

DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2020-3-16-18>  
УДК 617.713

## Диагностика диабетической полинейропатии на основе исследования нервных волокон роговицы

С.Э. Аветисов<sup>1,2</sup>, Н.А. Черненкова<sup>1</sup>, З.В. Сурнина<sup>1</sup>, Л.Т. Ахмеджанова<sup>2</sup>,  
А.С. Фокина<sup>2</sup>, И.А. Строков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ глазных болезней», Москва,

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва

### РЕФЕРАТ

Особенностью метода лазерной конфокальной микроскопии (КМП) является возможность прижизненной неинвазивной визуализации тонких нервных волокон роговицы (НВР).

**Цель.** Провести сравнительный анализ результатов данных лазерной конфокальной микроскопии и известных неврологических инструментальных методик (электронейромиографии, количественного сенсорного тестирования); оценить возможности автоматизированного алгоритма анализа НВР в ранней диагностике диабетической полинейропатии (ДПН).

**Материал и методы.** Были обследованы 46 пациентов (85 глаз) с СД 1-го типа, где 24 пациента с субклинической, 22 – с клинической стадией ДПН; 50 пациентов (87 глаз) с СД 2-го типа, где 27 пациентов имели субклиническую, 23 – клиническую стадию ДПН; контрольную группу составили 34 здоровых добровольца (68 глаз). Всем пациентам проводились стандартные офтальмологические методы обследования, лазерная конфокальная микроскопия с оценкой извитости нервов (вычисление коэффициентов анизотропии,  $K_{\Delta L}$  и симметричности направленности нервов,  $K_{sym}$ ) и межочулярной асимметрии, электронейромиография (ЭНМГ), количественное сенсорное тестирование (КСТ).

**Результаты.** При СД 1-го типа и субклинической стадии ДПН выявлены достоверные корреляции коэффициента анизотропии ( $K_{\Delta L}$ ) с показателями амплитуды М-ответа, РЛ и СРВ малоберцового нерва ( $r=0,486$ ,  $p\leq 0,03$ ;  $r=-0,469$ ,  $p\leq 0,03$ ;  $r=0,649$ ,  $p\leq 0,002$ , соответственно), М-ответа большеберцового нерва ( $r=0,497$ ,  $p\leq 0,02$ ); коэффициента симметричности ( $K_{sym}$ ) – со значениями амплитуды М-ответа ( $r=0,622$ ,  $p\leq 0,03$ ), СРВ икроножного нерва ( $r=0,482$ ,  $p\leq 0,03$ ). Значения  $K_{sym}$  коррелировали с показателями тепловой и холодной чувствительности по данным КСТ ( $r=-0,678$ ,  $p\leq 0,001$ ;  $r=-0,475$ ,  $p\leq 0,034$ ). При СД 2-го типа и субклинической ДПН достоверные корреляционные зависимости наблюдались между коэффициентом анизотропии ( $K_{\Delta L}$ ) и РЛ малоберцового нерва ( $r=0,51$ ,  $p\leq 0,03$ ), М – ответом большеберцового нерва ( $r=0,524$ ,  $p\leq 0,025$ ); корреляции коэффициента симметричности ( $K_{sym}$ ) с показателем С-ответа икроножного нерва ( $r=0,647$ ,  $p\leq 0,004$ ) и порогом восприятия холода ( $r=-0,561$ ,  $p\leq 0,015$ ).

**Заключение.** Данные лазерной КМП коррелирует с ЭНМГ – / КСТ – параметрами периферических нервов. Метод лазерной КМП может помочь выявить изменения нервных волокон на ранней (субклинической) стадии ДПН.

**Ключевые слова:** лазерная конфокальная микроскопия, коэффициенты анизотропии, симметричности направленности нервов роговицы, сахарный диабет, диабетическая полинейропатия. ■

Точка зрения. Восток – Запад. 2020;3:16–18.

