

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

**Косян Анята Амаяковна**

**КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД В ЛЕЧЕНИИ  
ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ПОЛИНЕЙРОПАТИИ**

14.01.02 – Эндокринология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
**Аметов Александр Сергеевич**  
доктор медицинских наук, профессор

Москва 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>5</b>
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>12</b>
1.1.Эпидемиология, медико-социальная и экономическая значимость сахарного диабета и диабетической нейропатии .....	12
1.2.Классические теории патогенеза диабетической нейропатии.....	14
1.2.1. Альтернативные пути метаболизма глюкозы.....	14
1.2.2. Место окислительного стресса в патогенезе диабетической нейропатии.....	18
1.2.3 Роль гомоцистеина в развитии диабетической нейропатии .....	23
1.3. Современные аспекты лечения диабетической нейропатии.....	30
1.3.1. Влияние АЛК на развитии диабетической нейропатии .....	32
1.3.2. Влияние витаминов группы В на развитие диабетической нейропатии .....	35
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>	<b>40</b>
2.1. Дизайн исследования .....	40
2.2. Методы исследования.....	43
2.3. Статистическая обработка.....	50
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....</b>	<b>52</b>
3.1. Клиническая характеристика пациентов на старте исследования .....	52
3.2.Оценка влияния повышенного уровня ГЦ на показатели антиоксидантных ферментов, вазографии, капилляроскопии и на функциональное состояние периферической нервной системы у пациентов с СД 2 типа на старте исследования.....	67
3.3. Клиническая характеристика пациентов, разделенных на группы.....	71
3.4. Оценка взаимосвязи между клинико-anamнестическими данными и лабораторно-инструментальными показателями .....	81
3.5. Оценка взаимосвязи между метаболическими показателями и показателями функционального состояния периферической нервной системы .....	82
3.6. Оценка взаимосвязи между метаболическими показателями и показателями антиоксидантных ферментов, витамина В12 и ГЦ.....	82
3.7. Оценка взаимосвязи между метаболическими показателями и показателями вазографии и капилляроскопии.....	82

3.8. Оценка взаимосвязи между уровнями ГЦ, витамина В12 и антиоксидантных ферментовю...	83
3.9. Оценка взаимосвязи между показателями функционального состояния периферической нервной системы и уровнями антиоксидантных ферментов, ГЦ и витамина В12.....	84
3.10. Оценка взаимосвязи между уровнями антиоксидантных ферментов, ГЦ, витамина В12 и показателями вазографии, капилляроскопии.....	86
3.11. Оценка взаимосвязи между показателями функционального состояния периферической нервной системы и капилляроскопии, вазографии.....	87
3.12. Динамика показателей углеводного и липидного обмена за 24 недели наблюдения...	87
3.13. Динамика уровней антиоксидантных ферментов, ГЦ, витамина В12.....	91
3.14. Динамика показателей вазографии.....	94
3.15. Динамика показателей капилляроскопии.....	96
3.16. Динамика показателей функционального состояния периферической нервной системы.....	99
3.17. Оценка взаимосвязи между динамикой показателей ГЦ, В12, уровней антиоксидантных ферментов и изменением функционального состояния периферической нервной системы у пациентов с СД 2 типа.....	108
3.18. Оценка взаимосвязи между динамикой метаболических показателей и изменением функционального состояния периферической нервной системы у пациентов с СД 2 типа.....	109
3.19. Оценка взаимосвязи между динамикой показателей вазографии, капилляроскопии и изменением функционального состояния периферической нервной системы у пациентов с СД 2 типа.....	109
3.20. Оценка взаимосвязи между динамикой показателей вазографии, капилляроскопии и динамикой показателей антиоксидантных ферментов, витамина В12 и ГЦ.....	109
3.21. Оценка взаимосвязи между динамикой показателей ГЦ, антиоксидантных ферментов и витамина В12.....	110
<b>ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>112</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>118</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>120</b>

<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....</b>	<b>120</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ .....</b>	<b>123</b>
<b>БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>125</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность диссертационной работы

На сегодняшний день в мире более 537 миллионов лиц в возрасте 20 - 79 лет страдает сахарным диабетом (СД) и 541 миллион имеет нарушение толерантности к глюкозе [90]. Около 90% от общего числа заболевших составляют пациенты с СД 2 типа. Более того, именно за счет постоянного роста количества больных с СД 2 типа распространенность заболевания приобрела эпидемический характер [98]. Ранняя инвалидизация и смертность связаны с хроническими осложнениями СД: макроангиопатией, микроангиопатией и нейропатией [73].

Наиболее распространенным осложнением диабета считается диабетическая нейропатия (ДН). Более чем в 50% случаев, осложняя течение СД, ДН является основной причиной, приводящей к снижению трудоспособности, увеличению инвалидизации и смертности пациентов [83].

Лечение ДН является одной из наиболее актуальных проблем современной клинической эндокринологии. Это обусловлено сложным генезом данного осложнения, что ограничивает возможности эффективного лечения диабетического поражения периферических нервов средством, влияющим лишь на углеводный обмен [39]. Исходя из этого, исследователи для лечения ДН рекомендуют применение таких препаратов, которые влияют на разные звенья патогенетического процесса данного осложнения [126].

Одним из механизмов развития ДН считается активация оксидативного стресса в условиях гипергликемии [126], что стало основой для применения антиоксидантного препарата альфа-липоевой кислоты (АЛК) для терапии данного осложнения [1, 180]. Эффективность и безопасность применения АЛК при ДН подтверждена в нескольких рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых исследованиях [180]. Клинические исследования показали, что трехнедельное применение АЛК приводит к значительному снижению неврологической симптоматики по шкале TSS (Total Symptoms Score - шкала общих симптомов) и неврологического дефицита по шкале NIS (Neuropathy Impairment Score - шкала невропатических нарушений) по сравнению с плацебо [1].

Повреждение эндоневральных сосудов микроциркуляторной системы имеет немаловажную роль в патогенезе ДН [60]. В основе повреждения сосудов микроциркуляторной системы лежит нарушение функций эндотелия [106].

Есть предположение, что снижение уровня витамина В12 может способствовать прогрессированию ДН [126]. Причина неврологических расстройств при этом обусловлена накоплением токсичного для нервной системы метилмалоната и ГЦ, вызывающих жировую дистрофию нейронов и демиелинизацию нервных волокон [122].

Витамины группы В применяются в лечении нейропатии разного генеза, в том числе ДН. Важнейшими витаминами из группы В, которые используются при терапии ДН, являются тиамин (В1), пиридоксин (В6) и цианокобаламин (В12). Как монотерапия, так и комбинированный прием витаминов группы В способствуют уменьшению клинического проявления нейропатии и улучшению функций периферических нервов [126], что может быть обусловлено не только коррекцией уровня цианокобаламина, но и нейротрофическими или нейротропными свойствами данных витаминов.

Несмотря на полученные данные об эффективности применения АЛК и витаминов группы В, по сей день существуют споры насчет алгоритма использования вышеперечисленных препаратов в терапии ДН, обусловленной их кратковременным эффектом.

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что разработка алгоритма терапии ДН должна обеспечивать эффективность и безопасность, основываться на современных представлениях о механизмах формирования ДН и охватывать разные стороны патологического процесса, приводящего к развитию повреждения нервов.

В данном исследовании для терапии ДН были выбраны препараты АЛК в комбинации с витаминно-метаболическим комплексным (ВМК) препаратом (в состав которого входят кокарбоксилаза, цианокобаламин, трифосаденина динатрия тригидрат и никотинамид) с учетом полученных данных об эффективности при их отдельном применении и возможности назначения согласно инструкции для терапии ДН [126].

### **Степень разработанности темы**

Достаточно много публикаций посвящено вопросам эффективности применения антиоксидантного препарата АЛК в терапии ДН у пациентов с СД [1, 180], но оценка показателей антиоксидантной системы на фоне терапии АЛК не проводилась.

При незначительном снижении уровня витамина В12 (метаболический дефицит) наблюдается существенное повышение уровня ГЦ в крови, что в свою очередь способствует повреждению нервов [69]. Следовательно, коррекция дефицита витамина В12 может привести к снижению уровня ГЦ и устранению данной проблемы. Следует отметить, что на сегодняшний день общепринятые критерии (консенсус) в диагностике дефицита витамина В12 отсутствуют

[62], что создает дополнительные трудности в ранней диагностике, профилактике и терапии этого состояния.

Доказательства поражения микрососудистого русла при развитии диабетических осложнений приведены во многих исследованиях, но данные о его роли в развитии ДН ограничены и противоречивы [133].

Таким образом, на данном этапе изучения влияния эндотелиальной дисфункции, уровней В12, ГЦ, антиоксидантных ферментов на функции периферической нервной системы будут способствовать разработке алгоритма терапии ДН у пациентов с СД 2 типа. В связи с этим предпринята данная работа.

### **Цель исследования**

Разработать и оценить эффективность комплексной медикаментозной терапии диабетической полинейропатии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

### **Задачи исследования**

1. Изучить влияние комплексной медикаментозной терапии диабетической полинейропатии на клинические проявления диабетической полинейропатии и на функцию периферических нервов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.
2. Изучить влияние эндотелиальной дисфункции и нарушения микроциркуляции на клинические проявления диабетической полинейропатии и на функцию периферических нервов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.
3. Изучить влияние уровней витамина В12, антиоксидантных ферментов, гомоцистеина на клинические проявления диабетической полинейропатии и на функцию периферических нервов при сахарном диабете 2 типа.
4. Разработать алгоритм терапии диабетической полинейропатии с учетом оценки динамики показатели гомоцистеина, ферментов антиоксидантной системы, витамина В12, функции эндотелия и микрососудистого русла у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

### **Предмет исследования**

Медикаментозная коррекция диабетической полинейропатии с учетом патогенетических механизмов ее развития при сахарном диабете 2 типа.

## **Объект исследования**

Пациенты с сахарным диабетом 2 типа с диабетической полинейропатией.

## **Научная новизна результатов исследования**

1. Доказано, что у пациентов с сахарным диабетом 2 типа комплексная терапия диабетической полинейропатии витаминно-метаболическим комплексным препаратом в сочетании с альфа-липоевой кислотой приводит к статистически достоверному уменьшению клинических проявлений диабетической полинейропатии и улучшению электрофизиологических показателей сенсорных и моторных нервов нижних конечностей.
2. Установлено, что пациенты с сахарным диабетом 2 типа со снижением уровней антиоксидантных ферментов, с дефицитом (в том числе с метаболическим дефицитом) витамина В12, гипергомоцистеинемией и эндотелиальной дисфункцией представляют собой группу повышенного риска поражения периферических нервов. В связи с этим предложена концепция использования оценки вышеперечисленных показателей для определения степени нарушения функций периферических нервов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.
3. Установлены механизмы коррекции функции эндотелия, уровней гомоцистеина, витамина В12 и антиоксидантных ферментов на фоне комплексной терапии диабетической полинейропатии витаминно-метаболическим комплексным препаратом в сочетании с альфа-липоевой кислотой.
4. Разработан алгоритм комплексного медикаментозного подхода в лечении диабетической полинейропатии с использованием антиоксидантного и витаминно-метаболического комплексного препарата.

## **Теоретическая и практическая значимость**

Установлено, что снижение уровней антиоксидантных ферментов, дефицит (в том числе метаболический дефицит) витамина В12, гипергомоцистеинемия и эндотелиальная дисфункция способствуют повреждению периферических нервов. Следовательно, при выборе терапии диабетической полинейропатии должны быть учтены все вышеперечисленные факторы.

Алгоритм, разработанный в результате сравнительного изучения эффективности комплексного подхода в лечении диабетической полинейропатии в зависимости от патогенетических причин и других факторов, продемонстрировал преимущества и позволил применять данную терапию в ежедневной клинической практике.

## **Методология и методы исследований**

Методологической особенностью работы является системный подход к обследованию пациентов с сахарным диабетом 2 типа с диабетической полинейропатией с применением современных методов диагностики. Все исследования выполнены на высоком методологическом уровне с использованием сертифицированного оборудования. Для анализа полученных результатов применялся статистический метод с использованием пакета прикладных статистических программ.

## **Личный вклад автора**

Соискателем проведен поиск научной литературы в отечественных и зарубежных источниках, обоснована степень разработанности темы, цель и задачи, разработан дизайн исследования, методологическая база работы. Осуществлен подбор исследовательского материала и выполнены лабораторные и инструментальные исследования. Проведен статистический анализ полученных результатов. Автором представлены аргументированные выводы и практические рекомендации на основе результатов исследования, что согласуется с задачами и целью диссертационной работы.

## **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Выявлено, что у пациентов с сахарным диабетом 2 типа с диабетической полинейропатией, имеющих нарушение функции эндотелия, наблюдается ухудшение электрофизиологических показателей икроножного нерва, указывающее на участие эндотелиальной дисфункции в процессе формирования патологии периферических нервов.
2. Установлено, что при снижении уровней антиоксидантных ферментов, дефиците (в том числе метаболическом дефиците) витамина В12 и гипергомоцистеинемии регистрируется более выраженное клиническое проявление диабетической полинейропатии и нарушение функций периферических нервов, что подтверждает значение данных нарушений, как дополнительного фактора поражения периферических нервов при сахарном диабете 2 типа.
3. Доказано, что медикаментозная коррекция уровней витамина В12, гомоцистеина и антиоксидантных ферментов с помощью применения витаминно-метаболического комплексного препарата в сочетании с альфа-липоевой кислотой приводит к уменьшению клинического проявления диабетической полинейропатии и улучшению функций периферических нервов у

пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Полученные результаты позволяют рекомендовать данную терапию пациентам с диабетической полинейропатией.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует паспорту специальности 14.01.02 – Эндокринология. Медицинские науки и областям исследования: п. № 4 «Этиология и патогенез эндокринных заболеваний, клинические проявления, методы диагностики заболеваний эндокринной системы с использованием клинических, лабораторных, инструментальных и других методов исследования, дифференциальная диагностика различных форм нарушения гормональной регуляции» и п. № 5 «Лечение эндокринных заболеваний: гормонотерапия, химиотерапия, хирургическая коррекция, лучевая терапия, патогенетическая терапия. Разработка новых методов лечения эндокринных заболеваний (генотерапия, поиск локаторов и стимуляторов секреции гормонов и др.)».

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

Достоверность результатов исследования, обоснованность выводов и практических рекомендаций базируется на достаточном количестве клинических наблюдений и использованием высокоточных лабораторных, инструментальных методов исследования. Для обеспечения доказательности полученных результатов были применены современные инструменты статистического анализа.

Проведение диссертационного исследования было одобрено Комитетом по этике научных исследований ГБОУ ДПО РМАПО Министерства здравоохранения России (Протокол № 5 от 19 апреля 2016 г.).

Апробация диссертации состоялась 15 апреля 2022 года на расширенном заседании кафедры эндокринологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Министерства здравоохранения РФ. Протокол № 1.

Основные положения диссертации представлены и обсуждены на Ежегодной конференции молодых ученых с международным участием «Горизонты медицинской науки» ФГБОУ ДПО РМАНПО Министерства здравоохранения России (Москва, 2017), Ежегодных конференциях молодых ученых «Актуальные вопросы в эндокринологии» ФГБОУ ДПО РМАНПО Министерства здравоохранения России (Москва, 2017, 2018, 2019), International Conference “Process Management and Scientific Developments” (Бирмингем, ноябрь 2019).

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты проведенного исследования внедрены в клиническую практику эндокринологического отделения Городской клинической больницы им. С.П. Боткина ДЗМ (акт от 4 апреля 2022 г.). Основные научные положения диссертационной работы используются в научно-педагогической работе кафедры эндокринологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (акт от 30 марта 2022 г.).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, из них в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований, – 12.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения и списка литературы, включающего 185 источников, из них 35 отечественных и 150 зарубежных. Работа иллюстрирована 32 рисунками и 58 таблицами.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Эпидемиология, медико-социальная и экономическая значимость сахарного диабета и диабетической нейропатии

С каждым годом число людей, страдающих сахарным диабетом (СД), стремительно увеличивается. По данным Международной Диабетической Федерации (IDF) в период с 2000 - 2009 гг. количество пациентов с СД выросло на 88%, из 151 миллиона стало 285 миллионов. На сегодняшний день в мире более 537 миллионов лиц в возрасте 20 - 79 лет (9,5%) страдают СД и около 541 миллионов имеют нарушение толерантности к глюкозе [90]. С увеличением возраста распространенность СД растет и в возрасте 65-99 лет достигает 19,3% [144]. Более того, по прогнозам IDF ожидается дальнейший рост СД во всех возрастных группах. К 2030 году в мире ожидается прирост числа пациентов с СД до 643 млн, а к 2045 году до 783 млн [90].

Около 90% от общего числа заболевших составляют пациенты с СД 2 типа. Более того, именно за счет постоянного роста количества больных с СД 2 типа распространенность заболевания приобрела эпидемический характер [98].

В Российской Федерации (РФ), как во всем мире, наблюдается рост заболеваемости СД. Начиная с 2000 г. численность пациентов с СД в РФ выросла в 2,2 раза. Только в период 31.12.2017 - 01.01.2019 гг. по данным Федерального Регистра СД в РФ общая численность пациентов с СД увеличилась на 85 620 и из 4 498 955 (3,06% населения РФ) стала 4 584 575 (3,12% населения РФ). При этом основная доля приходится на больных с СД 2 типа (СД 1 типа составляет 256,2 тыс., СД 2 типа – 4,24 млн, а другие типы СД – 89,9 тыс.) [17, 35]. По последним данным Федерального Регистра СД в РФ общая численность пациентов с СД продолжает расти и на январь 2021г. составила 4 814 529 человек.

По причине СД за 2019 год число смертей насчитывает 4,2 млн, что составляет 11,3% от всех смертей в мире. Почти половина этих смертей приходится на людей трудоспособного возраста. Увеличение смертности по причине СД, инвалидность, снижение трудоспособности и другие осложнения, вызванные СД, негативно влияют на развитие экономики во всем мире. По данным экспертов IDF к концу 2019 года на лечение диабета было потрачено 760 млрд долл. США, что составляет около 10% от всех расходов на здравоохранение. Примерно половина этих затрат приходится на осложнения, вызванные диабетом (макроангиопатия, микроангиопатия и нейропатия) [73, 90].

В РФ, по данным 2016г, расчетные затраты на СД 2 типа составили около 569 млрд руб. в год, при этом 34,7% от этой суммы приходится на основные осложнения диабета (ишемическая

болезнь сердца, инфаркт миокарда, инсульт). Кроме этого, 426,7 млрд рублей в год расходуется в связи с временной нетрудоспособностью, инвалидизацией, преждевременной смертностью [18].

Следовательно, с ростом случаев заболевания СД и его осложнениями увеличивается смертность, инвалидизация и значительно снижается количество трудоспособного населения во всем мире, что в свою очередь приводит к увеличению затрат на лечение диабета и его осложнения.

Одним из наиболее распространенных и тяжелых хронических осложнений диабета является ДН. По данным разных источников ДН в 30- 50% случаев осложняет течение СД, являясь основной причиной, приводящей к снижению трудоспособности, увеличению инвалидизации и смертности пациентов [83]. ДН, охватывая все виды нервов (соматические и вегетативные), характеризуется наличием симптомов и/или признаков дисфункции нервной системы [125]. Следовательно, ДН проявляется в нескольких различных формах, включая сенсомоторную, фокальную/мультифокальную и автономную [125]. Наиболее распространенной формой ДН является диабетическая дистальная симметричная полиневропатия, на долю которой приходится около 75% ДН [67]. Последняя, в свою очередь, приводит к развитию тяжелого осложнения – синдрома диабетической стопы с хроническим язвенным дефектом [49, 82, 85, 104, 145]. Стоимость лечения синдрома диабетической стопы представляет собой одну из наиболее затратных патологий при СД. Так, по данным Международной Диабетической Ассоциации, лечение больных с синдромом диабетической стопы в 5 раз повышает стоимость расходов на лечение [89] ДН.

На сегодняшний день прилагаются значительные усилия для своевременной диагностики и терапии ранних нарушений СД, а также для обучения пациентов, направленных на профилактику синдрома диабетической стопы. Но, несмотря на это, язвенные поражения стоп продолжают оставаться основной причиной огромного количества ампутаций нижних конечностей, значительно снижая трудоспособность и качество жизни пациентов и увеличивая расходы на лечение и риск смертности [83]. Этому свидетельствуют данные Федерального Регистра СД в РФ, на основании которых можно сделать вывод, что в период 2013-2017гг не наблюдалось значимого снижения числа ампутаций у взрослых пациентов с СД и общее количество ампутаций составило 207,6 случаев на 10 тысяч населения в год [35].

По данными Галстян Г. Р. и соавторов от 2013г. затраты в РФ на лечение пациентов с синдромом диабетической стопы с использованием высокотехнической медицинской помощи в среднем увеличиваются пятикратно и составляют более чем 147 тыс. руб./случаев. Применение высокотехнической медицинской помощи в лечении синдрома диабетической стопы значительно превышает норматив финансирования из федерального бюджета по профилю

«Эндокринология» (43,3 тыс. руб.). Также следует отметить, что затраты на лечение больных с более тяжелым вариантом течения данного синдрома многократно превышают затраты на лечение больных с более легким течением. Кроме этого, величина итоговых затрат зависит от вида используемой терапии. При оперативном лечении затраты (344,9 тыс. руб.) увеличиваются более чем шестикратно по сравнению с консервативной терапией. (54,3 тыс. руб.) [14].

Вышеприведенные данные еще раз подтверждают, что диабет и его осложнения, в частности, ДН, являются не только медицинской, но и социально-экономической проблемой. Следовательно, разностороннее изучение механизмов развития, а также разработки более эффективных методов профилактики и лечения ДН, которые позволят значительно снизить степень распространённости и выраженности данного осложнения, остаются актуальной задачей для здравоохранения.

## **1.2. Классические теории патогенеза диабетической нейропатии**

Согласно современным представлениям о патогенезе ДН основную роль играет повышение уровня глюкозы в крови - гипергликемия [47,114, 126, 163].

Кроме этого, по мнению исследователей, неблагоприятными прогностическими факторами для развития ДН являются компоненты метаболического синдрома, такие как повышение в крови уровня триглицеридов и липопротеидов низкой плотности, а также возраст пациента, длительность сахарного диабета, употребление алкоголя и курение [54, 56, 94, 159, 171].

Согласно гипергликемической теории патогенеза диабетических осложнений причиной развития ДН становится нарушение метаболизма глюкозы. Увеличение концентрации глюкозы в организме выше физиологических границ происходит в процессе нарушения метаболизма глюкозы на фоне относительной или абсолютной недостаточности действия инсулина, что способствует активации альтернативных путей метаболизма глюкозы [53]. Последние, включая целый каскад обменных и структурных нарушений на разных этапах своего развития, приводят к поражению нервной ткани.

### **1.2.1. Альтернативные пути метаболизма глюкозы**

#### *Полиоловый путь утилизации глюкозы*

Один из путей утилизации глюкозы, в котором она превращается в сорбитол и фруктозу под влиянием фермента альдозоредуктазы, получил название полиоловый путь. Обычно в данную реакцию вступает не более 1% глюкозы, и она направлена для получения фруктозы в процессе синтеза глюкозаминов [158].

В условиях гипергликемии в инсулинонезависимых тканях (нервная ткань, клетки эндотелий, хрусталик, клетки нефронов), в которые глюкоза поступает неконтролируемо по градиенту концентрации, ее уровень превышает норму в несколько раз. Это приводит к активизации полиолового пути окисления глюкозы, осуществляя около 30% ее метаболизма [158].

В результате в нервных клетках под влиянием фермента альдозоредуктазы, коферментом которого является никотинамидадениндинуклеотид фосфат (НАДФН), глюкоза восстанавливается в сорбитол, а НАДФН окисляется (Рисунок 1.1). В свою очередь, под влиянием сорбитолдегидрогеназы сорбитол окисляется до фруктозы, где НАД (никотинамидадениндинуклеотид) выступает в качестве кофермента. На этом этапе кофермент НАД восстанавливается. Восстановленная форма НАД является высокоэнергетическим промежуточным соединением, легко отдающим электроны в цепь переноса электронов в митохондрии. В этом процессе перенос электронов с НАД на кислород по дыхательной цепи способствует образованию свободных радикалов, что в дальнейшем может стать причиной активации оксидативного стресса [109, 130].



**Рисунок 1.1. Полиоловый путь утилизации глюкозы**

При длительно существующей гипергликемии полиоловый путь обмена глюкозы становится причиной повышения соотношения окисленной формы НАДФН к восстановленной форме (НАДФ<sup>•</sup>/НАДФН<sub>2</sub>). Как известно НАДФН необходим для восстановления глутатиона и синтеза монооксида азота (NO). В результате в условиях гипергликемии со снижением уровня НАДФН снижается концентрация восстановленной формы глутатиона и NO. Восстановленный глутатион способен на прямую нейтрализовать свободные радикалы, а также может быть донором атомов водорода для функционирования антиоксидантного фермента глутатионпероксидазы (ГПО). При СД снижение концентрации глутатиона, NO и активности ГПО в дальнейшем становится причиной ослабления антиоксидантной защиты организма [23, 32].

В условиях гипергликемии с увеличением концентрации фруктозы и сорбитола в нервной ткани снижается уровень миоинозитола. В свою очередь, потеря миоинозитола, важного компонента фермента натрий/калиевой аденозинтрифосфат-азы (Na/K АТФ-азы), нарушает

нормальную физиологию нерва [33]. Кроме этого, повышение уровня сорбитола и фруктозы, а также снижение уровня миоинозитола и активности Na/K АТФ-азы в нейронах становятся причиной интранейронального накопления ионов Na, задержки жидкости, отека миелиновой оболочки и дегенерации периферических нервов [19].

#### *Неферментативное гликирование белков*

При гипергликемии происходит неферментативное гликирование внутриклеточных и внеклеточных белков, липидов и нуклеиновых кислот организма [160]. Между глюкозой и аминогруппой другой молекулы сначала образуются обратимые (основание Шиффа, продукт Амадори), а потом более стабильные и неподдающиеся расщеплению конечные продукты неферментативного гликирования (КПГ). Важно отметить, что уровень КПГ не уменьшается при нормализации углеводного обмена, более того, некоторые из КПГ могут формировать ковалентные связи с аминогруппами других белковых молекул [7]. Такие реакции гликирования могут изменять структуру белков и других структур организма, вызывая целый ряд нарушений. Внутриклеточное образование КПГ способствует нарушению экспрессии генов, ответственных за образование различных белков, что способствует развитию патологии морфологических структур. Образование КПГ белковых структур базальной мембраны сосудов приводит к ее утолщению, являясь причиной сужения просвета капилляров и нарушения их функции (снижение эластичности сосудистой стенки, изменение ответа на сосудорасширяющее действие NO и др.). Изменения структуры белков приводит к активации иммунной системы и при захвате модифицированных белков со стороны макрофагов и моноцитов высвобождаются факторы некроза опухоли (TNF  $\alpha$ ), интерлейкин - 1 (IL-1), инсулиноподобный фактор роста (IGF-1), тромбоцитарный ростовой фактор (PDGF), которые инициируют нейровоспаление и приводят к демиелинизации нервных волокон [53, 72].

КПГ связываются специальными рецепторами (pКПГ) на поверхности эндотелиальных клеток и клеток гладкой мускулатуры сосудов. Активация pКПГ приводит к усилению продукции воспалительных цитокинов, активных форм кислорода (АФК) и молекул адгезии, что вызывает снижение активности NO и повышение проницаемости сосудистой стенки. В результате активируется оксидативный стресс и нарушаются функции эндотелия, тем самым усугубляя нарушение обменных процессов в клетках [74, 132, 176].

Неферментативному гликированию подвергаются и антиоксидантные ферменты, что нарушает их функцию и может стать причиной ослабления активности антиоксидантной защиты организма и активации оксидативного стресса [21].

У пациентов с длительно существующим сахарным диабетом концентрация конечных продуктов гликирования как минимум в 2 раза выше по сравнению со здоровыми субъектами. Более того биопсия нерва у пациентов с ДН демонстрирует накопление КПГ в

миелинизированных и немиелинизированных нервных волокнах, периневральном пространстве, в эндотелиальных клетках и перицитах эндоневральных сосудов, что свидетельствует о прямом поражении нервной ткани КПП, а также о поражении сосудов, питающих нервную ткань [7].

#### *Активация протеинкиназы-С*

Гипергликемия внутри клетки увеличивает синтез диацилглицерина, который является критическим активирующим кофактором для классических изоформ протеинкиназы-С,  $\beta$ ,  $\delta$  и  $\alpha$ . Под влиянием протеинкиназы-С продукция эндотелиального NO уменьшается, а сосудосуживающий эндотелин-1 увеличивается. Также повышается ядерный фактор- $\kappa$ B, инициируя нейровоспаление [53].

#### *Увеличенный поток путей гексозаминов*

При СД 2 типа инсулинорезистентность снижает активность ключевого фермента пентозфосфатного цикла глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) [22].

Одновременно внутриклеточная гипергликемия приводит к активации фермента гексозаминного пути глютамин-фруктоза-6-фосфат-амидотрансфераза (ГФАТ), что становится причиной усиления потока обмена глюкозы через гексозаминовый путь [72]. Из поступающей в клетку глюкозы в физиологических условиях через гексозаминовый путь метаболизируется от 2 до 5% глюкозы, а при гипергликемии поток глюкозы по этому пути увеличивается в несколько раз. Излишнее накопление гексозаминов ингибирует активность эндотелиальной монооксид азот-синтазы (NO-синтаза), вызывает гиперпродукцию провоспалительных цитокинов, становясь причиной повреждения нервов и сосудов. [9, 29].

В свою очередь снижение активности фермента пентозфосфатного пути обмена глюкозы-Г6ФДГ, приводит к значительному уменьшению уровня восстановленной НАДФН. Как известно пентозфосфатный путь обмена глюкозы является основным источником данного кофермента, который необходим для восстановления глутатиона и синтеза NO. Это приводит к снижению биодоступности NO и истощению запасов восстановленного глутатиона, что в свою очередь может стать причиной нарушения функций эндотелия и активации оксидативного стресса [75, 134].

Исходя из вышеописанных механизмов можно сделать вывод, что гипергликемия приводит к развитию ДН сложными патологическими путями, каждый из которых способен самостоятельно повреждать нервную ткань. Этому свидетельствуют результаты клинических исследований, где блокирование каждого из вышеперечисленных путей нарушенного метаболизма глюкозы привело к уменьшению симптомов ДН. Но важно указать на тот факт, что блокировка отдельных путей альтернативного метаболизма глюкозы являлась недостаточной для профилактики и полной регрессии ДН [71, 130].

### 1.2.2. Место окислительного стресса в патогенезе диабетической нейропатии

Ряд исследований показал, что стойкая гипергликемия, кроме вышеперечисленных обменных нарушений, индуцирует гиперпродукцию супероксид аниона радикала ( $O^{\cdot-}_2$ ) путем аутоокисления глюкозы и нарушает процесс переноса электрона в митохондриях [87, 115, 126, 173]. В свою очередь супероксид разрушает митохондриальную ДНК и в ответ к этому активируется специальная полимеразы (PARP), которая блокирует гликолиз за счет инактивации одного из ферментов гликолиза – глицеральдегид-3-фосфата дегидрогеназы (ГАФДГ) [64, 65, 66].

Наконец, снижение активности ГАФДГ в дальнейшем становясь причиной активации альтернативных путей метаболизма глюкозы, усугубляет нарушение обмена глюкозы, что в свою очередь усиливает образование  $O^{\cdot-}_2$  [53]. Чрезмерное производство  $O^{\cdot-}_2$  в условиях гипергликемии стимулирует производство других активных АФК (молекулы, имеющие на внешней орбите неспаренный электрон, что придает им повышенную реакционную способность), в том числе перекись водорода ( $H_2O_2$ ), гидроксильный ( $OH^{\cdot}$ ) и пероксидный ( $HO^{\cdot}_2$ ) радикалы, пероксидный ион ( $HO^{\cdot}_2$ ) [3].

Необходимо отметить, что в физиологических условиях существует динамическое равновесие между выработкой АФК и их нейтрализацией. В этом процессе в роли главного регулятора выступают экзогенно вводимые вещества с антиоксидантной активностью (витамины А, С, Е, фолиевая кислота, глутатион, коэнзим Q10 и др.) и ферменты антиоксидантной защиты (СОД, ГПО, каталазы) [34]. Под влиянием СОД, из  $O^{\cdot-}_2$  в реакции дисмутации образуется менее реакционноспособная перекись водорода ( $H_2O_2$ ). В дальнейшем  $H_2O_2$  в реакции, катализируемой каталазой, распадается на инертные молекулы кислорода ( $O_2$ ) и воды ( $H_2O$ ). Другой путь распада  $H_2O_2$  до воды происходит под действием системы ГПО при участии глутатиона, от уровня которого зависит активность ГПО. Кроме этого, ГПО участвует в восстановлении свободных жирных кислот, нуклеотидов, нуклеиновых кислот и белков. В процессе нейтрализации свободных радикалов с помощью ГПО происходит окисление глутатиона, который затем восстанавливается под влиянием глутатионредуктазы в присутствии НАДФН [4].

В норме антиоксидантная система работает как буфер, нейтрализуя свободные радикалы. При патологических состояниях, когда неоднократно усиливается образование АФК, антиоксидантная система истощается, становясь причиной нарушения равновесия окислительно-восстановительного баланса организма [53].

Причиной нарушения окислительно-восстановительного баланса организма при СД является длительно существующая гипергликемия, что приводит к истощению ресурсов антиоксидантной системы за счет уменьшения запасов глутатиона, гликозилирования и

инактивации антиоксидантных ферментов и гиперпродукции  $O^{\cdot-}_2$  [21, 107, 137]. Вследствие этого, нарушенный оксидативно-восстановительный баланс организма приводит к активации оксидативного стресса и его развитию, а также прогрессированию диабетических осложнений, в том числе ДН [72]. Влияние окислительного стресса на функциональное состояние периферических нервов было обнаружено с помощью нейрофизиологических методов. С использованием ЭНМГ была выявлена взаимосвязь между интенсивностью окислительного стресса и величиной амплитуды М-ответа, а также скоростью распространения возбуждения [20].

При активации оксидативного стресса образующееся большое количество АФК бесконтрольно взаимодействует с белками, липидами, а также ДНК и РНК организма. С белками АФК образует гидропероксиды, что может изменить третичную структуру белков и даже вызывать их агрегацию и денатурацию. Это приводит к нарушению ферментативной и регуляторной активности многих процессов. Прямое повреждающее влияние АФК на ДНК характеризуется разрывом цепи, окислением оснований, их модификацией, образованием гидропероксидов ДНК, повреждением хромосом. С липидами АФК образуют перекисные соединения. АФК способны вступать в химические реакции с полиненасыщенными жирными кислотами клеточных мембран, в том числе и нервных клеток, а также липопротеинов плазмы крови, что приводит к образованию липидных и липоперекисных радикалов. Последние атакуют соседние молекулы фосфолипидов приводя к их окислению и образованию новых свободных радикалов. В результате развивается цепная реакция, которая играет важную роль в клеточной патологии [4].

В нервной ткани под влиянием АФК происходят изменения физико-химических свойств мембран нейронов и возникает дисбаланс веществ, входящих в состав миелина. Снижается уровень фосфатидилсерина и сфингомиелина на фоне кратковременного увеличения уровня фосфатидилхолина и эфиров холестерина. В результате нарушения уровней этих веществ, а также активации протеолитических ферментов, происходит распад миелина нервной ткани, из-за чего нервная ткань теряет способность проводить нервный импульс и транспортировать инозитол-соединение, необходимое для образования компонентов миелина [28].

Кроме этого, в условиях активации оксидативного стресса образующиеся в больших количествах АФК, которые, как упоминалось выше, выступая в роли окислителей клеточных компонентов, приводят к повреждению митохондриальной, ядерной ДНК и запускают апоптоз в том числе и в нервных клетках [147].

Анатомические особенности периферической нервной системы делают ее более уязвимой к повреждающим факторам. В первую очередь это обусловлено скудным кровоснабжением нерва, что делает ее особенно уязвимой к ишемии. Кроме этого, у ганглиозных клеток очень длинные аксоны и перенос питательных веществ по их длине значительно затруднен, что в свою

очередь способствует быстрому повреждению более длинных и тонких нервов. Наиболее уязвимой частью нервной клетки является аксон. При повреждении аксонов нервных волокон происходит дегенерация аксонального цилиндра, в следствии нарушается аксоноплазматический транспорт, что приводит к гибели дистальных участков нейронов [175].

Патологические изменения при ДН характеризуются в первую очередь дегенерацией аксонов тонких безмиелиновых волокон, уже после и миелинизированных волокон [96, 143]. Повреждение миелинизированных волокон проявляется расширением эндоневрального пространства, повреждением шванновских клеток (леммоцитов) и формированием участков демиелинизации [138, 139].

При повреждении нерва происходит нарушение его функций, которое проявляется снижением как скорости, так и сил проведения нервного импульса. Скорость распространения возбуждения по нервным волокнам у больных СД снижается приблизительно на 0,5 м/с в год, что в основном обусловлено потерей миелиновой оболочки, а также значительной утратой крупных аксонов. Регенерация аксона происходит очень медленно. В физиологических условиях аксон в человеческом нерве вырастает со скоростью на 1 мм/день. Поврежденные фрагменты миелиновой оболочки способны регенерироваться быстрее за счет деления шванновских клеток [175].

Нарушения функций периферических нервов можно выявить при оценке электрофизиологических показателей периферической нервной системы с помощью ЭНМГ. В случае аксонопатии наблюдается снижение амплитуды моторного и/или сенсорного ответа, которое в последующим неуклонно прогрессирует. В случае демиелинизации происходит снижение скорости распространения возбуждения по нервам, увеличение резидуальной латентности, изменение F-волн. Снижение скорости распространения возбуждения по моторным и сенсорным нервам может проявляться уже на ранней стадии развития нейропатии, но в последующем длительное время останется стабильной. Следует учитывать, что легкое снижение скорости проведения по двигательным волокнам может отражать не столько демиелинизацию, сколько значительную утрату крупных аксонов [52].

Симптоматика диабетической дистальной симметричной полиневропатии начинается с дистальных отделов нижних конечностей, иннервируемых наиболее длинными волокнами, и затем по мере вовлечения все более коротких волокон распространяется в проксимальном направлении. В первую очередь страдает болевая и температурная чувствительность, а также регуляция потоотделения и терморегуляция, что объясняется наиболее ранним вовлечением немиелинизированных и тонких миелинизированных волокон. В меньшей степени и на более позднем этапе поражаются крупные миелинизированные волокна, обеспечивающие глубокую

чувствительность, и в еще меньшей степени – двигательные волокна. Поэтому слабость и атрофия мышц у большинства больных отсутствуют либо бывают выражены слабо [99].

Ряд исследователей считают, что повреждение эндоневральных сосудов микроциркуляторной системы в условиях оксидативного стресса имеет немаловажную роль в патогенезе ДН [60]. В основе повреждения сосудов микроциркуляторной системы лежит нарушение функций эндотелия [106]. Выстилая изнутри стенки всех сосудов, эндотелий способен реагировать на механические и химические воздействия, активно вырабатывая вазоактивные вещества, регулирующие тонус сосудов и кровотока в тканях. Важным из вазоактивных веществ являются монооксид азота (NO), простоциклины, эндотелин-1, ангиотензин II и тромбоксан A2. Эндотелий также вырабатывает анти- и прокоагулянты, обеспечивая текучесть крови [129, 135]. В физиологических условиях внутри сосудистая стенка преобладает антикоагулянтным, сосудорасширяющим, антиоксидантным, противовоспалительным и антитромботическим эффектом [153]. Этому способствует гладкая поверхность и положительный заряд эндотелия, а также синтез эндотелиальными клетками соответствующих биологически активных веществ. Под влиянием повреждающих агентов (механических, инфекционных, обменных, иммуннокомплексных и т. п.), резко меняется направление эндокринной активности эндотелия в противоположную сторону: усиливается образование коагулянтов и вазоконстрикторов, препятствуя кровопотере. При продолжительном воздействии патогенных факторов повреждаются клетки эндотелия, обнажается субэндотелиальный слой, что приводит к дисфункции эндотелия. В таких случаях эндотелий начинает играть ключевую роль в патогенезе ряда системных патологий (атеросклероз, гипертония, инсульты, инфаркты и др.), поскольку довольно существенно увеличивается синтез оксидантов, вазоконстрикторов, агрегантов и тромбогенных факторов [2, 111, 141, 153, 154].

Несомненно, патогенез эндотелиальной дисфункции многофакторен, но многие авторы считают, что основным и общим механизмом, за которым следует нарушение вазоактивного, воспалительного механизмов, гемостатического и окислительно-восстановительного гомеостазов в сосудистой системе организма является активация оксидативного стресса. Усиленное образование АФК при нарушении окислительно-восстановительного баланса организма, блокируя активность NO-синтазы и конъюгируясь с NO, приводит к снижению биодоступности NO [2]. Последний не только поддерживает сосудистый тонус, являясь одним из самых мощных вазодилататоров, но и выполняет ряд других важных функций, участвуя в регуляции физиологических процессов в сердечно-сосудистой системе и препятствуя атерогенезу. Антиатерогенные свойства NO реализуются за счет ингибирования миграции и пролиферации гладкомышечных клеток, т. е. образования неоинтимы и гипертрофии сосудов [2]. Под влиянием NO уменьшается агрегация, прилипание и инфильтрация сосудистой стенки

нейтрофилов, моноцитов и тромбоцитов. Таким образом, NO препятствует развитию воспаления и атеросклеротического процесса в сосудистой стенке. При СД в условиях активации оксидативного стресса снижается биодоступность NO, что создает благоприятные условия для активации тромбообразования и медиаторов воспаления, приводя к структурному повреждению эндотелиальных клеток. Еще одной причиной повреждения эндотелиальных клеток является высокий уровень пероксинитрита, который образуется в ходе воздействия АФК с NO [72, 185]. Пероксинитрит мощный окислитель, легко проникает через фосфолипидные мембраны и индуцирует нитрозилирование белковых субстратов ДНК и липидов, становясь причиной структурных и функциональных повреждений, а также гибели клеток организма. Из-за нитрозилирования белков притупляется активность антиоксидантных ферментов, в том числе СОД (регулятор биоактивности NO), и эндотелиальной NO-синтазы, что усугубляет снижение биодоступности NO [84, 119, 120, 128]. В совокупности эти изменения приводят к ангиоспазму, удвоению базальной мембраны сосудов, пролиферации эндотелиальных клеток, пристеночному отложению фибрина, утолщению стенок и сужению просвета капилляров [121]. Вследствие нарушения эндотелиальной функций и патологических изменений в капиллярной сети (изменение размеров капилляров, изменение соотношения диаметров капилляров венозного и артериального отдела, увеличение их разветвлений/кустистости и уменьшения плотности) развивается ангиопатия, нарушение микроциркуляции и ишемия [133]. Ангиопатия развивается и в сосудах, питающих нервы - «vasa nervorum». В результате нарушается кровоснабжение нерва, развивается ишемия и полное разрушение нервных волокон [121, 175].

Таким образом, в следствии дисфункции эндотелия и изменении структуры микроциркуляторного русла нарушается кровоснабжение в органах, что в свою очередь, усиливая оксидативный стресс, еще больше усугубляет нарушение метаболических процессов и прогрессирование диабетических осложнений [106, 154].

Патологическое влияние оксидативного стресса на функции эндотелия было доказано на экспериментальных моделях изолированных лейкоцитов человека и мышей с дефицитом фермента СОД. В этом исследовании было продемонстрировано нарушение эндотелийзависимой дилатации сосудов под влиянием митохондриального  $O_2^{\cdot-}$  и других АФК. Авторы исследования показали, что нарушение функций эндотелия связано со снижением активности NO-синтазы, причиной которого стало чрезмерное образование АФК. Кроме того, дефицит фермента СОД способствовал не только увеличению уровня митохондриального супероксида, но и образованию цитозольного и митохондриального пероксинитрита [100].

Проанализировав вышеизложенное, можно сделать вывод, что истощение антиоксидантной системы и активация оксидативного стресса, а также нарушение эндотелиальной функции в условиях гипергликемии играют ключевую роль в развитии ДН.

Следовательно, определение уровня показателей антиоксидантной системы и функционального состояния эндотелия могут быть использованы в качестве биологических маркеров для прогнозирования диабетического поражения периферических нервов, а также могут стать методом оценки эффективности используемых мер в терапии ДН.

### 1.2.3 Роль гомоцистеина в развитии диабетической нейропатии

В последние годы накопленные данные в научной литературе говорят о повышенном уровне ГЦ – ГГЦ, как о факторе, поражающем нервную систему у пациентов с СД 2 типа. Следует подчеркнуть, что ГГЦ достаточно распространена среди пациентов с СД 2 типа и составляет примерно 30% [86]. Несмотря на то, что по данной проблеме крупномасштабные исследования отсутствуют, тем не менее многие зарубежные и отечественные авторы в своих наблюдениях выявили тот факт, что ГГЦ вносит большой вклад в развитии диабетической нефропатии, ретинопатии и макрососудистых осложнениях [50]. Кроме этого, по мнению многих авторов ГГЦ является фактором риска, осложняющим течение целого ряда сердечно-сосудистых и нейродегенеративных процессов [45, 101, 136, 166].

#### *Влияние ГЦ на активацию оксидативного стресса*

Одним из главных механизмов патологического влияния ГГЦ на органы и ткани, как считают многие авторы, является активация оксидативного стресса [93].

ГЦ в организме подвергается окислению с образованием гомоцистеиновой кислоты. Как ГЦ, так и гомоцистеиновая кислота способны стимулировать рост активных АФК в цитоплазме нейронов, становясь причиной апоптоза этих клеток [10]. Кроме этого, гомоцистеиновая кислота, взаимодействуя с веществами, регулирующими окислительно-восстановительный баланс клеток (эндогенные тиолы: метионин, цистеин, таурин, глутатион, сероводород, липоевая кислота, полисульфиды и др.), генерирует образование  $O^{\cdot}_2$  и восстанавливается, превращаясь в ГЦ. С повышением уровня ГЦ значительно увеличивается образование как  $O^{\cdot}_2$ , так и других АФК. В научной литературе есть исследования, подтверждающие, что даже субфизиологическая концентрация ГЦ (от 1 до 10 мкмоль/л) способна генерировать образование АФК [93]. Также было доказано, что ГГЦ приводит к истощению антиоксидантной системы, таких как ГПО и глутатион, что становится причиной ослабления антиоксидантной защиты организма [168].

Следовательно, накопление АФК в больших количествах и истощение антиоксидантной системы в условиях ГГЦ, приводят к активации оксидативного стресса, что становится причиной поражения нервной ткани и сосудов микроциркуляторной системы, в том числе «*vasa nervorum*» [168].

### *Влияние ГЦ на функцию эндотелии сосудов*

Кроме активации оксидативного стресса, ГГЦ, так же как гипергликемия, способна вызывать нарушение функций эндотелия, что в свою очередь способствует развитию и прогрессированию диабетических осложнений.

Исследователи в своих наблюдениях выявили, что высокий уровень ГЦ коррелирует с повышенным риском развития сосудистых заболеваний [170]. Дальнейшие эпидемиологические исследования доказали, что ГГЦ ассоциируется с повреждением сердечно-сосудистой системы, независимо от других факторов риска. Многие авторы считают, что возможными механизмами, с помощью которых ГЦ вызывает поражение сосудов, являются повреждение эндотелия, за счет снижения биодоступности NO, подавление активности антиоксидантных ферментов, стимуляция воспаления и активации оксидативного стресса [127, 149, 162].

Связь ГГЦ и эндотелиальной дисфункции было доказано как *in vitro*, так и *in vivo*. В ряде исследований было продемонстрировано, что эндотелийзависимая вазодилатация (ЭФ) у пациентов с ГГЦ была значительно хуже, что способствует развитию эндотелиальной дисфункции [58].

### *Причина развития ГГЦ при сахарном диабете 2 типа*

ГЦ является серосодержащей аминокислотой, которая образуется в организме в ходе метаболизма незаменимой аминокислоты метионина. Затем ГЦ, подвергаясь реметилированию под влиянием метионинсинтетазы, обратно превращается в метионин. Этот процесс является источником дополнительного метионина для образования S-аденозилметионин, который служит в качестве донора метил группы нескольких реакций с участием ДНК, РНК и белков [140]. Кроме этого, ГЦ вступает в реакцию транссульфирования, превращаясь в нетоксичную аминокислоту цистеин, которая является предшественником антиоксидантного пептида глутатиона [57]. Реметилирование и транссульфирование - основные пути утилизации ГЦ, осуществляются ферментами, активность которых зависит от наличия витаминов В6, В12 и активной формы фолиевой кислоты, где витамин В12 выступает ключевым коферментом в метаболизме ГЦ (Рисунок 1.2). Совокупность этих процессов обеспечивает сохранение уровня ГЦ в крови в рамках физиологических границ [122, 172].



**Рисунок 1.2. Основные метаболические пути гомоцистеина**

(ЦТС– цистатионсинтаза, МС– метионсинтаза, В12 – витамин В12 (цианкобаламин), В6 – витамин В6 (пиридоксин), ФК – фолиевая кислота, SAM – S-аденозилметионон, SAG – S-аденозингомоцистеин)

Основная масса ГЦ в крови связана с белками или цистеином, только его незначительная часть находится в свободном виде. Свободный ГЦ очень быстро окисляется в гомоцистеиновую кислоту. При клиническом анализе крови в виде «общего ГЦ» определяют все его формы. Нормальный диапазон общего ГЦ в плазме здоровых людей составляет 5–15 мкмоль/л. Термин ГГЦ используют тогда, когда уровень ГЦ выше 15 мкмоль/л [10].

Повышение уровня ГЦ ассоциируется с такими факторами, как пол, возраст, почечная недостаточность, гипопункция щитовидной железы, курение, злоупотребление алкоголем, а также дефицит витаминов В6, В12 и фолиевой кислоты [148].

Из многочисленных причин нарушения утилизации ГЦ наиболее важным и специфическим при СД 2 типа является дефицит витамина В12, развивающийся в значительной степени на фоне приема сахароснижающего препарата метформина. За счет дефицита витамина В12 блокируется один из основных путей метаболизма ГЦ – реметилизация [140]. Более того, при незначительном снижении уровня витамина В12 (метаболический дефицит) наблюдается существенное повышение уровня ГЦ в крови и/или моче. Это означает, что уже на стадии метаболического дефицита витамина В12, который протекает бессимптомно, наблюдается клинически значимое повышение уровня ГЦ [69].

*Причины возникновения и методы ранней диагностики дефицита витамина В12 при сахарном диабете 2 типа*

У пациентов с СД 2 типа, помимо основных причин развития дефицита витамина В12 (аутоиммунная деструкция париетальных клеток желудка со сниженной продукцией внутреннего фактора Касла, сниженное потребление богатой этим витамином пищи, злоупотребление алкоголем, прием некоторых препаратов (ингибиторов протонной помпы, блокаторов H<sub>2</sub>-гистаминовых рецепторов, антацидов) и др.), существуют специфические для этого заболевания факторы (чрезмерные диетические ограничения при лечении диабета, диабетическая макро- и микроангиопатия и др.), которые способствуют нарушению всасывания питательных веществ в том числе кобаламина [110]. Кроме этого, в последнее время в научной литературе обсуждается роль сахароснижающего препарата метформина в развитии дефицита витамина В12 у пациентов с СД 2 типа. Прием метформина приводит к мальабсорбции кобаламина, что обусловлено его отрицательным влиянием на моторику желудочно-кишечного тракта, кальций-зависимое всасывание витамина В12 кишечной мембраной и секрецию внутреннего фактора Касла [61, 165, 172].

Снижение сывороточного уровня витамина В12 начинает наблюдаться уже через 3 месяца после начала терапии метформином, а степень выраженности дефицита витамина В12 зависит от дозы и длительности приема метформина [42, 59]. В настоящее время метформин, являясь препаратом первой линии терапии СД 2 типа, рекомендуется врачами более 50% пациентов и предпочтительно комбинируется с другими сахароснижающими препаратами [39].

Доказательства того, что метформин может привести к дефициту витамина В12 у пациентов с СД 2 типа можно встретить в некоторых исследованиях. В недавнем метаанализе, где проанализировали тридцать одно исследование, авторы еще раз доказали, что пациенты с СД 2 типа находящиеся на терапии метформином имели значительно более высокий риск дефицита витамина В12, чем те пациенты, которые находились на другой сахароснижающей терапии [169].

Учитывая распространённость СД в мире [90], а также то, что около 90% от общего числа заболевших это пациенты с СД 2 типа [98], становится понятным, что распространенность дефицита витамина В12 у пациентов, принимающих метформин может приобрести масштабный характер [142, 177].

Распространенность дефицита витамина В12 среди пациентов СД 2 типа, получающих метформин, по разным данным достигает 30-50% [63, 126]. Снижение уровня витамина В12 у пациентов с СД 2 типа, отрицательно влияя на нервную систему, функции эндотелия и сердечно-сосудистую систему, может способствовать прогрессированию диабетических осложнений [63, 126]. Причиной неврологических расстройств при дефиците витамина В12 является нарушение обмена метионина, что приводит к накоплению токсичного для нервной системы метилмалоната

и ГЦ, вызывающих жировую дистрофию нейронов и демиелинизацию нервных волокон. Кроме этого, при дефиците кобаламина, с замедлением окисления жирных кислот, происходит накопление в цереброспинальной жидкости фактора некроза опухоли и снижение эпидермального фактора роста нервов, что усугубляет поражение нервной системы [113]. Исследования показывают, что такие изменения происходят на ранней стадии дефицита витамина В12 [124]. Именно поэтому у значительного количества пациентов до развития нарушения гемопоэза (мегалобластная анемия и панцитопения) наблюдается поражение нервной системы (спинного мозга (подострая комбинированная дегенерация боковых и задних столбов, или фуникулярный миелоз); головного мозга (деменция); периферических нервов конечностей (дистальная полинейропатия)), которое в большинстве случаев носит необратимый характер [37].

Выше изложенные данные стали основой для Американской Диабетической Ассоциации (АДА) рекомендовать периодическое ежегодное измерение уровня витамина В12 в крови при длительном применении метформина, особенно у пациентов с анемией или с периферической нейропатией [39, 103].

Однако до сегодняшнего дня не существует международного согласительного документа (консенсуса) относительно критериев и методов диагностики дефицита витамина В12, что создает дополнительные трудности в ранней диагностике, профилактике и терапии этого состояния [62]. Помимо методов диагностики дискуссионными являются референсный диапазон витамина В12, а также пороговые значения, которые соответствуют его дефициту [146].

По данным некоторых исследователей референтные диапазоны витамина В12 для взрослого населения составляет 145–569 пмоль/л [63]. Кроме этого, в научной литературе более часто показатели витамина В12 представлены в пмоль/л, а в разных лабораториях в нг/л ( $\text{нг/л} \times 0,738 = \text{пмоль/л}$ ) [79], а также в пг/мл ( $\text{пг/мл} : 1,355 = \text{пмоль/л}$ ), что может создать трудности для восприятия и требовать дополнительных расчетов [63]. Как известно  $\text{нг/л} = \text{пг/мл}$ , следовательно при расчетах уровня витамина В12 можно воспользоваться следующей формулой  $\text{пг/мл} = \text{нг/л}$   $\text{пмоль/л} = \text{пг/мл} \times 0,738 = \text{пг/мл} : 1,355 = \text{нг/л} \times 0,738 = \text{нг/л} : 1,355$ .

По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) статус витамина В12 у взрослых оценивается уровнем кобаламина в крови. ВОЗ рекомендует концентрацию кобаламина  $>221$  пмоль/л считать показателем нормального уровня витамина В12, в диапазоне 148–221 пмоль/л — низкого уровня В12, а концентрация кобаламина ниже 148 пмоль/л — дефицита В12. Но важно отметить, что в рекомендациях ВОЗ не учтен возрастной фактор [79].

На сегодняшний день во многих исследованиях для оценки статуса витамина В12 рекомендуется использовать пороговые значения и определения, согласующиеся с рекомендациями ВОЗ с учетом возрастных особенностей. По этим рекомендациям концентрация

кобаламина  $>250$  пмоль/л считается показателем нормального уровня витамина В12, в диапазоне 150–249 пмоль/л - показателем низкого, а  $<149$  пмоль/л - дефицита витамина В12. [79].

Важно отметить, что некоторые исследователи предлагают пороговые значения концентрации кобаламина, как показателя метаболического дефицита витамина В12, повысить от 150 до 400 пмоль/л, особенно у пациентов с СД в возрасте старше 60 лет из-за высокого риска развития неврологической дисфункции у данной возрастной группы [63, 126].

Хотя предпочтительным первым тестом для диагностики дефицита витамина В12 является измерение общего содержания кобаламина в крови, но чувствительность данного показателя далеко не 100% и не отражает статус клеточного содержания витамина В12. Следовательно, в ряде случаев для ранней диагностики дефицита витамина В12 требуется определение более чувствительных маркеров [62], к которым можно отнести определение уровней метилмалоната, ГЦ и холотранскобаламина в крови [124].

Холотранскобаламин (активный витамин В12) — это комплекс кобаламина и транспортного белка транскобаламина в крови. Он является биодоступным для клеток организма и составляет всего 10 – 30% от циркулирующего в крови витамина В12. Остальные 70 – 90% витамина В12 в основном связаны с гаптокоррином, являются биологически инертны и имеют более длительный период полувыведения, чем холотранскобаламин. Следовательно, при возникновении отрицательного баланса витамина В12 в клетках, первым снижается концентрация холотранскобаламина. Его уровень  $<25$  пмоль/л свидетельствует о дефиците В12, а в диапазоне 25–70 пмоль/л - о низком уровне витамина В12 [80]. У пациентов имеющие риски развития дефицита витамина В12, уровень холотранскобаламина в диапазоне 23 до 75 пмоль/л является индикатором данного состояния и требует более детального анализа с использованием оценки других маркеров [79].

Следует отметить, что определение уровня холотранскобаламина, в свою очередь, не обладает высокой информативностью в диагностике дефицита витамина В12, поскольку снижение его уровня при дефиците транспортного белка транскобаламина может создать картину псевдодефицита кобаламина [36].

Следующими маркерами для диагностики витамина В12 считаются метилмалонат и ГЦ. Верхние пороговые значения для метилмалоната в плазме варьируются от 0,27 до 0,75 мкмоль/л, но его уровень  $>0,75$  мкмоль/л почти всегда указывают на дефицит витамина В12 [62, 80]. Исследование, в котором для диагностики дефицита витамина В<sub>12</sub> или фолиевой кислоты в качестве теста первой линии оценивали концентрацию ГЦ в крови, было выявлено, что его уровень  $> 9$  мкмоль/л, указывал на дефицит данных витаминов [79]. Уровень ГЦ выше 13 мкмоль/л [102], а в некоторых исследованиях выше 20 мкмоль/л, при исключении других причин

вызывающих ГГЦ, говорит о дефиците витамина В12 [80]. Но следует подчеркнуть, что оба маркера, в свою очередь, имеют некоторые ограничения в своем применении: определение уровня метилмалоната в основном осуществляется способом газовой хроматографии/масс-спектрометрии, который является дорогим методом и не имеет широкого применения в клинической практике; повышение уровня ГЦ в крови не всегда обусловлено дефицитом витамина В12 [95].

Поскольку все предложенные методы для диагностики дефицита витамина В12 не обладают 100% специфичностью и имеют некоторые ограничения, во многих исследованиях в алгоритме диагностики дефицита данного витамина рекомендуется использовать одновременное определение как минимум двух маркеров [62].

Fedosov S.N. и соавторы, исследуя показатели витамина В12, холотранскобаламина, ГЦ и метилмалоната в крови у 5211 лиц, применяя сложные математические и статистические расчеты, предложили алгоритмы диагностики дефицита витамина В12. В этом исследовании были оценены значение отдельных маркеров при диагностике дефицита витамина В12, а также «комбинированный» показатель статуса витамина В 12 (4сВ12), который является строго выведенной математической моделью, объединяющей все четыре маркера: витамина В12; холотранскобаламина; метилмалоната и ГЦ, с учетом возрастного фактора и уровня фолатов. Диапазон 4сВ12 составляет от +1,5 до -2,5, где значение 1,5 интерпретируется как повышение уровня кобаламина, а -2,5 как дефицит витамина В12 (Таблица 1.1) [70].

Хотя полученные данные при сравнении с показателями некоторых исследований получили 100% совпадение, по словам некоторых авторов они носят рекомендательный характер и могут меняться при более масштабных исследованиях [70]. Основными недостатками 4сВ 12 являются стоимость и относительная недоступность всех тестов в рутинной практике [146].

Проанализировав вышеизложенное, можно сделать вывод, что для оценки влияния дефицита витамина В12, а также ГЦ на степень выраженности ДН у пациентов с СД 2 типа с одной стороны требуются разработки диагностических критериев для раннего выявления дефицита витамина В12 у данной категории пациентов, а с другой стороны требуется проведение дальнейших исследований с обязательным использованием электрофизиологических тестов для оценки степени нарушения функций нервной системы в условиях дефицита витамина В12 и ГГЦ.

**Таблица 1.1.** — Диапазоны комбинированного статуса витамина В12, их эквивалентность отрезной точки по отдельным параметрам (пороговый уровень) и клиническая интерпретация для исследователей и клиницистов

Комбинированный статус витамина В <sub>12</sub>	Эквивалентность отрезной по отдельным параметрам (пороговый уровень)	Интерпретация
Повышенный В <sub>12</sub> >1,5	В <sub>12</sub> > 650 Холотранскобаламин > 190 ГЦ <8,0 Метилмалонат <0,11	Биологические эффекты высокого содержания витамина В12 до конца не изучены
Адекватный В <sub>12</sub> от -0,5 до 1,5	186 < В <sub>12</sub> < 650 37 < холотранскобаламин < 190 13,6 > ГЦ > 8,0 0,35 < Метилмалонат < 0,11	Ожидается, что он будет поддерживать нормальные функции, зависящие от В12.
Низкий В <sub>12</sub> от -1,5 до -0,5	119 < В <sub>12</sub> < 186 20 < Холотранскобаламин < 37 19,2 > ГЦ > 13,6 0,84 < Метилмалонат < 0,35	Субклиническая недостаточность. Отсутствие гематологических изменений, имеются незначительные неврологические нарушения
Возможный дефицит В <sub>12</sub> от -2,5 до -1,5	116 < В <sub>12</sub> < 119 8,4 < Холотранскобаламин < 20 51 > ГЦ > 19,2 1,7 < Метилмалонат < 0,84	Возможные проявления дефицита витамина В12
Вероятный дефицит В <sub>12</sub> < -2,5	В <sub>12</sub> < 116 Холотранскобаламин < 8,4 ГЦ > 51 Метилмалонат > 1,7	Клинические проявления дефицита витамина В12
Единицы: витамин В12 и холотранскобаламин выражены в пмоль/л, а ГЦ и метилмалонат в мкмоль/л. Таблица адаптирована из Fedosov SN и соавторы.		

### 1.3. Современные аспекты лечения диабетической нейропатии

На сегодняшний день оптимальный метаболический контроль является основополагающим звеном в терапии всех осложнений диабета, в том числе и ДН [33].

Но адекватный гликемический контроль эффективно предотвращает развитие и прогрессирование ДН при СД 1 типа, а при СД 2 типа может незначительно замедлять ее прогрессирование [38, 41, 91, 105].

Этому свидетельствует недавний метаанализ, в который были включены данные из 17 рандомизированных исследований, оценивалась связь между контролем уровня глюкозы и ДН у пациентов с СД 1 и 2 типа. Анализ полученных данных демонстрирует, что контроль уровня глюкозы снизил риск и степень проявления ДН у пациентов с СД 1 и 2 типа, но более значимый эффект наблюдался у пациентов с СД 1 типа [55].

По всей видимости, это связано со сложностью генеза ДН при СД 2 типа, что ограничивает возможности эффективного лечения и профилактики диабетического поражения периферических нервов средством, влияющим лишь на углеводный обмен [55]. Исходя из этого исследователи для лечения ДН рекомендуют применение таких препаратов, которые влияют на разные звенья патогенетического процесса данного осложнения. Из этого ряда известны блокаторы альдозоредуктазы, сосудорасширяющие препараты, ингибиторы протеинкиназы-С, ингибиторы образования КПП, антиоксиданты, тиамин и другие [88]. Но следует подчеркнуть, что клиническое применение многих из вышеперечисленных средств ограничено из-за серьезных побочных эффектов. Кроме этого, ни один из этих препаратов не был одобрен для лечения ДН Управлением по контролю пищевых продуктов и лекарств в США (FDA) [28, 88]. Из предложенных препаратов только антиоксиданты, показав эффективность и безопасность в лечении ДН, на сегодняшний день заняли свое место. Но несмотря на положительные результаты их эффект временный, поэтому требуется длительная курсовая, а иногда и непрерывная терапия [40, 180, 184].

Кроме вышеперечисленного, в рекомендациях от 2021г АДА по уходу за диабетом были предложены терапевтические стратегии (фармакологические и нефармакологические), направленные на облегчение симптомов ДН, на уменьшение боли и на улучшение качества жизни, которые включают обучение пациентов, а также использование прегабалина, дулоксетина или габапентина в качестве начальных фармакологических методов лечения нейропатической боли при диабете [38, 125].

Учитывая, что только строгий контроль уровня глюкозы в крови, а также вышеперечисленные меры терапии ДН у пациентов с СД 2 типа полностью не исключают возникновение полинейропатии или не приводят к ее регрессу и ограничены в своем использовании из-за побочных явлений, поиск новых возможных методов патогенетической терапии ДН до сегодняшнего дня остается актуальной задачей для здравоохранения.

Следовательно, выбор мер патогенетической терапии ДН должен основываться на современных представлениях о механизмах формирования поздних осложнений сахарного

диабета и охватывать разные стороны патологического процесса приводящего к развитию ДН, и должен обладать широким профилем эффективности и безопасности.

Учитывая высокий профиль безопасности препаратов, а также синергизм и возможность назначения согласно инструкции пациентам с СД 2 типа для патогенетической обоснованной терапии ДН в данном исследовании были выбраны препараты АЛК в комбинации с кокарбоксилазой, цианкобаламином, трифосаденина динатрия тригидратом и никотинамидом. Также на решение о выборе терапевтической меры повлияли полученные ранее результаты о благотворном влиянии данных препаратов на оксидативный стресс, на эндотелиальную функцию, на регенерационные и обменные процессы периферических отделов нервной системы и наконец, на метаболизм глюкозы у пациентов с СД 2 типа.

### **1.3.1. Влияние АЛК на развитии диабетической нейропатии**

Эффективность и безопасность АЛК были доказаны многочисленными рандомизированными исследованиями, давшими основание Международной диабетической федерации рекомендовать (2017) данный препарат как меру патогенетической терапии ДН [88]. Кроме этого, АЛК является основным антиоксидантным препаратом, используемым для лечения ДН в России [28].

АЛК (1,2-дителиолан-3-валериановая кислота), или тиоктовая кислота, является дисульфидной производной октановой кислоты, ее молекула состоит из 8-атомной углеродной цепи с 2 атомами серы. Структурная формула АЛК представлена 5-членным гетероциклическим кольцом. АЛК является мощным естественным жирорастворимым антиоксидантом. Она выступает не только как антиоксидант, существуя в организме в окисленной (-S-S-) и восстановленной (SH-) формах [78], но и естественный коэнзим митохондриального пируватдегидрогеназного и альфа-кетоглутаратдегидрогеназного комплекса. АЛК в реакциях окислительного декарбоксилирования превращает пировиноградную кислоту в ацетил-КоА и α-кетоглутаровую кислоту в сукцинил-КоА (в цикле Кребса) [8]. Кроме этого, АЛК участвует в метаболизме глюкозы не только как кофермент пируватдегидрогеназного комплекса, но и обладает инсулиномиметическими свойствами, поскольку она улучшает усваивание глюкозы мышечной тканью за счет влияния на транспортеры глюкозы – 4 (ГЛЮТ 4) и на инсулиновые рецепторы [157]. Доказано также, что АЛК снижает инсулинорезистентность периферических тканей при СД 2 типа [27].

Также, АЛК участвует в метаболизме липидов, облегчая перенос ацетата и жирных кислот из цитозоля в митохондриальный матрикс, уменьшает содержание холестерина и насыщенных жирных кислот в крови, предотвращая развитие атеросклероза [25].

АЛК в организме восстанавливается до дигидролипоевой кислоты (ДГЛК). Пара АЛК и ДГЛК обладают высоким окислительно-восстановительным потенциалом (320 мВ). Уникальность АЛК состоит в том, что она сама и ее восстановленная форма ДГЛК, выступая в роли антиоксидантов, захватывают и нейтрализуют свободные радикалы (пероксильный, гидроксильный и супероксид радикал), а также служат донором электронов для восстановления других антиоксидантов, в том числе глутатиона. Увеличение уровня экстра- и интрацеллюлярного глутатиона под влиянием АЛК было доказано экспериментальным путем на клеточных культурах крови человека [78].

Нейротропное и нейропротективное влияния АЛК осуществляется благодаря тому, что она легко проникает через гематоэнцефалический барьер. В нервной системе АЛК нейтрализует нейротоксическое действие супероксид радикала и других АФК, предотвращая ингибирование NO-синтазы, улучшает эндоневральный кровоток, предупреждает ишемическое повреждение нервной ткани. Под действием АЛК ускоряется процесс проведения импульса по нерву и нормализуется уровень глутатиона, увеличивается активность антиоксидантных ферментов (СОД и каталазы). Таким образом, АЛК, улучшая обмен углеводов и липидов, нормализуя функции эндотелия, улучшая микроциркуляцию тканей, блокируя дальнейшее развитие оксидативного стресса, влияет на основные патогенетические механизмы развития диабетических осложнений и приводит к их регрессу [25].

Вышеперечисленные биохимические эффекты АЛК получили свое подтверждение в экспериментальных и клинических исследованиях [118].

Экспериментальные исследования на крысах со стрептозотоциновым и наследственным СД показали, что АЛК увеличивает утилизацию глюкозы в кардиомиоцитах, уменьшает перекисное окисление липидов, увеличивает активность антиоксидантных ферментов, в особенности СОД, нормализуя функции эндотелия, улучшает эндоневральный кровоток. АЛК так же улучшает скорость распространения возбуждения по сенсорным нервным волокнам, кроме этого, обладает нефропротективным эффектом [108, 112, 150]. Аналогичные результаты получили исследователи в клинических испытаниях с применением АЛК у пациентов с СД. В исследованиях отмечены нормализация эндотелиальной функции в системе микроциркуляции, фильтрационной функции почек и утилизации глюкозы, уменьшение активности оксидативного стресса, нормализация уровня NO [5, 48, 76].

Эффективность и безопасность применения АЛК при ДН подтверждена в нескольких рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых исследованиях.

Впервые эффективность внутривенного введения АЛК при ДН была подтверждена в 3-х недельном рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании ALADIN (Alpha - Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy – АЛК при диабетической невропатии) в Германии. Исследование продемонстрировало достоверное и сопоставимое улучшение невропатических симптомов у пациентов с СД в группах с дозой АЛК 1200 мг и 600 мг по сравнению с 100 мг и плацебо, кроме этого внутривенное введение АЛК кислотой с использованием дозы 600 мг/день в течение 3 недель (всего 14 инфузий) не вызывало значительных побочных реакций. Следовательно, исследователи пришли к выводу, что внутривенное введение АЛК в дозе 600 мг/день в течение 3 недель является более оптимальной и эффективной мерой в терапии ДН [183].

Результаты исследования ALADIN II с оценкой электрофизиологических показателей выявили, что оральный прием АЛК в дозе 600 или 1200 мг в течение 2 лет (после 5-дневного периода насыщения внутривенным введением) демонстрирует клинически значимое улучшение функциональных параметров периферической нервной системы по сравнению с группой плацебо. При этом у пациентов, принимающих АЛК на протяжении 2 лет отмечалась хорошая переносимость [131].

В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании ALADIN III, в котором приняли участие пациенты с СД 2 типа применялось внутривенное введение 600 мг АЛК или плацебо в течение 3 недель, а затем 600 мг АЛК или плацебо три раза в день перорально в течение 6 месяцев. В исследовании ALADIN III продемонстрировано уменьшение позитивной невропатической симптоматики и неврологического дефицита, обусловленного ДН у пациентов с СД 2 типа, в группе с АЛК по сравнению с плацебо [179].

За этими исследованиями последовали и другие исследования в России, Северной Америке и Европе по изучению эффективности внутривенного введения АЛК. Эффективность 3 недельного внутривенного введения АЛК в дозе 600 мг больным СД с ДН, получила свое подтверждение и в плацебо-контролируемом исследовании в 33 диабетологических центрах США, Канады и Европы, и в исследовании NATHAN II (Neurological Assessment of Thiocctic Acid II- Неврологическая оценка применения тиоктовой кислоты при диабетической невропатии II) и в исследовании SYDNEY (Symptomatic Diabetic Neuropathy study - Исследование симптоматической диабетической невропатии) в России [40, 184]. Своим особенным дизайном отличалось рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование SYDNEY, проведенное в России. В исследовании были строгие критерии отбора пациентов: высокий исходный уровень баллов по шкале TSS (Total Symptoms Score - шкала общих симптомов) (не менее 7,5 балла), специально обученные врачи для обеспечения стандартной оценки шкал TSS и NIS (Neuropathy Impairment Score - шкала невропатических

нарушении) в процессе лечения, госпитализация в течение месяца для обеспечения хорошего контроля СД и самое главное, в течение первой недели пациенты обеих групп получали плацебо, для исключения плацебо - респондеров [1, 40].

Стандартный метод и сроки введения АЛК в исследованиях ALADIN, ALADIN III, SYDNEY, NATHAN II позволили в дальнейшем сравнить данные 716 больных ДН, получавших АЛК, и 542 больных, получивших плацебо. Результаты этого метаанализа свидетельствуют о том, что внутривенное введение АЛК в течение 3 недель (14 инфузий) при ДН безопасно. Терапия АЛК приводит к более значительному снижению неврологической симптоматики по шкале TSS и неврологического дефицита по шкале NIS (кроме исследования ALADIN, где не использовали данную шкалу) по сравнению с плацебо ( $p < 0,05$ ). Кроме этого, в исследовании SYDNEY было показано, что происходит дальнейшее уменьшение позитивной невропатической симптоматики в течение месяца (боль, жжение, онемение, парестезии) и в течение 6 месяцев остается менее выраженным по сравнению с исходными значениями до начала введения АЛК [184]. Полученные результаты данного метаанализа позволили рекомендовать внутривенное введение АЛК в течение 3 недель (14 инфузий) в лечение ДН [1, 40, 184].

Далее проводились исследования по эффективности и безопасного приема пероральной формы АЛК. В мультицентровом рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании SYDNEY II принимал участие 181 пациент из России и Израиля. Исследование демонстрировало уменьшение проявления невропатических симптомов и неврологического дефицита по сравнению с плацебо у пациента с сенсомоторной диабетической полинейропатией при пероральном приеме АЛК в течение 5 недель. Еще в этом исследовании было показано, что оптимальной для приема внутрь АЛК является доза 600 мг 1 раз в день [181].

В данной работе проанализированы не все исследования по данной проблематике, но они, несомненно, доказывают высокий профиль безопасности и положительный эффект АЛК на развитии ДН. Важно подчеркнуть, что ни одна схема терапии в этих исследованиях не привела к полной регрессии ДН у исследуемых пациентов. Это означает, что поиск всевозможных схем и комбинаций, которые бы привели к долгосрочному и безопасному регрессу ДН на сегодняшний день остается актуальным.

### **1.3.2. Влияние витаминов группы В на развитие диабетической нейропатии**

Витамины группы В достаточно давно применялись в лечении нейропатии разного генеза, в том числе ДН. Поскольку витамины группы В в виде своих коферментов принимают активное участие в биохимических процессах, обеспечивающих нормальную функциональную активность

различных структур нервной системы, многие авторы их относят к нейротрофическими или нейротропными препаратами и рекомендуют для патогенетической терапии ДН [156]. Важнейшими витаминами из группы В, которые используются при терапии, ДН являются тиамин (В1), пиридоксин (В6) и цианокобаламин (В12) [156].

#### *Тиамин – В1*

Тиамин (водорастворимая форма – тиамин и жирорастворимая форма – бенфотиамин), поступающий в организм с пищей, всасывается через стенки кишечника в кровь, и в тканях подвергается фосфорилированию. В организме тиамин присутствует в свободной форме и в виде фосфатных эфиров: тиаминмонофосфата (ТМФ), тиаминдифосфата или тиаминпирофосфата (ТДФ) и тиаминтрифосфата (ТТФ). Основной формой, на долю которой в органах и тканях человека приходится около 60 - 80% общего содержания тиамина, является ТДФ или кокарбоксилаза, которая синтезируется из тиамина в тканях при участии АТФ и фермента тиаминкиназы. Кокарбоксилаза является коферментом важнейших ферментов углеводного обмена, таких как пируватдегидрогеназа, 2-оксоглутаратдегидрогеназа, транскетолаза и другие. Кокарбоксилаза увеличивает активность фермента транскетолазы и пируватдегидрогеназы, обеспечивая утилизацию промежуточных продуктов гликолиза фруктозо-6-фосфата и глицеральдегид-3-фосфата в пентозофосфатном цикле и конечного продукта гликолиза пирувата в цикле Кребса. Кокарбоксилаза с одной стороны блокируя основные пути гипергликемического повреждения (гексозаминовый путь, образование КПП, активацию протеинкиназы С) эндотелия и нервной ткани, а с другой стороны, увеличивая продукцию НАДФН в пентозофосфатном цикле, предотвращая оксидативный стресс, приводит к улучшению микроциркуляции и аксонального транспорта. Таким образом, кокарбоксилаза приостанавливает развитие невропатии у больных СД и способствует регрессу уже существующего поражения нервных волокон [44, 77, 161].

Кроме этого, направляя пируват в цикл Кребса, кокарбоксилаза способствует образованию большого количества АТФ, который служит источником энергии для клеток и тканей организма, в том числе и для нервной ткани [46].

Эффективность жирорастворимой формы витамина В1 (бенфотиамина) в терапии ДН была продемонстрирована в двух плацебо-контролируемых исследованиях. В исследовании BEDIP (BEnfotiamine in the treatment of Diabetic Polineuropathy – Бенфотиамин в лечении диабетической полинейропатии) было продемонстрировано, что трехнедельный курс терапии таблетированной формой бенфотиамина в суммарной дозе 400 мг в день привел к уменьшению симптомов ДН, несмотря на незначительное изменений уровня гликированного гемоглобина (HbA1c) и содержания глюкозы в крови. Кроме этого, никаких побочных эффектов, связанных с бенфотиамином не наблюдалось [81].

В последующем исследовании BENDIP (BENfotiamine in DIabetic Polyneuropathy – Бенфотиамин при диабетической полинейропатии) было продемонстрировано, что шестинедельная терапия ДН бенфотиамином в суммарной дозе 600 мг в день более эффективна и имеет сопоставимую безопасность. На основании полученных данных авторы сделали вывод, что бенфотиамин может расширить возможности лечения пациентов с ДН [152].

В другом двойном слепом рандомизированном исследовании после лечения бенфотиамином в комбинации с другими витаминами В (В6, В12) в течении 12 недель было обнаружено снижение порога вибрационной чувствительности на второй пястной кости и достоверное повышение скорости проведения импульса по двигательным волокнам малоберцового нерва, причем этот эффект сохранился 9 мес. [151].

#### *Цианокобаламин – В12*

У витамина В12 достаточно много функций в организме. Он необходим для роста и репликации клеток, участвует в гемопоэзе, способствуя созреванию эритроцитов. Витамин В12 в качестве кофермента участвует в синтезе метионина, ацетилхолина, нуклеиновых кислот, кроме этого, играет важную роль в аминокислотном и углеводном обмене, в образовании и функционировании белковых и жировых структур миелиновой оболочки нервного волокна, а также нормальном функционировании центральной и периферической нервной системы [11].

Витамин В12 (цианокобаламина и гидроксикобаламина), поступающий с пищей, всасывается через стенки кишечника в кровь. В организме, подвергаясь ферментативным изменениям, витамин В12 превращается в метилкобаламин и дезоксиаденозилкобаламин. Последние как коферменты осуществляют функции витамина В12 в организме, участвуя в реакциях изомеризации и трансметилирования. В процессах трансметилирования из ГЦ, под влиянием метилтрансферазы образуется метионин, который участвует в синтезе нейромедиатора ацетилхолина, холина и содержащих холин фосфолипидов (лецитина и сфингомиелина), входящих в состав миелина. В процессе трансметилирования метилкобаламин выполняет роль промежуточного переносчика метильной группы. В реакциях изомеризации под влиянием дезоксиаденозилкобаламина метилмалонил-КоА превращается в сукцинил-КоА. В нервной ткани сукцинил-КоА необходим для синтеза жирных кислот [12, 13].

При дефиците витамина В12, помимо пернициозной анемии, у 30% пациентов наблюдается поражение нервной системы: поражение спинного мозга (подострая комбинированная дегенерация боковых и задних столбов, или фуникулярный миелоз), головного мозга (деменция), зрительных нервов и периферических нервов конечностей с развитием дистальной сенсорной полиневропатии. Причиной неврологических расстройств при дефиците витамина В12, является нарушение обмена метионина, что приводит к накоплению токсичного для нервной системы метилмалоната и ГЦ, вызывающего жировую дистрофию нейронов и

демиелинизацию нервных волокон [113, 116, 123, 178]. Кроме этого, наблюдается замедление окисления жирных кислот, накопление в цереброспинальной жидкости нейротоксичных (фактора некроза опухоли) веществ и уменьшение содержания нейротрофических факторов (эпидермального фактора роста нервов), что усугубляет поражение нервной системы. Введение витамина В12 устраняет данные нарушения у экспериментальных животных [164].

