ЛИТЕРАТУРА

1. Romero R., Espinoza J., Goncalves L.F., et al. The role of inflammation and infection in preterm birth // Semin Reprod. Med. 2007. № 25. p. 21–39.
2. Сидорова И.С. Физиология и патология родовой деятельности — М.: Медицинское информационное агентство, 2006. - С. 42-114.
3. Carole R. Mendelson. Minireview: Fetal-Maternal Hormonal Signaling in Pregnancy and Labor // Mol. Endocrinol. 2009. Vol. 23. №7. P. 947–954.
4. Petraglia F., Imperatore A., Challis J.R. Neuroendocrine mechanisms in pregnancy and parturition // Endocrine Reviews. 2010. Vol. 31. №. 6. P. 783-816.
5. Sata F., Toya S. Proinflammatory cytokine polymorphisms and the risk of preterm birth and low birthweight in a Japanese population // Molecular Human Reproduction. 2002. Vol. 15. №. 2. P. 121–130.
6. Vodstrcil L.A. Decreased expression of the rat myometrial relaxin receptor (RXFP1) in late pregnancy is partially mediated by the presence of the conceptus / L.A. Vodstrcil, O. Shynlova, J.W. Verlander et al. // Biol. Reprod. – 2010. – Vol. 83. № 5. - P. 818–824.
7. Jocelyn N. Pennefather, Eva Patak et al. Regulation of the Stimulant Actions of Neurokinin A and Human Hemokinin-1 on the Human uterus: A corparison with Histamin // Biol Reprod. 2006. № 75. P. 334-341.
8. Кузьмина О.А. Проблема регуляции родовой деятельности в современном акушерстве // Международный медицинский журнал. - 2005. - № 10. - С. 61-64.
9. Подтетенев А.Д. Аномалии родовой деятельности / А.Д. Подтетенев, Н.В. Стрижова – М.: Медицинское информационное агенство, 2006. – 128 с.

ПОСТУПИЛА 26.07.2013

УДК 616-053.2+616.379-008.64:616.833-002

А.А. Афонин, Г.А. Галкина, М.В. Комкова, Н.В. Морозова

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЦИЛИАРНОГО И МОЗГОВОГО НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ У ДЕТЕЙ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИЕЙ

Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии
Россия, 344012, г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43. E-mail: endokrin@rniiap.ru

Цель: изучить роль цилиарного и мозгового нейротрофических факторов в развитии диабетической периферической нейропатии у детей и подростков с сахарным диабетом 1 типа (СД 1).

Материалы и методы: представлены результаты проведённого комплексного обследования 223 детей и подростков с СД 1. Оценивали клинико-функциональные параметры, свидетельствующие о формировании диабетической периферической нейропатии и содержание цилиарного и мозгового нейротрофических факторов в сыворотке крови у наблюдаемых пациентов.

Результаты: разработаны критерии ранней диагностики и прогноза тяжелого течения диабетической периферической нейропатии.

Выводы: установлено статистически значимое повышение в сыворотке крови уровней цилиарного и мозгового нейротрофических факторов, нарастающих при длительном декомпенсированном течении заболевания. Выявлены маркеры раннего формирования и прогностические признаки тяжелого течения диабетической периферической нейропатии у детей и подростков.

Ключевые слова: дети, сахарный диабет 1 типа, диабетическая нейропатия, цилиарный нейротрофический фактор, мозговой нейротрофический фактор.

A.A. Afonin, G.A. Galkina, M.V. Komkova, N.V. Morozova

CLINICODIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF CILIARY AND BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTORS IN CHILDREN WITH DIABETIC PERIPHERAL NEUROPATHY

Rostov Scientific and Research Institute of Obstetrics and Pediatrics
43, Mechnikova Str., Rostov-on-Don, 344012, Russia. E-mail: endokrin@rniiap.ru

Purpose: To investigate the role of ciliary and brain-derived neurotrophic factors in the development of diabetic peripheral neuropathy in children and teenagers with type-1 diabetes (T1D).

Materials and methods: The article contains check-up results of 223 children and teenagers with type-1 diabetes. The authors evaluated clinical and functional parameters, which indicate the formation of diabetic peripheral neuropathy, and the content of ciliary and brain-derived neurotrophic factors in the blood serum in the observed patients.

Results: The criteria of early diagnosis and prognosis of severe clinical course of diabetic peripheral neuropathy were developed.

Summary: Statistically significant increase of the levels of ciliary and brain-derived neurotrophic factors rising in case of long-term decompensated course of disease in the blood serum was determined. Markers of early formation and prognostic indicators of severe clinical course of diabetic peripheral neuropathy in children and teenagers were revealed.

Key words: children, type-1 diabetes, diabetic neuropathy, ciliary neurotrophic factor, brain-derived neurotrophic factor.

Введение

Одним из наиболее частых, но мало изученных осложнений сахарного диабета в детском возрасте является диабетическая периферическая нейропатия (ДПН) - дистальное симметричное поражение нервных волокон, преимущественно в нижних конечностях, характеризующееся развитием атрофии, дегенерации и демиелинизации аксонов [1, 2].

Это диктует необходимость разработки методов ранней диагностики ДПН, особенно на доклиническом этапе заболевания, оценки тяжести, прогноза течения и эффективных методов терапии.

В аспекте решения данной проблемы перспективным направлением является дальнейшее изучение патогенеза ДПН с позиций определения роли нейротрофических факторов в развитии этого осложнения сахарного диабета 1 типа (СД 1), так как согласно существующим современным представлениям формирование ДПН рассматривается как с точки зрения сосудистой, так и метаболической теорий.

Цель исследования: изучить роль цилиарного и мозгового нейротрофических факторов в развитии диабетической периферической нейропатии у детей и подростков с СД 1.

Материалы и методы

Проведено проспективное, рандомизированное, открытое исследование 223 детей и подростков с СД 1, находившихся на лечении в детском эндокринологическом отделении ФГБУ «РНИИАП» Минздрава России.

В зависимости от наличия или отсутствия ДПН, согласно классификации P.Dyck и P.Thomas [3], пациенты были разделены на 2 группы: в I группу (ДПН «-») вошли 89 человек (39,9%) без клинических и функциональных признаков ДПН; во II группу (ДПН«+») - 134 пациента (60,1%) с различной степенью выраженности ДПН. В группе (ДПН «+») были выделены две подгруппы: в первую подгруппу (ДПН «1+») были включены 69 больных (31,0%) с субклинической стадией ДПН; во вторую подгруппу (ДПН«2+») – 65 пациентов (29,1%) с клинической стадией ДПН. Контрольную группу составили 19 детей и подростков, не имевших нарушений со стороны углеводного обмена, нервной и эндокринной системы.

Клинические исследования включали количественную оценку неврологических изменений по Общей шкале неврологических симптомов - Total Symptoms Score (TSS), по шкале Нейропатического Дисфункционального Счета (НДС), анализирующих нарушения болевой, тактильной, вибрационной чувствительности, изменения сухожильных рефлексов.

Электромиографическое исследование (ЭМГ) нижних конечностей проводили по методике определения скорости распространения возбуждения (СРВ) по периферическим нервам на приборе «Нейромиан» (г.Таганрог).

Оценка степени компенсации углеводного обмена осуществлялась по уровню гликемического профиля и гликозилированного гемоглобина микроколоночным ионообменным методом («Human», Германия).

Уровень цилиарного нейротрофического фактора определяли диагностическими наборами для иммуноферментного анализа фирмы R&D Systems (США), мозгового нейротрофического фактора - наборами фирмы DSL (США).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием Excel-2007 и пакета прикладных программ Statistica-6. Оценивали значения медианы и интерквартильного размаха (25%,75%). Статистически значимые отличия между сравниваемыми группами - с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Для выявления взаимосвязи и взаимовлияния различных факторов использовали коэффициент корреляции по Спирмену (R).

