов).