



## **МОЖЕТ ЛИ КОНФОКАЛЬНАЯ МИКРОСКОПИЯ РОГОВИЦЫ ОЦЕНИТЬ ПОВРЕЖДЕНИЕ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН У ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ПОЛИНЕЙРОПАТИЕЙ?**

© *М. И. Красавина<sup>1</sup>, Ю. С. Астахов<sup>2</sup>, Ф. Е. Шадричев<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова»

<sup>2</sup> Кафедра офтальмологии с клиникой СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский территориальный диабетологический центр

✧ Ранняя диагностика диабетической полинейропатии, являющейся одним из самых частых осложнений сахарного диабета, в настоящее время представляет значительные сложности. Конфокальная микроскопия роговицы позволяет визуализировать повреждение нервных волокон у пациентов с диабетической полинейропатией, поскольку в роговице плотность нервных окончаний самая высокая в человеческом организме. С помощью этой методики можно выявить самые ранние признаки диабетической полинейропатии. В ряде исследований показана корреляция между повреждением периферических и роговичных нервов у пациентов с диабетом. Конфокальная микроскопия роговицы может стать альтернативой существующим инвазивным методам исследования.

✧ *Ключевые слова:* конфокальная микроскопия роговицы; диабетическая полинейропатия; малые нервные волокна; нервные волокна роговицы.

Диабетическая полинейропатия (ДПН) является одним из самых частых осложнений сахарного диабета, приводящим к целому ряду состояний, способствующих снижению работоспособности, качества жизни и наносящих существенный вред здоровью пациента. Важное значение имеет то, что только 10–20 % пациентов имеют болевую симптоматику, а до 50 % пациентов имеют бессимптомную форму, что осложняет своевременную диагностику и назначение терапии [32, 33, 49]. Учитывая тот факт, что ДПН лежит в основе 50–75 % всех нетравматичных ампутаций, эффективные способы раннего выявления и лечения полинейропатии имеют важное медицинское, социальное и экономическое значение. К сожалению, не существует «золотого стандарта» для выявления нейропатических нарушений при сахарном диабете. Основными методами диагностики ДПН являются: выявление клинических симптомов, проведение электрофизиологических исследований и количественных сенсорных тестов. Эти методы используются для выявления и определения степени тяжести нейропатии, но они имеют определённые ограничения [9]. С помощью перечисленных методик довольно сложно выявить повреждение нервных волокон на ранних стадиях, а также оценить эффективность терапии. И лишь такие методы, как биопсия икроножного нерва и

кожная биопсия позволяют с точностью выявить повреждение нервных волокон и их восстановление на фоне проводимой терапии. Однако, обе методики являются инвазивными процедурами, а оценка эффективности лечения в клинических исследованиях требует повторных исследований.

На данный момент не существует методов лечения ДПН, эффективность которых была бы доказана. Многочисленные исследования, изучающие возможности различных препаратов (ингибиторов альдозоредуктазы, рекомбинатного фактора роста нервов) в лечении ДПН потерпели неудачу. Но, возможно, это связано с тем, что конечными точками в этих исследованиях являлись параметры и признаки, оцениваемые с помощью электрофизиологических исследований, неврологического обследования, результаты которых крайне вариабельны, и не могут показать повреждение и восстановление нервных волокон на ранних стадиях. Поэтому, разработка, изучение и внедрение новых неинвазивных методов ранней диагностики диабетической полинейропатии имеет важное клиническое значение. В последние годы в литературе появились данные о том, что с указанной целью может применяться конфокальная микроскопия роговицы. Это быстрый, неинвазивный метод оценки структуры роговицы, который позволяет оценить степень повреж-

дения роговичных нервов, что по некоторым данным коррелирует с состоянием периферических нервов [22].