Результаты и обсуждение

Анализ причин, влияющих на формирование и тяжесть течения диабетической периферической нейропатии у детей и подростков с СД 1, позволил установить, что ДПН формировалась в основном в подростковом периоде: среди больных с субклинической стадией ДПН было зарегистрировано 47,8% пациентов пубертатного возраста от 10 до 15 лет и 34,8% подростков от 15 до 18 лет. Среди лиц с клинической стадией ДПН – 32,3% составляли пациенты пубертатного периода и 67,7% - подростки 15 – 18 лет.

Анализ тяжести и интенсивности сенсомоторных нарушений, оцененных по шкале НДС, показал, что среди пациентов подгруппы ДПН «2+» выраженную ДПН (индекс по шкале НДС ≥14 баллов) имели 15,4% больных, умеренную ДПН (индекс НДС - 5-13 баллов) - 76,9% и соответствующий варианту нормы индекс по шкале НДС (0-4 балла) – 7,7% пациентов. В то же время среди больных с субклинической стадией ДПН индекс по шкале НДС от 0 до 4 баллов регистрировался у 66,7% пациентов и от 5 до 13 баллов – у 33,3%.

Сопоставление клинических данных с результатами диагностики поражения периферического нейро-моторного аппарата нижних конечностей согласно электромиографической методике определения СРВ по двигательным и чувствительным волокнам нервов нижних конечностей также обнаружило более выраженные нарушения изучаемых параметров у пациентов с клинической стадией ДПН. Выявленные изменения у пациентов с клинической стадией ДПН характеризовались снижением амплитуды М-ответа и СРВ по двигательным нервам, а также нарастанием резидуальной латентности (РЛ) в дистальных отделах двигательных нервов (рис. 1).

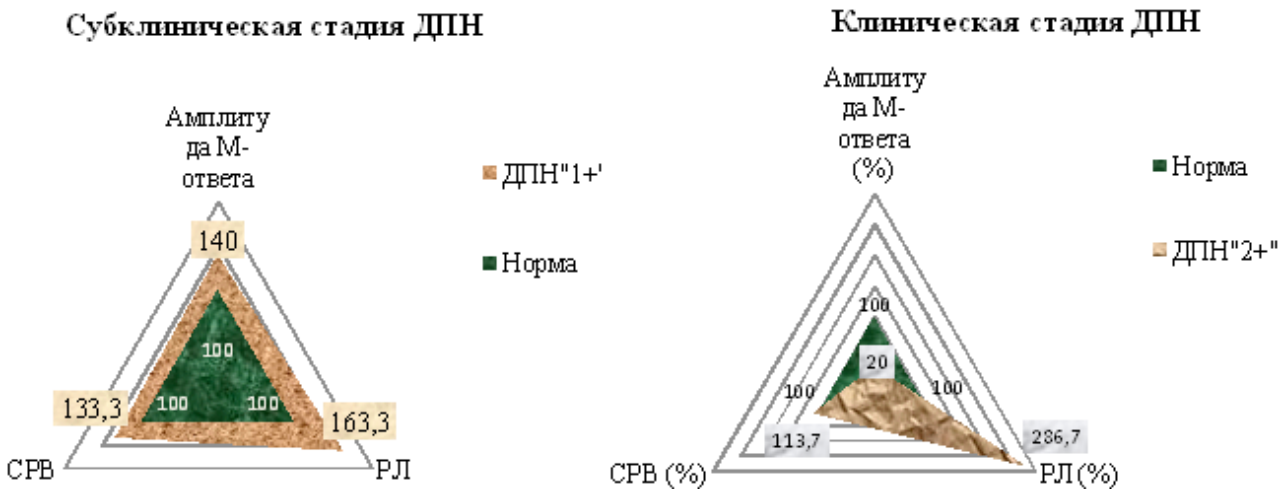

Рис. 1. Динамика электромиографических параметров у пациентов с различной стадией ДПН

Примечание: СРВ - скорость распространения возбуждения
РЛ – резидуальная латентность
Данные приведены в процентном отношении от нормы

Снижение амплитуды М-ответа свидетельствует об уменьшении количества активированных двигательных единиц в дистальных отделах конечностей с возможным вовлечением тонких волокон, что является характерным при нарушениях аксонального транспорта вследствие функциональной несостоятельности аксонов, либо частичной гибели аксонов или мышечных волокон [4]. Снижение СРВ и нарастание РЛ являются проявлением существенных изменений аксональных цилиндров, возможно частичной гибели аксонов, приводящих к вторичному демиелинизирующему процессу у обследованных пациентов с диабетической нейропатией. В результате этого нарушаются процессы проведения импульсов по нервному волокну, приводящие к прогрессированию ДПН.