В неврологической практике цианокобаламин в комбинации с другими витаминами из этой группы используют как анальгетик. В настоящее время опубликовано достаточно много результатов, показавших клиническое улучшение при применении витаминов группы В у пациентов с болевым синдромом [16, 30].

Проводились исследования, где сравнивали эффективность витамина В12 и антидепрессанта нортриптилина в лечении 100 пациентов с болевой формой ДН. В группе, получавшей инъекции витамина В12 ( $n = 50$ ), по сравнению с группой ( $n = 50$ ), получавшей нортриптилин, было выявлено достоверное уменьшение выраженности не только боли ( $p < 0,001$ ), но и парестезий, жжения и зябкости ног ( $p < 0,001$ ). Но изменения вибрационной чувствительности и параметров нервной проводимости не отличались в двух группах [156]. В экспериментальных условиях на лабораторных крысах было продемонстрировано не только подавление ноцицептивных ответов витаминами группы В, но и усиление регенерации миелина при длительном применении цианокобаламина [117].

Проводились достаточно много исследований для оценки эффективности и безопасности витамина В12 в терапии ДН. Метаанализ рандомизированных контролируемых испытаний, где в семи исследованиях проанализировали влияние применения витаминов группы В, включая витамин В12 или только витамин В12 (метилкобаламин), на степень выраженности соматических и вегетативных симптомов, снижения вибрационной чувствительности и электрофизиологических (скорости нервной проводимости и вызванные потенциалы) нарушений при ДН. Как комбинация витамина В12, так и чистый метилкобаламин оказали благотворное влияние на соматические симптомы, такие как боль и парестезия. В трех исследованиях терапия метилкобаламином улучшила вегетативные симптомы. Во всех исследованиях, включенных в данный метаанализ, облегчение симптомов нейропатии было более значимым, чем изменение электрофизиологических результатов [155].

Результаты метаанализа, в который были включены 17 исследований демонстрируют положительную динамику невропатической симптоматики и электрофизиологических признаков (улучшение скорости нервной проводимости) ДН на фоне 2 - 4-недельной терапии витамином В12 (метилкобаламин 500-1000 мг в / м) с комбинацией АЛК (300-600 мг в / в) по сравнению с терапией витамином В12 [174].

В другом рандомизированном контролируемом исследовании сравнивали эффективность и безопасность комбинации АЛК, простагландина E1 и метилкобаламина для лечения ДН с комбинацией простагландина E1 и метилкобаламина. Терапия комбинаций из 3-х препаратов показала более лучший результат по уменьшению проявлений симптомов ДН и улучшению нервной проводимости, чем комбинация из 2-х препаратов [97].

О пользе комбинации витаминов группы В говорится в исследовании Jacobs и соавторы. В своем исследовании авторы показали значительное улучшение симптомов нейропатии и увеличение плотности эпидермальных нервных волокон нижних конечностей у пациентов с ДН в конце лечения пероральной комбинацией витаминов В12 (метилкобаламина) с В9 (L-метилфолата) и В6 (пиридоксаль-5'-фосфата) в течение 6 месяцев [92].

Недавние результаты отечественных исследователей также свидетельствуют об улучшении симптомов ДН при применении Кокарнита (кокарбоксилаза 50 мг, трифосаденина динатрия тригидрат 10 мг, цианокобаламин 0,5 мг, никотинамид 20 мг) в дозе 2 мл внутримышечно. Исследование показало, что такая комбинация ассоциируется с выраженным и умеренным регрессом нейропатической симптоматики, улучшением общего состояния пациентов [24].

Исходя из вышеизложенного, не вызывает сомнений, что АЛК и витамины группы В обладают многосторонним действием на метаболизм углеводов, жиров и белков. Комбинация этих препаратов, охватывая разные стороны многоступенчатого патологического процесса в развитии осложнения СД может привести к более значительному эффекту в терапии ДН.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Дизайн исследования

Исследование было проведено в период с 2016 по 2019 год, с разрешения локального этического комитета ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения России от 19.04.2016 г, на кафедре эндокринологии. Обследование пациентов проводилось на базе эндокринологического отделения №2 Научного Клинического Центра ОАО РЖД и ГБУЗ Городской клинической больницы им. С. П. Боткина ДЗМ.

В ходе исследования был обследован 101 пациент с СД 2 типа. Из них 64 пациента полностью соответствовали критериям включения, поэтому именно они продолжили участие в дальнейшем исследовании.

#### **Критерии включения:**

- Установленный диагноз СД 2 типа;
- Диабетическая дистальная симметричная сенсомоторная полинейропатия на стадиях N1b и N2a (Duck P., 1988 г) [67];
- Длительность СД 2 типа более 2 лет;
- Возраст 35-75 лет;
- Пол: мужской и женский;
- Гликемия натощак: от 3,9 до 10 ммоль/л;
- Гликированный гемоглобин от 6,5% до 10%;
- Способность и желание пациента следовать протоколу исследования;
- Наличие подписанной формы информированного согласия на участие в исследовании.

#### **Критерии невключения:**

1. Сахарный диабет 1-го типа;
2. Тяжелая патология сердечно-сосудистой системы: инфаркт миокарда в последние 6 месяцев, нестабильная стенокардия, некомпенсированная сердечная недостаточность, неконтролируемая артериальная гипертензия (показатели артериального давления (АД) > 200/110 мм. рт. ст.);
3. Тяжелая патология желудочно-кишечного тракта;
4. Тяжёлые нарушения функций печени (повышение печеночных ферментов более чем в 2 раза превышающих норму);

5. Хроническая болезнь почек С3а -С5 (скорость клубочковой фильтрации (СКФ) <45 мл/мин/1.73м<sup>2</sup>);
6. Наличие острых осложнений СД;
7. Прогрессирование диабетической полинейропатии во время исследования;
8. Диагностированная недостаточность витамина В12 в анамнезе;
9. Прием препаратов и веществ, влияющих на обмен ГЦ и антиоксидантных ферментов (АЛК, фолиевая кислота, витамины В12, В6 и др., диета с высоким содержанием животных белков, злоупотребление алкоголем) в течение 3 недель до исследования;
10. Отягощенный аллергологический анамнез;
11. Пациенты с клинически значимыми проявлениями интеркуррентного заболевания;
12. Беременность, лактация;
13. Наличие противопоказаний к исследуемым препаратам;
14. Отказ в подписании формы информированного согласия на участие в наблюдательном исследовании;
15. Неспособность выполнять рутинные визиты к врачу в течение 6 месяцев;

**Критерии преждевременного исключения из исследования:**

1. Решение пациента выйти из участия в программе;
2. Решение лечащего врача прекратить терапию.

После включения в исследование методом простой рандомизации с использованием таблицы случайных чисел пациенты были разделены на две группы: основную - группа №1 (n = 33) и группу сравнения – группа №2 (n = 31).

Основной группе (группа №1) (n = 33) с 6-месячным интервалом было назначено лечение ВМК препаратом (кокарбоксилаза 50 мг, трифосаденина динатрия тригидрат 10 мг, цианокобаламин 0,5 мг, никотинамид 20 мг - Кокарнит 2 мл лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения: № ЛП - 002839 от 23.01.2015) 1 раз в сутки внутримышечно в дозе 2 мл на протяжении 9 дней и препарат АЛК (Октолипен® 300 мг концентрат для приготовления раствора для инфузий: № ЛСР - 001808/08 от 17.03.2008) – 1 раз в сутки внутривенно в дозе 600 мг на протяжении 10 дней (10 инфузий).

Группе сравнения (группа №2) (n = 31) с 6-месячным интервалом был назначен препарат АЛК (Октолипен® 300 мг концентрат для приготовления раствора для инфузий: № ЛСР - 001808/08 от 17.03.2008) 1 раз в сутки внутривенно в дозе 600 мг на протяжении 10 дней (10 инфузий).

Период наблюдения составил 24 недели.

После сбора анамнестических данных все участники исследования прошли клинико-лабораторное и инструментальное обследование: определение уровня показателей липидного (общий холестерин, триглицериды, холестерин липопротеиды высокой плотности (ХС ЛПВП) и холестерин липопротеиды низкой плотности (ХС ЛПНП) и углеводного обмена (тощаковая и постпрандиальная гликемия, гликированный гемоглобин (HbA1c)); общий анализ крови и мочи; ЭКГ и определение антропометрических показателей (рост, вес, индекс массы тела) на старте, а также в конце исследования.

Для оценки функционального состояния периферической нервной системы были использованы шкалы TSS и NIS-LL (Neuropathy Impairment Score in the Lower Limbs - шкала невропатических нарушений нижних конечностей), а также ЭНМГ нервов нижних конечностей. Оценка по шкалам TSS и NIS-LL производилась на старте терапии, через 10 дней после старта терапии и в конце исследования. ЭНМГ проводилось до и после лечения.

Кроме этого, производилась оценка динамики показателей ферментов антиоксидантной системы (СОД, ГПО), ГЦ, витамина В12 в крови, а также проводилась капилляроскопия с оценкой состояния микроциркуляции ногтевого ложа пальца кисти и вазография с определением скорости распространения пульсовой волны (СРПВ) и степени ЭФ на старте исследования и через 10 дней после старта терапии.

Дизайн исследования схематически представлен на Рисунке № 2.1.

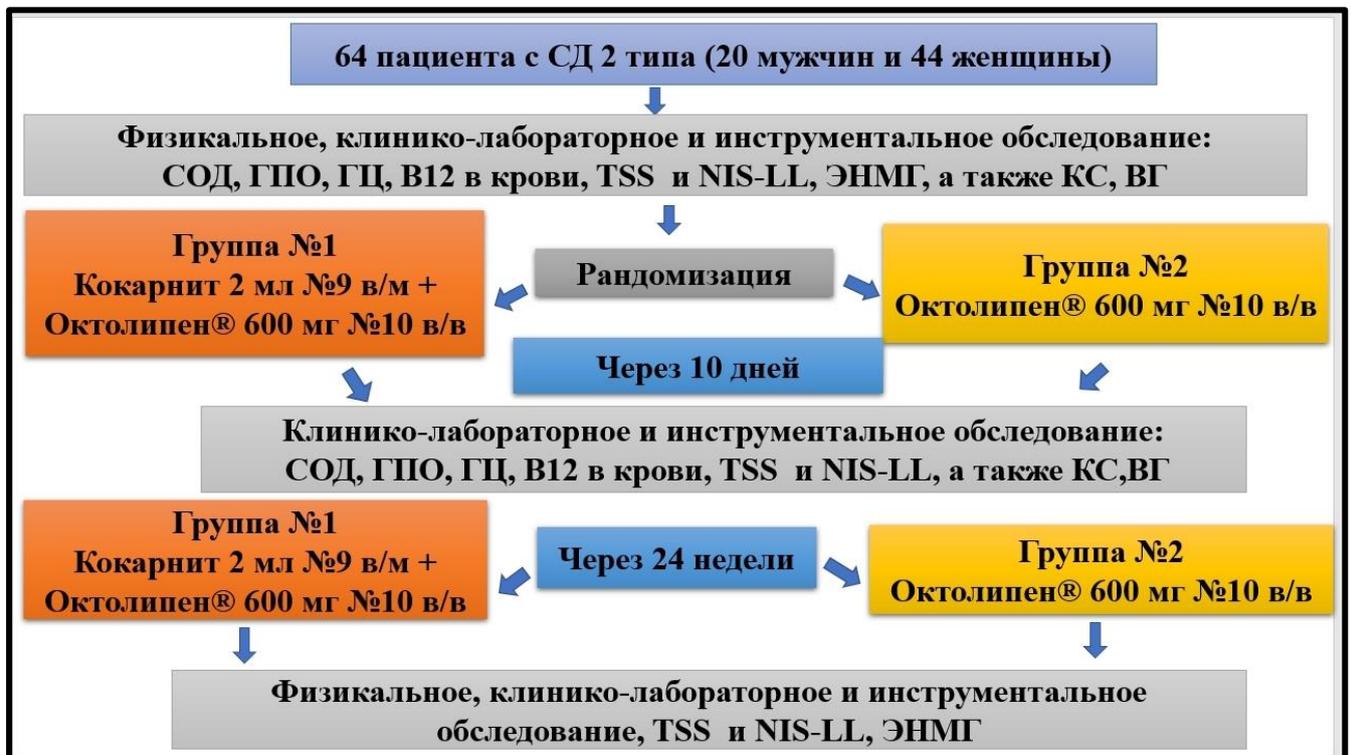


Рисунок 2.1. Дизайн диссертационного исследования (КС - капилляроскопия, ВГ - вазография)

## 2.2. Методы исследования

На этапе включения в исследование производился тщательный сбор анамнеза для исключения сопутствующих заболеваний и состояний, которые также сопровождаются невропатическими проявлениями, в том числе манифестный дефицит витамина В12, гипотиреоз, алкоголизм, ревматические заболевания и др. Уточнялась информация о факте табакокурения в настоящий момент и о стаже курения в целом.

### **Физикальное обследование включало в себя:**

- измерение роста и массы тела;
- производился расчёт индекса массы тела (ИМТ) по формуле Кетле (1869г):  $ИМТ = \frac{кг}{м^2}$  (вес в кг и рост в м<sup>2</sup>);
- измерение АД производилось по методу Н. С. Короткова (1905г).

### **Лабораторное обследование**

#### Определение уровня ферментов антиоксидантной системы, витамина В12 и ГЦ в крови.

Забор крови для анализа производился из кубитальной вены утром не менее чем через 12 час. после последнего приема пищи.

Исследование антиоксидантных ферментов СОД и ГПО выполнялось на анализаторе спектрофотометр Shimadzu UV-1800 (Япония) высокоточным методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС). Референсные значения СОД составили 164–240 Ед/мл, ГПО – 4171–10881 Ед/л.

Исследование ГЦ выполнялось на анализаторе Immulite 2000, Siemens (Германия), методом твердофазного конкурентного хемилюминесцентного иммуноферментного анализа. Референсные значения ГЦ составили 5,0–15,0 мкмоль/л. Исследование витамина В12 (общий и активный или холотранскобаламин) выполнялось на автоматическом анализаторе Cobas 8000 производства компании Roche (Швейцария), методом электрохемилюминесцентного иммуноанализа (ECLIA). Референсные значения общего витамина В12 составили 191–663 пг/мл (140,9–489,3 пмоль/л), активного – 25,1–165,0 пмоль/л. Для расчета референсных значений были использованы значения медианы и 95% доверительного интервала [26].

#### Определение показателей углеводного и липидного обменов

Забор крови для анализа производился из кубитальной вены утром не менее чем через 12 час. после последнего приема пищи. Анализ производился на высокопроизводительном автоматическом биохимическом анализаторе выборочного действия Olympus AU 640, Olympus AU 480 (Япония) с использованием оригинальных наборов производителя (Таблица 2.1.).

**Таблица 2.1.** — Референсные значения и единица измерения показателей биохимического анализа крови

Паспортное наименование методики	Единица измерения	Норма	Наименование анализатора
Мочевина	ммоль/л	2,8 - 7,2	Olympus AU 640 (2160)
Креатинин	мкмоль/л	58 - 96	Olympus AU 640 (2160)
Глюкоза	ммоль/л	4,1 - 5,9	Olympus AU 640 (2160)
Холестерин	ммоль/л	3 - 5,2	Olympus AU 640 (2160)
Триглицериды	ммоль/л	0 - 1,7	Olympus AU 640 (2160)
ХС ЛПВП	ммоль/л	0,9 - 1,9	Olympus AU 640 (2160)
ХС ЛПНП	ммоль/л	0 - 3,3	Olympus AU 640 (2160)

Также на автоматическом биохимическом анализаторе выборочного действия Capillarys-2 Flex Piercing 2184, Sebia (Франция) определялся уровень HbA1c методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Референсные значения HbA1c оставили 4,0 - 6,5 %.

Общий анализ крови производился на гематологическом автоматическом анализаторе Advia 2120 (2171)-3, СОЭ – ALIFAX-1 (Таблица 2.2).

**Таблица 2.2** —.Референсные значения и единица измерения показателей общего анализа крови

Паспортное наименование методики	Единица измерения	Норма	Наименование анализатора
СОЭ1	мм/ч	2 - 30	ALIFAX-1
Лейкоциты	10 <sup>9</sup> /л	4 - 9	Advia 2120 (2171)-3
Эритроциты	10 <sup>12</sup> /л	3,9 - 4,7	Advia 2120 (2171)-3
Гемоглобин	g/l	120 - 140	Advia 2120 (2171)-3
Гематокрит	%	36 - 42	Advia 2120 (2171)-3
Нейтрофилы %	%	48 - 78	Advia 2120 (2171)-3
Лимфоциты %	%	19 - 37	Advia 2120 (2171)-3
Моноциты %	%	3 - 11	Advia 2120 (2171)-3
Эозинофилы %	%	0,5 - 5	Advia 2120 (2171)-3
Базофилы %	%	0 - 1	Advia 2120 (2171)-3

### Оценка функционального состояния периферической нервной системы

Для оценки функционального состояния периферической нервной системы использовались:

**1. Общая шкала неврологических симптомов (Total Symptoms Score, TSS)**, которую предложил D. Ziegler и соавторы, для оценки частоты и интенсивности отдельных сенсорных симптомов нейропатии: боли, жжения, онемения и парестезии за последние сутки [182]. Общая оценка по шкале TSS может иметь значение от 0 до 14,64 балла. Шкалу TSS эффективно используют разные авторы при оценке неврологических симптомов [45]. Оценка по этой шкале ставится после заполнения опросника следующего вида (Таблица 2.3).

**Таблица 2.3.** — Общая шкала неврологических симптомов (Total Symptoms Score, TSS)

Частота появления симптома	Интенсивность выраженности симптома, баллы			
	Отсутствует	Легкая	Средняя	Тяжелая
Редко	0	1,0	2,0	3,0
Часто	0	1,33	2,33	3,33
Постоянно	0	1,66	2,66	3,66

Оценивается выраженность в баллах четырех невропатических симптомов за предшествующие исследованию 24 часа: онемение, жжение, парестезии, боль в конечностях (D. Ziegler с соавт., 1995).

**2. Шкала невропатических нарушений нижних конечностей NIS-LL (Neuropathy Impairment Score in the Lower Limbs)** или шкала неврологического дефицита в ногах – используется для оценки выраженности негативной неврологической симптоматики в нижних конечностях [51]. Для получения конечного балла по шкале NIS-LL складываются результаты, полученные во время обследования на обоих нижних конечностях (Таблица 2.4). Для комплексной оценки по этой шкале производится физикальное неврологическое обследование:

а) Мышечная сила определяется посредством сгибания и разгибания бедра, сгибания и разгибания колена, сгибания и разгибания голеностопного сустава, сгибания и разгибания пальцев стопы и оценивается следующим образом: 0 – норма, 1 – снижение на 25%, 2 – снижение на 50%, 3 – снижение на 75% (3.25 – движение с развитием

- усилия, 3.5 – движение без развития усилия, 3.75 – сокращение мышц без движения),  
4 – паралич;
- b) Рефлексы коленный и ахилловый оцениваются как: 0 – норма, 1 – снижение, 2 – отсутствие. Для пациентов 50 лет и старше снижение ахиллова рефлекса оценивается как 0, отсутствие ахиллова рефлекса – 1 балл;
- с) Чувствительность на терминальной фаланге большого пальца (тактильного, болевого, вибрационного видов чувствительности, мышечно-суставного чувства в нижних конечностях) градуируется следующим образом: 0 – норма, 1 – снижение, 2 – отсутствие.

**Таблица 2.4.** — Шкала невропатических нарушений (Neuropathy Impairment Score in the Lower Limbs, NIS-LL)

Тест	Правая сторона	Левая сторона	Сумма
<b>Мышечная сила:</b> сгибание бедра разгибание бедра сгибание в коленном суставе разгибание в коленном суставе сгибание голеностопного сустава разгибание голеностопного сустава разгибание пальцев стопы сгибание пальцев стопы			
<b>Рефлексы:</b> коленный ахиллов			
<b>Чувствительность на концевой фаланге большого пальца стопы:</b> тактильная чувствительность болевая чувствительность вибрационная чувствительность мышечно-суставное чувство			
<b>Общая оценка (сумма):</b>			

Оценка вибрационной чувствительности проводится с помощью градуированного камертона по Риделю-Сейферу (Rydel-Seiffer С64 Гц/ С128 Гц) с частотой колебаний 128 Гц на терминальной фаланге большого пальца обеих стоп троекратно, с вычислением среднего значения (норма более 6 условных единиц из 8, значительно снижено при показателе 3 балла и ниже). Для оценки тактильной чувствительности используют монофиламент Семмес-Вейнштейна (Semmes-Weinstein) [167] с силой воздействия 1, 2, 5, 10 г. Монофиламентом прикасаются перпендикулярно поверхности кожи на терминальной фаланге большого пальца в течение 1,5 сек с давлением, достаточным для того, чтобы монофиламент изогнулся. Отсутствие ощущения прикосновения говорит о нарушении тактильной чувствительности. Оценка болевой чувствительности осуществляется с помощью притупленной иголки. Оценка температурной чувствительности производится с помощью прибора Tip-Therm. Металлическим и пластмассовым концами прибора попеременно прикасаются к коже на терминальной фаланге большого пальца больного. Пробу считают положительной, если больной чувствует разницу в температуре поверхности прибора [51].

3. Для достоверной и объективной оценки начальных признаков и прогрессирования ДН всем участникам исследования проводили сертифицированные специалисты **стимуляционная ЭНМГ** нижних конечностей [52] на электронейромиографе «Нейро - МВП-4» фирмы "Нейрософт" (Россия, 2010 г.). Были обследованы:

- моторные нервы нижних конечностей (**общий малоберцовый нерв** (nervus fibularis [peroneus] communis), **большеберцовый нерв** (nervus tibialis)) с изучением моторного ответа (**М-ответ**), скорости распространения возбуждения (СРВ) по нерву, резидуальной латентности (РЛ);
- сенсорные нервы нижних конечностей (**икроножный нерв** (nervus suralis)) с изучением сенсорного ответа (**С-ответ**), скорости распространения возбуждения (СРВ) по сенсорному нерву.

Регистрация ЭНМГ показателей проводилась в затемненной комнате при  $t$  22° С в состоянии спокойного бодрствования. Изучение проводящей функции моторных нервов проводилось на основе анализа миограммы, а сенсорных нервов - на основе анализа нейрограммы.

Для исследования показателей перечисленных нервов проводилась стимуляция в нескольких точках по ходу нерва, с регистрацией соответствующего ответа в каждой точке стимуляции.

Для исследования моторных нервов активный регистрирующий (активный) электрод располагали на двигательной точке мышцы, иннервируемой исследуемым нервом, а

референтный электрод - на сухожилии данной мышцы или на костном выступе, где прикрепляется сухожилие. Между электродами расстояние составило не менее 3 - 4 см. Стимуляция проводилась в нескольких точках по ходу нерва. Точками стимуляции для n. peroneus являются предплюсна, головка малоберцовой кости и подколенная ямка. Регистрирующий электрод располагался на m. extensor digitorum brevis. Точками стимуляции для n. tibialis являются предплюсна и медиальная лодыжка. Регистрирующий электрод располагался на m. abductor hallucis.

Точки стимуляции для n. suralis является нижняя треть голени, активный электрод располагался в области проекции икроножного нерва на уровне латеральной лодыжки; стимулирующий электрод - на 10 - 15 см проксимальнее активного электрода; референтный - на 3-5 см дистальнее активного.

В данном исследовании были проанализированы полученные ответы нервов из самых дистальных точек стимуляции: для n. peroneus предплюсна; для n. tibialis предплюсна; для n. suralis нижняя треть голени.

Референсные значения и единица измерения определяемых показателей [6] представлены в Таблице № 2.5.

**Таблица 2.5.** — Референсные значения и единица измерения показателей ЭНМГ [6]

Название нерва	Показатель	Референсные значения и единица измерения
Nervus tibialis	Амплитуда М - ответа	> 3,5мВ
	СРВ	> 40 м/с
	РЛ	<3,0 мс
Nervus peroneus	Амплитуда М - ответа	> 3,5 мВ
	СРВ	> 40 м/с
	РЛ	<3,0 мс
Nervus suralis	Амплитуда S - ответа	> 6,0 мкВ
	СРВ	> 40 м/с

#### Исследование микроциркуляции

При исследовании микроциркуляторного русла был использован цифровой капилляроскоп (Россия, 2009 г.) с высокоскоростной видеокамерой (до 100 кадров секунду), с помощью которой определяется скорость кровотока в капиллярах и оценивается структура

капиллярной сети. Для изучения структуры и капиллярного кровотока исследовались капилляры ногтевого ложа в эпонихии 4-го или 3-го пальцев левой руки. Исследование проводилось в положении сидя, рука испытуемого находилась на уровне сердца. До исследования в течение 24 ч испытуемые воздерживались от курения и употребления кофеин содержащих напитков. Исследование проводилось в помещении с постоянной температурой 22–24 градуса по Цельсию [15, 31].

Для визуализации капилляров использовались 2 варианта увеличения. Для обзорной капилляроскопии использовалось увеличение 125 крат, а для более детального исследования капилляров использовалось увеличение 400 крат [15, 31].

С помощью капилляроскопии при увеличении 125 крат можно оценить структуральные особенности микроциркуляторного русла: степень плотности, извитости и полиморфизма капиллярной сети [15, 31].

Степень **плотности** капиллярной сети — это количество капилляров первой линии и оценивается баллами. В норме среднее число капилляров области ногтевого ложа составляет 50—60 на 1 мм<sup>2</sup>. Гурфинкель Ю. И. и соавторы выявили корреляцию между количеством капилляров первой линии ногтевого ложа при увеличении 125 крат с числом капилляров на 1 мм<sup>2</sup> указанной области. Число капилляров, определенное как  $\leq 7$  капилляров первой линии (1 балл), соответствует  $\leq 40$  капилляров на 1 мм<sup>2</sup> кожи области около ногтевого ложа (низкая плотность). Число капилляров первой линии от 8 до 10 (2 балла) соответствует от 40 до 50 на 1 мм<sup>2</sup> кожи области около ногтевого ложа (средняя плотность). Более 11 капилляров первой линии (3 балла) соответствует 50 и более на 1 мм<sup>2</sup> (высокая плотность). Таким образом, по данным капилляроскопии в норме плотности капиллярной сети составляет 2 - 3 балла [15, 31]. Оценка степени **извитости и полиморфизма капилляров** осуществлялась аналогичным образом и учитывалась количество извитых и полиморфных (линейные, извитые, с перекрестами, двойными петлями и так далее) капилляров первой линии (до 25% извитых или полиморфных капилляров соответствует 1 баллу, до 75% – 2 баллам, от 75% и выше – 3 баллам). В норме степень извитости и полиморфизма капилляров составляет 0 - 1 балла [15].

Кроме этого, с помощью программного обеспечения при увеличении в 400 раз, позволяющего просматривать записанные изображения, можно измерить диаметр капилляра в разных отделах: артериальном (норма 6,3 - 11,5 мкм); переходном ( норма 11,4 - 16,8 мкм) и венозном отделах (норма 8,2 - 14,8 мкм), а также определить скорость капиллярного кровотока (норма 450 - 800 мкм/сек), величину периваскулярной зоны (норма 80 - 100 мкм) - линейный размер от максимально удаленной точки периваскулярной зоны до наиболее близко стоящей точки переходного отдела капилляра. Для оценки степени сужения капилляров используется

коэффициент ремоделирования (норма 1,39), который представляет собой отношение диаметров капилляров в венозных отделах к диаметрам в артериальных отделах [9, 15].

### Оценка СРПВ и степени ЭФ

В качестве инструментального метода исследования для оценки функций эндотелия использовалась вазография, которая является неинвазивным методом и позволяет с помощью вызванной ишемии оценить степень ЭФ. Ишемия достигалась с помощью пневматической манжеты, расположенной на плече, в которую подавался воздух под давлением, превышающим систолическое артериальное давление пациента на 30 - 40 мм. рт. ст., пережимая плечевую артерию в течение 3 минут, что приводило к высвобождению эндотелиальных релаксирующих факторов, которые расслабляли гладкую мускулатуру стенки сосудов и приводили к вазодилатации [43]. До пережатия в течение 30 секунд и по окончании трехминутной гиперемии в течение 60 секунд проводился замер амплитуд пульсовых волн на артериях запястья. ЭФ определялась как отношение амплитуд пульсовых волн до и после пережатия, выраженное в процентах (референсные значения 30–60%). Вазография проводилась с помощью аппарата вазографа "Тонокард" (Россия, 2012 г.). Результаты замеров автоматически вносились в протокол пересчетом процента прироста амплитуды [15].

Также с помощью вазографии определяли СРПВ для оценки степени жесткости стенок сосудов. Использование высокочувствительных датчиков, расположенных с помощью манжеток в проекции плечевой артерии и артерий запястья, позволяло автоматически измерить расстояние между ними (м) и время (с), за которое пульсовая волна проходит это расстояние. СРПВ вычислялось как отношение м/с (референсные значения 6 - 8,5 м/с). В протокол вносились данные средних значений и стандартных отклонений по результатам исследований [15].

## **2.3. Статистическая обработка**

Статистическая обработка полученных данных производилась на персональном компьютере с использованием программ Microsoft Excel 2010, "Statistica 13.3" (Stat Soft, США).

Анализ нормальности распределения данных был проведен с помощью тестов нормальности (частотные гистограммы, ящичные диаграммы, нормально-вероятностные графики) и расчетным методом Шапиро-Уилка.

Результаты статистического анализа приведены в виде медианы и интраквартильного интервала (Me; IQR), минимальных (min) и максимальных (max) значений. Достоверность отличий между группами оценивалась с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Достоверность отличий внутри группы, полученных за период наблюдения, оценивалась

с помощью непараметрического статистического теста Т-критерия Вилкоксона. Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Для статистического изучения взаимосвязи между исследованными показателями был использован непараметрический коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Сила корреляции оценивалась по значению коэффициента корреляции ( $r$ ):  $r \leq \pm 0,25$  – слабая корреляция;  $\pm 0,25 < r < \pm 0,7$  – умеренная корреляция;  $r \geq \pm 0,7$  – сильная корреляция. Статистическая значимость полученного коэффициента оценивалась при помощи t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

Для выявления взаимосвязей между показателями, полученными на начальном этапе исследования, коэффициенты корреляции рассчитывались на основании совокупной выборки ( $n = 64$ ), а для выявления взаимосвязей между изменениями показателей в процессе исследования были рассчитаны коэффициенты корреляции внутри каждой группы.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ НАБЛЮДЕНИЙ

#### 3.1. Клиническая характеристика пациентов на старте исследования

Из 64 пациентов, принявших участие в исследовании, 20 человек (31%) составили мужчины и 44 человека (69 %) – женщины в возрасте от 45 до 74 лет, с длительностью СД 2 типа от 2 до 25 лет с установленным диагнозом сенсомоторной диабетической полинейропатии (Таблица 3.1.).

**Таблица 3.1.** — Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование

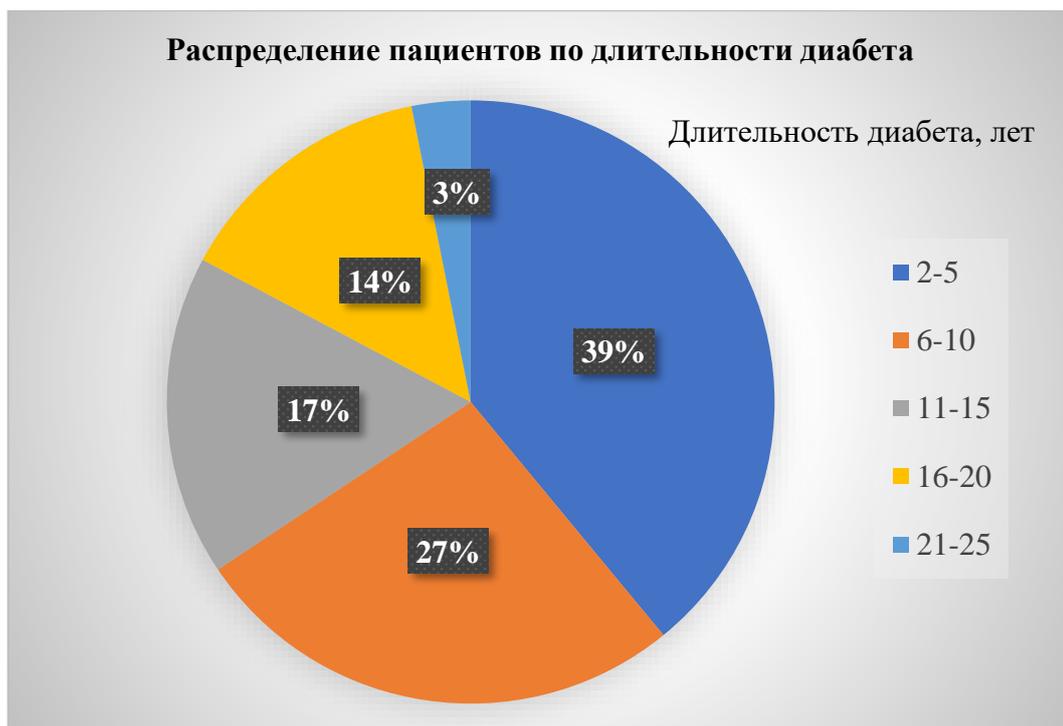
Показатель, ( $n = 64$ )	Me; IQR
Возраст, годы	61,0; 10,0
Длительность диабета, годы	6,5; 7,0
Масса тела, кг	91,0; 20,5
Рост, см	165,0; 12,0
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,5; 6,6
Тощачовая глюкоза, ммоль/л	6,5; 1,4
Постпрандиальная глюкоза, ммоль/л	8,1; 3,0
НвА <sub>1с</sub> , %	7,8; 1,8
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,16; 0,8
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,8; 1,2

**Распределение пациентов по возрастным группам** показало, что количество пациентов в возрасте 45 - 49 лет составило 6% (4 человека), 50 - 59 лет – 38% (24 человека), 60 - 69 лет – 47% (30 человек) и 70 - 74 – 9% (6 человек) (Рисунок 3.1).



**Рисунок 3.1. Распределение пациентов по возрастным категориям**

**Распределение пациентов по длительности диабета** показало, что пациенты с длительностью  $\leq 5$  лет составили 25 (39%) человек, 6 - 10 лет составили 17 (27%) человек, 11 - 15 лет – 11 (17%) человек, 16 - 20 лет – 9 (14%) человек и с длительностью 21 - 25 лет – 2 (3%) человека (Рисунок 3.2).



**Рисунок 3.2. Распределение пациентов по длительности диабета**

**Распределение пациентов по уровню HbA1c в крови** показало, что пациенты с уровнем HbA1c  $\leq 7\%$  составили 36% (23 человека),  $\leq 7,5\% - 5\%$  (3 человека),  $\leq 8\% - 22\%$  (14 человек),  $\leq$

8,5% – 11 % (7 человек),  $\leq 9\%$  – 17% (11 человек),  $\leq 9,5\%$  – 5% (3 человека) и  $\leq 10\%$  – 5% (3 человека) (Рисунок 3.3).



**Рисунок 3.3. Распределение пациентов по уровню HbA1c**

Следовательно, основную когорту пациентов составили лица в возрасте 50 - 69 (54 человека (85%)) лет, с длительностью диабета 2 - 10 лет (42 человека (66%)) и с уровнем HbA1c  $\leq 8,5\%$  (47 человек (74%)).

#### *Сахароснижающая терапия и компенсация углеводного обмена*

Изучение схемы сахароснижающей терапии показало, что на старте исследования 92% (59 человек) пациентов принимали метформин: из них 15% (9 человек) пациентов в качестве монотерапии, а 85% (50 человек) в комбинации с другими сахароснижающими препаратами, в том числе с инсулином. Из остальных 5 (8%) пациентов, не получающих метформин, 2 человека принимали препараты из группы иДПП-4, 2 человека препараты из группы СМ в комбинации с инсулином, и 1 человек только инсулин (Таблица 3.2.).

Из 50 пациентов, получающих комбинацию метформина с другими сахароснижающими препаратами 21 человек получали двойную комбинацию, 22 человека тройную комбинацию и 7 человек комбинацию из четырех препаратов (Рисунок 3.4).

Таблица 3.2. — Схема сахароснижающей терапии на старте исследования

Монотерапия (n=12)		Двойная комбинация (n=22)		Тройная комбинация (n=23)		Комбинация из четырех препаратов (n=7)	
Мет	9	Мет+иДПП4	3	Мет+СМ+Инс	2	Мет+СМ+иДПП4+иНГКТ-2	3
иДПП4	2	Мет+СМ	6	Мет+иНГКТ2+Инс	5	Мет+СМ+аГПП1+иНГКТ2	1
Инс	1	Мет+иНГК2	4	Мет+СМ+иДП4	4	Мет+СМ+иДПП4+Инс	1
-		Мет+аГПП1	3	Мет+СМ+иНГКТ2	6	Мет+СМ+иНГКТ2+Инс	2
		Мет+Инс	4	Мет+СМ+аГПП1	1	-	
		СМ+Инс	2	Мет+иДПП4+иНГКТ2	5		

Мет – метформин, СМ – сульфонилмочевина, иДПП4 – ингибиторы дипептидилпептидазы-4, иНГКТ2 – ингибиторы натрия-глюкозы котранспорта-2, аГПП1 – агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида 1-ого типа, Инс – инсулин



Рисунок 3.4. Комбинация метформина с другими сахароснижающими препаратами на старте исследования

На старте исследования после изучения показателей гликемии была проведена коррекция сахароснижающей терапии у 27% (17 человек) пациентов поскольку они имели показатели гликемии, выходящие за рамки целевых значений ( $HbA1c > 8,5\%$ ). У этих пациентов к существующей терапии были добавлены препараты СМ (5 человек), иНГКТ2 (8 человек) и инсулин (4 человека). При этом пациенты принимающие метформин составили 92% (59 человек), из которых монотерапию метформином получали 4 человека (7%). После коррекции схемы сахароснижающей терапии, из 5 пациентов (8%), не получающих метформин, продолжали принимать препараты иДПП4 (2 человека), препараты СМ в комбинации с инсулином (2 человека) и инсулин (1 человек) (Таблица 3.3).

**Таблица 3.3.** — Схема сахароснижающей терапии после коррекции

Монотерапия (n = 7)		Двойная комбинация (n = 20)		Тройная комбинация (n = 25)		Комбинация из четырех препаратов (n = 12)	
Мет	4	Мет+СМ	2	Мет+СМ+Инс	6	Мет+СМ+иДПП4+иНГКТ2	8
иДПП4	2	Мет+иНГКТ2	9	Мет+иНГКТ2+Инс	5	Мет+СМ+аГПП1+иНГКТ2	1
Инс	1	Мет+аГПП1	3	Мет+СМ+иДПП4	4	Мет+СМ+иДПП4+Инс	1
-		Мет+Инс	4	Мет+СМ+иНГКТ	6	Мет+СМ+иНГКТ2	2
		СМ+Инс	2	Мет+СМ+аГПП1	1	-	
				Мет+иДПП4+иНГКТ2	3		
Мет – метформин, СМ – сульфонилмочевина, иДПП4 – ингибиторы дипептидилпептидазы-4, иНГКТ2 – ингибиторы натрия-глюкозы котранспорта-2, аГПП1 – агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида 1-ого типа, Инс – инсулин							

Из 55 пациентов, получающих комбинацию метформина с другими сахароснижающими препаратами, 18 человек получали двойную комбинацию, 25 человек тройную комбинацию и 12 человек комбинацию из четырех препаратов (Рисунок 3.5).



**Рисунок 3.5. Комбинация метформина с другими сахароснижающими препаратами после коррекции**

На старте исследования все пациенты прошли обучение в «Школе сахарного диабета».

После коррекции схемы сахароснижающей терапии в ходе всего исследования она не менялась и оставалась стабильной.

#### *Анамнез курения и злоупотребления алкоголем*

Среди всех пациентов 9 (14%) человек выкуривали до 20 сигарет в день. Кроме этого, среди пациентов было выявлено 7 (11%) бывших курильщиков. Остальные 48 (75%) никогда не курили. Злоупотребление алкоголем все 64 пациента отрицали.

#### *Оценка уровня антиоксидантных ферментов*

У всех пациентов на старте исследования для оценки функционального состояния антиоксидантной системы было проведено определение уровней антиоксидантных ферментов. Диапазон уровня СОД составил **123** - 259 Ед/мл (референсные значения СОД составляет 164 - 240 Ед/мл), а ГПО **4010** - 7946 Ед/л (референсные значения ГПО составляет 4171 - 10881). Минимальный уровень антиоксидантных ферментов у исследуемых пациентов выходит за пределы референсных значений.

Дальнейший анализ данных показал, что уровень СОД ниже референсных значений наблюдается у 25% пациентов (16 человек), а уровень ГПО - у 14% (9 человек).

У пациентов с низким уровнем СОД по сравнению с пациентами, которые имели показатели уровня СОД в пределах референсных значений, наблюдались более высокие уровни показателей гликемии и ГЦ, а также более низкий уровень ГПО в крови (Таблица 3.4).