Данные по распространённости ДПН широко варьируют. Большинство исследователей считают, что истинная распространённость ДПН в целом среди больных сахарным диабетом составляет около 30–34 % [12,23]. В настоящее время признано, что частота развития ДПН связана с длительностью диабета, уровнем HbA<sub>1c</sub>, дислипидемией, высоким индексом массы тела, альбуминурией, гипертензией и курением [13, 44].

Ключевую роль в патогенезе ДПН, как показало масштабное клиническое исследование DCST, играет хроническая гипергликемия [7]. Именно с ней связаны все основные биохимические нарушения, которые в конечном итоге приводят к демиелинизации и дегенерации нервных волокон. Основными механизмами, играющими роль в патогенезе диабетической нейропатии, являются увеличение активности полиолового пути обмена глюкозы и накопление сорбитола, активация протеинкиназы C, накопление конечных продуктов неферментативного гликозилирования в нервных клетках, оксидативный стресс, активация свободнорадикального окисления [20, 37].

Помимо метаболических нарушений в патогенезе ДПН играет роль сосудистый компонент, характеризующийся эндотелиальной дисфункцией, при которой повышается проницаемость сосудистой стенки, появляется отёк и гипоксия нерва. Все перечисленные патологические механизмы в конечном итоге приводят к сегментарной демиелинизации и аксональной дегенерации, и, как следствие, замедлению проведения нервного импульса, что, как известно, является основной функцией нервного волокна [4].

Выделяют несколько типов нервных волокон. В зависимости от размера они делятся на толстые и тонкие (малые). Кроме того, нервные волокна отличаются степенью миелинизации и характеристикой проводимых импульсов. Толстые нервные волокна достаточно сильно миелинизированы, к ним относятся A $\alpha$  и A $\beta$  волокна, которые ответственны за передачу вибрационной и тактильной чувствительности. Волокна среднего размера, известные как A $\gamma$ , также миелинизированы и иннервируют мышечные волокна. Малые нервные волокна включают миелинизированные A $\delta$  и немиелинизированные C волокна, которые иннервируют кожу и обеспечивают болевую и температурную чувствительность [43].

По данным исследований, которые проводились у пациентов с диабетом, имеющих мини-

мальные проявления нейропатии, именно тонкие нервные волокна самыми первыми подвергались повреждению и, впоследствии, восстановлению в процессе лечения [22, 26, 34]. Поэтому для ранней диагностики диабетической полинейропатии важны методы, позволяющие выявить повреждение именно тонких волокон.

Основными методами диагностики диабетической полинейропатии являются оценка неврологических симптомов с помощью различных шкал и опросников (MNSI, NDS) количественные сенсорные тесты, электрофизиологические исследования [9]. Большинство из перечисленных исследований позволяют выявить нарушение только толстых нервных волокон. К методам, позволяющим оценить повреждение малых нервных волокон, относятся определение порога болевой и температурной чувствительности, а также биопсия икроножного нерва и биопсия кожи [31, 43, 50]. Несмотря на целый ряд положительных характеристик, количественные сенсорные тесты, определяющие порог болевой и температурной чувствительности имеют ряд ограничений, так как являются субъективным методом оценки, зависящим от внимания пациента, его мотивации и готовности к сотрудничеству, от антропометрических переменных (возраста, пола, массы тела, наличия в анамнезе курения и употребления алкоголя) [15]. По данным исследований, чувствительность данного метода в ранней диагностике ДПН значительно уступает инвазивным методам [7].

Биопсия кожи позволяет визуализировать внутриэпидермальные нервные волокна, которые являются малыми нервными волокнами. Этот метод позволяет с точностью оценить повреждение нервных волокон на ранних стадиях, когда другие методы ещё не выявляют изменений. Биопсия кожи имеет наибольшую чувствительность и специфичность в диагностике нейропатии малых волокон по сравнению с другими исследованиями [7]. Несмотря на явные преимущества у этой методики есть и определённые минусы. Во первых, это инвазивное исследование, что ограничивает его применение в клинических исследованиях, где требуется довольно часто повторять диагностическую методику. Во вторых, для того чтобы оценить интраэпидермальные нервные волокна, необходимы специальные среды для хранения и транспортировки биоматериала, а также определённые лабораторные условия, что является недоступным для многих медицинских учреждений [16].