Анализ причин формирования и клинико-функциональных особенностей течения ДПН в детском возрасте явился основанием к разработке новых прогностических критериев диагностики ДПН на основании изучения патогенетических механизмов поражения периферической нервной системы у больных с СД 1.

С целью выявления роли нейротрофических факторов в формировании ДПН у детей и подростков с СД 1 у 176 (79%) из 223 обследованных больных с СД 1 было оценено содержание в сыворотке крови цилиарного (ciliary neurotrophic factor, CNTF) и у 130 из 223 пациентов (58,3%) - мозгового (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) нейротрофических факторов.

Анализ полученных результатов выявил статистически значимое повышение уровня CNTF [20,4 (10,8; 43,1) пкг/мл] и BDNF [9283 (8417;9985) пкг/мл] в сыворотке крови больных с СД 1 в сравнении с группой контроля [12,2 (10,3;18,3) пкг/мл, p=0,001 и 7185 (6100;7996) пкг/мл, p=0,0001, соответственно].

Установлена прямая тесная взаимосвязь между изучаемыми концентрациями CNTF и BDNF (R= 0,76; p=0,0023), что свидетельствует об однонаправленности предполагаемых изменений. Возможная взаимосвязь между обменными нарушениями при сахарном диабете и экспрессией BDNF и CNTF на наш взгляд обусловлена тем, что рецепторы инсулина, также как часть рецепторного аппарата нейротрофинов, известны как рецепторные тирозинкиназы, то есть их внутриклеточные домены - тирозинкиназы, фосфорилирующие белки Ras-каскада, что, возможно, и является объединяющим фактором патогенетических нарушений.

Установлено, что уровень BDNF у пациентов с субоптимальным (HbA1c - 7,6 – 9,0%) контролем [9407 (8923; 12880) пкг/мл] и высоким (HbA1c >9,0%) риском декомпенсации СД 1 [9703 (8916;13395) пкг/мл] был достоверно выше, чем у больных с оптимальным (HbA1c <7,6%) контролем диабета [8798 (8077;9260) пкг/мл] (p=0,0005 и p=0,0002, соответственно). В то же время нарастание клинико-метаболической декомпенсации СД 1 у обследованных детей и подростков не сопровождалось существенными отличиями концентрации сывороточного уровня CNTF: у пациентов с оптимальным контролем – 20,9 (11,2;40,0) пкг/мл, у больных с высоким риском декомпенсации СД 1 – 20,4 (10,3;50,8) пкг/мл. Полученные в процессе исследования статистически значимые обратные умеренные корреляционные зависимости между уровнями CNTF и HbA1c (R= - 0,2523, p=0,04), BDNF и HbA1c (R= - 0,3729, p=0,02) подтвердили наличие взаимосвязи между уровнями нейротрофинов и показателями углеводного обмена у детей и подростков с СД 1.

Представляют интерес результаты, полученные при анализе содержания нейротрофических факторов у пациентов с различной стадией диабетической нейропатии (рис.2, 3).

Установлено, что у пациентов с субклинической стадией ДПН отмечалось статистически значимое повышение концентрации мозгового [9560 (9228;9895) пкг/мл] и цилиарного нейротрофического факторов [24,7(14,4;51,2) пкг/мл] по сравнению с контрольной группой [7185 (6100;7996) пкг/мл, p =0,0001 и 12,2 (10,3;18,3) пкг/мл, p=0,001, соответственно] и группой пациентов без ДПН [8464 (7932; 8956) пкг/мл, p=0,0001 и 18,5 (10,7; 26,8) пкг/мл, p=0,01, соответственно]. Повышение концентрации нейротрофических факторов в начальный период ДПН, вероятно, обусловлено рефлекторной экспрессией BDNF и CNTF шванновскими клетками в ответ на начинающиеся дегенеративные изменения аксонального аппарата с целью улучшения нейротрофики.