### ABSTRACT

#### Possibilities of early diagnosis of diabetic polyneuropathy based on the study of corneal nerve fibers

S.E. Avetisov<sup>1,2</sup>, N.A. Chernenkova<sup>1</sup>, Z.V. Surnina<sup>1</sup>, L.T. Akhmedzhanova<sup>2</sup>, A.S. Fokina<sup>2</sup>, I.A. Strokov<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Federal State Scientific Institution Research Institute of Eye Diseases, Moscow

<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

A feature of the method of laser confocal microscopy (CCM) is the possibility of in vivo non-invasive imaging of the thin corneal nerve fibers (CNF).

**Purpose.** To conduct a comparative analysis of the results of laser confocal microscopy and known neurological instrumental techniques (electronemyography, quantitative sensory testing); to evaluate the capabilities of the automated algorithm for the analysis of corneal nerves in the early diagnosis of DPN.

**Material and methods.** We examined 46 patients (85 eyes) with type 1 diabetes, where 24 patients with subclinical, 22 with the clinical stage of DPN, 50 patients (87 eyes) with type 2 diabetes, where 27 patients had subclinical, 23 clinical stage DPN, the control group consisted of 34 healthy volunteers (68 eyes). All patients underwent standard ophthalmic examination methods, laser confocal microscopy with nerve tortuosity assessment (calculation of anisotropy coefficients,  $K_{\Delta L}$  and nerve orientation symmetry,  $K_{sym}$ ) and interocular asymmetry, electronemyography (ENMG), quantitative sensory testing.

**Results.** Reliable correlations of the anisotropy coefficient ( $K_{\Delta L}$ ) with the parameters of the amplitude of the M-response, RL and SRV of the peroneal

nerve ( $r=0,486$ ,  $p\leq 0,03$ ;  $r=-0,469$ ,  $p\leq 0,03$ , respectively), M-response of the tibial nerve ( $r=0,497$ ,  $p\leq 0,02$ ); symmetry coefficient ( $K_{sym}$ ) – with the values of the amplitude of the M-response ( $r=0,622$ ,  $p\leq 0,03$ ), SRV of the calf nerve ( $r=0,482$ ,  $p\leq 0,03$ ).  $K_{sym}$  values correlated with the indices of thermal and cold sensitivity according to KST ( $r=-0,678$ ,  $p\leq 0,001$ ;  $r=-0,475$ ,  $p\leq 0,034$ ). In type 2 diabetes mellitus and subclinical DPN, significant correlation dependencies were observed between the anisotropy coefficient ( $K_{\Delta L}$ ) and the radial fibrous nerve ( $r=0,51$ ,  $p\leq 0,03$ ), and M was the response of the tibial nerve ( $r=0,524$ ,  $p\leq 0,025$ ); correlation of the symmetry coefficient ( $K_{sym}$ ) with the C-response index of the gastrocnemius nerve ( $r=0,647$ ,  $p\leq 0,004$ ) and the threshold for cold perception ( $r=-0,561$ ,  $p\leq 0,015$ ).

**Conclusion.** Laser confocal microscopy data correlates with ENMG – / CTF – parameters of peripheral nerves. Laser confocal microscopy can help detect changes in nerve fibers in the early (subclinical) stage of DPN.

**Key words:** laser confocal microscopy, anisotropy coefficients, symmetry of the orientation of the corneal nerves, diabetes mellitus, diabetic polyneuropathy. ■

Point of View. East – West. 2020;3:16–18.

На сегодняшний день современный алгоритм функциональной диагностики диабетической полинейропатии (ДПН) представлен рядом неврологических методик, включающих оценку чувствительных, двигательных, вегетативных симптомов, проведение электронейромиографического исследования, количественного сенсорного тестирования, кардиоваскулярных тестов для диагностики кардиальной автономной невропатии [1-3].

Прижизненная неинвазивная оценка потенциальных структурных изменений тонких нервных волокон роговицы (НВР) при ДПН стала возможной благодаря внедрению в клиническую практику метода лазерной конфокальной микроскопии роговицы (КМР). Анализ состояния НВР с помощью КМР наиболее близок к морфометрическому и сопоставим с результатами, полученными в ходе исследования интраэпидермальной плотности нервных волокон кожи (панч-биопсия) [4]. При этом метод лазерной КМР обладает некоторыми преимуществами: быстрой и исследуемой, воспроизводимостью, адекватной психологической восприимчивостью пациентами и неинвазивностью. Также исследователи отмечают высокую чувствительность (91%) и специфичность (93%) КМР в диагностике периферической ДПН и кардиальной автономной невропатии [5, 6].