В диагностике повреждения малых нервных волокон также может применяться биопсия икроножного нерва. Этот метод является инвазивным

и может приводить к целому ряду осложнений, поэтому на протяжении многих лет используется в основном в рамках клинических исследований, либо в сложных ситуациях при неизвестном генезе нейропатии или атипично протекающей диабетической нейропатии [45].

В роговице плотность нервных окончаний самая высокая в человеческом организме. Если сравнить её с кожей, то можно отметить, что на 1 кв. мм кожи содержится около 200 нервных окончаний, например, болевых рецепторов, а в роговице их свыше 7000 [28,30]. При этом для исследования роговицы не требуется забор образцов, она доступна для визуального осмотра.

Конфокальная микроскопия роговицы относительно новый метод диагностики в офтальмологии. Она позволяет проводить прижизненное микроскопическое исследование всех слоев роговицы, включая роговичный эпителий, Боуменову мембрану, строму, Десцеметову оболочку и эндотелий. С помощью конфокальной микроскопии роговицы можно измерить толщину каждого из её слоев, оценить количество, форму, размер клеток эпителия, стромы, эндотелия роговицы, степень десквамации эпителиальных клеток при воздействии контактных линз и хирургических вмешательств, а также оценить роговичные нервы [1, 18].

Конфокальная микроскопия — это принципиально новое направление в световой микроскопии. Одним из недостатков обычного светового микроскопа и созданной на его основе щелевой лампы являются внефокусные лучи, которые снижают контраст изображения, ограничивая разрешающую способность прибора. В конфокальном микроскопе эта проблема решена с помощью специальной диафрагмы, расположенной в плоскости промежуточного изображения, которая пропускает только те световые лучи, которые исходят от фокальной плоскости рассматриваемого объекта, тогда как лучи, отраженные от соседних точек и плоскостей отсекаются. Таким образом, конфокальная микроскопия обеспечивает увеличение контраста изображения и разрешающей способности за счет фильтрации внефокусных лучей [3].

Первый конфокальный микроскоп разработал в 1955 году Marvin Minsky, американский ученый, профессор Массачусетского технологического института, работающий в области физиологии нервной деятельности и искусственного интеллекта. Оптический прибор с большой разрешающей способностью ему был необходим для изучения клеток головного мозга и оценки нейрональных связей [25, 39]. Основной идеей автора было сфо-

кусировать осветитель и объектив на одной точке исследуемого объекта, что вместе с диафрагмой, отсекающей внефокусные лучи, позволяет повысить разрешающую способность прибора. Впоследствии, в 1980-х годах Wilson и Shepard, и далее в 1990-х годах Hill, Masters и Thaeг продолжили развивать оптическую теорию конфокальной микроскопии [39].

В современных приборах в качестве источника света широко используются лазеры, обладающие высокой интенсивностью и монохроматичностью излучения, а для управления всей системой, формирования и хранения изображений, обработки результатов применяются компьютеры. Записав в памяти компьютера серию оптических срезов, можно провести объёмную реконструкцию объекта и получить его трехмерное изображение, не используя трудоемкую методику изготовления и фотографирования серийных гистологических срезов [3].

Конфокальный микроскоп дает две неопределимые возможности — исследование тканей на клеточном уровне в состоянии физиологической жизнедеятельности и демонстрация результатов исследования (то есть клеточной активности) в четырех измерениях — высота, ширина, глубина и время.

Роговица предоставляет широчайшие возможности для исследования, поэтому специально для её оценки было создано большинство современных конфокальных микроскопов. В настоящее время существует два типа наиболее активно используемых конфокальных сканирующих томографов, отличающихся типом сканирующего элемента: щелевой (Confoscan P4 (Tomey, Германия), Confoscan 4 (Nidec, Япония) и лазерный (HRT 2 Rostock Corneal Module (Heidelberg, Germany) [2].