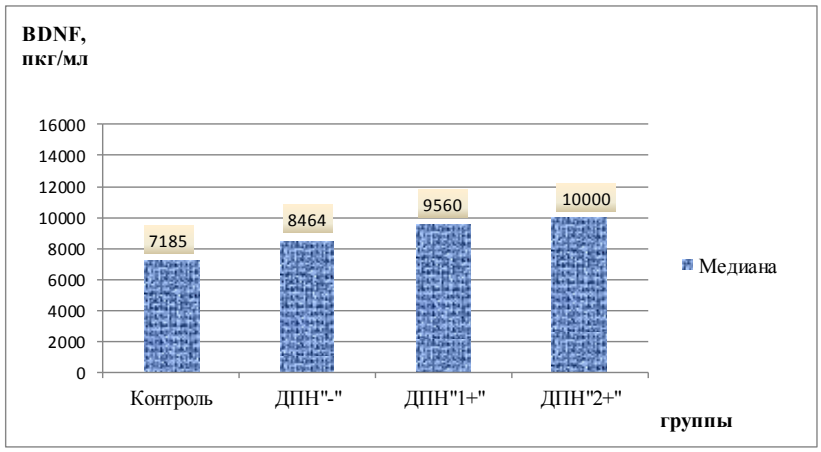

Рис. 2. Динамика уровня мозгового нейротрофического фактора у детей и подростков в зависимости от стадии диабетической периферической полинейропатии

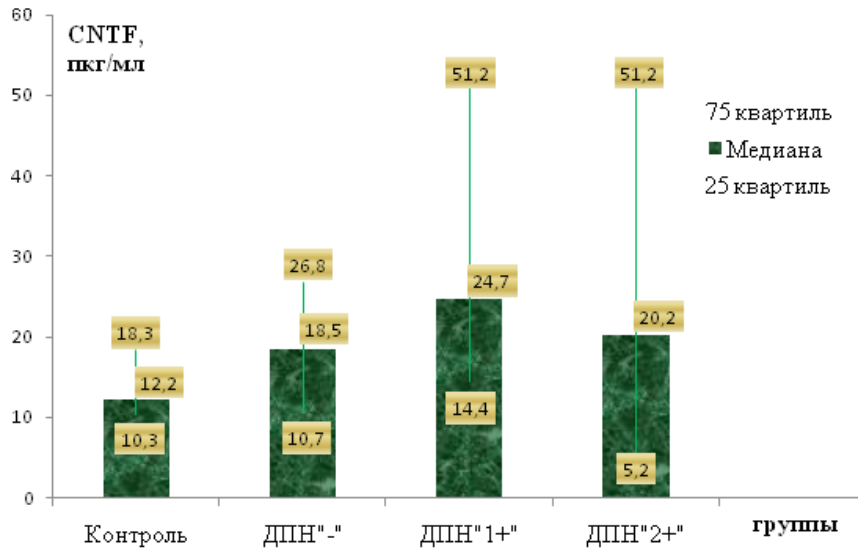

Рис. 3. Динамика уровня цилиарного нейротрофического фактора у детей и подростков в зависимости от стадии диабетической периферической полинейропатии

Сравнительный анализ клинических, лабораторных и электрофизиологических параметров выявил, что у детей и подростков с СД 1 без диабетической нейропатии имело место повышение уровня BDNF выше 9000 пкг/мл. Однако через 6 месяцев у этих больных выявлена субклиническая стадия ДПН, что позволило расценить данный показатель как ранний прогностический критерий формирования субклинической стадии ДПН, предшествующий электрофизиологическим изменениям («Способ прогнозирования диабетической периферической нейропатии у детей и подростков», патент на изобретение № 2273028 от 27.03.2006 г.). Точность данного метода составила 85,28%, чувствительность -89,47%; специфичность - 78,26%.