**Таблица 3.4.** — Сравнение показателей гликемии и уровней ГЦ и ГПО между пациентами с нормальным и низким уровнем СОД

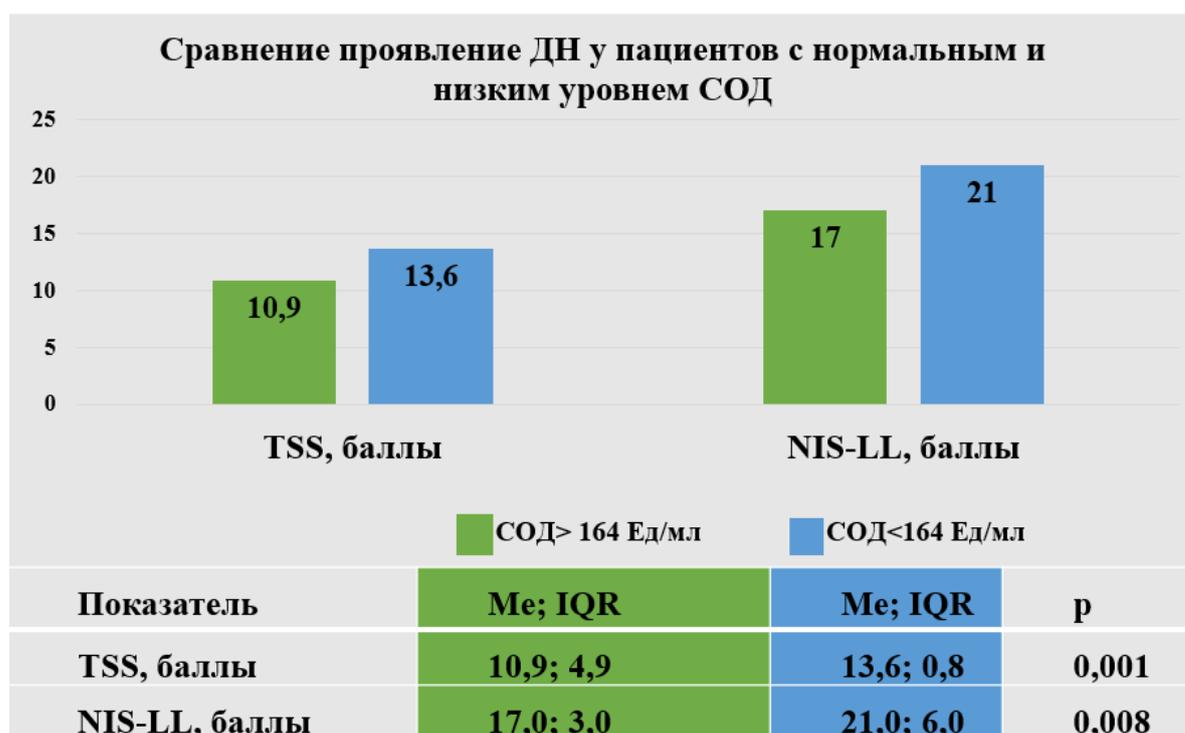
Показатель	СОД > 164 Ед/мл (n = 48) Me; IQR	СОД < 164 Ед/мл (n = 16) Me; IQR	p
Глюкоза натощак, ммоль/л	6,5; 2,3	7,1; 1,4	0,03
Постпрандиальная глюкоза, ммоль/л	7,8; 1,3	10,3; 5,2	0,05
НвА1с, %	7,5; 1,5	7,8; 0,8	0,0008
ГЦ, мкмоль/л	12,9; 8,0	20,0; 6,7	0,00005
ГПО, Ед/л	5430,0; 1782,0	4435,0; 909,0	0,007

Статистически достоверные отличия между пациентами с нормальным и пониженным уровнем СОД по антропометрическим данным, длительностью диабета, липидного профиля не наблюдались по критерию Манна-Уитни (Таблица 3.5) Также не было выявлено статистически достоверных взаимосвязей между уровнем СОД и антропометрическими данными, длительностью диабета, уровнем НвА1с, липидным профилем у пациентов с пониженным уровнем СОД.

**Таблица 3.5.** — Сравнение антропометрических и лабораторных показателей пациентов с нормальным и низким уровнем СОД

Показатель	СОД > 164 Ед/мл (n = 48) Me; IQR	СОД < 164 Ед/мл (n = 16) Me; IQR	p
Возраст, годы	60,5; 10,0	63,5; 10,5	0,2
Длительностью диабета, годы	6,0; 8,0	9,0; 11,5	0,1
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,2; 8,0	32,8; 4,6	0,4
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,2; 0,8	1,1; 0,6	0,9
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,8; 1,2	3,2; 0,8	0,08
СКФ, мл/мин	74,5; 24,5	67,5; 10,0	0,2

Проявление диабетической нейропатии по шкалам TSS и NIS-LL у пациентов с низким уровнем СОД по сравнению с пациентами, которые имели показатели уровней СОД в пределах референсных, было более выражено (Рисунок 3.6). Кроме этого, была выявлена отрицательная корреляция между уровнем СОД и показателями невропатической симптоматики по шкале TSS ( $r=-0,536$ ;  $p=0,0003$ ) у пациентов с пониженным уровнем СОД.



**Рисунок. 3.6 Сравнение проявления ДН у пациентов с нормальным и низким уровнем СОД**

Сравнительный анализ электрофизиологических показателей выявил, что у пациентов с низким уровнем СОД показатели СРВ большеберцового нерва статистически достоверно ниже, чем у пациентов с нормальным уровнем СОД. Других статистически достоверных отличий по показателями ЭНМГ между пациентами с нормальным и пониженным уровнем СОД не наблюдалось (Таблица 3.6).

Была выявлена положительная корреляция между уровнем СОД и показателями амплитуды М-ответа большеберцового нерва ( $r = 0,667$ ;  $p = 0,002$ ) у пациентов с пониженным уровнем СОД.

**Таблица 3.6.** — Сравнение проявления ДН у пациентов с нормальным и низким уровнем СОД по данными ЭНМГ

Показатель		СОД > 164 Ед/мл (n = 48) Me; IQR	СОД < 164 Ед/мл (n = 16) Me; IQR	p
Малоберцовый нерв ( <i>n. peroneus</i> )	А. М-ответа, мВ	1,73; 1,45	1,2; 0,65	0,1
	РЛ, мс	2,4; 2,6	3,65; 2,24	0,2
	СРВ, м/с	44,1; 14,2	40,3; 8,8	0,3
Большеберцовый нерв ( <i>n. tibialis</i> )	А. М-ответа, мВ	1,2; 2,2	1,04; 1,34	0,5
	РЛ, мс	2,8; 1,7	3,8; 2,3	0,1
	СРВ, м/с	44,3; 11,6	39,1; 7,8	0,04
Икроножный нерв ( <i>n. suralis</i> )	А. S-ответа, мкВ	2,1; 4,8	0,72; 2,2	0,09
	СРВ, м/с	34,5; 45,1	6,25; 40,35	0,1

У пациентов с низким уровнем СОД показатели ЭФ были ниже, а СРПВ выше, чем у пациентов с нормальным уровнем СОД, но не доходили до статистически достоверных значений (Таблица 3.7). Не было выявлено статистически достоверных взаимосвязей между уровнем СОД и показателями вазографии у пациентов с пониженным уровнем СОД.

**Таблица 3.7.** — Сравнение показателей вазографии у пациентов с нормальным и низким уровнем СОД

Показатель	СОД > 164 Ед/мл (n = 48) Me; IQR	СОД < 164 Ед/мл (n = 16) Me; IQR	p
ЭФ, %	5,6; 24,0	2,6; 18,3	0,6
СРПВ, м/с	7,8; 2,0	8,7; 3,8	0,3

Статистически достоверных отличий по показателям капилляроскопии между пациентами с нормальным и пониженным уровнем СОД не наблюдались (Таблица 3.8).

**Таблица 3.8.** — Сравнение показателей капилляроскопии у пациентов с нормальным и низким уровнем СОД

Показатель	СОД > 164 Ед/мл (n = 48) Me; IQR	СОД < 164 Ед/мл (n = 16) Me; IQR	p
Артериальный отдел, мкм	8,4; 3,4	9,1; 2,9	0,5
Переходный отдел, мкм	11,3; 7,9	11,9; 5,9	0,6
Венозный отдел, мкм	9,2; 2,6	9,8; 6,0	0,5
Скорость капиллярного кровотока, мкм/сек	638,0; 415,0	602,5; 517,0	0,3
Периваскулярная зона, мкм	104,0; 30,7	82,9; 37,3	0,3
Коэффициент ремоделирования	1,3; 0,26	1,4; 0,26	0,9
Плотность капиллярной сети, баллы	2,0; 0,0	2,0; 1,0	0,5
Степень извитости капилляров, баллы	2,0; 0,0	2,0; 0,0	0,4
Полиморфизм капилляров, баллы	2,0; 1,0	3,0; 1,0	0,07

Не было выявлено статистически достоверных взаимосвязей между уровнем СОД и показателями капилляроскопии у пациентов с пониженным уровнем СОД.

Таким образом, у  $\frac{1}{4}$  пациентов с СД 2 типа наблюдается снижение уровня антиоксидантных ферментов, что в свою очередь отрицательно влияет на функции периферических нервов.

*Оценка уровня общего и активного витамина В12, а также ГЦ на старте исследования*

Важным аспектом нашего исследования являлась диагностика раннего дефицита витамина В12 у пациентов с СД 2 типа с ДН. В связи с этим на старте исследования у пациентов осуществлялось определение уровней общего и активного витамина В12, а также ГЦ в крови.

Для оценки статуса витамина В12 мы использовали рекомендуемые в научной литературе пороговые значения уровня кобаламина для пациентов с СД: для диагностики дефицита витамина В12 приняли за основу уровень кобаламина < 150 пмоль/л, а для нехватки витамина В12 (метаболический дефицит) – 150 - 400 пмоль/л [62, 63, 80, 126].

Уровень витамина В12 < 150 пмоль/л было выявлено у 3 (5%) пациентов, в пределах 150 - 400 пмоль/л у 37 (58%) пациентов, а у остальных 37 % пациентов (24 человек) уровень витамина В12 был > 400 пмоль/л (Рисунок 3.7).

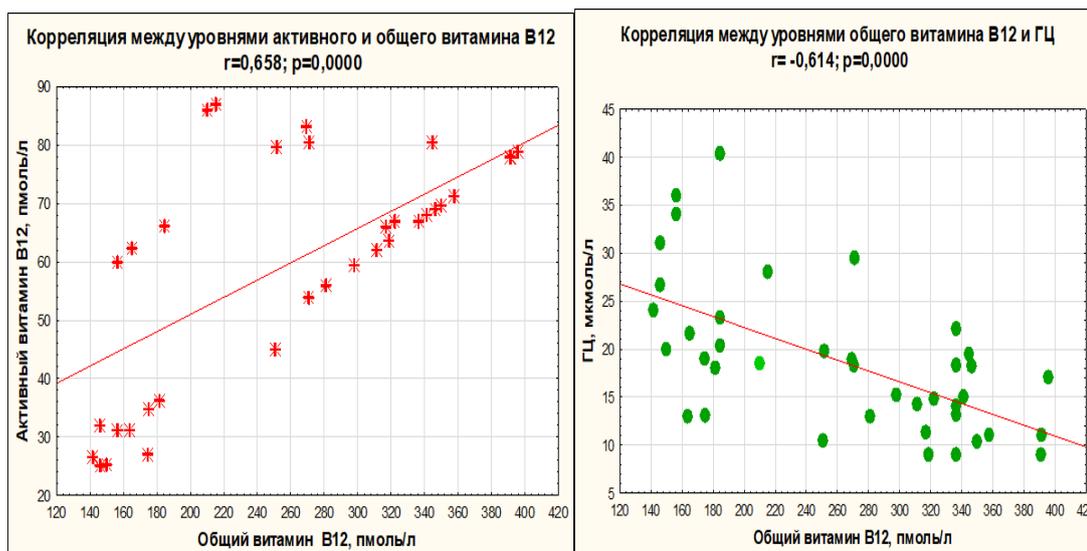


**Рисунок 3.7. Распределение пациентов по уровню витамина В12 на старте исследования**

У пациентов с уровнем витамина В12 < 400 пмоль/л показатели ГЦ были > 9 мкмоль/л, а активного витамина В12 < 87 пмоль/л. У этих пациентов корреляционный анализ выявил статистически значимую положительную взаимосвязь между показателями общего и активного витамина В12 ( $r = 0,658$ ;  $p = 0,0000$ ), а также статистически значимую отрицательную взаимосвязь между показателями ГЦ и общего витамина В12 ( $r = -0,614$ ;  $p = 0,0000$ ) (Рисунок 3.8).

Нами полученные данные еще раз доказывают, что уровень ГЦ > 9 мкмоль/л и уровень активного витамина В12 < 87 пмоль/л могут свидетельствовать о дефиците, в том числе о метаболическом дефиците витамина В12 [79, 80, 102]. Следовательно, в данном исследовании дефицит витамина В12, в том числе метаболический дефицит, был выявлен у 63% (40 человек) пациентов (уровень витамина В12 < 400 пмоль/л, далее – назовем дефицит, а уровнем витамина В12 > 400 пмоль/л – без дефицита).

Исходя из полученных данных было принято решение проводить сравнительный анализ лабораторно-инструментальных показателей между пациентами с дефицитом и без дефицита витамина В12 и оценить степень выраженности ДН.



**Рисунок 3.8.** Корреляция между показателями общего и активного витамина В12, между показателями общего витамина В12 и ГЦ у пациентов с уровнем витамина В12 <400 пмоль/л

Сравнительный анализ показал, что по антропометрическим данным и биохимическим показателям, а также по возрасту и длительности диабета между пациентами с дефицитом и без дефицита витамина В12 статистически достоверных отличий не наблюдался (Таблица 3.9).

**Таблица 3.9.** — Клиническая характеристика пациентов с дефицитом и без дефицита витамина В12

Показатель	С дефицитом вит В12 (n = 40) Me; IQR	Без дефицита вит В12 (n = 24) Me; IQR	p
Возраст, годы	61,0; 11,0	61,0; 8,5	0,7
Длительность диабета, годы	7,0; 7,0	6,5; 9,5	0,7
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,5; 5,6	33,5; 8,6	0,7
НвА <sub>1с</sub> , %	7,7; 1,8	7,8; 1,7	0,6
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,14; 0,7	1,2; 0,8	0,7
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,7; 1,1	3,1; 1,9	0,3
СКФ, мл/мин/1.73м <sup>2</sup>	73,3; 20,5	72,0; 19,5	0,8

У пациентов с дефицитом витамина В12 уровень активного витамина В12 был статистически достоверно ниже, а уровень ГЦ – выше, чем у пациентов без дефицита витамина В12 ( $p < 0,05$ ). По показателям антиоксидантных ферментов статистически достоверных отличий не наблюдалось (Таблица 3.10)

**Таблица 3.10.** — Сравнительный анализ уровня активного витамина В12, ГЦ и антиоксидантных ферментов между пациентами с дефицитом и без дефицита витамина В12

Показатель	С дефицитом вит В12 (n = 40) Ме; IQR	Без дефицита вит В12 (n = 24) Ме; IQR	p
Уровень ГЦ, мкмоль/л	18,25; 8,8	11,6;6,0	0,002
Уровень активного витамина В12, пмоль/л	66,2;21,1	109,1;36,4	0,00000
СОД, Ед/мл	178,5;48,2	184,1;32,6	0,3
ГПО, Ед/л	4728,0;1535,0	5459,5;1132,0	0,1

У пациентов с дефицитом витамина В12 показатели ГЦ отрицательно коррелировали с уровнем СОД ( $r = - 0,627$ ;  $p = 0,0003$ ), уровнем ГПО ( $r = - 0,490$ ;  $p = 0,002$ ), с показателями амплитуды малоберцового нерва ( $r = - 0,399$ ;  $p = 0,003$ ), СРВ ( $r = - 0,460$ ;  $p = 0,001$ ) и амплитуды икроножного нерва ( $r = - 0,488$ ;  $p = 0,001$ ), а также с показателями ЭФ ( $r = - 0,641$ ;  $p = 0,001$ ) и со скоростью капиллярного кровотока ( $r = - 0,355$ ;  $p = 0,008$ ). У этих же пациентов уровень ГЦ положительно коррелировал с показателями РЛ большеберцового нерва ( $r = 0,359$ ;  $p = 0,0000$ ), со значениями NIS-LL ( $r = 0,542$ ;  $p = 0,0004$ ), и СРПВ ( $r = 0,405$ ;  $p = 0,0008$ ).

Полученные данные свидетельствуют о том, что дефицит витамина В12, в том числе метаболический дефицит, способствует повышению уровня ГЦ. Уровень ГЦ  $>9$  мкмоль/л способствует нарушению функций икроножного нерва, увеличению неврологического дефицита по шкале NIS-LL, а также снижению уровней антиоксидантных ферментов, нарушений функций эндотелия и снижению скорости капиллярного кровотока.

Изучение сахароснижающей терапии показало, что метформин в качестве монотерапии или в комбинации с другими сахароснижающими препаратами принимали 93% пациентов с дефицитом витамина В12 и 91% без дефицита витамина В12. Следовательно, процентное соотношение количества лиц принимающих метформин у пациентов с дефицитом и без дефицита витамина В12 не отличалось.

У пациентов с дефицитом витамина В12 по сравнению с пациентами без дефицита степень проявления неврологических нарушений по шкале NIS-LL была статистически достоверно выше по критерию Манна-Уитни. Степень проявления ДН у данной категории пациентов по шкале TSS тоже была выше, но не доходила до статистически достоверного уровня (Рисунок 3.9).



**Рисунок 3.9.** Сравнение проявления ДН у пациентов с дефицитом и с нормальным уровнем витамина В12

У пациентов с дефицитом витамина В12 по сравнению с пациентами без дефицита наблюдается статистическое достоверное увеличение РЛ большеберцового нерва и снижение амплитуды сенсорного ответа икроножного нерва (Таблица 3.11).

**Таблица 3.11.** — Сравнительный анализ ЭНМГ показателей между пациентами с дефицитом и без дефицита витамина В12 по

Показатель		Группы		p
		С дефицитом вит В12 (n = 40) Me; IQR	Без дефицита вит В12(n = 24) Me; IQR	
Малоберцовый нерв ( <i>n. peroneus</i> )	А. М-ответа, мВ	1,5;1,2	1,4;1,4	0,6
	РЛ, мс	2,2;2,3	2,7;3,1	0,7
	СРВ, м/с	41,5;10,1	44,1;13,7	0,2
Большеберцовый нерв ( <i>n. tibialis</i> )	А. М-ответа, мВ	1,2;1,6	0,9;2,2	0,8
	РЛ, мс	3,8;2,5	2,4;1,3	0,002
	СРВ, м/с	41,4;9,9	45,9;10,3	0,1
Икроножный нерв ( <i>n. suralis</i> )	А. S-ответа, мкВ	1,2;2,9	3,2;4,1	0,03
	СРВ, м/с	34,0;42,2	32,0;47,5	0,3

Уровень общего витамина В12 отрицательно коррелировал со степенью проявления ДН по шкалам TSS ( $r = - 0,391$ ;  $p = 0,012$ ) и NIS-LL ( $r = - 0,419$ ;  $p = 0,007$ ), а уровень активного витамина В12 – TSS ( $r = - 0,408$ ;  $p = 0,009$ ) у пациентов с дефицитом витамина В12.

Оценка показателей эндотелиальной функции при помощи вазографии показала, что у пациентов с дефицитом витамина В12 по сравнению с пациентами без дефицита наблюдается статистически достоверное увеличение СРПВ по критерию Манна-Уитни (Таблица 3.12).

**Таблица 3.12.** — Показатели вазографии

Показатель	С дефицитом вит В12 (n = 40) Ме; IQR	Без дефицита вит В12 (n = 24) Ме; IQR	p
ЭФ, %	2,6;23,3	11,0;20,4	0,07
СРПВ, м/с	8,3;3,3	7,2;1,4	0,02

Уровень общего витамина В12 положительно коррелировал с показателями ЭФ ( $r = 0,481$ ;  $p = 0,0017$ ) и отрицательно с показателями СРПВ ( $r = - 0,424$ ;  $p = 0,006$ ) у пациентов с дефицитом витамина В12.

Сравнительный анализ показателей капилляроскопии между пациентами с дефицитом и без дефицита витамина В12 статистически достоверных отличий не выявил по критерию Манна-Уитни (Таблица 3.13).

**Таблица 3.13.** — Показатели капилляроскопии

Показатель	С дефицитом вит В12 Ме; IQR	Без дефицита вит В12 Ме; IQR	p
Артериальный отдел, мкм	8,8;3,5	8,4;2,3	0,9
Переходный отдел, мкм	11,3;7,7	11,8;11,2	0,3
Венозный отдел, мкм	9,5;6,1	9,5;2,2	0,7
Скорость капиллярного кровотока, мкм/сек	638,0;392	631,5;554,5	0,9
Периваскулярная зона, мкм	95,5;36,4	104,0;18,3	0,1
Коэффициент ремоделирования	1,4;0,2	1,3;0,4	0,7
Плотность капиллярной сети, баллы	2,0;1,0	2,0;0,0	0,3
Степень извитости капилляров, баллы	2,0;0,0	2,0;0,0	0,7
Полиморфизм капилляров, баллы	2,0;1,0	2,0;0,5	0,3

Корреляционный анализ показал, что уровень активного витамина В12 отрицательно коррелировал со значениями извитости капилляров ( $r = - 0,377; 0.004$ ) и положительно со скоростью капиллярного кровотока ( $r = 0,321; 0.004$ ).

Таким образом, проанализировав полученные данные, можно сделать вывод, что наряду с гипергликемией, присутствовавшей у пациентов с СД 2 типа, дефицит витамина В12 вносит свой вклад в увеличение уровня ГЦ, нарушение функций эндотелия, способствуя прогрессированию ДН.

### **3.2. Оценка влияния повышенного уровня ГЦ на показатели антиоксидантных ферментов, вазографии, капилляроскопии и на функциональное состояние периферической нервной системы у пациентов с СД 2 типа на старте исследования**

Следующей задачей данного исследования была оценка влияния повышенного уровня ГЦ (выше 15 мкмоль/л) на функцию нервов и эндотелия, а также на уровни антиоксидантных ферментов и на показатели капилляроскопии. В связи с этим у всех пациентов на старте исследования проводилось определение уровня ГЦ.

Результаты исследования показали, что у 48% (31 человек) пациентов уровень ГЦ находился в пределах 15,2–40,3 мкмоль/л, что соответствует уровню гомоцистеина выше физиологических границ, т. е. ГГЦ. У остальных 52% (33 человека) пациентов уровень ГЦ находился в пределах физиологических границ (5,0–15,0 мкмоль/л) (нормогомоцистеинемия – НГЦ).

Сравнительный анализ показал, что по антропометрическим данным и биохимическим показателям, а также по возрасту и длительностью диабета между пациентами с ГГЦ и НГЦ статистически достоверных отличий не наблюдается (Таблица 3.14).

Уточнялась информация о факте табакокурения в момент исследования и о стаже курения в прошлом, как об одном из факторов, повышающих уровень ГЦ. Среди пациентов с НГЦ 15% (5 человек) и с ГГЦ 13% (4 человека) выкуривали до 20 сигарет в день. Кроме этого, среди пациентов с НГЦ было выявлено 4 (12%) и с ГГЦ 3 (10%) бывших курильщика. Остальные 24 (73%) пациента с НГЦ и 24 (77%) с ГГЦ никогда не курили.

Итак, между пациентами с ГГЦ и НГЦ не было выявлено статистически достоверного отличия по антропометрическим показателям, возрасту и длительностью диабета, по основным показателями углеводного и липидного обмена, функциональному состоянию почек, а также по

количеству курильщиков. Следовательно, пациенты с ГГЦ и НГЦ были сопоставимы по вышеперечисленным показателям.

**Таблица 3.14.** — Клиническая характеристика пациентов с ГГЦ и НГЦ

Показатель	НГЦ (n = 33) Me; IQR	ГГЦ (n = 31) Me; IQR	p
Возраст, годы	61,0; 8,0	62,0; 13,0	0,6
Длительность диабета, годы	7,0; 8,0	6,0; 7,0	0,6
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	32,0; 6,8	32,7; 6,6	0,4
НВА <sub>1с</sub> , %	7,7; 1,6	7,9; 2,0	0,3
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,2; 0,8	1,1; 0,8	0,5
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,8; 1,0	3,1; 1,3	0,5
СКФ, мл/мин/1.73м <sup>2</sup>	74; 23,0	66,0; 21,0	0,2

Статистический анализ полученных данных выявил, что у пациентов с ГГЦ уровни общего и активного витамина В12 были статистически достоверно ниже, чем у пациентов с НГЦ ( $p < 0,05$ ) (Таблица 3.15).

**Таблица 3.15.** — Сравнительный анализ уровня витамина В12 между пациентами с НГЦ и с ГГЦ

Показатель	НГЦ (n = 33) Me; IQR	ГГЦ (n = 31) Me; IQR	p
Общий витамин В12, пмоль/л	413,4; 105,4	269,4; 221,4	0,0007
Активный витамин В12, пмоль/л	84,4; 55,0	67,0; 32,0	0,0006

Следующим важным аспектом данного исследования была оценка влияния повышенного уровня ГЦ на показатели антиоксидантных ферментов, функциональное состояние периферической нервной системы, а также на макро- и микроциркуляторную системы у пациентов с СД 2 типа.

Сравнительный анализ полученных данных выявил, что у пациентов с ГГЦ уровни антиоксидантных ферментов СОД и ГПО были статистически достоверно ниже, чем у пациентов с НГЦ по критерию Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ) (Таблица 3.16).

**Таблица 3.16.** — Сравнительный анализ между пациентами с НГЦ и с ГГЦ

Показатель	НГЦ (n = 33) Ме; IQR	ГГЦ (n = 31) Ме; IQR	p
СОД, Ед/мл	201,2; 39,1	160,0; 25,0	0,00000
ГПО, Ед/л	5637,0; 1470,0	4456,0; 514,0	0,000002

В ходе исследования было установлено, что у пациентов, имеющих ГГЦ степень проявления ДН по шкалам TSS и NIS-LL была статистически достоверно выше, а показатели ЭНМГ икроножного нерва (n. suralis) статистически достоверно хуже, чем у пациентов с НГЦ по критерию Манна-Уитни (Таблица 3.17).

**Таблица 3.17.** — Сравнительный анализ между пациентами с НГЦ и с ГГЦ

Показатель	НГЦ (n = 33) Ме; IQR	ГГЦ (n = 31) Ме; IQR	p
TSS, баллы	10,3; 4,65	13,32; 2,4	0,0002
NIS-LL, баллы	16,0; 3,0	20,0; 7,0	0,00005
A. S-ответа n. suralis, мкВ	3,4; 4,3	0,023; 1,6	0,00005
СРВ n. suralis, м/с	39,8; 25,0	12,0; 39,8	0,009

Оценка показателей эндотелиальной функции при помощи вазографии показала, что у пациентов с ГГЦ наблюдалось статистически значимое увеличение СРПВ и снижение ЭФ по сравнению с пациентами с НГЦ по критерию Манна-Уитни (Таблица 3.18).

**Таблица 3.18.** — Показатели вазографии

Показатель	НГЦ (n = 33)	ГГЦ (n = 31)	p
	Ме; IQR	Ме; IQR	
ЭФ, %	12; 21,3	-5,4; 33	0,00001
СРПВ, м/с	7,5; 1,23	8,9; 4,7	0,0019

Сравнительный анализ показателей капилляроскопии между пациентами с ГГЦ и с НГЦ статистически достоверных отличий не выявил по критерию Манна-Уитни (Таблица 3.19)

У пациентов с ГГЦ наблюдалась статистически достоверная отрицательная корреляция между показателями уровней ГЦ и активным ( $r = - 0,936$ ;  $p = 0,0000$ ), а также общим витамином В12 ( $r = - 0,8407$ ;  $p = 0,0000$ ). У этих пациентов показатели уровня ГЦ отрицательно коррелировали с уровнем ГПО ( $r = - 0,787$ ;  $p = 0,0000$ ) и с уровнем СОД ( $r = - 0,808$ ;  $p = 0,0000$ ).

Кроме этого, у пациентов с ГГЦ корреляционный анализ выявил статистически достоверную положительную взаимосвязь между уровнем ГЦ и показателями неврологических симптомов по шкале TSS ( $r = 0,7367$ ;  $p = 0,0000$ ), а также между показателями неврологического дефицита по шкале NIS-LL ( $r = 0,901$ ;  $p = 0,0000$ ).

Уровень ГЦ отрицательно коррелировал с показателями СРВ ( $r = - 0,796$ ;  $p = 0,00000$ ) и амплитудой сенсорного ответа ( $r = - 0,660$ ;  $p = 0,00005$ ) икроножного нерва у пациентов с ГГЦ.

У пациентов с ГГЦ также наблюдалась статистически достоверная отрицательная корреляция между показателями уровня ГЦ и ЭФ ( $r = - 0,913$ ;  $p = 0,00000$ ) и положительная корреляция между показателями уровня ГЦ и СРПВ ( $r = 0,936$ ;  $p = 0,00000$ ).

Таким образом, ГГЦ, как результате дефицита витамина В12, способствует снижению уровня антиоксидантных ферментов, нарушению функций эндотелия, прогрессированию ДН.

**Таблица 3.19.** — Показатели капилляроскопии

Показатель	НГЦ (n = 33) Ме; IQR	ГГЦ (n = 31) Ме; IQR	p
Артериальный отдел, мкм	8,4; 3,4	9,2; 3,5	0,5
Переходный отдел, мкм	11,9; 8,2	10,8; 7,7	0,7
Венозный отдел, мкм	9,8; 6,2	9,2; 6,0	0,9
Скорость капиллярного кровотока, мкм/сек	804,0; 279,0	583,0; 517,0	0,1
Периваскулярная зона, мкм	104,0; 31,6	104,0; 37,3	0,7
Коэффициент ремоделирования	1,3; 0,24	1,44; 0,35	0,7
Плотность капиллярной сети, баллы	2,0; 0,0	2,0; 0,0	0,8
Степень извитости капилляров, баллы	2,0; 0,0	2,0; 0,0	0,8
Полиморфизм капилляров, баллы	2,0; 1,0	2,0; 1,0	0,7

### 3.3. Клиническая характеристика пациентов, разделенных на группы

Основной задачей исследования являлась оценка эффективности комплексной медикаментозной терапии ДН у пациентов с СД 2 типа. Следовательно, на старте исследования пациенты с помощью простой рандомизации были разделены на 2 группы. В группу №1 вошли 33 человека, из них 14 (42%) мужчин и 19 (58%) женщин. В группу №2 вошли 31 человек, из них 6 (19%) мужчин и 25 (81%) женщин. Возраст пациентов в группе №1 варьировал от 45 до 74 лет, а в группе №2 от 51 до 70 лет.

Распределение пациентов по возрастным группам показало, что из группы №1 78% (26 человек), а из группы №2 90% (28 человек) относились к возрастной категории 50 - 69 лет.

Распределение пациентов по возрастным категориям в основной группе и группе сравнения представлено в Таблице № 3.20.

**Таблица 3.20.** — Распределение пациентов по возрастным категориям

Возраст, лет	Группа №1 (n = 33)	Группа №2 (n = 31)
45 - 49	4 (12%)	0 (0%)
50 - 59	14 (42%)	10 (32%)
60 - 69	12 (36%)	18 (58%)
70 - 74	3 (9%)	3 (10%)

Длительность СД у пациентов группы №1 варьировал от 2 до 23 лет, а у пациентов группы №2 от 2 до 25 лет. Распределение пациентов по длительности диабета показало, что 66% (22 человека) из группы №1 и 64% (20 человек) из группы №2 имели длительность диабета от 2 до 11 лет (Таблица 3.21).

**Таблица 3.21.** — Распределение пациентов по длительности диабета

Длительность диабета, лет	Группа №1 (n = 33)	Группа №2 (n = 31)
2 - 5	14 (42%)	11 (35%)
6 - 10	8 (24%)	9 (29%)
11 - 15	5 (15%)	6 (19%)
16 - 20	5 (15%)	4 (13%)
21 - 25	1 (3%)	1 (3%)

В обеих группах по возрасту и по длительности диабета не наблюдалось статистически значимых отличий (Таблица 3.22).

**Таблица 3.22.** — Клиническая характеристика групп пациентов на старте исследования

Показатель	Группа №1 (n = 33) Me; IQR	Группа №2 (n = 31) Me; IQR	p
Возраст, годы	58,0; 10,0	62,0; 11,0	0,3
Длительность СД, годы	6,0; 9,0	8,0; 7,0	0,06

ИМТ у пациентов группы №1 находился в диапазоне от 20 до 49,6 кг/м<sup>2</sup>, а у пациентов группы №2 в диапазоне от 20,9 до 42,9 кг/м<sup>2</sup>. Медиана ИМТ в основной группе составила 31,97; 6,7 кг/м<sup>2</sup>, а в группе №2 – 34,2; 6,7 кг/м<sup>2</sup>. Сравнение показателей ИМТ в обеих группах не выявило статистически значимого отличия по критерию Манна-Уитни (p = 0,1). Распределение пациентов в зависимости от ИМТ в обеих группах показано в Таблице № 3.23.

**Таблица 3.23.** — Распределение пациентов в зависимости от ИМТ

ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	Группа №1 (n = 33)	Группа №2 (n = 31)
<25 кг/м <sup>2</sup>	4 (12%)	1 (3%)
25 - 29,9 кг/м <sup>2</sup>	8 (24%)	6 (19%)
30 - 34,9 кг/м <sup>2</sup>	13 (39%)	12 (39%)
35 - 39,9 кг/м <sup>2</sup>	4 (12%)	9 (29%)
> 40 кг/м <sup>2</sup>	4 (12%)	3 (10%)

Как следует из Таблицы № 3.21, подавляющее большинство пациентов имели избыточную массу тела (24 % в группе №1 и 19 % в группе №2) или ожирение 1 и 2 степени (51 % в группе №1 и 68 % пациентов в группе №2).

#### *Сахароснижающая терапия и компенсация углеводного обмена*

Все участники до начала исследования уже получали терапию сахароснижающими препаратами.

Из группы №1 2 пациента получали препараты иДПП4, 31 пациент получал метформин в качестве монотерапии (5 человек), или в комбинации с другими сахароснижающими препаратами (26 человек). При этом двойную комбинацию сахароснижающих препаратов

получали 10 человек, тройную комбинацию 12 человек и комбинацию четырьмя препаратами – 4 человека.

1 человек из группы №2 получал препараты инсулина, 2 человека препараты СМ в комбинации с инсулином, 28 получали метформин в качестве монотерапии (4 человека), или в комбинации с другими сахароснижающими препаратами (24 человека). При этом двойную комбинацию сахароснижающих препаратов получали 12 человек, тройную комбинацию – 11 человек и комбинацию четырьмя препаратами – 3 человека.

Распределение пациентов по группам в зависимости от вида сахароснижающей терапии показано в Таблице № 3.24.

**Таблица 3.24.** — Распределение пациентов в зависимости от вида сахароснижающей терапии

Сахароснижающая терапия	Варианты терапии	Группа №1 (n = 33)	Группа №2 (n = 31)
Монотерапия	Метформин	5	4
	иДПП4	2	-
	Инсулин	-	1
Двойная комбинация	Мет+иДПП4	2	-
	Мет+СМ	3	4
	Мет+иНГКТ2	2	2
	Мет+АГПП1	2	1
	Мет+Инс	1	3
	СМ+Инс	-	2
Тройная комбинация	Мет+СМ+Инс	-	2
	Мет+иНГКТ2+Инс	-	5
	Мет+СМ+иДПП4	3	1
	Мет+СМ+иНГКТ2	4	2
	Мет+СМ+АГПП1	1	-
	Мет+иДПП4+иНГКТ2	4	1
Комбинация четырьмя препаратами	Мет+ СМ+иДПП4+иНГКТ2	3	-
	Мет+СМ+АГПП1+иНГКТ2	1	-
	Мет+СМ+иДПП4+Инс	-	1
	Мет+СМ+иНГКТ2+Инс	-	2

На старте исследования показатели углеводного обмена в обеих группах по критерию Манна-Уитни не имели статистически достоверных отличий (Таблица 3.25).

У большинства пациентов в обеих группах результаты HbA1c оказались близкими к целевым показателям для данной категории больных (в группе №1 70% (23 человека) пациентов, а в группы №2 77% (24 человека) имели уровень HbA1c 6,5 - 8,5%).

Пациентам, имеющим уровень HbA1c выше целевых значений (в групп №1 10 человек и в группе №2 7 человек) была проведена коррекция сахароснижающей терапии.

Пациентам из группы №1 к существующей терапии были добавлены препараты инсулина (4 человека), НГКТ2 (3 человека) и СМ (3 человека).

Пациентам из группы №2 к существующей терапии были добавлены препараты НГКТ2 (5 человек) и СМ (2 человека).

После этого схема сахароснижающей терапии не менялась и осталась стабильной в течение всего исследования.

**Таблица 3.25.** — Показатели углеводного обмена в обеих группах

Показатель	Группа №1 (n = 33) Me; IQR	Группа №2 (n = 31) Me; IQR	p
Уровень глюкозы натощак, ммоль/л	6,4; 1,1	6,5; 2,2	0,9
Уровень постпрандиальной глюкозы, ммоль/л	8,0; 3,4	8,1; 2,2	0,1
Уровень HbA1c, %	7,8; 1,9	7,8; 1,8	0,79
Уровень С-пептид, нг/мл	2,4; 1,5	2,9; 1,6	0,2

#### *Уровень показателей липидного обмена и гиполипидемическая терапия*

Как видно из Таблицы № 3.26 на старте исследования показатели липидного обмена у пациентов в обеих группах находились близко к целевому диапазону, что можно объяснить адекватным контролем данных показателей с помощью гиполипидемической терапии препаратами из группы статинов.

**Таблица 3.26.** — Показатели липидного обмена в обеих группах

Показатель	Целевые показатели липидного обмена	Группа №1 (n = 33) Me; IQR	Группа №2 (n = 31) Me; IQR	p
Уровень общего холестерина, ммоль/л	<4,5	5,32; 1,9	5,58; 1,9	0,45
Уровень ХС ЛПВП, ммоль/л	у мужчин >1,0, у женщин >1,3	1,3; 0,8	1,0; 0,4	0,02
Уровень ХС ЛПНП, ммоль/л	<2,5	3,06; 0,91	2,69; 1,1	0,5

*Уровень витамина В12, ГЦ и антиоксидантных ферментов в крови*

Дефицит витамина В12, в том числе метаболический, в группе №1 из 33 человек имели 21 (63%), а в группе №2 из 31 человек – 19 (61%).

48% (16 человек) пациентов из группы №1 и 48% (15 человек) пациентов из группы №2 (всего 31 человек) имели показатели уровня ГЦ в крови выше референсных значений (больше 15 мкмоль/л).

У пациентов из группы №1 показатели уровня СОД находились в диапазоне 123 - 259 Ед/мл, а ГПО в диапазоне 4012 - 7655 Ед/л.

У пациентов из группы №2 показатели уровня СОД находились в диапазоне 131 - 234 Ед/мл, а ГПО в диапазоне 4010 - 7946 Ед/л.

8 человек (24 %) из группы №1 и 8 человек (26%) из группы №2 имели показатели уровня СОД в крови ниже референсных значений (164 - 240 Ед/мл).

2 человека (6 %) из группы №1 и 7 человек (23 %) из группы №2 имели показатели уровня ГПО в крови ниже референсных значений (4171 - 10881 Ед/л).

Сравнительный анализ показал, что статистически значимых отличий по уровням общего и активного витамина В12, а также ГЦ и антиоксидантных ферментов между двумя группами по критерию Манна-Уитни не выявлено (Таблица 3.27).

**Таблица 3.27.** — Показатели уровней витамина В12, ГЦ, СОД и ГПО в обеих группах

Показатель	Группа №1 (n = 33) Me; IQR	Группа №2 (n = 31) Me; IQR	p
Общий витамин В12, пмоль/л	322,0; 222,9	344,8; 152,9	0,42
Активный витамин В12, пмоль/л	81,4; 36,4	78,0; 49,8	0,55
ГЦ, мкмоль/л	14,8; 9,3	15,0; 9,3	0,8
СОД, Ед/мл	183,0; 37,1	178,9; 49,3	0,8
ГПО, Ед/л	5097,0; 1771,0	4815,0; 1407,0	0,4

Таким образом, пациенты в обеих группах были сопоставимы по вышеперечисленным показателям.

#### *Скорость клубочковой фильтрации (СКФ)*

Показатели СКФ, рассчитанной по формуле MDRD у пациентов группы №1 находились в диапазоне 54 - 99 мл/мин, а в группы №2 в диапазоне 54 - 103 мл/мин.