Достоверные корреляции были получены между изменениями длины, плотности НВР и их ветвей и результатами автономных тестов у пациентов с СД 1-го типа [7]. Уменьшение длины и плотности нервов роговицы у пациентов с СД 2-го типа выявлено в другой работе, однако достоверных корреляционных взаимодействий между состоянием НВР и интраэпидермальных нервов в исследуемых группах не получено. Авторы связывают неоднородность невропатических изменений тонких нервных волокон в различных органах и тканях организма особенностями патофизиологических механизмов [8].

Таким образом, сложность диагностики ДПН ставит перед исследователями задачу поиска новых и усовершенствование существующих методик, направленных на выявление ранних признаков ДПН. Разработ-

ка автоматизированных алгоритмов объективной количественной оценки нервных волокон по данным КМР исключает необходимость «ручного» выделения волокон на конфокальном изображении, позволяя минимизировать ошибки при анализе данных КМР. Для количественной характеристики НВР наиболее часто используют следующие параметры: длина, плотность волокон и их ветвей [9]. В единичных зарубежных исследованиях в качестве характеристики структурных изменений нервного волокна авторы предлагают оценивать плотность и размер гранулярных структур НВР (Beading frequency, BF; number/0.1 mm; bead size, BS;  $\mu\text{m}^2$ ) [10]. В других работах авторы используют коэффициенты анизотропии и симметричности направленности НВР, характеризующих направление хода и особенности структуры нервного волокна [11-13].

## ЦЕЛЬ

Провести сравнительный анализ результатов данных лазерной конфокальной микроскопии роговицы и известных неврологических инструментальных методик (электронейромиографии, количественного сенсорного тестирования), оценить возможности автоматизированного алгоритма анализа нервных волокон роговицы в ранней диагностике диабетической полинейропатии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Две основные группы исследования составили 46 пациентов (85 глаз) с СД 1-го типа (группа 1) и 50 пациентов (87 глаз) с СД 2-го типа (группа 2). Контрольная группа состояла из 34 здоровых добровольцев (68 глаз) без нарушений углеводного обмена.

Всем исследуемым было проведено стандартное офтальмологическое обследование: рефрактометрия, визометрия, пневмотонометрия, периметрия, биомикроскопия переднего отрезка глаза, офтальмоскопия глазного дна. Для визуализации НВР использовали лазерную КМР (HRT III с роговичной насадкой Rostock Cornea). Полученные конфокальные изображения обрабатывали с помощью авторского про-

граммного обеспечения Liner 1.2 S с автоматизированным вычислением характеристик извитости НВР – коэффициентов анизотропии ( $K_{\text{ан}}$ ) и симметричности ( $K_{\text{сим}}$ ) направленности нервов роговицы [11-13].

С помощью общепринятых неврологических шкал TSS (Total Symptom Score, общая оценка симптомов невропатии), NSS (Neurological Symptoms Score, оценка неврологических симптомов), NDS (Neuropathy Disability Score, шкала невропатического дисфункционального счета) количественно регистрировали симптомы и признаки ДПН, проводили стандартное неврологическое обследование с оценкой порога вибрационной, болевой, температурной чувствительности.

Специализированная инструментальная диагностика была представлена методами стимуляционной электронейромиографии (ЭНМГ) нижних конечностей на электромиографе фирмы MBN (Россия) с оценкой функции сенсорных и моторных нервов и определением показателей скорости распространения возбуждения (СРВ), амплитуды М-ответов моторных нервов, резидуальной латентности (РЛ), амплитуды и СРВ сенсорных нервов.