Сравнивая два типа приборов, можно отметить, что лазерный томограф лучше визуализирует эпителий, а щелевой томограф — эндотелий, при этом оценка морфологии исследуемых структур у этих приборов сопоставима [38]. Преимуществом лазерного сканирующего конфокального микроскопа является чуть большая скорость сканирования, лучшие результаты подсчета клеток и возможность исследовать менее прозрачные поверхностные структуры глаза (конъюнктиву век и глазного яблока, помутнения роговицы) [2].

Исследование проводится с использованием иммерсионной жидкости, которая находится между роговицей и объективом линзы, в результате чего исключается непосредственный контакт линзы и роговицы и сводится к минимуму риск повреждения эпителия. Исследование чаще всего требует эпibuльбарной анестезии. Линза с каплей

геля подводится к роговице до касания, далее, степень контакта датчика и роговицы пациента варьирует от типа конфокального микроскопа. Конструкция прибора позволяет исследовать роговицу в центральной зоне и её парацентральных участках [1,2].

Роговица имеет обильную иннервацию, которая представлена трофическими, чувствительными и вегетативными нервными волокнами. Чувствительная иннервация обеспечивается системой длинных цилиарных нервов, являющихся веточками назоцилиарного нерва, отходящего от глазничной ветви тройничного нерва. Эти нервы образуют вокруг роговицы перилимбальное нервное сплетение. С периферии, со стороны лимба, нервные волокна проникают в строму. Они проходят в строме параллельно поверхности роговицы, имея радиальное направление. Далее, совершив изгиб на 90°, нервные волокна перфорируют боуменову мембрану, где, проходя между слоем базальных клеток и Боуменовой мембраной, ветвясь, формируют суббазальное нервное сплетение. Обеспечивая иннервацию базального эпителиального слоя, нервные волокна заканчиваются в области поверхностных эпителиальных слоев в виде свободных нервных окончаний [28,30].

По своему типу нервные волокна роговицы представляют собой немиелинизированные С волокна и миелинизированные Аδ волокна, которые относятся к тонким или малым нервным волокнам [28, 39].

Анатомия роговичных нервов, ход нервных волокон, их тип, а также их повреждение были изучены и описаны многими авторами с помощью световой и электронной микроскопии в комбинации с иммуногистохимическими методами исследования. Но основной проблемой при использовании этих методов является то, что роговичные нервы разрушаются в течение четырнадцати часов после смерти [10,28]. Визуализировать суббазальное нервное сплетение с помощью щелевой лампы невозможно. Поэтому, появление конфокальной микроскопии роговицы открыло новые возможности в изучении морфологии роговичных нервов. Методика является быстрой, неинвазивной и позволяет получать прижизненное изображение роговицы с высоким разрешением. Поэтому в последние годы в литературе появилось много работ, в которых оценивалась морфология роговичных нервов, а также их изменения с возрастом с помощью конфокальной микроскопии [30,39].

При проведении конфокальной микроскопии роговицы в норме на уровне Боуменовой мембраны можно увидеть длинные, параллельно идущие

тяжи или пучки нервов. Часто нервные волокна яркие, хорошо контрастирующие на фоне непрозрачного темного фона. В строме нервные волокна визуализируются в виде тонких, ярких рефлектирующих полос, ориентированных чаще вертикально, либо по косой параллельно друг другу, часто видна бифуркация в виде буквы Y [4]. В отличие от нервных волокон, которые расположены в Боуменовой мембране, их ориентация и размер крайне переменчивы, что делает их количественную оценку сложной [1]. В качестве критериев оценки нервных волокон используют такие показатели, как плотность, ширина, извилистость, рефлексивность, ориентация и ветвление.