На старте исследования сравнение показателей СКФ между двумя группами не выявило достоверных отличий по критерию Манна-Уитни ( $p = 0,2$ ). В группе №1 медиана уровней СКФ составила 74; 23 мл/мин, в группе №2 составила 66; 21 мл/мин.

У 82% пациентов из группы №1 и у 91% пациентов из группы №2 имелись показатели уровня СКФ 60 и более мл/мин. Это говорит о том, что у большинства участников исследования наблюдалось незначительное снижение СКФ, которое соответствует 2 стадии хронической болезни почек (СКФ 60 - 89 мл/мин). («Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова 9-й выпуск. Москва, 2019).

При таких показателях СКФ нет ограничений к назначению антиоксидантных препаратов и препаратов витаминов группы В.

#### *Функциональное состояние эндотелия*

На старте исследования у пациентов обеих групп показатели ЭФ находились в диапазоне от - 28 до 51%.

У 85% пациентов из группы №1 показатели ЭФ находились ниже физиологических границ (30 - 60%). Причем, у 39% пациентов из этой группы ЭФ имела отрицательные и нулевые значения.

У 90% пациентов из группы №2 показатели ЭФ находились ниже физиологических границ, из них 35% имели отрицательные показатели и нулевой результат.

Сравнение показателей ЭФ между двумя группами не выявило достоверных отличий по критерию Манна-Уитни ( $p = 0,9$ ). В группе №1 медиана показателей ЭФ составила 5,6; 29,2 %, в группе №2 составила 2,6; 16,6%.

Медиана показателей СРПВ в группе №1 составила 7,9; 3,9 м/с, в группе №2 составила 7,9; 2 м/с. Сравнение показателей СРПВ между двумя группами не выявило достоверных отличий по критерию Манна-Уитни ( $p=0,5$ ).

У 15 человек (45%) из группы №1 и у 10 человек (32%) из группы №2 наблюдалось увеличение показателей СРПВ выше референсных значений ( $> 8,5$  м/с).

Таким образом, оценка функционального состояния эндотелия у пациентов с СД 2 типа, принявших участие в исследовании, показала, что у большинства исследуемых пациентов наблюдается увеличение СРПВ и нарушение ЭФ. В совокупности эти нарушения указывают на функциональную недостаточность эндотелия у пациентов с СД 2 типа, имеющих ДН.

#### *Показатели микроциркуляции*

Сравнительный анализ показателей капилляроскопии между пациентами обеих групп по критерию Манна-Уитни статистически достоверных отличий не выявил (Таблица 3.28).

У 25 человек (76%) из группы №1 и у 23 человек (74%) из группы №2 скорость капиллярного кровотока выходила за пределы физиологических границ (450 - 800 мкм/с).

18 человек (55%) из группы №1 и 15 человек (48%) из группы №2 имели увеличение размеров периваскулярной зоны больше, чем 100 мкм.

16 человек (49%) из группы №1 и 15 человек (48%) из группы №2 имели показатели коэффициента ремоделирования капилляров выше, чем 1,39.

Степень извитости капилляров больше 1 балла из группы №1 имели 28 человек (85%), а из группы №2 имели 27 человек (87%).

Степень полиморфизма капилляров больше 1 балла из группы №1 имели 30 человек (91%), а из группы №2 имели 29 человек (94%).

Таким образом, оценка показателей микроциркуляции у исследуемых показала, что у большинства пациентов наблюдается нарушение скорости капиллярного кровотока, увеличение размеров периваскулярной зоны, увеличение степени коэффициента ремоделирования (сужение просвета артериол), извитости и полиморфизма капилляров. В совокупности это указывает на

нарушение кровообращения в капиллярах и перестройку микроциркуляторного русла у пациентов с СД 2 типа.

**Таблица 3.28.** — Показатели капилляроскопии в обеих группах

Показатель	-	Группа №1 (n = 33) Me; IQR	Группа №2 (n = 31) Me; IQR	p
Артериальный отдел, мкм	Me; IQR	8,4; 3,4	8,4; 3,4	0,9
	Min - max	5,4 - 10,5	5,4 - 10,4	
Переходный отдел, мкм	Me; IQR	10,8; 7,7	11,9; 7,7	0,8
	Min - max	6,3 - 24,0	7,8 - 24,0	
Венозный отдел, мкм	Me; IQR	9,2; 2,6	9,8; 6,0	0,9
	Min - max	7,0 - 18,0	7,0 - 18,0	
Скорость капиллярного кровотока, мкм/сек	Me; IQR	638,0; 540,0	638,0; 517,0	0,9
	Min - max	108,0 - 1746,0	108,0 - 1086,0	
Периваскулярная зона, мкм	Me; IQR	104,0; 32,5	95,5; 36,4	0,5
	Min - max	61,3 - 188,3	61,3 - 188,0	
Коэффициент ремоделирования	Me; IQR	1,3; 0,24	1,33; 0,24	0,9
	Min - max	0,91 - 1,9	0,9 - 1,9	
Плотность капиллярной сети, баллы	Me; IQR	2,0; 0,0	2,0; 0,0	0,9
	Min - max	1,0 - 3,0	1,0 - 3,0	
Степень извитости капилляров, баллы	Me; IQR	2,0; 0,0	2,0; 0,0	0,8
	Min - max	1,0 - 3,0	1,0 - 3,0	
Полиморфизм капилляров, баллы	Me; IQR	2,0; 1,0	2,0; 1,0	0,3
	Min - max	1,0 - 3,0	1,0 - 3,0	

*Показатели систолического и диастолического артериального давления*

Показатели систолического и диастолического АД у пациентов в обеих группах были скорректированы гипотензивными препаратами и находились близко к целевому диапазону («Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом» Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова 9-й выпуск. Москва, 2019). Более

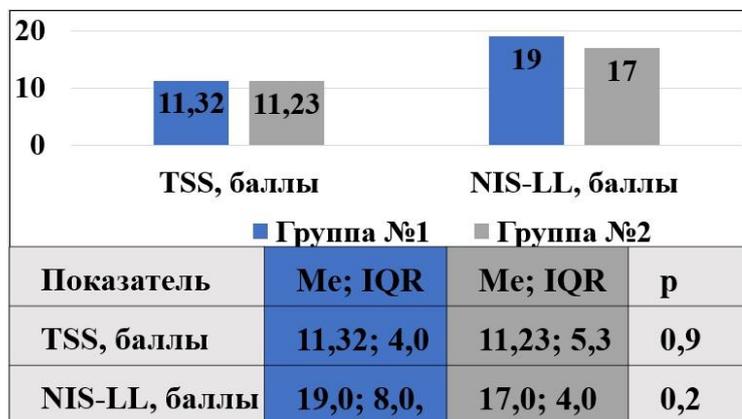
того, по критерию Манна-Уитни статистических отличий между группами не выявлено. Медиана систолического АД в группе №1 составила 130;15 мм рт.ст., а в группе №2 - 130; 20,0 мм рт.ст. ( $p = 0,6$ ). Медиана диастолического АД в группе №1 составила 80;0,0 мм рт.ст., а в группе №2 84; 17 мм рт.ст. ( $p = 0,3$ ).

#### Функциональное состояние периферической нервной системы

Минимальное значение неврологической симптоматики по шкале TSS в группе №1 составило 3,66 баллов, а в группе №2 – 8,0 баллов.

Максимальное значение неврологической симптоматики по шкале TSS и в группе №1 составило 14,64 балла, а в группе №2 – 13,64 балла. Показатели неврологического дефицита по шкале NIS-LL в обеих группах находились в диапазоне 10,0 - 28,0 баллов.

Сравнительный анализ оценки степени выраженности ДН по шкалам TSS и NIS-LL между двумя группами по критерию Манна-Уитни не выявил статистически значимого отличия (Рисунок 3.10).



**Рисунок 3.10. Степень выраженности ДН в обеих группах**

Показатели амплитуды М-ответа *n. peroneus* в группе №1 находились в диапазоне 0,002 - 5,2 мВ, показатели РЛ находились в диапазоне 0,3 - 10,9 мс, показатели СРВ находились в диапазоне 23,3 - 76,0 м/с.

Показатели амплитуды М-ответа *n. tibialis* в группе №1 находились в диапазоне 0,054 - 13,5 мВ, показатели РЛ находились в диапазоне 1,0 - 5,9 мс, показатели СРВ находилась в диапазоне 13,3 - 60,7 м/с.

Показатели амплитуды М-ответа *n. peroneus* в группе №2 находились в диапазоне 0,1 - 7,73 мВ, показатели РЛ находились в диапазоне 1,0 - 8,23 мс, показатели СРВ находились в диапазоне 23,5 - 72,5 м/с.

Показатели амплитуды М-ответа *n. tibialis* в группе №2 находились в диапазоне 0,137 - 6,5 мВ, показатели РЛ находились в диапазоне 0,99 - 9,1 мс, показатели СРВ находилась в диапазоне 31,3 - 55,4 м/с.

Показатели амплитуды S-ответа *n. suralis* в группе №1 находились в диапазоне 0,0 - 19,0 мкВ, а в группе №2 – в диапазоне 0,0 - 8,0 мкВ. Показатели СРВ *n. suralis* в группе №1 находились в диапазоне 0,0 - 59,1 м/с, а в группе №2 – в диапазоне 0,0 - 81,0 м/с.

У 13 пациентов (40%) из группы №1 и у 7 пациентов (23%) из группы №2 на старте исследования показатели амплитуды S-ответа и СРВ икроножного нерва имели нулевой результат.

Сравнительный анализ показателей ЭНМГ между пациентами обеих групп по критерию Манна-Уитни статистически достоверных отличий не выявил (Таблица 3.29).

**Таблица 3.29.** — Электрофизиологические показатели пациентов, включенных в исследование, до начала терапии

		Группа №1 (n = 33) Me; IQR	Группа №2 (n = 31) Me; IQR	p
Малоберцовый нерв	А. М-ответа, мВ	1,36; 1,5	1,7; 1,3	0,1
	РЛ, мс	3,0; 2,8	3,0; 2,0	0,6
	СРВ, м/с	42,0; 11,8	43,4; 8,4	0,3
Большеберцовый нерв	А. М-ответа, мВ	1,64; 0,99	1,7; 1,8	0,6
	РЛ, мс	2,64; 1,8	3,5; 2,8	0,08
	СРВ, м/с	46,0; 14,6	43,0; 8,4	0,2
Икроножный нерв	А. S-ответа, мкВ	1,37; 4,4	1,6; 3,8	0,4
	СРВ, м/с	23,0; 42,6	36,1; 45,4	0,09

У большинства пациентов в обеих группах исходно имелись признаки умеренно выраженного поражения двигательных и чувствительных волокон периферических нервов. Сравнительно низкие показатели ЭНМГ икроножного нерва свидетельствует о более раннем вовлечении сенсорных нервов в патологический процесс, протекающий у пациентов с СД 2 типа при развитии ДН.

Таким образом, обобщая вышеизложенное, можно сделать вывод, что при сравнительном анализе между 2-мя группами пациентов на старте исследования статистически достоверных отличий по антропометрическими данными, биохимическими и электрофизиологическими

показателями, а также по возрасту и длительности СД 2 типа не наблюдалось, что говорит об однородности этих групп.

### **3.4. Оценка взаимосвязи между клинико-anamнестическими данными и лабораторно-инструментальными показателями**

#### *Возраст*

Корреляционный анализ полученных данных не выявил статистически значимой взаимосвязи между возрастом и метаболическими показателями (уровнем глюкозы натощак и постпрандиальной глюкозы, HbA1c, общего холестерина, ХС ЛПНП и ХС ЛПВП), а также между возрастом и уровнем антиоксидантных ферментов, ГЦ и витамина В12 в крови.

Также не были выявлены статистически достоверные корреляции между возрастом и показателями вазографии и капилляроскопии.

Статистически значимые взаимосвязи между возрастом и функциональным состоянием периферической нервной системы (результатами ЭНМГ нижних конечностей, оценкой по шкалам TSS и NIS-LL) в данном исследовании не выявлены.

#### *Длительность сахарного диабета*

Согласно полученным данным продолжительность заболевания СД 2 типа в годах отрицательно коррелировала с показателями уровня СОД ( $r = -0,310$ ;  $p = 0,0127$ ) и положительно коррелировала с показателями неврологических симптомов по шкале TSS ( $r = 0,309$ ;  $p = 0,0127$ ), а также с показателями СРПВ ( $r = 0,303$ ;  $p = 0,0149$ ).

Таким образом, чем больше продолжительность заболевания СД 2 типа в годах, тем ниже содержание СОД в крови, а также тем более жесткие стенки сосудов и более выраженные неврологические симптомы.

Других статистически достоверных взаимосвязей между продолжительностью заболевания СД 2 типа в годах и изучаемыми показателями не было выявлено.

#### *ИМТ*

ИМТ положительно коррелировал с показателями неврологических симптомов по шкале TSS ( $r = 0,300$ ;  $p = 0,034$ ).

Других статистически достоверных корреляций между ИМТ и изучаемыми показателями не выявлено.

#### *Анамнез курения*

В начале исследования между фактом курения и изучаемыми показателями не было выявлено статистически достоверных корреляций.

### **3.5. Оценка взаимосвязи между метаболическими показателями и показателями функционального состояния периферической нервной системы**

На старте исследования не было обнаружено статистически достоверных корреляций между метаболическими показателями (уровнем глюкозы натощак и постпрандиальной глюкозы, HbA1c, общим холестерином, ХС ЛПНП и ХС ЛПВП) и показателями функционального состояния периферической нервной системы (результатами ЭНМГ нижних конечностей, оценкой по шкалам TSS и NIS-LL).

### **3.6. Оценка взаимосвязи между метаболическими показателями и показателями антиоксидантных ферментов, витамина В12 и ГЦ**

Уровень HbA1c отрицательно коррелировал с уровнем СОД ( $r = -0,334$ ;  $p = 0,0295$ ).

Между остальными показателями обменных процессов (уровнем глюкозы натощак и постпрандиальной глюкозы, общим холестерином, ХС ЛПНП и ХС ЛПВП) и уровнем антиоксидантных ферментов статистически достоверных взаимосвязей не обнаружено.

Также не было обнаружено статистически достоверных взаимосвязей между метаболическими показателями (уровень глюкозы натощак и постпрандиальной глюкозы, HbA1c, общий холестерин, ХС ЛПНП и ХС ЛПВП) и уровнем ГЦ, витамина В12.

### **3.7. Оценка взаимосвязи между метаболическими показателями и показателями вазографии и капилляроскопии**

С уровнем постпрандиальной глюкозы в крови положительно коррелировала степень полиморфизма капиллярной сети ( $r = 0,379$ ;  $p = 0,002$ ).

Между остальными параметрами капилляроскопии (извитость, плотность капилляров, размеры периваскулярной зоны, артериальный, переходный и венозный отдел, коэффициент ремоделирования капилляров и скорость капиллярного кровотока) и метаболическими показателями (уровень глюкозы натощак и постпрандиальной глюкозы, HbA1c, общий холестерин, ХС ЛПНП и ХС ЛПВП) не было обнаружено статистически достоверных корреляций.

Между метаболическими показателями (уровень глюкозы натощак и постпрандиальной глюкозы, HbA1c, общего холестерина, ХС ЛПНП и ХС ЛПВП) и показателями вазографии (СРПВ и ЭФ) не наблюдалось статистически достоверных взаимосвязей.

### 3.8. Оценка взаимосвязи между уровнями ГЦ, витамина В12 и антиоксидантных ферментов

Корреляционный анализ между показателями уровней витамина В12 и антиоксидантных ферментов не выявил статистически значимую взаимосвязь.

Как было выше отмечено на старте исследования у пациентов с дефицитом витамина В12 корреляционный анализ выявил статистически значимую положительную взаимосвязь между показателями общего и активного витамина В12 ( $r = 0,658$ ;  $p = 0,0000$ ), а также статистически значимую отрицательную взаимосвязь между показателями ГЦ и общего витамина В12 ( $r = -0,614$ ;  $p = 0,0000$ ).

Между показателями уровней антиоксидантных ферментов СОД и ГПО была выявлена статистически достоверная взаимосвязь ( $r = 0,602$ ;  $p = 0,0000$ ).

На старте исследования была выявлена статистически достоверная отрицательная корреляция между показателями уровней ГЦ и ГПО ( $r = -0,6959$ ;  $p = 0,0000$ ), а также между показателями уровней ГЦ и СОД ( $r = -0,7972$ ;  $p = 0,0000$ ) (Рисунок 3.11).

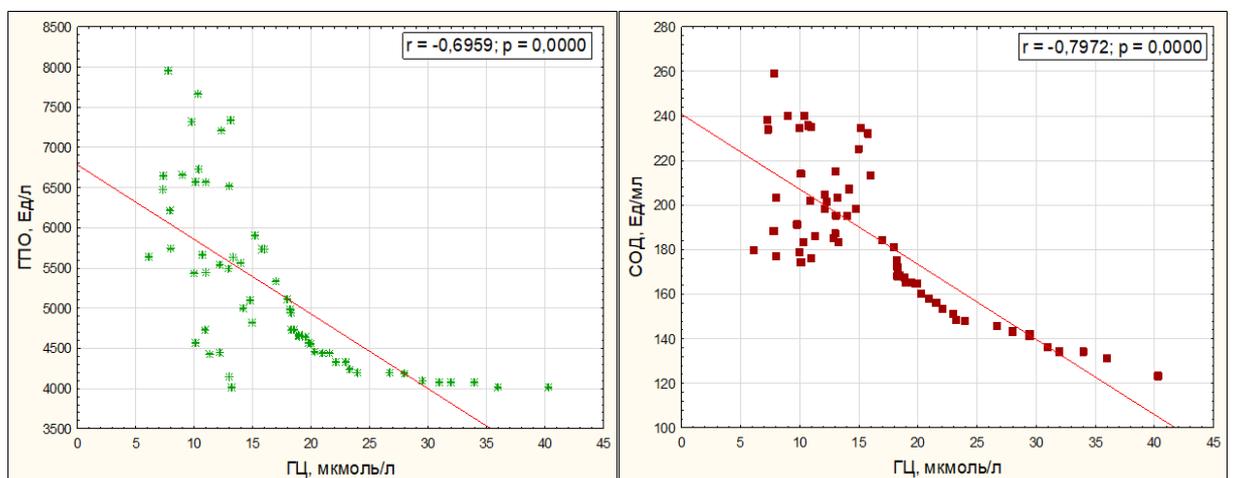


Рисунок 3.11. Корреляция между уровнем ГЦ и антиоксидантных ферментов

Таким образом, при снижении уровня витамина В12 наблюдается увеличение уровня ГЦ, что в свою очередь приводит к снижению уровня антиоксидантных ферментов.

### 3.9. Оценка взаимосвязи между показателями функционального состояния периферической нервной системы и уровнями антиоксидантных ферментов, ГЦ и витамина В12

Показатели неврологических симптомов по шкале TSS отрицательно коррелировали с уровнями СОД ( $r = -0,413$ ;  $p = 0,0013$ ), активного ( $r = -0,370$ ;  $p = 0,0026$ ) и общего витамина В12 ( $r = -0,365$ ;  $p = 0,003$ ).

Корреляционный анализ выявил статистически достоверную положительную взаимосвязь между показателями неврологических симптомов по шкале TSS и уровнем ГЦ ( $r = 0,414$ ;  $p = 0,006$ ), которая усиливалась у пациентов с ГГЦ ( $r = 0,7367$ ;  $p = 0,0000$ ).

Статистически достоверная корреляция между показателями уровней ГПО и неврологических симптомов по шкале TSS не была выявлена.

Показатели неврологического дефицита по шкале NIS-LL отрицательно коррелировали с уровнями активного ( $r = -0,338$ ;  $p = 0,006$ ) и общего витамина В12 ( $r = -0,4498$ ;  $p = 0,0002$ ), а также с уровнями СОД ( $r = -0,316$ ;  $p = 0,01$ ) и ГПО ( $r = -0,411$ ;  $p = 0,0007$ ).

Уровень общего витамина В12 отрицательно коррелировал с значениями по шкалам TSS ( $r = -0,391$ ;  $p = 0,012$ ) и NIS-LL ( $r = -0,419$ ;  $p = 0,007$ ), а уровень активного витамина В12 – TSS ( $r = -0,408$ ;  $p = 0,009$ ) у пациентов с дефицитом витамина В12.

Корреляционный анализ выявил статистически достоверную положительную взаимосвязь между показателями неврологического дефицита по шкале NIS-LL и уровнем ГЦ ( $r = 0,428$ ;  $p = 0,0004$ ) (Рисунок 3.12), которая усиливалась у пациентов с ГГЦ ( $r = 0,901$ ;  $p = 0,0000$ ).

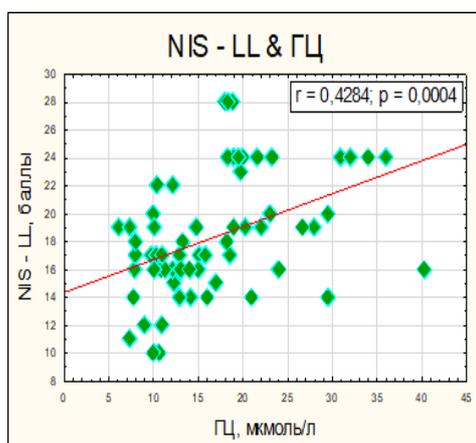


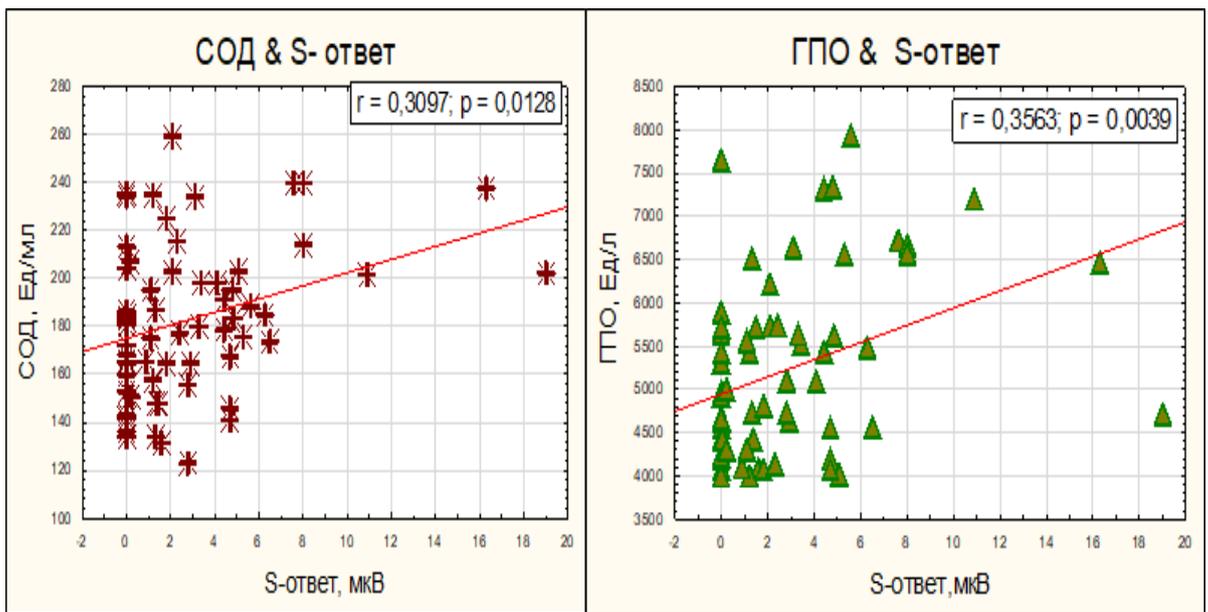
Рисунок 3.12. Корреляция между показателями шкалы NIS-LL и уровнем ГЦ

Статистически достоверной взаимосвязи между уровнями антиоксидантных ферментов, ГЦ, витамина В12 и электрофизиологических показателей малоберцового нерва не было выявлено.

Показатели РЛ большеберцового нерва отрицательно коррелировали с уровнем общего витамина В12 ( $r = -0,420$ ;  $p = 0,01$ ) и положительно с ГЦ ( $r = 0,414$ ;  $p = 0,02$ ). Показатели СРВ большеберцового нерва отрицательно коррелировали с уровнем ГЦ ( $r = -0,305$ ;  $p = 0,03$ ) и положительно с уровнем активного витамина В12 ( $r = 0,307$ ;  $p = 0,02$ ).

Между показателями амплитуды S-ответа икроножного нерва и уровнем ГЦ была выявлена отрицательная корреляция ( $r = -0,467$ ;  $p = 0,001$ ), которая усиливалась у пациентов с ГГЦ ( $r = -0,660$ ;  $p = 0,00005$ ). Между показателями уровней ГЦ и СРВ икроножного нерва также была выявлена отрицательная корреляция ( $r = -0,360$ ;  $p = 0,03$ ), которая увеличивалась у пациентов с ГГЦ ( $r = -0,796$ ;  $p = 0,00000$ ).

Показатели амплитуды S-ответа икроножного нерва положительно коррелировали с уровнями ГПО ( $r = 0,3563$ ;  $p = 0,0039$ ) и СОД ( $r = 0,3097$ ;  $p = 0,0128$ ) (Рисунок 3.13).



**Рисунок 3.13. Корреляция между антиоксидантными ферментами и показателями амплитуды S-ответа икроножного нерва**

Между остальными электрофизиологическими показателями исследуемых нервов и уровнями ГЦ, витамина В12, антиоксидантных ферментов статистически достоверной взаимосвязи не было выявлено.

Следовательно, с увеличением уровня ГЦ, а также со снижением уровня витамина В12 наблюдается ухудшение проводимости нервного импульса по икроножному и большеберцовому

нервам. Кроме этого, с повышением уровня ГЦ, а также со снижением уровня антиоксидантных ферментов снижается амплитуда сенсорного ответа икроножного нерва. Таким образом, снижение уровней витамина В12 и антиоксидантных ферментов, а также увеличение уровня ГЦ отрицательно влияют на функциональное состояние периферической нервной системы.

### 3.10. Оценка взаимосвязи между уровнями антиоксидантных ферментов, ГЦ, витамина В12 и показателями вазографии, капилляроскопии

Корреляционный анализ выявил статистически значимую положительную взаимосвязь между показателями ЭФ и уровнями СОД ( $r = 0,300$ ;  $p = 0,04$ ), ГПО ( $r = 0,434$ ;  $p = 0,0003$ ) и общего витамина В12 ( $r = 0,412$ ;  $p = 0,0007$ ).

Между показателями ЭФ и уровнем ГЦ наблюдалась отрицательная ( $r = - 0,5585$ ;  $p = 0,00000$ ), а между показателями СРПВ и уровнем ГЦ положительная статистически достоверная взаимосвязь ( $r = 0,4836$ ;  $p = 0,00005$ ) (Рисунок 3.14). У пациентов с ГЦ также наблюдалась статистически достоверная отрицательная корреляция между показателями уровня ГЦ и ЭФ ( $r = - 0,913$ ;  $p = 0,00000$ ) и положительная корреляция между показателями уровня ГЦ и СРПВ ( $r = 0,936$ ;  $p = 0,00000$ )

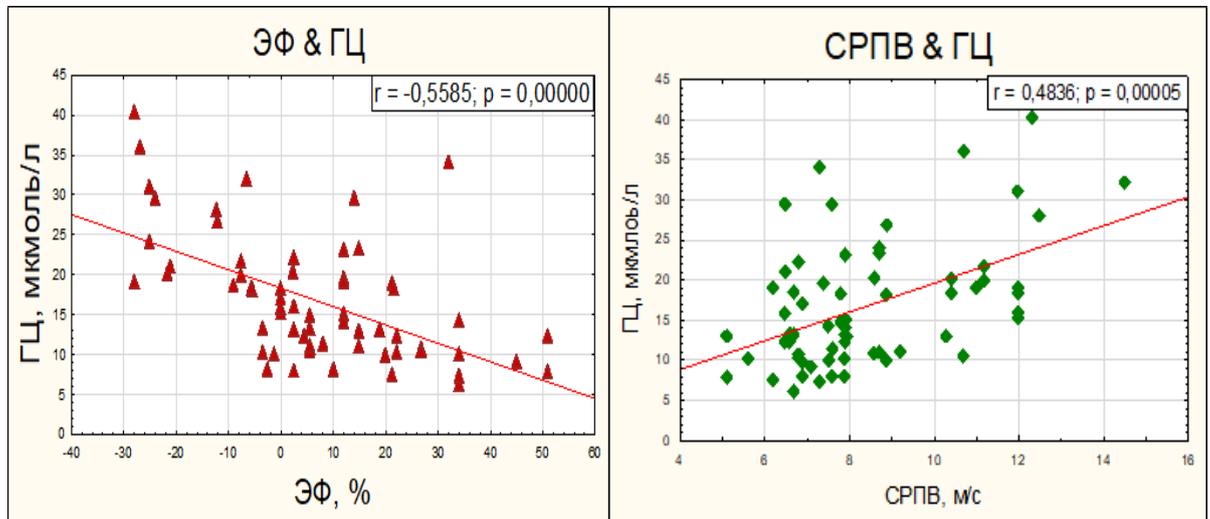


Рисунок 3.14. Корреляция между показателями вазографии и уровнем ГЦ

Показатели СРПВ отрицательно коррелировали с уровнями ГПО ( $r = - 0,422$ ;  $p = 0,0005$ ), общего ( $r = - 0,395$ ;  $p = 0,0013$ ) и активного витамина В12 ( $r = - 0,323$ ;  $p = 0,0093$ ).

Уровень общего витамина В12 положительно коррелировал с показателями ЭФ ( $r = 0,481$ ;  $p = 0,0017$ ) и отрицательно с показателями СРПВ ( $r = - 0,424$ ;  $p = 0,006$ ) у пациентов с дефицитом витамина В12.

Таким образом, с увеличением уровня ГЦ и снижением уровня антиоксидантных ферментов и витамина В12 ухудшалось функциональное состояние эндотелия.

Между показателями микроциркуляторного русла (извитость, плотность, полиморфизм капилляров, размеры периваскулярной зоны, артериальный, переходный и венозный отдел, коэффициент ремоделирования капилляров и скорость капиллярного кровотока) и уровнями ГЦ, витамина В12, антиоксидантных ферментов статистически значимая взаимосвязь не наблюдалась.

### **3.11. Оценка взаимосвязи между показателями функционального состояния периферической нервной системы и капилляроскопии, вазографии**

Показатели амплитуды S-ответа икроножного нерва положительно коррелировали с показателями ЭФ ( $r = 0,321$ ;  $p = 0,002$ ) и отрицательно с СРПВ ( $r = - 0,300$ ;  $p = 0,05$ ).

Статистически достоверная взаимосвязь между остальными показателями функционального состояния периферической нервной системы и показателями вазографии, а также капилляроскопии не была выявлена.

### **3.12. Динамика показателей углеводного и липидного обмена за 24 недели наблюдения**

*Сравнение показателей углеводного и липидного обмена в группе №1 за 24 недели наблюдения*

За 24 недели наблюдения в группе №1 отмечалось статистически достоверное улучшение углеводного обмена по критерию Вилкоксона по сравнению с исходными данными.

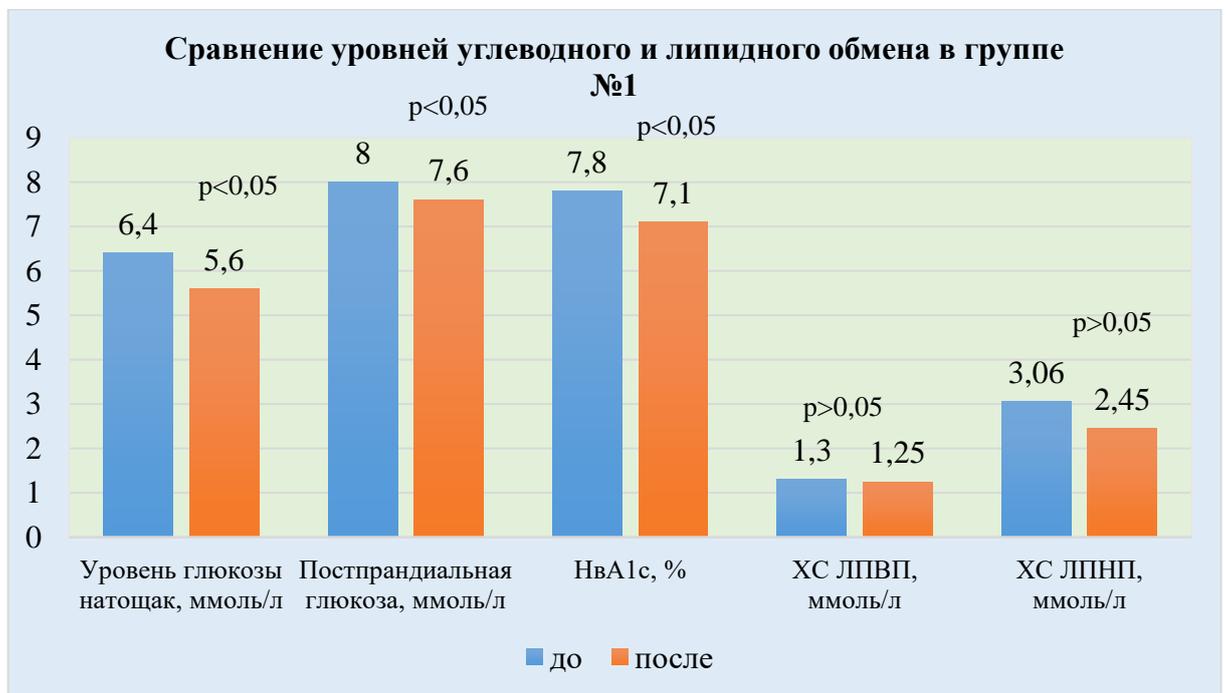
Между показателями липидного обмена за 24 недели наблюдения в группе №1 по критерию Вилкоксона статистически достоверных изменений не отмечалось (Таблица 3.30).

В Таблице № 3.30 приведена сравнение показателей углеводного и липидного обмена на старте и в конце исследования.

Таким образом, в группе №1 коррекция схем сахароснижающей терапии и прохождения обучения в «Школе диабета», а также регулярный прием статинов в терапевтических дозах способствовали нормализации углеводного обмена и поддержанию липидного метаболизма в пределах целевого диапазона (Рисунок 3.15).

**Таблица 3.30.** — Сравнение уровней углеводного и липидного обмена в группе №1

Показатель	До терапии Me; IQR	После терапии Me; IQR	p
Уровень глюкозы натощак, ммоль/л	6,4; 1,0	5,6; 1,0	0,00001
Постприандиальная глюкоза, ммоль/л	8,0; 3,4	7,6; 1,0	0,000003
НвА1с, %	7,8; 1,9	7,1; 1,0	0,007
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,3; 0,8	1,25; 0,62	0,3
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,06; 0,91	2,45; 1,19	0,13

**Рисунок 3.15.** Сравнение уровней углеводного и липидного обмена в группе №1

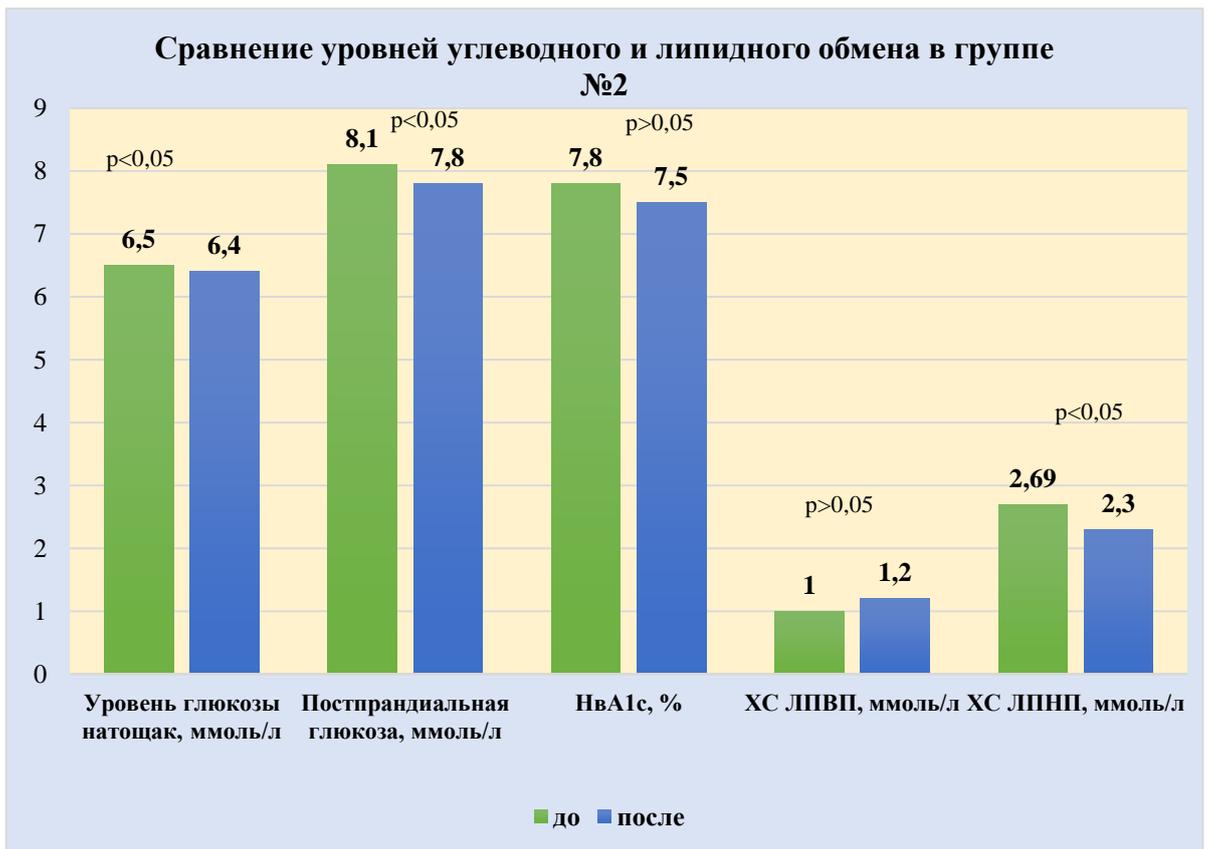
*Сравнение показателей углеводного и липидного обмена в группе №2 за 24 недели наблюдения*

В группе №2 в конце исследования наблюдалось статистически достоверное снижение уровней глюкозы натощак, постприандиальной глюкозы, а также уровень ХС ЛПНП в крови по критерию Вилкоксона по сравнению с началом исследования. По уровню НвА1с и ХС ЛПВП тоже наблюдалось улучшение, но их уровни не достигали статистически достоверных значений (Таблица 3.31).

**Таблица 3.31.** — Сравнение уровней углеводного и липидного обмена в группе №2

Показатель	До терапии Me; IQR	После терапии Me; IQR	p
Уровень глюкозы натощак, ммоль/л	6,5; 2,2	6,4; 1,0	0,000014
Постприандиальная глюкоза, ммоль/л	8,1; 2,2	7,8; 1,3	0,02
НвА1с, %	7,8; 1,8	7,5; 0,9	0,09
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,0; 0,4	1,2; 0,3	0,2
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,69; 1,1	2,3; 1,0	0,004

Таким образом, как в группе №1, так и в группе №2 адекватный контроль и коррекция метаболических показателей способствовали нормализации углеводного обмена и поддержанию липидного метаболизма в целевом диапазоне (Рисунок 3.16).

**Рисунок 3.16.** Сравнение уровней углеводного и липидного обмена в группе №2

*Сравнение показателей углеводного и липидного обмена между двумя группами в конце исследования*

Сравнительный анализ показателей углеводного и липидного обмена в конце исследования между двумя группами показал, что статистически достоверные отличия между уровнями постпрандиальной глюкозы, HbA1c, уровнями ХС ЛПВП и ХС ЛПНП в крови по критерию Манна-Уитни не наблюдались (Таблица 3.32).

**Таблица 3.32.** — Сравнение показателей углеводного и липидного обмена между двумя группами в конце исследования

Показатель	Группа №1 Me; IQR	Группа №2 Me; IQR	p
Уровень глюкозы натощак, ммоль/л	5,6; 1,0	6,4; 1,0	0,02
Постпрандиальная глюкоза, ммоль/л	7,6; 1,0	7,8; 1,3	0,3
HbA1c, %	7,1; 1,0	7,5; 0,9	0,8
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,25; 0,62	1,2; 0,3	0,2
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,45; 1,19	2,3; 1,0	0,5

Сравнение полученных данных еще раз доказывает, что в обеих группах коррекция метаболических показателей была одинаково эффективна (Рисунок 3.17).



**Рисунок 3.17.** Сравнение уровней углеводного и липидного обмена между двумя группами в конце исследования

Таким образом, в обеих группах в конце исследования наблюдается улучшение метаболических показателей, что является неотъемлемой частью терапии диабетических осложнений, в том числе ДН.