Метод количественного сенсорного тестирования (КТ) на аппарате TSA II (Termo-Sensory Analyzer) позволил оценить функциональное состояние тонких волокон А-дельта, С-волокон нижних конечностей, ответственных за проведение температурной чувствительности. Нормальные средние значения порога восприятия холода составили 26,8–32,0°С, порога восприятия тепла –32,0–41,8°С. Лабораторная диагностика включала определение уровня гликозилированного гемоглобина (HbA1c, %).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы PASW Statistics 22. Корреляционный анализ проводился с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Уровень значимости (р) корреляции принимали равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В соответствии с общепринятой классификацией ДПН (Dyck P. B. et al, 1999) в группе 1 (СД 1-го типа) у

24 пациентов диагностирована субклиническая (N1a-b), а у 22 больных – клиническая (N2a-b) стадия ДПН. В группе 2 (СД 2-го типа) субклиническая и клиническая стадии ДПН определены соответственно у 27 и 23 пациентов.

По данным лазерной КМР выявлено достоверное уменьшение средних значений коэффициента анизотропии направленности ( $K_{\Delta}$ ) во всех группах пациентов с СД по сравнению с группой контроля. При этом изменения коэффициента симметричности направленности ( $K_{Sym}$ ) оказались менее выражены. Снижение числовых значений коэффициента анизотропии направленности ( $K_{\Delta}$ ), свидетельствующее об изменении структуры НВР в виде увеличения извитости, отмечено уже на стадии субклинической ДПН при СД 1-го и 2-го типа.

При анализе показателей гликозилированного гемоглобина (HbA1c) отмечен более высокий уровень HbA1c при СД 1-го и 2-го типа по сравнению с контрольной группой с тенденцией к его увеличению на стадии клинической ДПН. Достоверная корреляционная связь между показателем гликозилированного гемоглобина (HbA1c) и значением коэффициента направленности НВР: анизотропия ( $r=0,52$ ,  $p\leq 0,026$ ) выявлена только в группе пациентов с СД 2-го типа и в субклинической стадии ДПН.

С помощью лазерной КМР патологические изменения НВР были обнаружены во всех случаях СД 1-го типа и в 81% – при СД 2-го типа. При этом изменения электрофизиологических характеристик периферических нервов по данным ЭНМГ (снижение СРВ малоберцового и большеберцового нервов, увеличение РЛ) наблюдались в 7 случаях (29%). Согласно данным КСТ у 6 пациентов (25%) зарегистрированы пограничные значения порогов температурной чувствительности.

В группе пациентов с СД 1-го типа и в субклинической стадии ДПН получены достоверные корреляции коэффициента анизотропии ( $K_{\Delta}$ ) и следующими ЭНМГ-параметрами: с показателями амплитуды М-ответа, РЛ и СРВ малоберцового нерва ( $r=0,486$ ,  $p\leq 0,03$ ;  $r=-0,469$ ,  $p\leq 0,03$ ;  $r=0,649$ ,  $p\leq 0,002$ , соответственно), М-ответа большеберцового нерва ( $r=0,497$ ,  $p\leq 0,02$ ). Также выявлены корреляции коэффициента симме-

тричности ( $K_{Sym}$ ) со значениями амплитуды М-ответа ( $r=0,622$ ,  $p\leq 0,03$ ), СРВ икроножного нерва ( $r=0,482$ ,  $p\leq 0,03$ ). В этой же группе значения  $K_{Sym}$  коррелировали с показателями тепловой и холодовой чувствительности по данным КСТ ( $r=-0,678$ ,  $p\leq 0,001$ ;  $r=-0,475$ ,  $p\leq 0,034$ ).

В группе пациентов с СД 2-го типа и субклинической ДПН результаты были менее однородными: выявлены достоверные корреляционные зависимости между коэффициентом анизотропии ( $K_{\Delta}$ ) и РЛ малоберцового нерва ( $r=0,510$ ,  $p\leq 0,03$ ), М-ответом большеберцового нерва ( $r=0,524$ ,  $p\leq 0,025$ ). Отмечены корреляции значений коэффициента симметричности ( $K_{Sym}$ ) с показателем С-ответа икроножного нерва ( $r=0,647$ ,  $p\leq 0,004$ ) и порогом восприятия холода ( $r=-0,561$ ,  $p\leq 0,015$ ).