Было показано, что к 40–50 годам плотность нервных волокон роговицы уменьшается вдвое по сравнению с 20-летними лицами, а наиболее существенное уменьшение этого показателя, почти в 4 раза, отмечается в 70–80-летнем возрасте. Также с возрастом происходит снижение чувствительности роговицы [11].

До недавнего времени оценка нервных волокон роговицы с помощью конфокальной микроскопии применялась довольно редко и в основном ограничивалась регистрацией С и Аδ нервных волокон. Однако в последних исследованиях авторы стали более детально изучать их морфологию, усовершенствовались методы количественной оценки размера, длины, степени ветвления нервных волокон [30].

Иннервация роговицы имеет важное клиническое значение, обеспечивая защитную и трофическую функции. Чувствительность роговицы, метаболизм эпителия, клеточная адгезия и заживление ран зависят от адекватной иннервации роговицы. Нарушение иннервации роговицы может возникать по причине местных и системных заболеваний, а также после различных хирургических и фармакологических воздействий. Было показано, что повреждение и восстановление нервных волокон в роговице регулируется по средствам коллагена, фибронектина и протеогликанов, так же как и определенных факторов роста, включающих фактор роста фибробластов, фактор роста нервов. Метаболизм и соотношение многих из этих веществ нарушены при диабете [46].

В исследованиях на животных было показано, что у крыс с сахарным диабетом чувствительность роговицы нарушается в течение трех месяцев с момента индуцирования у них СД [17]. Кроме того, нарушение иннервации роговицы и формирование язв роговицы у пациентов с диабетом описывают многие авторы [35,47].

В другом крупном исследовании было показано с помощью корнеальной конфокальной микро-

скопии и эстеziометрии уменьшение как чувствительности роговицы, так и количества нервных волокон роговицы у пациентов с сахарным диабетом 1 типа. Оценка степени повреждения нервных волокон роговицы у пациентов с диабетом важна, так как многие хирургические вмешательства, в особенности фоторефракционная кератэктомия приводят к повреждению корнеальных нервов и снижению чувствительности роговицы. Таким образом в некоторых исследованиях был продемонстрирован более высокий риск развития послеоперационных осложнений со стороны эпителия и худшие рефракционные результаты у пациентов с диабетом, перенесших ЛАЗИК [21, 29].

В одной из работ было показано, что у пациента с дистрофией роговицы, возникшей на фоне нарушения её иннервации по причине наследственной сенсомоторной нейропатии, биопсия икроножного нерва показала повреждение малых немиелинизированных волокон. Это подтверждает связь между типом нервных волокон и степенью их повреждения в периферических нервах и в роговице [8].

В 2000 году M. Rosenberg в исследовании структуры роговицы у пациентов с сахарным диабетом 1 типа продемонстрировал помимо уменьшения количества нервных волокон и чувствительности роговицы, корреляцию между количеством нервных волокон роговицы и тяжестью соматической нейропатии, которая оценивалась по общепринятой шкале MNSI [36].

В 2003 году R. Malik с группой авторов начали проводить исследования, целью которых было определить возможность при помощи конфокальной микроскопии роговицы измерять степень повреждения и восстановления нервных волокон роговицы у пациентов с диабетом и их корреляцию со степенью тяжести периферической полинейропатии. Авторы предложили использовать следующие параметры в качестве индикаторов повреждения и восстановления нервных волокон: плотность нервных волокон (ПНВ) — общее количество основных нервных волокон на квадратный мм ткани роговицы, длина нервных волокон (ДНВ) — общая длина всех нервных волокон и их ветвей на квадратный мм ткани роговицы, плотность ветвей нервных волокон (ПВНВ) — количество ветвей, отходящих от основных нервных стволов на квадратный мм ткани роговицы [22].