### 3.13. Динамика уровней антиоксидантных ферментов, ГЦ, витамина В12

*Динамика уровней антиоксидантных ферментов, ГЦ, витамина В12 в группе №1 на фоне терапии*

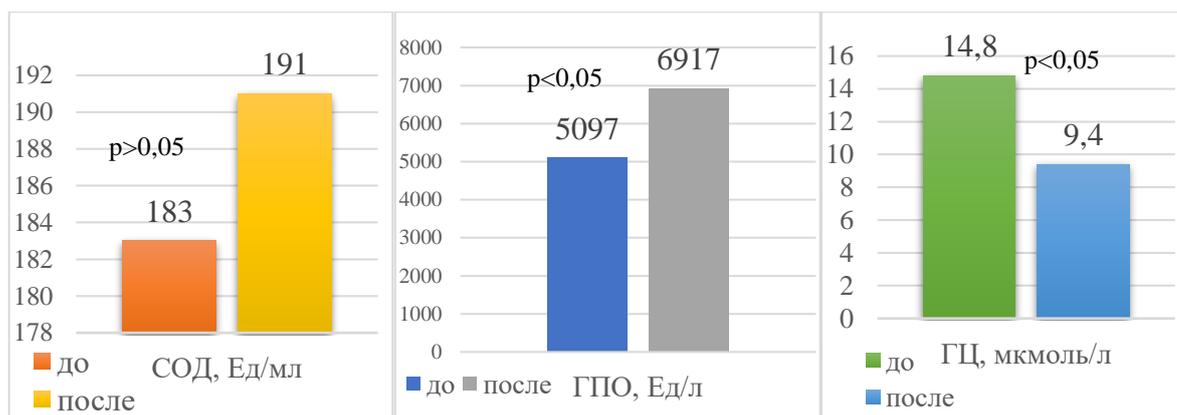
У пациентов в группе №1 после окончания 1-го курса терапии (продолжительность курса 10 дней) ВМК препаратом (кокарбоксилаза, трифосаденина динатрия тригидрат, цианокобаламин, никотинамид) в сочетании с препаратом АЛК (далее комплексная терапия) отмечалась нормализация уровней антиоксидантных ферментов и ГЦ, повышение уровней общего и активного витамина В12 по сравнению с исходными показателями. Повышение концентрации СОД в крови у данной группы пациентов было на 8%\* по сравнению с исходными показателями, но не достигало статистически достоверного результата по критерию Вилкоксона.

Повышение концентрации ГПО (на 40% выше от исходного уровня), а также снижение концентрации ГЦ (на 45% ниже от исходного уровня) по сравнению с исходными показателями было статистически значимо (Таблица 3.33) (Рисунок 3.18.).

**Таблица 3.33.** — Сравнение показателей антиоксидантных ферментов, витамина В12 и ГЦ в группе №1 до терапии и после 1-го курса терапии

Показатель	-	До терапии	После 1-го курса терапии	p
СОД, Ед/мл	Me; IQR	183,0; 37,1	191,0; 40,2	0,07
ГПО, Ед/л	Me; IQR	5097,0; 1771,0	6917,0; 3032,0	0,000002
Общий витамин В12, пмоль/л	Me; IQR	322,0; 222,9	2738,8; 3106,7	0,000001
Активный витамин В12, пмоль/л	Me; IQR	81,4; 36,4	678,0; 778,8	0,00001
ГЦ, мкмоль/л	Me; IQR	14,8; 9,3	9,4; 3,1	0,0002

\*Примечание. Показатели рассчитаны по формуле  $\left( \frac{\text{результаты после терапии} - \text{результаты до терапии}}{\text{результаты до терапии}} \cdot 100\% \right)$  и представлены в виде конечной разности ( $\Delta$ ), выраженной в %.



**Рисунок 3.18.** Сравнение показателей уровней СОД, ГПО и ГЦ в группе №1 до терапии и после 1-го курса терапии

В группе №1, на этом этапе, как показано в Таблице № 3.32, повышение уровней общего и активного витамина В12 по сравнению с исходными показателями было статистически значимое.

*Динамика уровней антиоксидантных ферментов, ГЦ, витамина В12 в группе №2 на фоне терапии*

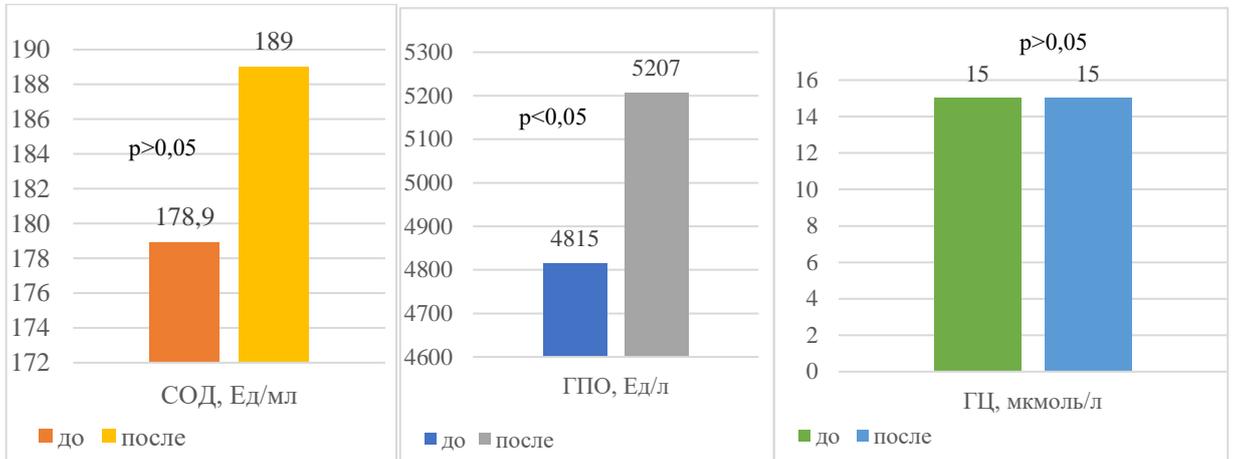
У пациентов в группе №2 после окончания 1-ого курса (продолжительность курса 10 дней) терапии препаратом АЛК отмечалось увеличение уровней СОД на 1% и ГПО на 9% от исходных значений. В отличие от уровня СОД, увеличение уровня ГПО по сравнению с исходными показателями было статически значимым. Статистически достоверных изменений уровней общего и активного витамина В12, а также ГЦ не отмечалось, но наблюдалась тенденция снижению уровня активного витамина В12 (Таблица 3.34).

**Таблица 3.34.** — Сравнение показателей антиоксидантных ферментов, витамина В12 и ГЦ в группе №2 до терапии и после 1-го курса терапии

Показатель	-	До терапии	После 1-го курса терапии	p
СОД, Ед/мл	Me; IQR	178,9; 49,3	189,0; 33,2	0,7
ГПО, Ед/л	Me; IQR	4815,0; 1407,0	5207,0; 1880,0	0,0002
Общий вит В12, пмоль/л	Me; IQR	344,8; 152,9	346,3; 150,8	0,9
Активный вит В12, пмоль/л	Me; IQR	78; 49,8	69,0; 55,0	0,05
ГЦ, мкмоль/л	Me; IQR	15,0; 9,3	15,0; 9,8	0,1

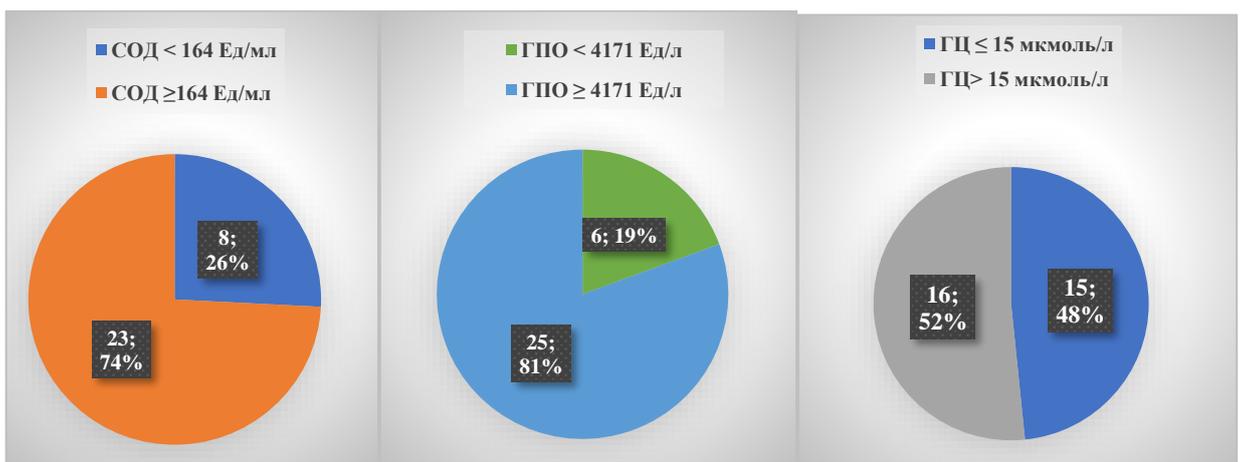
Количество пациентов с дефицитом витамина В12, в том числе с метаболическим дефицитом по сравнению с исходными данными не изменилось.

На Рисунке № 3.19 показана Сравнение уровней антиоксидантных ферментов и ГЦ до и после 1-го курса терапии в группе №2.



**Рисунок 3.19. Сравнение показателей уровней СОД, ГПО и ГЦ в группе №2 до и после 1-го курса терапии**

После 10 дней терапии препаратом АЛК в группе №2 уровень СОД ниже референсных значений имели 8 человек (26%), уровень ГПО ниже референсных значений имели 6 человек (19%), уровень ГЦ выше референсных значений имели 16 человек (52%) и дефицит витамина В12, в том числе метаболический дефицит имели 19 (61%). (Рисунок 3.20).



**Рисунок 3.20. Соотношение между нормальным и вне референсных значений уровнями антиоксидантных ферментов и ГЦ в группе №2**

*Сравнение показателей антиоксидантных ферментов, ГЦ и витамина В12 на фоне терапии между двумя группами*

Сравнение показателей антиоксидантных ферментов, ГЦ и витамина В12 между двумя группами после окончания 1-го курса терапии выявило, что повышение уровней ГПО, СОД, активного и общего витамина В12, а также снижение уровня ГЦ в группе №1 по сравнению с группой №2 было статистически значимо (Таблица 3.35).

**Таблица 3.35.** — Сравнение показателей антиоксидантных ферментов, витамина В12 и ГЦ между двумя группами после окончания первого курса терапии

Показатель	Группа №1 Me; IQR	Группа №2 Me; IQR	p
СОД, Ед/мл	191,0; 40,2	189; 32,2	0,04
ГПО, Ед/л	6917,0; 3032,0	5027,0; 1880,0	0,000078
Общий витамин В12, пмоль/л	2738,8; 3106,7	346,3; 150,8	0,000000
Активный витамин В12, пмоль/л	678,0; 778,8	69,0; 55,0	0,000000
ГЦ, мкмоль/л	9,4; 3,1	15,0; 9,8	0,000000

Следовательно, в течение 10 дней комплексная терапия в группе №1 способствовала более эффективному увеличению уровней антиоксидантных ферментов, витамина В12 и снижению уровня ГЦ, чем терапия препаратом только АЛК в группе №2.

### **3.14. Динамика показателей вазографии**

*Динамика показателей вазографии в группе №1 на фоне терапии*

У пациентов в группе №1 после окончания 1-ого курса комплексной терапии отмечалось статистически достоверное улучшение показательней вазографии по сравнению с исходными значениями по критерию Вилкоксона (Таблица 3.36).

В группе №1 после 1-ого курса комплексной терапии у 85% пациентов наблюдалось улучшение СРПВ и у 70% пациентов улучшение ЭФ. Причем у пациентов в группе №1 после 1-ого курса комплексной терапии отрицательные и нулевые показатели ЭФ не выявлялись, а ее минимальное значение составило 5,1%.

**Таблица 3.36.** — Сравнение показателей вазографии в группе №1 до терапии и после 1-го курса терапии

Показатель	Референсные значения	-	До терапии	После 1-го курса терапии	p
ЭФ, %	30 - 60	Me; IQR	5,6; 29,8	34,0; 31,0	0,000006
		Min - max	- 28,0 - 51,0	5,1 - 90,0	
СРПВ, м/с	6 - 8,5	Me; IQR	7,9; 3,9	6,8; 1,3	0,001
		Min - max	6,2 - 14,5	4,8 - 9,3	

*Динамика показателей вазографии в группе №2 на фоне терапии*

У пациентов в группе №2 после окончания 1-го курса терапии препаратом АЛК отмечалось статистически достоверное улучшение ЭФ по критерию Вилкоксона по сравнению с исходными значениями. Статистически достоверное изменение СРПВ по сравнению с исходными значениями не отмечалось (Таблица 3.37).

**Таблица 3.37.** — Сравнение показателей вазографии в группе №2 до терапии и после 1-го курса терапии

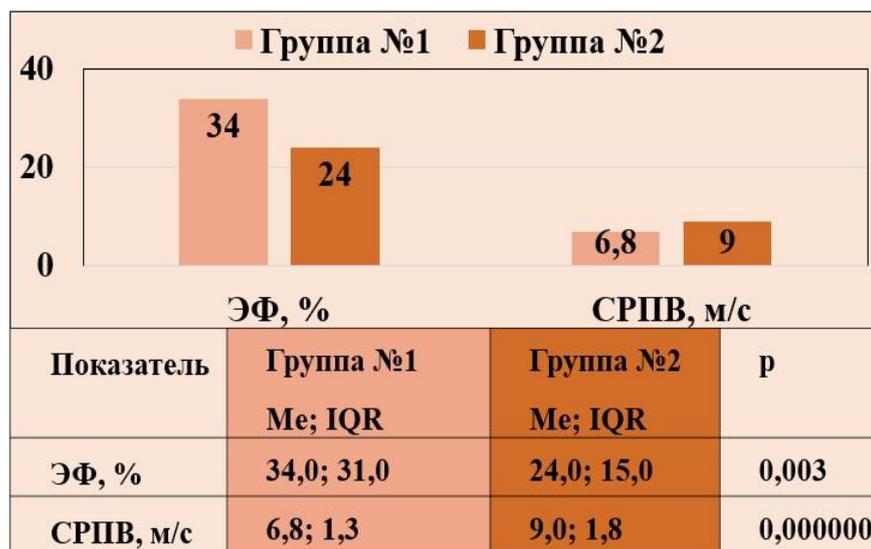
Показатель	Референсные значения	-	До терапии	После 1-го курса терапии	p
ЭФ, %	30 - 60	Me; IQR	2,6; 16,6	24,0; 15,0	0,000002
		Min - max	- 28,0 - 51,0	5,7 - 51,0	
СРПВ, м/с	6 - 8,5	Me; IQR	7,9; 2,0	9,0; 1,8	0,05
		Min - max	5,1 - 12,3	6,7 - 12,5	

В группе №2 после 1-го курса терапии препаратом АЛК у 29% пациентов наблюдалось улучшение ЭФ. Причем у пациентов в группе №2 после 1-го курса терапии отрицательные и нулевые показатели ЭФ не выявлялись и ее минимальное значение составило 5,7%.

Таким образом, терапия препаратом АЛК в группе №2 способствовала статистически достоверному улучшению ЭФ.

*Сравнение показателей вазографии между двумя группами на фоне терапии*

Сравнение показателей вазографии между двумя группами после окончания 1-го курса терапии выявило статистически значимое улучшение уровней ЭФ и СРПВ в группе №1 по сравнению с группой №2 (Рисунок 3.21).



**Рисунок 3.21. Сравнение показателей вазографии между двумя группами после окончания 1-го курса терапии**

Следовательно, комплексная терапия в группе №1 способствовала более эффективному улучшению ЭФ и СРПВ, чем терапия препаратами только АЛК в группе №2.

### **3.15. Динамика показателей капилляроскопии**

*Динамика показателей капилляроскопии в группе №1 на фоне терапии*

У пациентов в группе №1 после окончания первого курса комплексной терапии отмечалось улучшение показателей капилляроскопии по сравнению с исходными результатами (Таблица 3.38).

Как видно из Таблицы № 3.38 у пациентов группы №1 после окончания 1-го курса терапии наблюдалось статистически достоверное уменьшение степени полиморфизма капиллярной сети и коэффициента ремоделирования, а также увеличение диаметров артериального и венозного отдела капилляров по сравнению с исходными результатами по критерию Вилкоксона.

**Таблица 3.38.** — Динамика показателей капилляроскопии в группе №1 до терапии и после 1-го курса терапии

Показатель	До терапии Me; IQR	После 1-го курса терапии Me; IQR	p	Δ в %
Плотность капиллярной сети, баллы	2,0; 0,0	2,0; 2,0	0,7	3%
Извитость капиллярной сети, баллы	2,0; 0,0	2,0; 1,0	0,1	- 12%
Полиморфизм капиллярной сети, баллы	2,0; 1,0	1,0; 1,0	0,0009	- 26%
Периваскулярная зона, мкм	104,0; 32,5	86,0; 33,0	0,15	- 7%
Артериальный отдел, мкм	8,4; 3,4	8,9; 3,0	0,007	3%
Венозный отдел, мкм	9,2; 2,6	10,7; 5,3	0,0005	9%
Переходный отдел, мкм	10,8; 7,7	12,0; 4,0	0,98	- 1%
Коэффициент ремоделирования	1,33; 0,24	1,25; 0,4	0,01	- 6%
Скорость капиллярного кровотока, мкм/сек	638,0; 540,0	773,0; 411,0	0,9	13%

*Динамика показателей капилляроскопии в группе №2 на фоне терапии*

У пациентов в группе №2 после окончания 1-го курса терапии препаратом АЛК отмечалось улучшение показателей капилляроскопии по сравнению с исходными результатами (Таблица 3.39).

**Таблица 3.39.** — Динамика показателей капилляроскопии в группе №2 до и после 1-го курса терапии

Показатель	До терапии Me; IQR	После 1-го курса терапии Me; IQR	p	Δ в %
Плотность капиллярной сети, баллы	2,0; 0,0	2,0; 1,0	0,9	0%
Извитость капиллярной сети, баллы	2,0; 0,0	2,0; 1,0	0,07	- 14%
Полиморфизм капиллярной сети, баллы	2,0; 1,0	1,0; 1,0	0,0002	- 28%
Периваскулярная зона, мкм	95,5; 36,4	85,0; 26,0	0,3	-4%
Артериальный отдел, мкм	8,4; 3,4	8,9; 3,5	0,001	2%
Венозный отдел, мкм	9,8; 6,0	10,7; 6,5	0,0004	9%
Переходный отдел, мкм	11,9; 7,7	13,6; 5,1	0,7	- 2%
Коэффициент ремоделирования	1,33; 0,24	1,3; 0,39	0,058	- 3%
Скорость капиллярного кровотока, мкм/сек	638,0; 517,0	773,0; 410,0	0,8	5%

Как видно из Таблицы № 3.39 у пациентов группы № 2 после 1-го курса терапии наблюдалось статистически достоверное уменьшение степени полиморфизма капиллярной сети, а также увеличение диаметров артериального и венозного отдела капилляров по сравнению с исходными результатами по критерию Вилкоксона.

*Сравнение показателей капилляроскопии между двумя группами на фоне терапии*

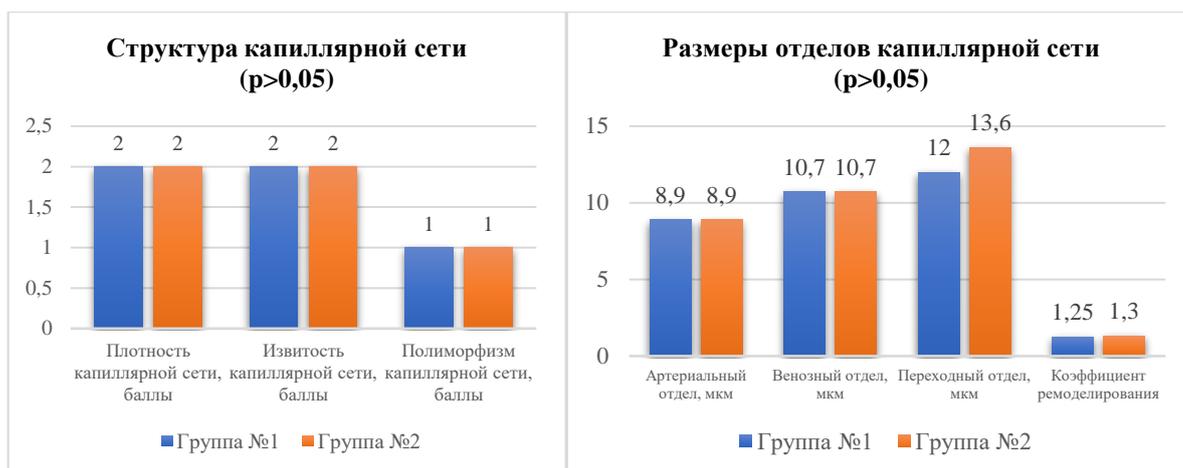
Сравнение показателей капилляроскопии между двумя группами после окончания 1-го курса терапии не выявило статистически значимых изменений по критерию Манна-Уитни (Таблица 3.40).

**Таблица 3.40.** — Сравнение показателей капилляроскопии между двумя группами после окончания 1-го курса терапии

Показатель	Группа №1 Me; IQR	Группа №2 Me; IQR	p
Плотность капиллярной сети, баллы	2,0; 2,0	2,0; 1,0	0,7
Извитость капиллярной сети, баллы	2,0; 1,0	2,0; 1,0	0,97
Полиморфизм капиллярной сети, баллы	1,0; 1,0	1,0; 1,0	0,6
Периваскулярная зона, мкм	86,0; 33,0	85,0; 26,0	0,85
Артериальный отдел, мкм	8,9; 3,0	8,9; 3,5	0,87
Венозный отдел, мкм	10,7; 5,3	10,7; 6,5	0,78
Переходный отдел, мкм	12,0; 4,0	13,6; 5,1	0,78
Коэффициент ремоделирования	1,25; 0,4	1,3; 0,39	0,47
Скорость капиллярного кровотока, мкм/сек	773,0; 411,0	773,0; 410,0	0,66

На Рисунке № 3.22 показано сравнение показателей микроциркуляторного русла между обеими группами после 1-го курса терапии.

Таким образом, проводимая терапия в обеих группах с одинаковой эффективностью привела к уменьшению степени полиморфизма капиллярной сети, увеличению размеров артериального и венозного отдела капилляров.



**Рисунок 3.22.** Сравнение показателей капилляроскопии между двумя группами после 1-го курса терапии

### 3.16. Динамика показателей функционального состояния периферической нервной системы

#### *Динамика показателей шкал TSS и NIS-LL в группе №1 за 24 недели наблюдения*

У пациентов в группе №1 после окончания 1-ого курса комплексной терапии наблюдалось статистически достоверное уменьшение неврологических симптомов по шкале TSS (на 54% ниже по сравнению с исходными значениями) и неврологического дефицита по шкале NIS-LL (на 48% ниже по сравнению с исходными значениями) по критерию Вилкоксона (Таблица 3.41).

**Таблица 3.41.** — Сравнение показателей по оценке шкалы TSS и NIS-LL до терапии и после 1-го курса терапии в группе №1

Показатель	До терапии Me; IQR	После 1-го курса терапии Me; IQR	p
TSS, баллы	11,32; 4,0	5,3; 6,0	0,000004
NIS-LL, баллы	19,0; 8,0	10,0; 2,0	0,000001

У пациентов группы №1 после окончания 1-ого курса комплексной терапии минимальные показатели неврологических симптомов по оценке шкалы TSS составили 0, максимальные 9,32 баллов. После окончания 1-ого курса комплексной терапии у 18% пациентов (6 человек) неврологические жалобы отсутствовали или были минимальными (TSS составил 0 - 1 баллов).

У пациентов группы №1 после окончания 1-ого курса комплексной терапии минимальные показатели неврологического дефицита по оценке шкалы NIS-LL составили 5, максимальные 16 баллов.

Также, статистически достоверное улучшение функционального состояния периферической нервной системы в группе №1 отмечалось при сравнении показателей по шкале TSS и NIS-LL после 1-ого и после 2-ого курса терапии (Таблица 3.42).

**Таблица 3.42.** — Сравнение показателей по оценке шкалы TSS и NIS-LL после 1-ого и после 2-ого курса терапии в группе №1

Показатель	После 1-го курса терапии Me; IQR	После 2-ого курса терапии Me; IQR	p
TSS, баллы	5,3; 6,0	2,33; 2,66	0,000001
NIS-LL, баллы	10,0; 2,0	6,0; 3,0	0,000001

В группе №1 сравнение показателей функционального состояния периферической нервной системы на старте и в конце исследования по оценкам шкал TSS и NIS-LL выявило статистически достоверное улучшение по критерию Вилкоксона (Таблица 3.43).

**Таблица 3.43.** — Сравнение показателей по оценке шкалы TSS и NIS-LL на старте и в конце исследования в группе №1

Показатель	На старте исследования Me; IQR	В конце исследования Me; IQR	p
TSS, баллы	11,32; 4,0	2,33; 2,66	0,000001
NIS-LL, баллы	19,0; 8,0	6,0; 3,0	0,000001

У пациентов группы №1 в конце исследования минимальные показатели неврологических симптомов по шкале TSS составили 0, максимальные 4,33 балла. После окончания исследования у 36% пациентов (12 человек) неврологические жалобы отсутствовали или были минимальными (TSS составил 0 - 1 балл). В конце исследования наблюдалось уменьшение показателей неврологических жалоб по оценке шкалы TSS на 79 % от исходных значений.

У пациентов группы №1 в конце исследования минимальные показатели неврологического дефицита по оценке шкалы NIS-LL составили 2, максимальные 12 баллов. В

конце исследования наблюдалось уменьшение показателей неврологического дефицита по оценке шкалы NIS-LL на 66 % от исходных значений.

На Рисунке № 3.23 показана сравнение показателей по оценке шкалы TSS и NIS-LL за все время наблюдения в группе №1.



**Рисунок 3.23.** Сравнение показателей по оценке шкалы TSS и NIS-LL за все время исследования в группе №1

Таким образом, на фоне комплексной терапии в группе №1 наблюдалось статистически достоверное уменьшение проявления ДН за все время исследования.

*Динамика показателей шкал TSS и NIS-LL в группе №2 за 24 недели наблюдения*

У пациентов в группе №2 после окончания 1-го курса терапии препаратом АЛК наблюдалось статистически достоверное уменьшение неврологических симптомов по шкале TSS (на 21% ниже по сравнению с исходными значениями) и неврологического дефицита по шкале NIS-LL (на 18% по сравнению с исходными показателями) по критерию Вилкоксона (Таблица 3.44).

**Таблица 3.44.** — Сравнение показателей по оценке шкалы TSS и NIS-LL до терапии и после 1-го курса терапии в группе №2

Показатель	До терапии Me; IQR	После 1-го курса терапии Me; IQR	p
TSS, баллы	11,23; 5,27	8,33; 1,98	0,000044
NIS-LL, баллы	17,0; 4,0	15,0; 7,0	0,000013

У пациентов группы №2 после окончания 1-го курса терапии минимальные показатели неврологических симптомов по оценке шкалы TSS составили 2, максимальные 13,32 балла.

У пациентов группы №2 после окончания 1-го курса терапии минимальные показатели неврологического дефицита по оценке шкалы NIS-LL составили 5, максимальные 24 балла.

Также, статистически достоверное улучшение функционального состояния периферической нервной системы отмечалось при сравнении показателей по шкалам TSS и NIS-LL после 1-ого и 2-ого курса терапии (Таблица 3.45).

**Таблица 3.45.** — Сравнение показателей по шкалам TSS и NIS-LL после 1-ого и после 2-ого курса комплексной терапии в группе №2

Показатель	После 1-го курса терапии Me; IQR	После 2-ого курса терапии Me; IQR	p
TSS, баллы	8,33; 1,98	7,33; 2,34	0,000006
NIS-LL, баллы	15,0; 7,0	12,0; 5,0	0,000133

В группе №2 сравнение показателей функционального состояния периферической нервной системы на старте и в конце исследования по шкалам TSS и NIS-LL выявило статистически достоверное улучшение по критерию Вилкоксона (Таблица 3.46).

**Таблица 3.46.** — Сравнение показателей по шкалам TSS и NIS-LL на старте и в конце исследования в группе №2

Показатель	На старте исследования Me; IQR	В конце исследования Me; IQR	p
TSS, баллы	11,23; 5,27	7,33; 2,34	0,000001
NIS-LL, баллы	17,0; 4,0	12,0; 5,0	0,000003

У пациентов группы №2 в конце исследования минимальные показатели неврологических симптомов по оценке шкалы TSS составили 2,33, максимальные 10,65 баллов. В конце исследования наблюдалось уменьшение показателей неврологических жалоб по оценке шкалы TSS на 32% от исходных значений.

У пациентов группы №2 в конце исследования минимальные показатели неврологического дефицита по оценке шкалы NIS-LL составили 5, максимальные 20 баллов. В

конце исследования наблюдалось уменьшение показателей неврологического дефицита по оценке шкалы NIS-LL на 33% от исходных значений.

На Рисунке № 3.24 показана динамика показателей по оценке шкал TSS и NIS-LL за все время наблюдения в группе №2.



**Рисунок 3.24. Сравнение показателей по оценке шкал TSS и NIS-LL за все время исследования в группе №2**

Таким образом, на фоне терапии препаратом АЛК в группе №2 наблюдалось статистически достоверное уменьшение проявления ДН за все время исследования

*Сравнение показателей шкал TSS и NIS-LL между двумя группами за 24 недели наблюдения*

Сравнительный анализ показателей шкал TSS и NIS-LL выявил статистически достоверное уменьшение степени выраженности ДН в конце 1-го курса терапии у пациентов группы №1 по сравнению с группой №2 по критерию Манна-Уитни (Таблица 3.47).

**Таблица 3.47.** — Сравнение показателей шкал TSS и NIS-LL между двумя группами в конце 1-го курса терапии

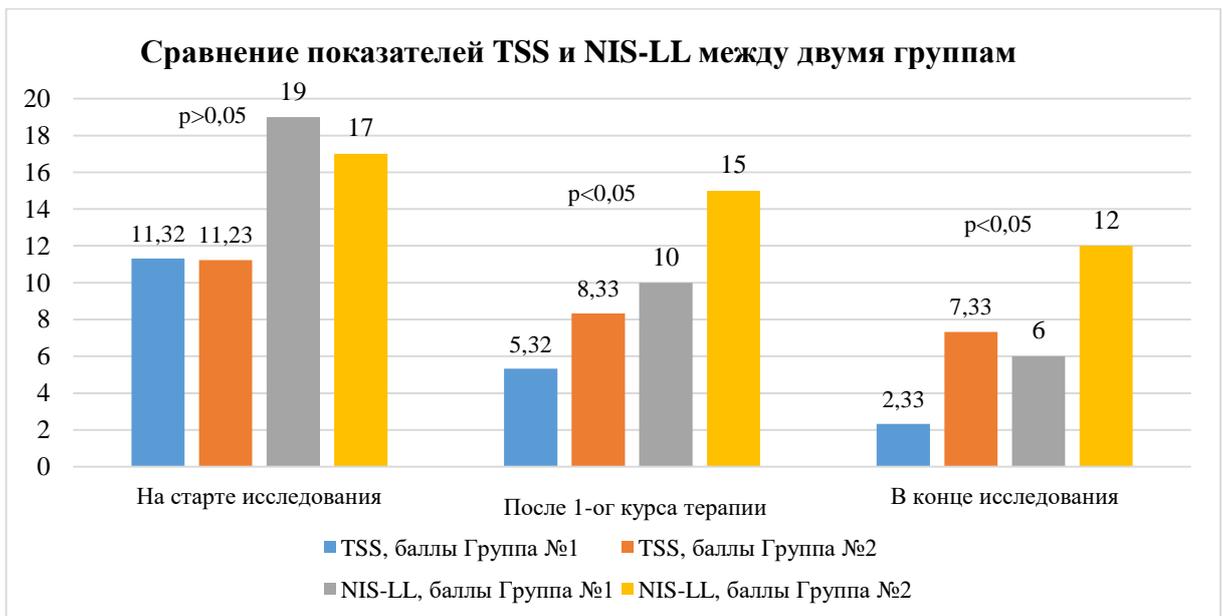
Показатель	Группа №1 Me; IQR	Группа №2 Me; IQR	p
TSS, баллы	5,32; 6,0	8,33; 1,98	0,00000
NIS-LL, баллы	10,0; 2,0	15,0; 7,0	0,000002

Также сравнительный анализ показателей шкал TSS и NIS-LL выявил статистически достоверное уменьшение выраженности ДН в конце исследования у пациентов группы №1 по сравнению с группой №2 по критерию Манна-Уитни (Таблица 3.48).

**Таблица 3.48.** — Сравнение показателей шкал TSS и NIS-LL между двумя группами в конце исследования

Показатель	Группа №1 Me; IQR	Группа №2 Me; IQR	p
TSS, баллы	2,33; 2,66	7,33; 2,34	0,00000
NIS-LL, баллы	6,0; 3,0	12,0; 5,0	0,000000

Как видно из Рисунка № 3.25, комплексная терапия ДН более эффективно снижает проявление неврологических симптомов и неврологического дефицита по сравнению с терапией препаратом АЛК.



**Рисунок 3.25.** Сравнение показателей TSS и NIS-LL между двумя группами за все время наблюдения

*Динамика показателей ЭНМГ в группе №1 за 24 недели наблюдения*

У пациентов в группе №1 в конце исследования наблюдалось статистически достоверное улучшение электрофизиологических показателей малоберцового, большеберцового и

икроножного нерва по сравнению с исходными данными по критерию Вилкоксона (Таблица 3.49).

**Таблица 3.49.** — Динамика показателей малоберцового, большеберцового и икроножного нерва по данным ЭНМГ в группе №1

Показатель		На старте исследования Me; IQR	В конце исследования Me; IQR	p	Δ в %
Малоберцовый нерв ( <i>n. peroneus</i> )	А. М-ответа, мВ	1,36; 1,5	4,64; 2,24	0,000001	233,6
	РЛ, мс	3,0; 2,8	2,14; 1,1	0,026	- 33,7
	СРВ, м/с	42,0; 11,8	57,0; 18,0	0,000029	34,1
Большеберцовый нерв ( <i>n. tibialis</i> )	А. М-ответа, мВ	1,64; 0,99	5,6; 5,5	0,000001	338,1
	РЛ, мс	2,64; 1,8	1,7; 0,83	0,01	- 40,4
	СРВ, м/с	46,0; 14,6	54,6; 9,9	0,000003	27,3
Икроножный нерв ( <i>n. suralis</i> )	А. S-ответа, мкВ	1,37; 4,4	6,7; 4,3	0,0009	132,6
	СРВ, м/с	23,0; 42,6	56,0; 20,0	0,000001	145,3

В конце терапии показатели амплитуды М-ответа *n. peroneus* в группе №1 находились в диапазоне 1,12 - 9,1 мВ, РЛ в диапазоне 0,27 - 6,7 мс и СРВ в диапазоне 43 - 79 м/с.

В конце терапии показатели амплитуды М-ответа *n. tibialis* в группе №1 находились в диапазоне 0,37 - 15,6 мВ, РЛ в диапазоне 1,03 - 3,9 мс и СРВ в диапазоне 34 - 89 м/с.

В конце исследования показатели амплитуды S-ответа *n. suralis* в группе №1 находились в диапазоне 0 - 24 мкВ, СРВ в диапазоне 14,1 - 98 м/с. В конце терапии только у одного человека амплитуда S-ответа *n. suralis* имела нулевое значение.

#### *Динамика показателей ЭНМГ в группе №2 за 24 недели наблюдения*

У пациентов в группе №2 в конце исследования наблюдалось статистически достоверное улучшение амплитуды М-ответа и СРПВ большеберцового нерва, а также СРПВ икроножного нерва по сравнению с исходными данными по критерию Вилкоксона (Таблица 3.50).

В конце терапии в группе №2 показатели амплитуды М-ответа *n. peroneus* находились в диапазоне 0,13 - 6,7 мВ, РЛ в диапазоне 1,1 - 8,6 мс и СРВ в диапазоне 6,5 - 51,6 м/с.

В конце терапии в группе №2 показатели амплитуды М-ответа *n. tibialis* находились в диапазоне 0 - 9,85 мВ, РЛ в диапазоне 1,1 - 8,7 мс и СРВ в диапазоне 33,1 - 58,0 м/с.

В конце исследования в группе №2 показатели амплитуды S-ответа *n. suralis* находились в диапазоне 0 - 13,2 мкВ, в диапазоне СРВ 0,0 - 68,0 м/с. В конце терапии у 4 человек амплитуда S-ответа *n. suralis* имела нулевое значение.

**Таблица 3.50.** — Динамика показателей малоберцового, большеберцового и икроножного нерва по данным ЭНМГ в группе №2

Показатель		На старте исследования Me; IQR	В конце исследования Me; IQR	p	Δ в %
Малоберцовый нерв ( <i>n. peroneus</i> )	А. М-ответа, мВ	1,7; 1,3	2,2; 2,4	0,07	23,3
	РЛ, мс	3,0; 2,0	3,4; 1,9	0,1	7,0
	СРВ, м/с	43,4; 8,4	44,0; 10,0	0,3	- 9,2
Большеберцовый нерв ( <i>n. tibialis</i> )	А. М-ответа, мВ	1,7; 1,8	3,1; 3,7	0,004	60,1
	РЛ, мс	3,5; 2,8	3,6; 2,8	0,9	- 4,2
	СРВ, м/с	43,0; 8,4	44,9; 11,1	0,002	6,9
Икроножный нерв ( <i>n. suralis</i> )	А. S-ответа, мкВ	1,6; 3,8	2,3; 4,3	0,08	37,6
	СРВ, м/с	36,1; 45,4	39,0; 16,0	0,001	19,7

*Сравнение показателей ЭНМГ между двумя группами в конце терапии*

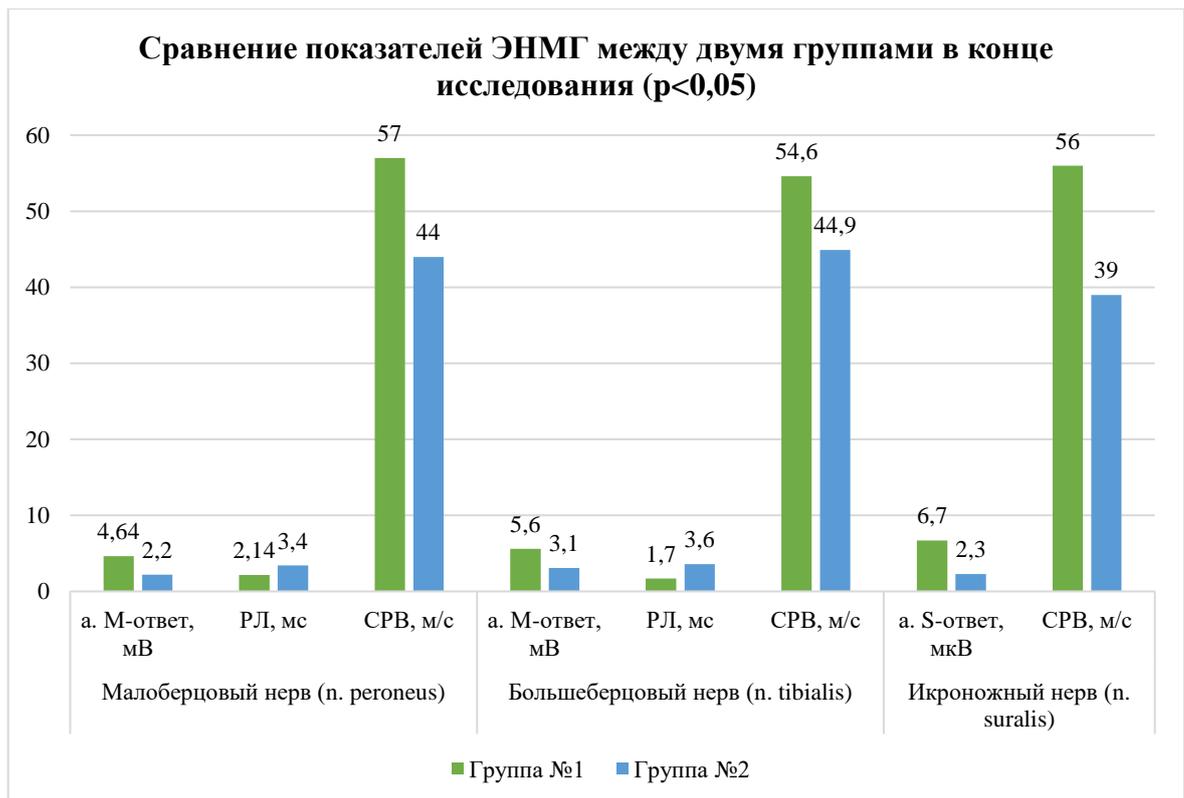
Сравнительный анализ электрофизиологических показателей между двумя группами показал, что улучшение нейрофизиологических показателей в группе №1 статистически значимое по сравнению с группой №2 по критерию Манна-Уитни (Таблица 3.51).