Полученные данные корреляционного анализа позволяют сделать вывод об информативности диагностики субклинических форм ДПН с помощью анализа извитости НВР методом лазерной КМР. В пользу диагностической значимости данной методики также свидетельствует более высокий уровень выявляемости изменений в структуре НВР по сравнению с результатами общепринятых неврологических методов диагностики оценки состояния периферических нервов (ЭНМГ, КСТ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В отличие от инвазивных и имеющих определенные противопоказания методов диагностики ДПН (биопсия кожи или нерва), лазерная КМР позволяет быстро и неинвазивно визуализировать и оценивать состояние нервных волокон. В настоящем исследовании предлагается использовать автоматизированную количественную оценку извитости нервного волокна, которая в отличие от ранее предложенной характеристики извитости (англ. CNF tortuosity – CNFT, общая абсолютная кривизна нервного волокна), оказалась информативной уже на стадии субклинической ДПН. Таким образом, метод лазерной КМР может быть рекомендован для ранней диагностики неврологических изменений у пациентов с СД 1-го и 2-го типа.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Eichholz M, Alexander AH, Cappelleri JC et al. Perspectives on the impact of painful diabetic peripheral neuropathy in a multicultural population. Clin. Diabetes Endocrinol. 2017;3:12.
2. Thomas PK. Classification, differential diagnosis, and staging of diabetic peripheral neuropathy. Diabetes. 1997;46(2):54-57.
3. Petropoulos IN, Ponirakis G, Khan A. Diagnosing Diabetic Neuropathy: Something Old, Something New. Diabetes Metab. J. 2018;42:255-269.
4. Alam U, Jeziorska M, Petropoulos IN et al. Diagnostic utility of corneal confocal microscopy and intra-epidermal nerve fibre density in diabetic neuropathy. PLoS One. 2017;12:e0180175.
5. Tavakoli M, Begum P, McLaughlin J, Malik RA. Corneal confocal microscopy for the diagnosis of diabetic autonomic neuropathy. Muscle Nerve. 2015;52:363-370.
6. Maddaloni E, Sabatino F, Del Toro R et al. In vivo corneal confocal microscopy as a novel non-invasive tool to investigate cardiac autonomic neuropathy in type 1 diabetes. Diabet. Med. 2015;32:262-266.
7. Sivaskandarajah GA, Halpern EM et al. Structure-function relationship between corneal nerves and conventional small-fiber tests in type 1 diabetes. Diabetes Care. 2013;36(9):2748-2755.
8. Ziegler D, Papanas N, Zhivov A et al. Early detection of nerve fiber loss by corneal confocal microscopy and skin biopsy in recently diagnosed type 2 diabetes. Diabetes. 2014;63(7):2454-2463.
9. Li Q, Zhong Y, Zhang T et al. Quantitative analysis of corneal nerve fibers in type 2 diabetics with and without diabetic peripheral neuropathy: comparison of manual and automated assessments. Diabetes Research and Clinical Practice. 2019;151:33-36.
10. Fukashi Ishibashi et al. The Expanded Bead Size of Corneal C-Nerve Fibers Visualized by Corneal Confocal Microscopy Is Associated with Slow Conduction Velocity of the Peripheral Nerves in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. Journal of Diabetes Research. 2016;36:534-559.
11. Аветисов С.Э., Новиков И.А., Махотин С.С., Сурнина З.В. Новый принцип морфометрического исследования нервных волокон роговицы на основе конфокальной биомикроскопии при сахарном диабете. Вестник офтальмологии. 2015;131(4):5-11.
12. Аветисов С.Э., Новиков И.А., Махотин С.С., Сурнина З.В. Вычисление коэффициентов анизотропии и симметричности направленности нервов роговицы на основе автоматизированного распознавания цифровых конфокальных изображений. Медицинская техника. 2015;49(3):23-25.
13. Аветисов С.Э., Черненкова Н.А., Сурнина З.В., Фокина А.С. Автоматизированный морфометрический анализ состояния нервов роговицы на основе метода конфокальной микроскопии в диагностике диабетической полинейропатии (предварительное сообщение). Научно-практический журнал «Точка зрения. Восток-Запад». 2019;1:9-11.