Кроме того установлено, что у части больных, не имеющих ЭМГ-признаков нейропатии, уровень CNTF превышал 30 пкг/мл, при этом у них в последующем диагностировалась субклиническая стадия ДПН. Это позволило предложить новый тест прогнозирования субклинической стадии ДПН, основанный на оценке поражения периферических нервно-мышечных волокон по уровню цилиарного нейротрофического фактора в сыворотке крови пациентов с СД 1.

По мере прогрессирования ДПН у пациентов с клинической стадией заболевания показатели BDNF в сыворотке крови имели тенденцию к повышению [10000 (9123,8; 13480) пкг/мл], а значения CNTF – тенденцию к снижению [20,2(5,2;51,2) пкг/мл]. Статистически значимых отличий от уровней нейротрофинов у больных с субклинической стадией не выявлялось (p=0,32 и p=0,08 соответственно).

Индивидуальный анализ клинических, функциональных и лабораторных параметров внутри группы ДПН «2+» выявил снижение экспрессии CNTF у 16 из 61 пациента (26,2%) с клинической стадией ДПН от 0,2 до 5,8 пкг/мл. Следует отметить, что анализируемые низкие показатели CNTF были достоверно ниже не только относительно значений CNTF у всех больных с СД 1, но и в 2 раза ниже показателей контрольной группы. Все пациенты со сниженной экспрессией CNTF были старше 15 лет, с длительностью СД 1 более 10 лет, с неудовлетворительным контролем, лабильным течением, наличием в анамнезе

гипо- и/или гипергликемических коматозных состояний, выраженной дислипемидемией, высокой суточной потребностью в инсулине (выше 1,5 ед/кг), с сопутствующими диабетическими осложнениями (ангиопатией, кардиопатией, нефропатией, гепатозом, липодистрофиями, некробиозом, хайропатией).

У данной группы больных выявлены также наиболее выраженные патологические ЭМГ параметры. Так, при проведении электромиографической методики определения СРВ имело место резкое снижение амплитуды М-ответа (<0,58 мв), СРВ по двигательному и сенсорному нервам (< 40 м/с). Показатель РЛ, свидетельствующий о проведении возбуждения по наиболее дистальным отделам, превышал более чем в 2 раза нормативные параметры - 6,78 (5,47;7,66) м/с. Все указанные патологические характеристики свидетельствуют не только о вовлечении в патологический процесс аксонального аппарата, но и о происходящей демиелинизации.

Учитывая, что основным предполагаемым местом экспрессии CNTF в периферической нервной системе являются шванновские клетки, снижение концентрации данного нейротрофина, вероятно, обусловлено истончением миелиновой оболочки и истощением, соответственно, резервных возможностей экспрессии [5-8], чем можно объяснить ухудшение клинических и электрофизиологических параметров у пациентов с клинической стадией ДПН, длительно болеющих СД 1.

Исходя из этого, для подтверждения роли цилиарного нейротрофического фактора в формировании тяжелого течения ДПН у детей и подростков, страдающих СД 1, был проведен статистический анализ полученных данных. С помощью разработанного макроса в среде Excel, используя метод построения характеристической ROC (Receiver-operating characteristic curve) - кривой, нами была получена таблица чувствительности и специфичности, анализ которой позволил найти точку разделения (cut off frequency) концентраций CNTF. При значениях 5,8 пкг/мл и ниже у 16 детей и подростков развивалось тяжелое течение ДПН, характеризующееся соответствующим комплексом клинических симптомов и электромиографических параметров.

В результате исследования впервые было доказано, что снижение уровня цилиарного нейротрофического фактора в сыворотке крови у детей и подростков с СД 1 до 5,8 пкг/мл и ниже является ранним прогностическим признаком тяжелой стадии ДПН (Патент на изобретение № 2339955 от 27.11. 2008 г.).