На Рисунке № 3.26 показано сравнение электрофизиологических показателей между обеими группами в конце терапии.

Обобщая вышеизложенное, можно сделать вывод, что комплексная терапия диабетической полинейропатии по сравнению с терапией только АЛК статистически значимо уменьшает проявление ДН и нормализует функцию периферических нервов. Кроме этого, комплексная терапия, по сравнению с терапией только препаратом АЛК, способствует статистически значимому уменьшению показателей СРПВ и уровня ГЦ и увеличению показателей ЭФ, уровней антиоксидантных ферментов и витамина В12.

**Таблица 3.51.** — Сравнение показателей ЭНМГ между двумя группами в конце исследования

Показатель		Группа №1 Me; IQR	Группа №2 Me; IQR	p
Малоберцовый нерв ( <i>n. peroneus</i> )	А. М-ответа, мВ	4,64; 2,24	2,2; 2,4	0,000057
	РЛ, мс	2,14; 1,1	3,4; 1,9	0,004
	СРВ, м/с	57,0; 18,0	44,0; 10,0	0,000000
Большеберцовый нерв ( <i>n. tibialis</i> )	А. М-ответа, мВ	5,6; 5,5	3,1; 3,7	0,005
	РЛ, мс	1,7; 0,83	3,6; 2,8	0,000001
	СРВ, м/с	54,6; 9,9	44,9; 11,1	0,000069
Икроножный нерв ( <i>n. suralis</i> )	А. S-ответа, мкВ	6,7; 4,3	2,3; 4,3	0,000034
	СРВ, м/с	56,0; 20,0	39,0; 16,0	0,0002

**Рисунок 3.26.** Сравнение показателей ЭНМГ между двумя группами в конце исследования

### 3.17. Оценка взаимосвязи между динамикой показателей ГЦ, В12, уровней антиоксидантных ферментов и изменением функционального состояния периферической нервной системы у пациентов с СД 2 типа

В обеих группах на фоне проводимой терапии ДН статистически достоверные взаимосвязи между конечной разностью ( $\Delta$ ) показателей функционального состояния периферической нервной системы и  $\Delta$  уровня ГПО не были выявлены.

В группе №1 на фоне комплексной терапии статистически достоверные корреляции между  $\Delta$  показателей функционального состояния периферической нервной системы и  $\Delta$  уровня СОД, а также  $\Delta$  уровня ГЦ и витамина В12 показаны в Таблице № 3.52.

**Таблица 3.52.** — Корреляции  $\Delta$  показателей функционального состояния периферической нервной системы и  $\Delta$  уровней антиоксидантных ферментов, а также  $\Delta$  уровня ГЦ в группе №1

Показатель		$\Delta$ ГЦ, мкмоль/л	$\Delta$ СОД, Ед/мл	$\Delta$ общи/ активный витамина В12
$\Delta$ баллов TSS после 1-го курса терапии		$r = 0,5928$ ; $p = 0,0003$	$r = - 0,3667$ ; $p = 0,0358$	-
$\Delta$ баллов NIS-LL после 1-го курса терапии		$r = 0,5551$ ; $p = 0,0008$	-	-
$\Delta$ показателей малоберцового нерва в конце исследования	А. М-ответа, мВ	-	$r = 0,3604$ ; $p = 0,0394$	-
$\Delta$ показателей икроножного нерва в конце исследования	А. S-ответа, мкВ	$r = - 0,3779$ ; $p = 0,03$	-	$r = 0,3773$ ; $p = 0,001$ / $r = 0,3714$ ; $p = 0,003$
	СРВ, м/с	$r = - 0,4886$ ; $p = 0,0039$	-	-

В группе №2 на фоне терапии была выявлена статистически достоверная положительная корреляция  $\Delta$  уровня СОД и  $\Delta$  амплитуды М-ответа малоберцового нерва ( $r = 0,5881$ ;  $p = 0,0005$ ).

### **3.18. Оценка взаимосвязи между динамикой метаболических показателей и изменением функционального состояния периферической нервной системы у пациентов с СД 2 типа**

У пациентов в обеих группах на фоне проводимой терапии не было обнаружено статистически достоверных корреляционных взаимосвязей между  $\Delta$  показателями липидного, углеводного обмена и функционального состояния периферической нервной системы.

### **3.19. Оценка взаимосвязи между динамикой показателей вазографии, капилляроскопии и изменением функционального состояния периферической нервной системы у пациентов с СД 2 типа**

У пациентов в группе №1 на фоне комплексной терапии выявлена статистически достоверная положительная корреляция между:

- $\Delta$  показателей СРПВ и  $\Delta$  показателей РЛ большеберцового нерва ( $r = 0,4415$ ;  $p = 0,01$ ),
- $\Delta$  показателей СРПВ и  $\Delta$  баллов NIS-LL ( $r = 0,4191$ ;  $p = 0,015$ ),
- $\Delta$  показателей диаметра артериальной области капилляров и  $\Delta$  показателей амплитуды М-ответа большеберцового нерва ( $r = 0,3758$ ;  $p = 0,03$ ).

У пациентов в группе №1 статистически достоверная отрицательная корреляция была выявлена между:

- ✓  $\Delta$  показателей полиморфизма микроциркуляторной сети и  $\Delta$  показателей СРВ большеберцового нерва ( $r = - 0,4539$ ;  $p = 0,008$ ),
- ✓  $\Delta$  показателей ЭФ и  $\Delta$  NIS-LL ( $r = - 0,4604$ ;  $p = 0,007$ ).

У пациентов в группе №2 на фоне терапии не было обнаружено статистически достоверных взаимосвязей между динамикой показателей вазографии, капилляроскопии и функционального состояния периферической нервной системы.

### **3.20. Оценка взаимосвязи между динамикой показателей вазографии, капилляроскопии и динамикой показателей антиоксидантных ферментов, витамина В12 и ГЦ**

У пациентов в группе №1 на фоне комплексной терапии выявлена статистически достоверная положительная корреляция между  $\Delta$  уровня ГЦ и  $\Delta$  показателей СРПВ ( $r = 0,561$ ;  $p = 0,0021$ ) и отрицательная корреляция между  $\Delta$  уровня ГЦ и  $\Delta$  показателей ЭФ ( $r = - 0,5165$ ;  $p = 0,0021$ ).

Отрицательная корреляция наблюдалась в группе №1 на фоне терапии между  $\Delta$  показателей полиморфизма микроциркуляторной сети и  $\Delta$  уровня СОД ( $r = - 0,4979$ ;  $p = 0,0032$ ).

В группе №2 на фоне терапии не было обнаружено статистически достоверных взаимосвязей между динамикой показателей вазографии, капилляроскопии и динамикой показателей ГЦ, витамина В12, СОД, ГПО.

### 3.21. Оценка взаимосвязи между динамикой показателей ГЦ, антиоксидантных ферментов и витамина В12

В группе №1 после 1-го курса терапии наблюдалась положительная корреляция между  $\Delta$  уровней активного и общего витамина В12 ( $r = 0,767$ ;  $p = 0,0005$ ). Также наблюдалась отрицательная корреляция между  $\Delta$  уровней ГЦ и активного В12 ( $r = -0,8940$ ;  $p = 0,0000$ ) (Рисунок 3.27).

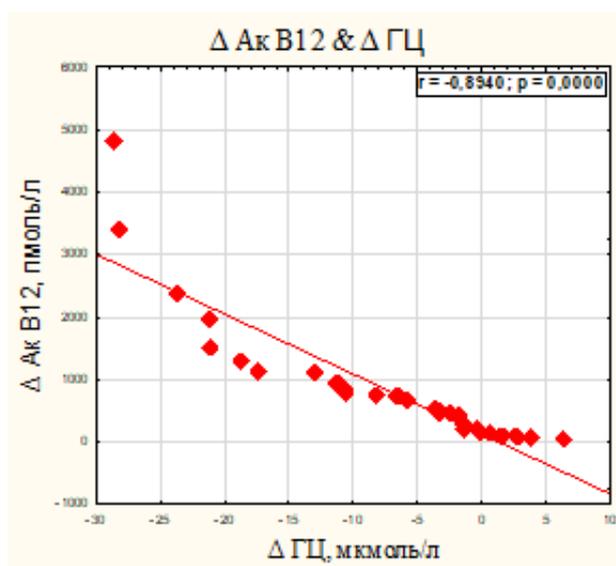
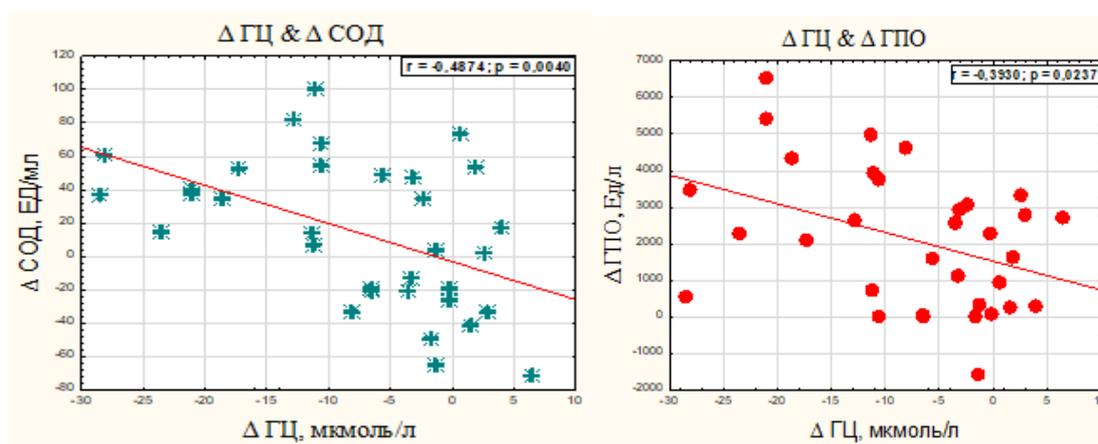


Рисунок 3.27. Корреляция между  $\Delta$  уровней ГЦ и активного витамина В12

У пациентов группы №1 после окончания 1-го курса терапии наблюдалась отрицательная корреляция между  $\Delta$  уровней ГЦ и СОД ( $r = -0,4874$ ;  $p = 0,0040$ ), а также ГПО ( $r = -0,3930$ ;  $p = 0,0237$ ) (Рисунок 3.28).



**Рисунок 3.28. Корреляция между Δ уровня ГЦ и антиоксидантных ферментов**

Других статически достоверных корреляций между остальными показателями не было выявлено у пациентов в группе №1.

В группе №2 на фоне терапии не было обнаружено статистически достоверных взаимосвязей между динамикой показателей ГЦ, СОД, ГПО и витамина В12.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Наиболее распространенным осложнением диабета считается диабетическая нейропатия (ДН), которая приводит к снижению трудоспособности пациентов [83, 126]. Своевременная терапия ДН может снизить дальнейшее прогрессирование этого осложнения [126].

В целом, антиоксиданты и витамины обладают потенциалом благоприятного воздействия на течение ДН. Они имеют широкий профиль безопасности и могут способствовать расширению терапевтического арсенала в терапии ДН в долгосрочной перспективе [126].

В нашем исследовании для терапии ДН была использована комбинация ВМК препарата с АЛК под контролем клинико-лабораторных и инструментальных методов исследований. Нами была дана оценка эффективности данной комбинации препаратов по сравнению с терапией только АЛК, имея за основу данные неврологического обследования (шкалы TSS, NIS-LL и ЭНМГ сенсорных и моторных нервов нижних конечностей), показателей антиоксидантной системы (уровня антиоксидантных ферментов СОД и ГПО), витамина В12 и ГЦ.

Анализ результатов проведенного нами исследования показал, что большинство пациентов находились в возрасте от 50 до 69 лет; продолжительность диабета составила от 2 до 10 лет; они имели избыточную массу тела или ожирение (1 и 2 степени); показатели углеводного и жирового обмена были близки к целевым значениям.

Результаты обследования, полученные с помощью оценки неврологической симптоматики по шкале TSS, невропатических нарушения по шкале NIS-LL и степени поражения двигательных и чувствительных волокон периферических нервов по ЭНМГ показали, что у большинства пациентов на старте исследования имелось умеренное проявление ДН, соответствующее стадиям диабетической нейропатии N1a (69%) и N2b (31%) по классификации Dyck P. [67].

Следует отметить, что у участников исследования наблюдалось незначительное снижение СКФ по формуле MDRD, соответствующее 2 стадии хронической болезни почек (СКФ 60 - 89 мл/мин). СКФ на таком уровне не являлась противопоказанием к приему препаратов, используемых в исследовании.

Таким образом, основную когорту исследования составили пациенты среднего и пожилого возраста с СД 2 типа, небольшой продолжительностью заболевания, избыточным весом, показателями гликемии ближе к целевым показателям данной категории пациентов и умеренными проявлениями диабетического поражения периферических отделов нижних конечностей.

При первичном обследовании у исследуемых пациентов были получены данные об уровне антиоксидантных ферментов, ГЦ, витамина В12, а также о функциональном состоянии эндотелия и микроциркуляторного русла.

Результаты исследования показали, что у 25% пациентов уровни антиоксидантных ферментов находились ниже референсных значений. Это указывало на истощение антиоксидантной системы в условиях активации оксидативного стресса у пациентов с СД 2 типа. На показатели антиоксидантных ферментов отрицательно повлияли продолжительность СД 2 типа, повышение уровней НВА1с и ГЦ, что говорит о более высокой активности оксидативного стресса в организме пациентов с СД 2 типа, имеющих больше длительности диабета, гипергликемию и повышение уровня ГЦ.

В свою очередь, снижение уровня антиоксидантных ферментов отрицательно отражалось на функциональном состоянии периферической нервной системы: со снижением уровня СОД у пациентов увеличивались неврологические жалобы по шкале TSS и признаки неврологического дефицита по шкале NIS-LL; со снижением уровня ГПО более выраженными становились признаки неврологического дефицита по шкале NIS-LL; со снижением уровней СОД и ГПО снижалась амплитуда S-ответа икроножного нерва.

Кроме этого, снижение уровня антиоксидантных ферментов отрицательно отражалось на показателях вазографии: со снижением их уровня снижалась ЭФ. Со снижением ГПО увеличилась СРПВ.

Полученные нами данные еще раз доказывают значимость роли активации оксидативного стресса в патогенезе ДН и нарушении функций эндотелия в условиях гипергликемии и повышенного уровня ГЦ [53, [93,126,136, 166].

Поскольку в ряде исследований для ранней диагностики витамина В12 рекомендуют определить уровни не менее 2 маркеров одновременно [62, 79,124], в нашем исследовании были определены уровни общего и активного витамина В12, а также уровень ГЦ в крови [62]. Используя оценку уровней общего и активного витамина В12, а также уровня ГЦ в нашем исследовании выявлено, что 63% пациентов с СД 2 типа с ДН имеют дефицит (в том числе метаболический дефицит) витамина В12. Изучение сахароснижающей терапии показало, что метформин в качестве монотерапии или в комбинации с другими сахароснижающими препаратами принимали 93% пациентов с дефицитом витамина В12 и 91% без дефицита витамина В12. Следовательно, процентное соотношение количества лиц принимающих метформин у пациентов с дефицитом и без дефицита витамина В12 не отличалось, что не дает возможности дальнейшего изучения роли метформина в процессе развития дефицита витамина В12 в данном исследовании.

У пациентов с СД 2 типа с дефицитом витамина В12, по сравнению с пациентами без дефицита, степень неврологических нарушений по оценке шкалы NIS-LL была выше, а значения амплитуды сенсорного ответа икроножного нерва были статистически достоверно хуже. Также наблюдалась статистически достоверная отрицательная корреляция между уровнем общего витамина В12 и значениями NIS-LL.

Кроме этого, у пациентов с дефицитом витамина В12 по сравнению с пациентами с нормальным уровнем витамина В12, показатели СРПВ были статистически достоверно выше и со снижением уровня общего витамина В12 увеличивалась степень жесткости стенок сосудов. Результаты данного исследования еще раз доказывают, что дефицит витамина В12, в том числе метаболический дефицит, способствует прогрессированию нейропатии [63, 126].

У пациентов с дефицитом витамина В12 корреляционный анализ показали, что уровень ГЦ выше этого 9 мкмоль/л отрицательно влияет на функцию икроножного нерва и эндотелия, способствует снижению уровней антиоксидантных ферментов и увеличивает неврологический дефицит по шкале NIS-LL.

Следующей задачей данного исследования была оценка влияния повышенного уровня ГЦ (выше 15 мкмоль/л) на функцию нервов и эндотелия, а также на уровни антиоксидантных ферментов, на показатели капилляроскопии. Результаты исследования показали, что у 48% (31 человека) пациентов было выявлено повышение уровня ГЦ выше 15 мкмоль/л, что соответствует ГГЦ [10]. У этих пациентов уровни общего и активного витамина В12 в крови, были статистически достоверно ниже, чем у пациентов с нормальным уровнем ГЦ, а также наблюдалась статистически достоверная отрицательная корреляция между уровнем ГЦ и витамином В12. Полученные статистически достоверные взаимосвязи между показателями ГЦ и витамином В12 в данном исследовании еще раз доказывают, что повышению уровня ГЦ способствовал дефицит витамина В12, в том числе его метаболический дефицит [69, 122, 172].

У пациентов с СД 2 типа с ГГЦ, по сравнению с пациентами, у которых уровень ГЦ находится в пределах физиологических границ, степень выраженности неврологической симптоматики шкал TSS и неврологических нарушений по шкале NIS-LL была выше, а уровни антиоксидантных ферментов и электрофизиологические показатели икроножного нерва были статистически достоверно ниже. Также у этих пациентов, по сравнению с пациентами с нормальным уровнем ГЦ, показатели ЭФ были статистически достоверно ниже, а СРПВ статистически достоверно выше. Как у пациентов с ГГЦ, так и у всех исследуемых пациентов с увеличением уровня ГЦ снижались уровни антиоксидантных ферментов, показатели ЭФ, амплитуда S-ответа и СРВ икроножного нерва, увеличивалась жесткость стенки сосудов, степень выраженности неврологических нарушений по шкале NIS-LL и неврологической симптоматики

по шкале TSS. Важно отметить, что у пациентов с ГГЦ между ГЦ и вышеперечисленными показателями была статистически достоверная корреляционная связь.

Следовательно, повышение уровня ГЦ в организме, приводит к более выраженным клиническим проявлениям ДН, нарушению функций икроножного нерва и эндотелия, а также истощению антиоксидантной системы.

В данном исследовании для коррекции указанных патогенетических факторов применялись ВМК препарат в сочетании с АЛК. Выбор такой комбинации препаратов был обоснован их фармакологическими действиями: АЛК является антиоксидантом [28], а кокарбоксилаза и цианокобаламин обладают нейротропными и нейропротективными эффектами [156]. Кроме этого, цианокобаламин является основным коферментом, участвующим в метаболизме ГЦ [122, 172]. Благодаря соответствующим критериям включения данная комбинация препаратов могла быть назначена любому участнику исследования, имеющему показание по инструкции.

Пациентам основной группы было назначено два курса (продолжительность курса 10 дней) с 6-им месячным интервалом ВМК препарат в сочетании с АЛК, а группа контроля получала АЛК по этой же схеме. После окончания первого, а также второго курса терапии отмечалась значительная положительная динамика по целому ряду показателей в обеих группах.

В обеих группах коррекция схем сахароснижающей терапии и прохождения обучения в «Школе диабета», а также регулярный прием статинов в терапевтических дозах способствовали с одинаковой эффективностью нормализации углеводного обмена и поддержанию липидного метаболизма в пределах целевого диапазона, что является неотъемлемой частью терапии диабетических осложнений, в том числе ДН.

У пациентов основной группы после окончания 1-ого курса комплексной терапии наблюдалось статистически достоверное снижение уровня ГЦ (на 45% ниже от исходного уровня) и увеличение уровня витамина В12 (10 раз выше от исходного уровня). В группе сравнения статистически значимые изменения по уровням данных показателей за этот промежуток времени не происходило.

У пациентов обеих групп после окончания 1-го курса терапии наблюдалась статистически достоверная положительная динамика по уровню ГПО и тенденция увеличения уровня СОД. Кроме этого, увеличение уровней антиоксидантных ферментов в основной группе было статистически достоверно выше, чем в группе сравнения. Увеличение уровня ГПО по сравнению с исходным в основной группе составило 40%, а в группе сравнения – 9%. Увеличение уровня СОД по сравнению с исходным показателем в основной группе составило 8%, а в группе контроля – 1%. После 1-го курса терапии у пациентов основной группы наблюдалась

нормализация уровней антиоксидантных ферментов, а у группы контроля за этот же период времени у 26% пациентов (8 человек) уровень СОД и у 19% пациентов (6 человек) уровень ГПО оставались ниже референсных значений.

У пациентов обеих групп после окончания 1-го курса терапии отмечалось статистически достоверное улучшение показательной ЭФ, по сравнению с исходными показателями. При этом, улучшение ЭФ наблюдалось у 70% пациентов основной группы и у 29% у контрольной группы и улучшение ЭФ у основной группы по сравнению с контрольной группой было статистически значимым.

После окончания 1-го курса терапии уменьшение СРПВ у основной группы наблюдалась у 85% пациентов и было статистически значимым, а у пациентов контрольной группы наблюдалась тенденция увеличения данного показателя.

У пациентов обеих групп после окончания 1-го курса терапии наблюдалось статистически достоверное уменьшение степени полиморфизма капиллярной сети, а также увеличение диаметров артериального и венозного отдела капилляров по сравнению с исходными результатами. Уменьшение коэффициента ремоделирования в основной группе составляло 6 % и было статистически достоверно ниже по сравнению с исходным результатом, а в группе сравнения составило 3% и не доходило до статистически достоверного уровня. Сравнительный анализ показателей капилляроскопии между двумя группами за этот промежуток времени не выявил статистически достоверных отличий.

У пациентов в обеих группах за все время исследования на фоне комплексной терапии наблюдалось статистически достоверное уменьшение клинического проявления ДН, но в основной группе это было более значимо, чем в группе контроля.

В конце исследования у пациентов основной группы на фоне комплексной терапии наблюдалось снижение показателей неврологической симптоматики по оценке шкалы TSS на 79 % и неврологического дефицита по оценке шкалы NIS-LL на 66 % ниже от исходных значений. Кроме этого, после окончания исследования у 36% пациентов (12 человек) основной группы отсутствовали жалобы или они были минимальными (TSS составил 0 - 1 баллов).

У пациентов контрольной группы на фоне терапии препаратом АЛК в конце исследования наблюдалось уменьшение показателей неврологической симптоматики по оценке шкалы TSS на 32% и уменьшение показателей неврологического дефицита по оценке шкалы NIS-LL на 33% ниже от исходных значений.

У пациентов основной группы в конце исследования наблюдалось статистически достоверное улучшение по всем параметрам электрофизиологических показателей малоберцового, большеберцового и икроножного нервов по сравнению с исходными данными, а также с группой контроля.

У пациентов контрольной группы в конце исследования наблюдалась некоторая тенденция к улучшению по всем параметрам электрофизиологических показателей и статистически достоверное улучшение амплитуды М-ответа и СРВ большеберцового нерва, а также СРВ икроножного нерва по сравнению с исходными данными.

На фоне терапии у пациентов основной группы с увеличением активного и общего витамина В12 увеличилась амплитуда сенсорного ответа икроножного нерва. С увеличением уровня активного витамина В12 снижался уровень ГЦ, а со снижением уровня ГЦ наблюдалось статистически достоверное уменьшение проявления неврологической симптоматики по шкале TSS и неврологического дефицита по шкале NIS-LL. Кроме этого, снижение уровня ГЦ способствовало статистически достоверному уменьшению СРПВ и увеличению ЭФ, а также повышению уровней антиоксидантных ферментов, амплитуды сенсорного ответа и СРВ икроножного нерва.

В свою очередь улучшение показателей ЭФ и снижение СРПВ приводило к статистически достоверному снижению проявления неврологического дефицита по шкале NIS-LL.

В основной группе с увеличением уровня СОД наблюдалось статистическое достоверное уменьшение проявления неврологической симптоматики по шкале TSS, увеличение амплитуды моторного ответа малоберцового нерва и снижение полиморфизма капилляров микроциркуляторной системы. В свою очередь у данной группы пациентов со снижением показателей полиморфизма микроциркуляторной сети увеличилась СРВ большеберцового нерва.

На фоне терапии у пациентов контрольной группы с увеличением СОД наблюдалось статистически достоверное увеличение амплитуды моторного ответа малоберцового нерва.

Таким образом, проводимая терапия в обеих группах привела к увеличению уровня антиоксидантных ферментов, а увеличение уровня СОД положительно влияло на амплитуду моторного ответа малоберцового нерва. Применение ВМК препарата в сочетании с АЛК привело к увеличению уровня витамина В12 и антиоксидантных ферментов, а также снижению уровня ГЦ, что в свою очередь способствовало снижению степени проявления неврологической симптоматики и неврологического дефицита, улучшению функций периферических нервов и эндотелия.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данного исследования были получены доказательства отрицательного влияния эндотелиальной дисфункций, сниженного уровня антиоксидантных ферментов, дефицита (в том числе метаболического) витамина В12, гипергомоцистеинемии на функцию периферических нервов.

На фоне комплексной медикаментозной терапии наблюдалось статистически достоверное уменьшение клинических проявлений ДН и улучшение показателей функционального состояния периферической нервной системы у пациентов с СД 2 типа. Преимуществом комплексной медикаментозной терапии ДН с применением витаминно-метаболического комплексного препарата в сочетании с альфа-липоевой кислотой, по сравнению с терапией только альфа-липоевой кислотой, является снижение уровня ГЦ, увеличение уровня общего и активного витамина В12, улучшение показателей вазографии.

Таким образом, на основании сопоставления результатов, полученных при применении витаминно-метаболического комплексного препарата в сочетании с альфа-липоевой кислотой с результатами, полученными при применении только альфа-липоевой кислоты, нами был разработан алгоритм терапии ДН для пациентов с сахарным диабетом 2 типа (рис. 4).

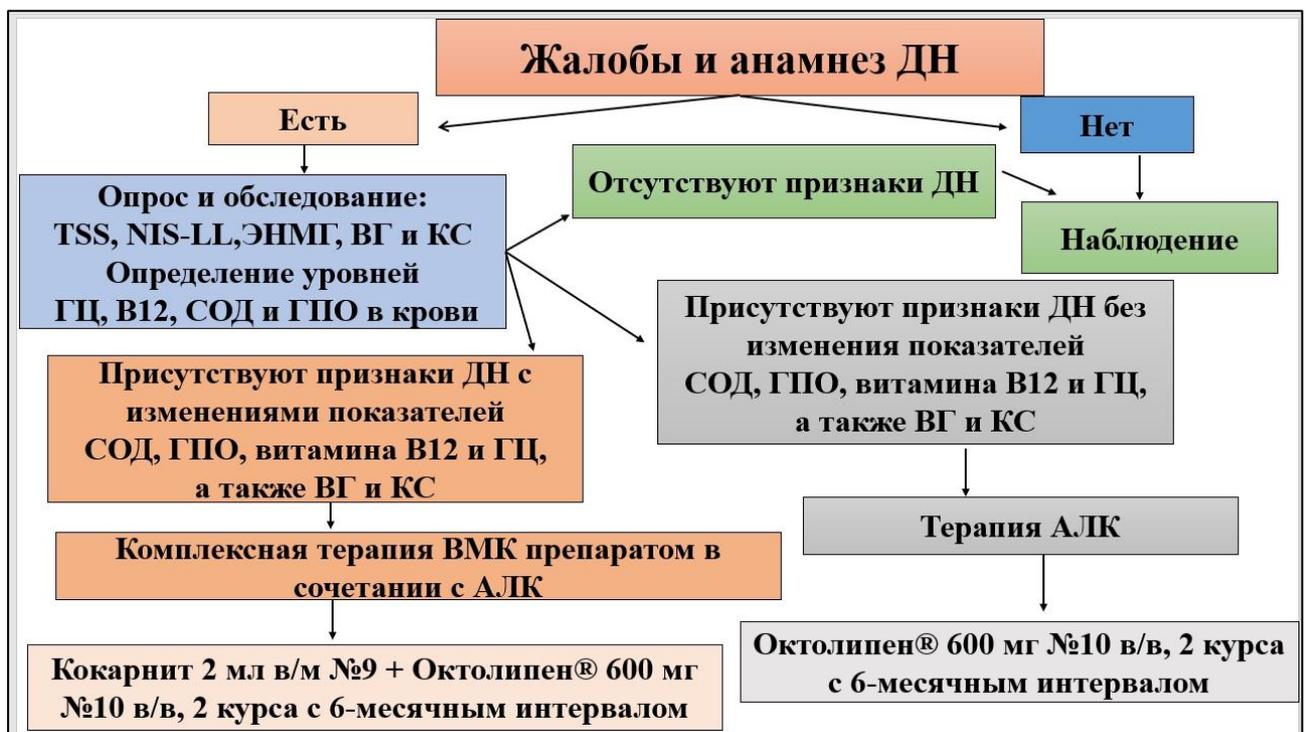


Рисунок 4.1. Алгоритм терапии ДН у пациентов с СД 2 типа

Алгоритм терапии ДН на основании полученных нами данных заключается в следующем:

- ✓ для пациентов с СД 2 типа, которые имеют проявление ДН и снижение уровней антиоксидантных ферментов, витамина В12, а также повышение уровня ГЦ и эндотелиальную дисфункцию, методом выбора лечения ДН является комплексная терапия ВМК препаратом (Кокарнит 2 мл лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения) 1 раз в сутки внутримышечно в дозе 2 мл на протяжении 9 дней в сочетании с препаратом АЛК (Октолипен® 300 мг концентрат для приготовления раствора для инфузий) 1 раз в сутки внутривенно в дозе 600 мг на протяжении 10 дней (10 инфузий), 2 курса с 6-месячным интервалом;
- ✓ для пациентов с СД 2 типа с ДН, которые не имеют снижения уровня антиоксидантных ферментов, витамина В12, эндотелиальной дисфункции и повышения уровня ГЦ, методом выбора лечения ДН является препарат АЛК (Октолипен® 300 мг концентрат для приготовления раствора для инфузий) 1 раз в сутки внутривенно в дозе 600 мг на протяжении 10 дней (10 инфузий), 2 курса с 6-месячным интервалом.

## ВЫВОДЫ

1. Комплексная терапия с применением витаминно-метаболического комплексного препарата в сочетании с альфа-липоевой кислотой статистически достоверно уменьшает клиническое проявление диабетической полинейропатии (уменьшение баллов по шкалам TSS на 79% и NIS-LL на 66% ниже исходных значений) и улучшает функцию периферических нервов (улучшение всех электрофизиологических показателей исследуемых нервов) у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.
2. Установлено, что у 88% пациентов с сахарным диабетом 2 типа, имеющих диабетическую полинейропатию, наблюдается нарушение эндотелийзависимой вазодилатации, также у 75% пациентов наблюдается увеличение скорости капиллярного кровотока, у 92% – увеличение степени полиморфизма капилляров и у 70% – увеличение степени извитости капилляров, что подтверждает значение эндотелиальной дисфункций и нарушения микроциркуляции при формировании патологии периферических нервов.
3. Установлено, что 63% пациентов с диабетической полинейропатией имеют дефицит витамина B12. У данной группы пациентов выявлена статистически достоверная умеренная корреляция между уровнем общего витамина B12 и значениями по шкалам TSS ( $r = -0,391$ ;  $p = 0,012$ ), а также по шкалам NIS-LL ( $r = -0,419$ ;  $p = 0,007$ ), что подтверждает роль дефицита витамина B12, как дополнительного фактора риска в процессе формирования патологии периферических нервов.
4. Установлено снижение уровня антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы (ниже референсных значений) у 25% пациентов с диабетической полинейропатией. Между уровнем супероксиддисмутазы и значениями неврологической симптоматики по шкале TSS выявлена статистически достоверная умеренная корреляция ( $r = -0,536$ ;  $p = 0,0003$ ), что подтверждает значимое снижение уровня супероксиддисмутазы при формировании патологии периферических нервов.
5. Установлено, у 48% пациентов с диабетической полинейропатией наблюдается гипергомоцистеинемия. У пациентов с гипергомоцистеинемией выявлена статистически достоверная сильная корреляция между уровнем гомоцистеина и значениями неврологической симптоматики по шкале TSS ( $r = 0,7367$ ;  $p = 0,0000$ ), значениями невропатических нарушений нижних конечностей по шкале NIS-LL ( $r = 0,901$ ;  $p = 0,0000$ ), показателями скорости распространения возбуждения ( $r = -0,796$ ;  $p = 0,00000$ ) икроножного нерва, а также выявлена статистически достоверная умеренная корреляция между уровнем гомоцистеина и амплитудой

сенсорного ответа ( $r = - 0,660$ ;  $p = 0,00005$ ) икроножного нерва, что доказывает роль гипергомоцистеинемии в процессе формирования патологии периферических нервов.

6. Доказано, что комплексная терапия с применением витаминно-метаболического комплексного препарата в сочетании с альфа-липоевой кислотой увеличивает уровень витамина В12 в 10 раз, уровень глутатионпероксидазы – на 40% ( $p < 0,05$ ), супероксиддисмутазы – на 8% выше исходного уровня и снижает уровень гомоцистеина (уменьшение на 45% ниже исходных значений), что дает возможность рекомендовать комплексную терапию пациентам с диабетической полинейропатией, имеющих дефицит витамина В12, снижение уровней антиоксидантных ферментов и гипергомоцистеинемию.

7. Доказано, что комплексная терапия с применением витаминно-метаболического комплексного препарата в сочетании с альфа-липоевой кислотой статистически достоверно улучшает функции эндотелия ( $p < 0,05$ ), состояние капиллярной сети (уменьшение коэффициента ремоделирования на 6% и полиморфизма капиллярной сети на 26% ниже исходных значений, увеличение диаметров артериального отдела на 3% и венозного отдела на 9% выше исходных значений), что дает возможность рекомендовать комплексную терапию пациентам с диабетической полинейропатией, имеющих эндотелиальную дисфункцию и нарушение микроциркуляции.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для пациентов с СД 2 типа с ДН, у которых наблюдается эндотелиальная дисфункция, дефицит витамина В12, снижение уровня антиоксидантных ферментов и гипергомоцистеинемия, методом выбора терапии ДН может стать витаминно-метаболический комплексный препарат в сочетании с альфа-липоевой кислотой.

Для пациентов с СД 2 типа с ДН, у которых не наблюдается эндотелиальной дисфункции, дефицита витамина В12, снижения уровня антиоксидантных ферментов и гипергомоцистеинемии, методом выбора терапии ДН может стать альфа-липоевая кислота.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

- АД – артериальное давление
- АДА – Американская Диабетическая Ассоциация
- АЛК – альфа-липоевая кислота
- А. М-ответа – амплитуда моторного ответа
- А. S-ответа – амплитуда сенсорного ответа
- АФК – активные формы кислорода
- ВГ – вазография
- ВМК – витаминно-метаболический комплекс
- ГАФДГ – глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа
- ГГЦ – гипергомоцистеинемия
- ГЛЮТ 4 – транспортеры глюкозы-4
- ГПО – глутатионпероксидаза
- ГФАТ - глютамин-фруктоза-6-фосфат-амидотрансфераза
- Г6ФДГ – глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа
- ГЦ – гомоцистеин
- ДГЛК – дигидролипоевая кислота
- ДН – диабетическая нейропатия
- аГПП1 - агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида 1-ого типа
- иДПП4 – ингибиторы дипептидилпептидазы-4
- иНГКТ2 – ингибиторы натрия-глюкозы котранспорта-2
- ИМТ – индекс массы тела
- Инс – инсулин
- КС – капилляроскопия
- КПП – конечные продукты неферментативного гликирования
- НАД – никотинамидадениндинуклеотид
- НАДФН – никотинамидадениндинуклеотид фосфат
- НГЦ – нормогомоцистеинемия
- Мет – метформин
- рКПП – рецепторы конечных продуктов неферментативного гликирования
- РЛ – резидуальная латентность
- СД – сахарный диабет
- СМ – сульфонилмочевина
- СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СОД – супероксиддисмутаза  
СОЭ – скорость оседание эритроцитов  
СРВ – скорость распространения возбуждения  
СРПВ – скорость распространения пульсовой волны  
ТДФ – тиаминдифосфат или тиаминпирофосфат  
ТМФ – тиаминмонофосфат  
ТТФ – тиаминтрифосфата  
ХС ЛПВП – холестерин липопротеиды высокой плотности  
ХС ЛПНП – холестерин липопротеиды низкой плотности  
ЭНМГ – электронейромиография  
ЭФ – эндотелийзависимая вазодилатация  
ALADIN – Alpha Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy  
BEDIP – BENfotiamine in the treatment of Diabetic Polyneuropathy  
BENDIP – BENfotiamine in DIabetic Polyneuropathy  
FDA – Управлением по контролю пищевых продуктов и лекарств в США  
HbA1c – гликированный гемоглобин  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – перекись водорода  
HO<sup>•</sup><sub>2</sub> – пероксидный радикал  
HO<sup>-</sup><sub>2</sub> – пероксидный ион  
IDF – International Diabetes Federation  
IGF-1 – инсулиноподобный фактор роста-1  
IL-1 – интерлейкин-1  
Na/K АТФ-аза – натрий/калиевой аденозинтрифосфатаза  
NATHAN – Neurological Assessment of Thioctic Acid  
NIS – Neuropathy Impairment Score  
NIS-LL – Neuropathy Impairment Score in the Lower Limbs  
NO – монооксид азота  
NO-синтаза – монооксид азот-синтаза  
O<sup>•</sup><sub>2</sub> – супероксид анион радикал  
OH<sup>•</sup> – гидроксильный радикал  
PARP – полимераза  
PDGF – тромбоцитарный ростовой фактор  
SYDNEY – Symptomatic Diabetic Neuropathy study  
TNF α – фактор некроза опухоли альфа  
TSS – Total Symptoms Score

**БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Аметов, А. С. Альфа-липоевая кислота в лечении симптомной диабетической полиневропатии: symptomatic diabetic neuropathy (SYDNEY) trial /А. С. Аметов, И. А. Строков, А. Н. Баринов [и др.] // Фарматека. -2004. - №11(88). - С. 69–73.
2. Аметов, А. С. Окислительный стресс при сахарном диабете 2-го типа и пути его коррекции / А. С. Аметов, О. Л. Соловьева // Проблемы эндокринологии. - 2011.- №6. - С. 52-56.
3. Аметов, А. С. Положительные метаболические и антиоксидантные свойства тестостерон-заместительной терапии при сочетании сахарного диабета типа 2 и гипогонадизма / А. С. Аметов, Л. Л. Камынина, О. А. Рождественская, Е. Ю. Пашкова // Эндокринология: новости, мнения, обучение. - 2016. - №3. - С. 83-93.
4. Аметов, А. С. Сахарный диабет и оксидативный стресс / А. С. Аметов, Г. У. Алимова // Эндокринология: новости, мнения, обучение. - 2014. - №1(2). - С. 47-50.
5. Аметов, А. С. Эффективность тиоктовой кислоты в лечении диабетической полинейропатии / А. С. Аметов, Т. Н. Солуянова // РМЖ. - 2008. - №28. - С. 1870.
6. Артемова, Н.М. Стимуляционная электромиография: учебное пособие для врачей/ Н.М. Артемова, И.В. Везенова, А.В. Соколов.; Ряз. гос. мед. ун-т им. акад. И.П. Павлова. – Рязань: РИО РязГМУ, 2013. – 80 с.
7. Балаболкин, М. И. Лечение сахарного диабета и его осложнений: рук. для врачей: учеб. пособие для системы послевуз. проф. образования врачей / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Креминская. - М.: Медицина, 2005 (ППП Тип. Наука). - 510, [1] с.
8. Березов, Т.Т. Биологическая химия: Учебник. – 3е изд., перераб. идоп./ Т.Т. Березов, Б. Ф. Коровкин - М.: Медицина, 1998.- 704 с.
9. Бирюкова, Е. В. Как повысить эффективность лечения диабетической нейропатии? /Е. В. Бирюкова // Эффективная фармакотерапия. - 2011. - С. 2-10.
10. Болдырев, А. А. Почему токсичен гомоцистеин? /А. А. Болдырев // Природа. - 2009. - №10(1130). - С. 8-23.
11. Вахнина, Н. В. Применение витаминно-минеральных комплексов в составе ноотропной терапии при астенических состояниях и неврологических расстройствах / Н. В. Вахнина, Е. Ю. Калимеева // Медицинский Совет. - 2015. - №11. - С. 12-16.
12. Витамины, микро- и макроэлементы / Сост. В. В. Горбачев, В. Н. Горбачева. Минск: Интерпрессервис, 2002. - 542, [1] с.
13. Витамины, витаминоподобные и минеральные вещества / Сост. В. Б. Спиричев. М.: МЦФЭР, 2004. - 239 с.

14. Галстян, Г. Р. Клинико-экономическое обоснование стоимости квоты на лечение пациентов с синдромом диабетической стопы / Г. Р. Галстян, С. В. Сергеева, В. И. Игнатъева [и др.] // Сахарный диабет. - 2013. - №3. - С. 71–83.
15. Гурфинкель, Ю. И. Новый подход к интегральной оценке состояния сердечно-сосудистой системы у пациентов с артериальной гипертензией / Ю. И. Гурфинкель, О. Ю. Атьков, М. Л. Сасонко [и др.] // Российский кардиологический журнал. - 2014. - №1(105). - С. 101-106.
16. Данилов, А.Б. Применение витаминов группы В при болях в спине: новые анальгетики? / А. Б. Данилов // РМЖ. - 2008. - №16.- С. 35.
17. Дедов, И. И. Сахарный диабет в Российской Федерации: распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным федерального регистра сахарного диабета, статус 2017 г. / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, О. К. Викулова [и др.] // Сахарный диабет. - 2018. - №21(3). - С. 144-159.
18. Дедов, И. И. Экономические затраты на сахарный диабет 2 типа и его основные сердечно-сосудистые осложнения в Российской Федерации / И. И. Дедов, А. В. Концевая, М. В. Шестакова [и др.] // Сахарный диабет. - 2016. - №19(6). - С. 518-527.
19. Доскина, Е. В. Диабетическая полинейропатия и современные методы лечения / Е. В. Доскина, А. В. Доскин // Неврология и психиатрия. - 2012. - №3. - С. 2-8.
20. Занозина, О. В. Роль окислительного стресса в развитии и прогрессировании поздних осложнений сахарного диабета 2 типа. Возможности антиоксидантной терапии: автореферат дис. д-ра мед. наук: 14.01.04 / Занозина Ольга Владимировна. - Нижний Новгород, 2010. - с.
21. Занозина, О. В. Свободно-радикальное окисление при сахарном диабете 2-го типа: источники образования, составляющие, патогенетические механизмы токсичности / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Т. Г. Щербатюк // Журнал «Обзорная статья» - 2010. - №3. - С. 104-112.
22. Кузнецова, Л. А. Влияние метформина на активность глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы в тканях крыс с сахарным диабетом 2 типа и метаболическим синдромом / Л. А. Кузнецова, К. В. Деркач, Т. С. Шарова [и др.] // Трансляционная медицина. - 2016. - №3(4). - С. 34–43.
23. Матейкович, П. А. Глутатионпероксидаза как фермент системы антиоксидантной защиты клеток / П. А. Матейкович // Международный научный журнал. Биологические науки. - 2016. - №6(3). - С. 21-24.
24. Мкртумян, А. М. Возможность применения препарата Кокарнит при лечении диабетической полинейропатии / А. М. Мкртумян, Т. Н. Маркова, С. В. Подачина // Эффективная фармакотерапия. Эндокринология. - 2016. - №4. - С. 6-10.

25. Молчанова, О. В. Фармакологические эффекты альфа-липоевой (тиоктовой) кислоты / О. В. Молчанова, В. И. Кочкаров, М. В. Покровский [и др.] // *Формация*. - 2012. - №20-3(141). - С. 24-29.
26. Ольховик, А.Ю. Верификация ожидаемых значений тест-систем cobas в качестве референтных интервалов для российской популяции Северо-Западного федерального округа / А.Ю., Ольховик, Т.А. Окша, А.В. Васильев [и др.] // *Лабораторная служба*. - 2019. - №8(3). - С. 20-30.
27. Пигарова, Е. А. Терапевтические возможности альфа-липоевой кислоты / Е. А. Пигарова, А. А. Петрушкина, Е. В. Морозова // *Эффективная фармакотерапия*. - 2019. - №15(12). - С. 40–45.
28. Пизова, Н. В. Основные формы диабетических нейропатий / Н. В. Пизова // *Медицинский консультант*. - 2018. - №20(4). - С. 36–42.
29. Подачина, С. В. Роль блокаторов конечных продуктов гликирования в формировании неврологических осложнений сахарного диабета / С. В. Подачина // *Фарматека* - 2011. - №16(229). - С. 37-42.
30. Строков, И. А. Применение высоких доз витаминов группы В в неврологии / И. А. Строков, Л. Т. Ахмеджанова, О. А. Солоха // *Трудный пациент*. - 2009. - №10. - С. 17–22.
31. Сучкова О. В. Параметры микроциркуляции при компенсированном и декомпенсированном сахарном диабете 2-го типа / О. В Сучкова, Ю. И. Гурфинкель, М. Л. Сасонко // *Терапевтический архив*. - 2017. - №10(89). - С. 28-35.
32. Толпыгина О. А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты (обзор) / О. А. Толпыгина // *Acta Biomedica Scientifica*. - 2012. - №2(2). - С. 178-180.
33. Храмин, В. Н. Диабетическая нейропатия / В. Н. Храмин, И. Ю. Демидова, И. Н. Староверова [и др.]. - Москва: Видар-М., 2012. - 128 с.
34. Чанчаева, Е. А. Современное представление об антиоксидантной системы организма / Е. А. Чанчаева, Р. И. Айзман, А. Д. Герасев // *Экология человека*. - 2013. - С. 50-58.
35. Шестакова, М. В. Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: что изменилось за последнее десятилетие? / М. В. Шестакова, О. К. Викулова, А. В. Железнякова [и др.] // *Терапевтический архив*. - 2019. - №10(91). - С. 4 -13.
36. Adcock В.В. Cobalamin pseudodeficiency due to a transcobalamin I deficiency. / В. В. Adcock, J. T. McKnight // *South Med J*.- 2002. №95(9). - P. 1060–1062.
37. Alvarez M. Vitamin B12 deficiency and diabetic neuropathy in patients taking metformin: A cross-sectional study/ M. Alvarez, O. Rincon, G. Saavedra [et al.] // *Endocr. Connect*. - 2019. №8. - P. 1324 - 1329.
38. American Diabetes Association. 11. Microvascular Complications and Foot Care: Standards of Medical Care in Diabetes-2021 // *Diabetes Care*. - 2021. - №44 (Supplement 1). - P. S151-S167.

- 39.** American Diabetes Association. 9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes—2021 // *Diabetes Care*. - 2021. - №44(Suppl 1). - P. S111-S124.
- 40.** Ametov, A. S. The sensory symptoms of diabetic polyneuropathy are improved with  $\alpha$ -lipoic acid: the SYDNEY trial / A. S. Ametov, A. Barinov, P. J. Dyck [et al.] // *Diabetes Care*. - 2003. - №26(3). - P. 770–776.
- 41.** Ang, L. Glucose control and diabetic neuropathy: lessons from recent large clinical trials / L. Ang, M. Jaiswal, C. Martin [et al.] // *Curr Diab Rep*. - 2014. - №14. - P. 528.
- 42.** Aroda, V. R. Long-term Metformin Use and Vitamin B12 Deficiency in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study / V. R. Aroda, S. L. Edelstein, R. B. Goldberg [et al.] // *Clin. Endocrinol. Metab.* - 2016. - №101. - P. 1754–1761.
- 43.** Arrebola-Moreno, A. Noninvasive Assessment of Endothelial Function in Clinical Practice / A. Arrebola-Moreno, M. Laclaustra, J. K. Kaski // *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. - 2012. - №65(1). - P. 80-90.
- 44.** Balakumar, P. The multifaceted therapeutic potential of benfotiamine. / P. Balakumar, A. Rohilla, P. Krishan [et al.] // *Pharmacol Res*. - 2010. - №61(6). - P. 482-488.
- 45.** Bastyr, E.J. Development and validity testing of the neuropathy total symptom score-6: questionnaire for the study of sensory symptoms of diabetic peripheral neuropathy/ E. J. Bastyr, K. L. Price, V. Bril; MBBQ Study Group// *Clin Ther.*- 2005.-№27(8). - P. 1278-1294.
- 46.** Beltramo, E. Effects of thiamine and benfotiamine on intracellular glucose metabolism and relevance in the prevention of diabetic complications / E. Beltramo, E. Berrone, S. Tarallo [et al.] // *Acta Diabetol.* - 2008. - №45(3). - P. 131-141.
- 47.** Booya, F. Potential risk factors for diabetic neuropathy: a case control study / F. Booya, F. Bandarian, B. Larijani [et al.] // *BMC Neurology*. - 2005. - №5. - P. 24.
- 48.** Borcea, V. Alpha-lipoic acid decreases oxidative stress in patients with diabetes mellitus / V. Borcea, J. Nourooz-Zadeh, S.P. Wolff [et al.] // *Biol Med*. - 1999. - №26(11-12). - P. 1495–1500.
- 49.** Boulton, A.J. Diabetic neuropathy and foot complications / A. J. Boulton // *Clin Neurol*. -2014. - №126. - P. 97–107.
- 50.** Brazionis, L. Homocysteine and Diabetic Retinopathy / L. Brazionis, K. Rowley, C. Itsiopoulos [et al.] // *Diabetes Care*. - 2008. - №31(1). - P. 50-56.
- 51.** Bril, V. NIS-LL: the primary measurement scale for clinical trial endpoints in diabetic peripheral neuropathy / V. Bril // *Eur Neurol*. - 1999. - №41 (Suppl 1). - P. 8-13.
- 52.** Bril, V. Role of electrophysiological studies in diabetic neuropathy/ V. Bril // *Can J Neurol Sci*. - 1994. - №21. - P. 8-12.
- 53.** Brownlee, M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism / M. Brownlee // *Diabetes*. - 2005. - №54(6). - P. 1615–1625.

- 54.** Callaghan, B. C. Diabetes and obesity are the main metabolic drivers of peripheral neuropathy / B. C. Callaghan, L. Gao, Y. Li [et al.] // *Ann. Clin. Transl Neurol.* - 2018. - №5(4). - P. 397-405.
- 55.** Callaghan, B. C. Enhanced glucose control for preventing and treating diabetic neuropathy / B. C. Callaghan, A. A. Little, E. L. Feldman [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev.* -2012. - №(6). - CD007543.
- 56.** Callaghan, B. C. Metabolic syndrome components are associated with symptomatic polyneuropathy independent of glycemic status / B. C. Callaghan, R. Xia, M. Banerjee [et al.] // *Diabetes Care.* - 2016. - №39(5). - P. 801-807.
- 57.** Cao, Y. Beneficial effects of danshensu, an active component of salvia miltiorrhiza, on homocysteine metabolism via the trans-sulphuration pathway in rats / Y. Cao, J. G. Chai, Y. C. Chen [et al.] // *Br J Pharmacol.* - 2009.- №157(3). - P. 482-490.
- 58.** Chambers, J. C. Physiological increments in plasma homocysteine induce vascular endothelial dysfunction in normal human subjects / J.C. Chambers, O. A. Obeid, J. S. Kooner // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 1999. - №19(12). - P. 2922–2927.
- 59.** Chapman, L. E. Association between metformin and vitamin B<sub>12</sub> deficiency in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis / L. E. Chapman, A. L. Darling, J. E. Brown // *Diabetes Metab.* - 2016. - №42(5). - P. 316-327.
- 60.** Creager, M. A. Diabetes and vascular disease: Pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I / M. A. Creager, T. F. Luscher, F. Cosentino [et al.] // *Circulation.* - 2003. №108(12). - P. 1527–1532.
- 61.** Damião Ch. P., Rodrigues A. O., Pinheiro M., et al. Prevalence of vitamin B12 deficiency in type 2 diabetic patients using metformin: a cross-sectional study. / Ch. P. Damião, A. O. Rodrigues, M. Pinheiro [et al.] // *Sao Paulo Med. J.* -2016. № 134(6). - P. 473-479.
- 62.** Devalia, V. Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders / V. Devalia, M. S. Hamilton, A. M. Molloy // *Br J Haematol.* - 2014. - №166(4). - P. 496–513.
- 63.** Didangelos, T. Vitamin B12 Supplementation in Diabetic Neuropathy: A 1-Year, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. / T. Didangelos, E. Karlafti, E. Kotzakioulafi [et al.] // *Nutrients.* - 2021. №13(2). - P. 395.
- 64.** Drel, V. R. New therapeutic and biomarker discovery for peripheral diabetic neuropathy: PARP inhibitor, nitrotyrosine, and tumor necrosis factor -alpha / V. R. Drel, S. Lupachyk, H. Shevalye [et al.] // *Endocrinology.* - 2010. - №151(6). - P. 2547-55.
- 65.** Du, X. Inhibition of GAPDH activity by poly (ADP-ribose) polymerase activates three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells / X. Du, T. Matsumura, D. Edelstein [et al.] // *Journal of Clinical Investigation.* - 2003. - №7. - P. 1049–1057.

- 66.** Du, X. L. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation / X. L. Du, D. Edelstein, L. Rossetti [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. - 2000. - №97(22). - P. 12222-12226.
- 67.** Dyck P.J. Detection, characterization and staging of polyneuropathy: assessed in diabetics. *Muscle Nerve*. -1988.- №11(1). - P. 21–32.
- 68.** Dyck, P. J. Diabetic polyneuropathies: update on research definition, diagnostic criteria and estimation of severity / P. J. Dyck, J. W. Albers, H. Andersen [et al.] // *Diabetes Metab Res Rev*. - 2011. №27(7). - P. 620–628.
- 69.** England, J. D. Practice Parameter: evaluation of distal symmetric polyneuropathy: role of laboratory and genetic testing (an evidence-based review). Report of the American Academy of Neurology, American Association of Neuromuscular and Electrodiagnostic Medicine, and American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation. / J. D. England, G. S. Gronseth, G. Franklin [et al.] // *Neurology*. - 2009. - №72(2). - P. 185-192.
- 70.** Fedosov, S.N. Combined indicator of vitamin B12 status: modification for missing biomarkers and folate status and recommendations for revised cut-points/ S.N. Fedosov, A. Brito, J.W. Miller [et al.]//*Clin Chem Lab Med*. -2015. -№53(8). - P. 1215-1225
- 71.** Geraldès, P. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications / P. Geraldès, G. L. King // *Circ Res*. - 2010. - №106(8). - P. 1319–1331.
- 72.** Giacco, F. Oxidative Stress and Diabetic Complications / F. Giacco, M. Brownlee // *Circulation Research*. - 2010. - №107(9). - P. 1058-1070.
- 73.** Global report on diabetes. Geneva: World Health Organization; 2016.
- 74.** Goldin, A. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury / A. Goldin, J. A. Beckman, A. M. Schmidt [et al.] // *Circulation*. - 2006. - №114(6). - P. 597-605.
- 75.** Gupte, R. S. Synergistic activation of glucose-6-phosphate dehydrogenase and NAD(P)H oxidase by Src kinase elevates superoxide in type 2 diabetic, Zucker fa/fa, rat liver / R. S. Gupte, B. C. Floyd, M. Kozicky [et al.] // *Free Radic Biol Med*. - 2009.- №47(3). - P. 219–228.
- 76.** Haak, E. S. The effect of  $\alpha$ -lipoic acid on the neurovascular reflex arc in patients with diabetic neuropathy assessed by capillary microscopy / E. S. Haak, K. H. Usadel, M. Kohleisen [et al.] // *Microvasc Res*. - 1999. - №58(1). - P. 28–34.
- 77.** Hammes, H. P. Benfotiamine blocks three major pathways of hyperglycemic damage and prevents experimental diabetic retinopathy / H. P. Hammes, X. Du, D. [et al.] // *Nat Med*. - 2003. - №9(3). - P. 294-299.

- 78.** Han, D. Lipoic acid increases de novo synthesis of cellular glutathione by improving cystine utilization / D. Han, G. Handelman, L. Marcocci [et al.] // *Biofactors*. - 1997. - №6(3). - P. 321–338.
- 79.** Hannibal, L. Biomarkers and Algorithms for the Diagnosis of Vitamin B12 Deficiency/ L. Hannibal, V. Lysne, A.L. Bjørke-Monsen [et al.] // *Front Mol Biosci*. - 2016. - №27(3). - P. 27.
- 80.** Harrington, D. J. Laboratory assessment of vitamin B12 status. / D. J. Harrington// *J Clin Pathol*. - 2017. -№70(2). - P. 168-173.
- 81.** Haupt, E. Benfotiamine in the treatment of diabetic polyneuropathy – a three-week randomized controlled pilot-study (BEDIP study) / E. Haupt, H. Ledermann, W. Köpcke // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* - 2005. - №43(2). - P. 71–77.
- 82.** Hicks, C. W. Burden of Infected Diabetic Foot Ulcers on Hospital Admissions and Costs / C. W. Hicks, S. Selvarajah N. Mathioudakis [et al.] // *Ann Vasc Surg*. - 2016. -№33. - P. 149–158.
- 83.** Hicks, C. W. Epidemiology of Peripheral Neuropathy and Lower Extremity Disease in Diabetes / C. W. Hicks, E. Selvin // *Curr Diab Rep*. - 2019. - №19(10). - P. 86.
- 84.** Hink, U. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus / U. Hink, H. Li, H. Mollnau [et al.] // *Circ Res*. -2001. -№88(2). - P. 14–22.
- 85.** Hoffmann, M. Survival of diabetes patients with major amputation is comparable to malignant disease / M. Hoffmann, P. Kujath, A. Flemming [et al.] // *Diabetes Vasc Dis Res*. -2015. - №12(4). - P. 265-271.
- 86.** Hoogeveen, E. K. Hyperhomocysteinemia increases risk of death, especially in type 2 diabetes: 5-year follow-up of the Hoorn Study / E. K. Hoogeveen P. J. Kostense, C. Jakobs [et al.] // *Circulation*. - 2000. -№101(13). - P. 1506–1511.
- 87.** Hunt, J. V. Autoxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose / J. V. Hunt, C. C. Smith, S. P. Wolff // *Diabetes*. - 1990. -№39(11). - P.1420–1424.
- 88.** International Diabetes Federation. Clinical Practice Recommendation on the Diabetic Foot: A guide for health care professionals: International Diabetes Federation, 2017.
- 89.** International Diabetes Federation. Diabetes Atlas, IDF -8th edition. Brussels: International Diabetes Federation; 2017.
- 90.** International Diabetes Federation. Diabetes atlas IDF-10th edition. International Diabetes Federation; 2021.
- 91.** Ismail-Beigi, F. Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomised trial / F. Ismail-Beigi, T. Craven, M. A. Banerji [et al.] // *Lancet*. - 2010. - №376(9739). - P. 419–430.

- 92.** Jacobs, A. M. Management of diabetic small-fiber neuropathy with combination L-methylfolate, methylcobalamin, and pyridoxal 5'-phosphate / A. M. Jacobs, D. Cheng // *Rev Neurol Dis.* - 2011. - №8(1-2). - P. 39–47.
- 93.** Jacobsen, D.W. Hyperhomocysteinemia and Oxidative Stress / D. W. Jacobsen// *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* - 2000. -№20. - P. 1182-1184
- 94.** Jaiswal, <http://care.diabetesjournals.org/content/40/9/1226> - aff-1 M. Prevalence of and Risk Factors for Diabetic Peripheral Neuropathy in Youth With Type 1 and Type 2 Diabetes: SEARCH for Diabetes in Youth Study / M. Jaiswal <http://care.diabetesjournals.org/content/40/9/1226> - aff-1, J. Divers <http://care.diabetesjournals.org/content/40/9/1226> - aff-2, D. Dabelea [et al.] // *Diabetes Care.* - 2017. - №40(9). - P. 1226-1232.
- 95.** Jarquin Campos A. Diagnostic Accuracy of Holotranscobalamin, Vitamin B12, Methylmalonic Acid, and Homocysteine in Detecting B12 Deficiency in a Large, Mixed Patient Population. / A. Jarquin Campos, L. Risch, U. Nydegger [et al.]// *Dis Markers* - 2020. - P. 1–11.
- 96.** Jelacic, A. K. Changes in epidermal thickness and cutaneous innervation during maturation in long-term diabetes / A. K. Jelacic, M. Boric, M. Vidak // *Tissue Viability.* -2014. -№23(1). - P. 7–12.
- 97.** Jiang, D. Q. Effects of prostaglandin E1 plus methylcobalamin alone and in combination with lipoic acid on nerve conduction velocity in patients with diabetic peripheral neuropathy: A meta-analysis / D. Q. Jiang, M. X. Li, Yan Wang [et al.] // *Neurosci Lett.* - 2015. -№594. - P. 23-29.
- 98.** Kaiser, A. B. Global Prevalence of Type 2 Diabetes over the Next Ten Years (2018-2028) / A. B. Kaiser, N. Zhang, W.V.D. Pluijm // *Diabetes* 2018 Jul; 67(Supplement 1): -).
- 99.** Kramer, H. H. Follow-up of advanced diabetic neuropathy. useful variables and possible pitfalls / H. H. Kramer, R. Rolke, M. Hecht [et al.] // *Neurol.* - 2005. -№252(3). - P. 315–320.
- 100.** Kröller-Schön, S. Molecular mechanisms of the crosstalk between mitochondria and NADPH oxidase through reactive oxygen species-studies in white blood cells and in animal models / S. Kröller-Schön, S. Steven, S. Kossmann [et al.]// *Antioxid Redox Signal.* - 2014. - №20(2). - P. 247-266.
- 101.** Li, J. Relation of homocysteine to early nephropathy in patients with Type 2 diabetes / J. Li, M. Shi, H. Zhang [et al.] // *Clin Nephrol.* - 2012. - №77(4). - P. 305-310.
- 102.** MacFarlane, A. J. Vitamin B-12 and homocysteine status in a folate-replete population: results from the Canadian Health Measures Survey / A. J. MacFarlane, L. S. Greene-Finestone, Y. Shi // *Am J Clin Nutr.* -2011. -№94(4). - P. 1079-1087.
- 103.** Marathe, P. H. American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes 2017 / P. H. Marathe, H. X. Gao, K. L. Close // *Diabetes.* - 2017. - № 9(4). - P. 320-324.
- 104.** Margolis, D. J. Epidemiology of foot ulceration and amputation: can global variation be explained? / D. J. Margolis, W. Jeffcoate // *Med Clin North Am.* - 2013. - №97(5). - P. 791-805.

- 105.** Martin, C. L. DCCT/EDIC Research Group. Neuropathy and related findings in the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study / C. L. Martin, J. W. Albers, R. Pop-Busui // *Diabetes Care*. - 2014. - №37(1). - P. 31–38.
- 106.** Matsunami, T. Enhancement of reactive oxygen species and induction of apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rats under hyperbaric oxygen exposure / T. Matsunami, Y. Sato, Y. Hasegawa [et al.] // *Int J Clin Exp Pathol*. - 2011. - №4(3). - P. 255–266.
- 107.** Matsunami, T. Oxidative stress and gene expression of antioxidant enzymes in the streptozotocin-induced diabetic rats under hyperbaric oxygen exposure / T. Matsunami, Y. Sato, T. Sato [et al.] // *Int J Clin Exp Pathol*. - 2009. - №3(2). - P. 177-88.
- 108.** Melhem, M. F. Alpha-lipoic acid attenuates hyperglycemia and prevents glomerular mesangial matrix expansion in diabetes / M. F. Melhem, P. A. Craven, J. Liachenko [et al.] // *J Am Soc Nephrol*. - 2002. - №13(1). - P. 108–116.
- 109.** Morré, D. M. Surface oxidase and oxidative stress propagation in aging. / D. M. Morré, G. Lenaz, D. J. Morré // *J Exp Biol*. - 2000. - №203(Pt 10). - P. 1513-1521),
- 110.** Mrozikiewicz-Rakowska B. Vitamin B12 in diabetes — a new treatment paradigm? / B. Mrozikiewicz-Rakowska, A. Chylińska, D. Sieńko // *Clinical Diabetology*. -2020. -№9(6). - P. 489–496/
- 111.** Mudau, M. Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis / M. Mudau, A. Genis, A. Lochner [et al.] // *Cardiovasc J Afr*. - 2012. - № 23(4). - P. 222-231.
- 112.** Nagamatsu, M. Lipoic acid improves nerve blood flow, reduces oxidative stress and improves distal nerve conduction in experimental diabetic neuropathy / M. Nagamatsu, K. K. Nickander, J. D. Schmelzer [et al.] // *Diabetes Care*. - 1995. - №8(18). - P. 1160- 1167.
- 113.** Nardin, R. A. Vitamin B (12) and methylmalonic acid levels in patients presenting with polyneuropathy / R. A. Nardin, A. N. Amic, E. M. Raynor // *Muscle Nerve*. 2007. - №36(4). - P. 532–535.
- 114.** Nathan, D.M. DCCT/EDIC Research Group. The diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study at 30 years: overview / D.M. Nathan // *Diabetes Care*. - 2014. -№37(1). - P. 9-16.
- 115.** Nishikawa, T. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycemic damage / T. Nishikawa, D. Edelstein, X. L. Du [et al.] // *Nature*. - 2000. - №404(6779). - P. 787-90.
- 116.** Obeid, R. Mechanisms of homocysteine neurotoxicity in neurodegenerative diseases with special reference to dementia / R. Obeid, W. Herrmann // - 2006. - №580(13): - P. 2994-3005.
- 117.** Okada, K. Methylcobalamin increases Erk1/2 and Akt activities through the methylation cycle and promotes nerve regeneration in a rat sciatic nerve injury model / K. Okada, H. Tanaka, K. Temporin [et al.] // *Exp Neurol*. - 2010. - №222(2). - P. 191–203.

- 118.** Packer, L. Alfa- lipoic acid as a biological antioxidant / L. Packer, E. H. With, H. Tritschler // *Free Radic. Biol. Med.* - 1995; - №19(2). - P. 227-250.
- 119.** Pacher, P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. / P. Pacher, J. S. Beckman, L. Liaudet // *Physiological Rev.* - 2007. - №87(1). - P. 315–424.
- 120.** Paneni, F. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I/ F. Paneni, J. A. Beckman, M. A. Creager [et al.] // *Eur Heart J.* - 2013. - №34(31). - P. 2436–2443.
- 121.** Pavy-Le Traon, A. Cardiovascular autonomic neuropathy and other complications in type 1 diabetes / A. Pavy-Le Traon, S. Fontaine, G. Tap [et al.] // *Clin Auton Res.* - 2010. - №20(3). - P. 153–160.
- 122.** Perła-Kajan, J. Paraoxonase 1 and homocysteine metabolism / J. Perła-Kajan, H. Jakubowski // *Amino Acids.* - 2012; - №43(4). - P. 1405–1417.
- 123.** Poddar, R. Novel crosstalk between ERK MAPK and p38 MAPK leads to homocysteine-NMDA receptor mediated neuronal cell death / R. Poddar, S. Paul // *J. Neurochem.* - 2013. - №124(4). - P. 558–570
- 124.** Poddar, R. Role of AMPA receptors in homocysteine-NMDA receptor-induced crosstalk between ERK and p38 MAPK / R. Poddar, A. Chen, L. Winter [et all.] // *J. Neurochem.* - 2017. - №142(4). - P. 560–573.
- 125.** Pop-Busui, R. Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the American Diabetes Association / R. Pop-Busui, A. J. M. Boulton, E. L. Feldman [et all.] // *Diabetes Care.* - 2017. - №40(1). - P. 136–154.
- 126.** Pop-Busui, R. Diagnosis and Treatment of Painful Diabetic Peripheral Neuropathy. American Diabetes Association / R. Pop-Busui, L. Ang, A. J. M. Boulton // *Nevro.* - 2022. - №1. - P. 1-32.
- 127.** Pushpakumar, S. Endothelial Dysfunction: The Link Between Homocysteine and Hydrogen Sulfide / S. Pushpakumar, S. Kundu, U. Sen // *Curr Med Chem.* - 2014; - №21(32). - P. 3662–3672.
- 128.** Qin, Zh. Extracellular superoxide dismutase (ecSOD) in vascular biology: an update on exogenous gene transfer and endogenous regulators of ecSOD / Zh. Qin, K. J. Reszka, T. Fukai [et al.] // *Transl. Res.* - 2008. - №151(2) - P. 68-78.
- 129.** Radomski, M. W. Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets / M. W. Radomski, R. M. Palmer, S. Moncada // *Br J Pharmacol.* - 1987. - №92(1). - P. 181-187.
- 130.** Ramasamy, R. Aldose reductase and cardiovascular diseases, creating human-like diabetic complications in an experimental model / R. Ramasamy, I. J. Goldberg // *Circ Res.* - 2010. - №106(9). - P. 1449–1458.

- 131.** Reljanovic, M. Treatment of diabetic polyneuropathy with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid): a two year multicenter randomized doubleblind placebo-controlled trial (ALADIN II) / M. Reljanovic, G. Reichel, K. Rett [et al.] // *Free Radic Res.* - 1999. - №31(3). - P. 171-179.
- 132.** Rhee, S. Y. The Role of Advanced Glycation End Products in Diabetic Vascular Complications / S. Y. Rhee, Y. S. Kim // *Diabetes Metab J.* - 2018. - №42(3). - P. 188-195.
- 133.** Romano, C. Videocapillaroscopy in diabetes / C. Romano, M. Costa, M. Messina [et al.] // *Diabetes Research Open Journal.* - 2015. - №1(2). - P. 3-6.
- 134.** Rosa, A. P. Neonatal hyperglycemia induces oxidative stress in the rat brain: the role of pentose phosphate pathway enzymes and NADPH oxidase / A. P. Rosa, C. E. Jacques, L. O. de Souza [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* - 2015. - №403(1-2). - P. 159-167.
- 135.** Rubanyi, G. M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors / G. M. Rubanyi // *J. Cell Biochem.* - 1991. - №46(1). - P. 27-36.
- 136.** Rudy, A. Homocysteine concentrations and vascular complications in patients with type 2 diabetes / A. Rudy, I. Kowalska, M. Strączkowski [et al.] // *Diabetes Metabolism.* - 2005. - №31(2). - P. 112-117.
- 137.** Sadi, G. Changes in expression profiles of antioxidant enzymes in diabetic rat kidneys / G. Sadi, N. Eryilmaz, E. Tütüncüoğlu [et al.] // *Diabetes Metab Res Rev.* - 2012. - №28(3). - P. 228-235.
- 138.** Said, G. Sensory loss, pains, motor deficit and axonal regeneration in length-dependent diabetic polyneuropathy / G. Said, D. Baudoin, K. Toyooka // *J Neurol.* - 2008. - №255(11). - P. 1693-1702.
- 139.** Schreiber, A. K. Diabetic neuropathic pain: Physiopathology and treatment / A. K. Schreiber, C. Nones, R. C. Reis [et al.] // *World J Diabetes.* - 2015. - №6(3). - P. 432-444.
- 140.** Selhub, J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr / J. Selhub* // - 1999. - №19. - P. 217-246.
- 141.** Sena, C. M. Endothelial dysfunction — A major mediator of diabetic vascular disease / C. M. Sena, A. M. Pereira, R. Seiça // *Biochimica Biophysica Acta.* - 2013. - №1832(12). - P. 2216-2231.
- 142.** Sharma, M. Trends in incidence, prevalence and prescribing in type 2 diabetes mellitus between 2000 and 2013 in primary care: a retrospective cohort study/ M. Sharma, I. Nazareth, I. Petersen // *BMJ Open.* - 2016. - №6(1). e010210.
- 143.** Shun, C. T. Skin denervation in type 2 diabetes: correlations with diabetic duration and functional impairments / C. T. Shun, Y. C. Chang, H. P. Wu [et al.] // *Brain.* - 2004. - №127 (Pt 7). - P. 1593-1605.
- 144.** Sinclair, A. Diabetes and global ageing among 65-99-year-old adults: Findings from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. Diabetes research clinical practice / A. Sinclair, P. Saeedi, A. Kaundal // - 2020. - №165. 108078.
- 145.** Singh, N. Preventing foot ulcers in patients with diabetes / N. Singh, D. G. Armstrong, B. A. Lipsky // *JAMA.* - 2005. - №293(2). - P. 217-228.

- 146.** Sobczyńska-Malefora, A. Vitamin B12 status in health and disease: a critical review. Diagnosis of deficiency and insufficiency – clinical and laboratory pitfalls / A. Sobczyńska-Malefora, E. Delvin, A. McCaddon [et al.] // *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* - 2021. - №58(6). - P. 399-429.
- 147.** Srinivasan, S. Diabetic peripheral neuropathy: evidence for apoptosis associated mitochondrial dysfunction. *Diabetes* / S. Srinivasan, M. Stevens, J. W. Wiley // - 2000. - №49(11). - P. 1932–1938.
- 148.** Stanger, O. DACH-LIGA homocystein (german, austrian and swiss homocysteine society): Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: guidelines and recommendations / O. Stanger, W. Herrmann, K. Pietrzik [et al.] // *Clin Chem Lab Med.* - 2003. - №41(11). - P. 1392-1403.
- 149.** Stankevicius, E. [Role of nitric oxide and other endothelium-derived factors] / E. Stankevicius, E. Kevelaitis, E. Vainorius [et al.] // *Medicina.* - 2003. - №39(4). - P. 333-334.
- 150.** Stevens, M. J. Effect of DL-alpha-lipoic acid on peripheral nerve conduction, blood flow, energy metabolism and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes* / M. J. Stevens, I. Obrosova, X. Cao [et al.] // - 2000. - №49(6). - P. 1006–1015.
- 151.** Stracke, H. A benfotiamine — vitamin B combination in the treatment of diabetic polyneuropathy / H. Stracke, A. Lindemann, K. Federlin // *Exp Clin Endocrin Metabol.* - 1996. - №104(4). - P. 311 – 316.
- 152.** Stracke, H. Benfotiamine in diabetic polyneuropathy (BENDIP): results of a randomised, double blind, placebo-controlled clinical study / H. Stracke, W. Gaus, U. Achenbach [et al.] // *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* - 2008. - №116(10). - P. 600-605.
- 153.** Strijdom, H. Cardiac endothelium: More than just a barrier / H. Strijdom, A. Lochner // *SA Heart.* - 2017. - №6(3). - P. 174–185.
- 154.** Strijdom, H. Endothelial dysfunction: are we ready to heed the vasculature's early-warning signal? / H. Strijdom // *Cardiovasc J Afr.* - 2012 - №23(4). - P. 184-185.
- 155.** Sun, Y. Effectiveness of vitamin B12 on diabetic neuropathy: systematic review of clinical controlled trials / Y. Sun, M. S. Lai, C. J. Lu // *Acta Neurol Taiwan.* - 2005. - №14(2). - P. 48-54.
- 156.** Tafaei A. Vitamin B12 may more effective than nortriptyline in improving painful diabetic neuropathy / A. Tafaei, M. Siavash, H. Majidi [et al.] // *Int J Food Sci Nutr.* - 2009. - №60(Suppl 5). - P. 71–76.
- 157.** Tangvarasittichai, S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus / S. Tangvarasittichai // *World J Diabetes.* - 2015. - №6(3). - P. 456-80.
- 158.** Tang, W. H. Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus / W. H. Tang, K. A. Martin, J. Hwa // *Front Pharmacol.* - 2012. - №3. - P. 87.

- 159.** Tesfaye, S. EURODIAB Prospective Complications Study Group. Vascular risk factors and diabetic neuropathy / S. Tesfaye, N. Chaturvedi, S. E. Eaton [et al.] // *N Engl J Med.* - 2005. - №352(4). - P. 341–350.
- 160.** Thornalley, P. J. Glycation in diabetic neuropathy: characteristics, consequences, causes, and therapeutic options / P. J. Thornalley // *Int Rev Neurobiol.* - 2002. - №50. - P. 37–57.
- 161.** Thornalley, P. J. The potential role of thiamine (vitamin B1) in diabetic complications / P. J. Thornalley // *Curr Diabetes Rev.* - 2005. 1(3). - P. 287 – 298.
- 162.** Tyagi, N. Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stress / N. Tyagi, K. C. Sedoris, M. Steed [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physio.* - 2005. - № 289(6). - P. 2649-2656.
- 163.** UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34) / UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group // *Lancet.* - 1998. - №352(9131). - P. 854–865.
- 164.** Veber, D. Increased levels of the CD40:CD40 ligand dyad in the cerebrospinal fluid of rats with vitamin B12 (cobalamin)-deficient central neuropathy/ D. Veber, E. Mutti E. Galmozzi [et al.] // *J Neuroimmunol.* - 2006. - №176 (1–2). - P. 24–33.
- 165.** Wakeman, M. Metformin and Micronutrient Status in Type 2 Diabetes: Does Polypharmacy Involving Acid-Suppressing Medications Affect Vitamin B12 Levels? / M. Wakeman, D. T. Archer // *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obes.* - 2020. - №13. - P. 2093-2108.
- 166.** Wang, H. Association between plasma homocysteine and progression of early nephropathy in type 2 diabetic patients / H. Wang, K. Cui, K. Xu [et al.] // *Int J Clin Exp Med.* - 2015. - №8(7). - P. 11174-11180.
- 167.** Weinstein, S. Fifty years of somatosensory research: from the Semmes-Weinstein monofilaments to the Weinstein Enhanced Sensory Test / S. Weinstein // *J Hand Ther.* - 1993. - №6(1). - P. 11-22.
- 168.** Weiss, N. Overexpression of cellular glutathione peroxidase rescues homocyst(e)ine-induced endothelial dysfunction/ N. Weiss, Y.Y. Zhang, S. Heydrick [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* - 2001. - №98(22). - P. 12503–12508.
- 169.** Wenjia, Y. Associations between metformin use and vitamin B12 levels, anemia, and neuropathy in patients with diabetes: a meta-analysis / W. Yang, X. Cai, H. Wu [et al.] // *J. Diabetes.* - 2019. - №11(9). - P. 729–743.
- 170.** Widmer, R. J. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease / R. J. Widmer, A. Lerman // *Glob Cardiol Sci Pract.* - 2014. - №2014(3). - P. 291-308.
- 171.** Wiggin, T. D. Elevated triglycerides correlate with progression of diabetic neuropathy / T. D. Wiggin, K. A. Sullivan, R. Pop-Busui [et al.] // *Diabetes.* - 2009. - №58(7). - P. 1634–1640.

- 172.** Wile, D. J. Association of metformin, elevated homocysteine, and methylmalonic acid levels and clinically worsened diabetic peripheral neuropathy / D. J. Wile, C. Toth // *Diabetes Care*. - 2010. - №33(1). - P. 156–161.
- 173.** Wolff, S. P. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing / S. P. Wolff, Z. Y. Jiang, J. V. Hunt // *Free Radic Biol Med*. - 1991. - №10. - P. 339–352.
- 174.** Xu, Q. Meta-analysis of methylcobalamin alone and in combination with lipoic acid in patients with diabetic peripheral neuropathy / Q. Xu, J. Pan, J. Yu [et al.] // *Diabetes Res Clin Pract*. - 2013. - №101(2). - P. 99-105.
- 175.** Yagihashi, S. Mechanism of diabetic neuropathy: Where are we now and where to go? / S. Yagihashi, H. Mizukami, K. Sugimoto // *J Diabetes Investig*. - 2011. - №2(1). - P. 30.
- 176.** Yamagishi, S. Role of advanced glycation end products (AGEs) and receptor for AGEs (RAGE) in vascular damage in diabetes / S. Yamagishi // *Exp Gerontol*. - 2011. - №46(4). - P. 217-24.
- 177.** Zalaket, J. Vitamin B12 deficiency in diabetic subjects taking metformin: A cross sectional study in a Lebanese cohort / J. Zalaket, T. Wehbe, E. Jaoude // *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*. - 2018. - №11. - P. 9-13.
- 178.** Zhang, Y. F. Mecobalamin / Y. F. Zhang, G. Ning // *Expert Opin Investig Drugs*. - 2008. - №17(6). - P. 953–964.
- 179.** Ziegler, D. Alpha-Lipoic acid in the treatment of diabetic polyneuropathy in Germany: current evidence from clinical trials / D. Ziegler, M. Reljanovic, H. Mehnert [et al.] // *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. - 1999. - №107(7). - P. 421–430.
- 180.** Ziegler, D. Diabetic neuropathy. / D. Ziegler, J. Keller, C. Maier [et al.] // *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2021;129(Suppl. 1):S70–S81
- 181.** Ziegler, D. Oral treatment with alpha-lipoic acid improves symptomatic diabetic polyneuropathy. The SYDNEY 2 trial / D. Ziegler, A. Ametov, A. Barinov [et al.] // *Diabetes Care*. - 2006. - №29(11). - P. 2365–2370.
- 182.** Ziegler, D. Thioctic acid for patients with symptomatic diabetic polyneuropathy: a critical review / D. Ziegler // *Treat Endocrinol*. - 2004. - №3(3). - P. 173–189.
- 183.** Ziegler, D. Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid. A 3-week multicentre randomized controlled trial (ALADIN Study) / D. Ziegler, M. Hanefeld, K. J. Ruhnau [et al.] // *Diabetologia*. - 1995. - №38. - P. 1425-1433).
- 184.** Ziegler, D. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with antioxidant  $\alpha$ -lipoic acid: a meta-analysis / D. Ziegler, H. Nowak, P. Kempler [et al.] // *Diabet Med*. - 2004. - №21. - P. 114-121.
- 185.** Zychowska, M. Mechanisms and pharmacology of diabetic neuropathy - experimental and clinical studies / M. Zychowska, E. Rojewska, B. Przewlocka [et al.] // *Pharmacol Rep*. - 2013. 65(6). - P. 1601-1610.