Анализ соответствия нового теста эталонному «золотому стандарту» - электромиографии, показал, что чувствительность теста по сывороточному уровню CNTF (68,9%) в 2 раза выше чувствительности ЭМГ-теста (31,1%), при практически одинаковой высокой специфичности обоих методов (89,5% и 94,7%, соответственно). Более высокая чувствительность предлагаемого способа прогнозирования тяжелого течения диабетической периферической нейропатии у детей и подростков позволяет по отрицательному результату с большей вероятностью исключить наличие ДПН или ее легкое течение. Это подтверждается и более высокими показателями прогностичности отрицательного результата (32,1% и 21,2% соответственно) и отношения правдоподобия для отрицательного результата – (3 и 1,6 соответственно).

Таким образом, можно сделать заключение о том, что в основе тяжелых клинических проявлений ДПН у детей и подростков лежит нарастающее на фоне декомпенсации СД 1 истощение синтеза CNTF, приводящее к дегенерации нейронов. Подтверждают полученные нами данные исследования A.P.Mizisin et al. [9], свидетельствующие о том, что дефицит CNTF в результате активации полиолового пути в шванновских клетках усугубляет нарушения в периферических нервах при экспериментальном диабете.

Заключение

У детей и подростков, страдающих СД 1, установлено статистически значимое повышение в сыворотке крови уровней цилиарного и мозгового нейротрофических факторов, нарастающих при длительном декомпенсированном течении заболевания. Наиболее выраженное увеличение уровня нейротрофических факторов, особенно мозгового, отмечается на начальных этапах формирования диабетической периферической нейропатии, что обусловлено рефлекторной экспрессией BDNF и CNTF шванновскими клетками в ответ на начинающиеся дегенеративные изменения аксонального аппарата с целью улучшения нейротрофики. По мере прогрессирования диабетической нейропатии отмечается снижение в сыворотке крови уровня цилиарного нейротрофического фактора (ниже 5,8 пкг/мл), что может служить ранним прогностическим признаком тяжелого течения диабетической периферической нейропатии у детей и подростков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Boulton A.J.M., Vinik A.I., Arezzo J.C. et al. Diabetic Neuropathies. A statement by the American Diabetes Association // Diabetes Care. – 2005. – Vol. 28. – P. 956–962.
2. Bloomgarden Z.T. Diabetic Neuropathy // Diabetes Care. - 2008. – Vol. 31. –P. 616–621.
3. Dyck P.J., Thomas P.K. Diabetic Neuropathy // 2-nd Edd. - Philadelphia, 1999. -265p.
4. Malik R.A., Veves A. Pathogenesis of Human Diabetic Neuropathy // Diabetic Neuropathy : clinical management. – Totowa, N.J.: Humana Press, 2007.– P.231–242.
5. Obata K., Yamanaka H., Dai Y. Contribution of degeneration of motor and sensory fibers to pain behavior and the changes in neurotrophic factors in rat dorsal root // Experimental Neurology. – 2004. – Vol. 188, N 1. – P. 149.
6. Gardiner J., Barton D., Overall R., Marc J. Neurotrophic Support and Oxidative Stress: Converging Effects in the Normal and Diseased Nervous System // Neuroscientist. - 2009. – Vol.15. – P. 47 - 61.
7. Maybodi L., Ende N., Chen H., Souayah N. A Novel Marker for Neuroinflammation in Diabetic Neuropathy // Neurology. - 2012. – Vol.78. - P03.195.
8. Timothy N. Spred1, a negative regulator of Ras–MAPK–ERK, is enriched in CNS germinal zones, dampens NSC proliferation, and maintains ventricular zone structure // Genes & Dev. – 2010. – Vol. 24. – P. 45 - 56.
9. Mizisin A.P., Vu Y., Shuff M., Calcutt N.A. Ciliary neurotrophic factor improves nerve conduction and ameliorates regeneration deficits in diabetic rats // Diabetes. – 2004. – Vol. 53. – P. 1807–1812.

ПОСТУПИЛА 26.07.2013