Авторами было продемонстрировано уменьшение ПНВ, ДНВ, ПВНВ у пациентов с диабетом по сравнению с контрольной группой, с тенденцией к снижению этих параметров по мере увеличения тяжести нейропатии. Была отмечена высокая чувствительность конфокальной микроскопии рого-

вицы, так как она позволяла обнаружить повреждение роговичных нервов у пациентов, у которых только предполагалось наличие легкой степени полинейропатии.

Также было предложено использовать эту методику для оценки эффективности различных методов лечения полинейропатии в клинических исследованиях, так как метод является быстрым, неинвазивным, легко повторяющимся и позволяющим получить точную количественную оценку нервных волокон. Некоторые исследуемые препараты могут использоваться местно, наноситься на роговицу, что позволяет довольно быстро оценить их эффективность в восстановлении нервных волокон [22].

В одном из исследований эта же группа авторов определила ещё один параметр повреждения нервных волокон, который также взаимосвязан с прогрессированием полинейропатии. Это кривизна нервных волокон. Было показано, что кривизна нервных волокон прогрессивно нарастает с увеличением тяжести нейропатии. Также авторы продемонстрировали отсутствие корреляции этого параметра с возрастом, длительностью и степенью компенсацией диабета [19].

Чувствительность роговицы, как уже говорилось ранее, снижается с увеличением возраста и с увеличением длительности диабета [11, 30]. Но, этот параметр также можно использовать в качестве маркера прогрессирования полинейропатии. В одном из исследований было продемонстрировано прогрессирующее снижение чувствительности роговицы с увеличением тяжести нейропатии, что ещё раз подтверждает, что поражение роговичных нервов при диабете происходит параллельно с повреждением периферических нервов. В этом исследовании чувствительность роговицы определялась двумя различными методами, эстеziометром Cochet-Bonnet и бесконтактной эстеziометрией. Оба метода показали значительную корреляцию с тяжестью нейропатии, оцениваемой по шкале NDS. Эти исследования просты в выполнении, позволяют получить точную количественную оценку чувствительности роговицы. Поэтому, могут быть предложены к использованию в качестве скрининга диабетической полинейропатии [40].

Как уже говорилось, методом, позволяющим с точностью оценить повреждение и восстановление малых нервных волокон, является биопсия кожи [7, 43]. Этот метод позволяет оценить повреждение внутриэпидермальных нервных волокон и используется в диагностике нейропатии малых волокон разной этиологии. В одном из исследований авторы сравнили возможность биопсии кожи и

конфокальной микроскопии роговицы выявлять патологические изменения малых нервных волокон для диагностики и оценки прогрессирования диабетической полинейропатии. Было показано, что плотность внутрикожных нервных волокон, плотность их ветвей и длина прогрессивно уменьшаются с увеличением тяжести нейропатии. Конфокальная микроскопия роговицы также показала прогрессивное уменьшение плотности нервных волокон роговицы и плотности ветвей нервных волокон, но последний параметр в этом исследовании был снижен и у пациентов с диабетом без нейропатии. Оба метода позволяют с точностью оценивать повреждение малых нервных волокон у пациентов с диабетом, но основным преимуществом конфокальной микроскопии роговицы является её неинвазивность, быстрота и возможность оценивать повреждение нервных волокон на ранних стадиях [34].

Диабетическая полинейропатия на данный момент не имеет доказанного эффективного лечения, которое могло бы предотвратить или замедлить прогрессирование заболевания, за исключением компенсации уровня гликемии [4,49]. Разработка новых методов лечения полинейропатии является очень важным, но существуют определённые трудности с проведением клинических исследований. Наиболее распространённые диагностические тесты в основном оценивают толстые нервные волокна и не позволяют достоверно оценить восстановление нервных волокон и, соответственно, эффективность лечения. Из методов, оценивающих малые нервные волокна, наиболее чувствительными и специфичными являются кожная биопсия и биопсия икроножного нерва, но обе эти методики инвазивные, что ограничивает их применение в клинических исследованиях [27].

Чтобы изучить возможности конфокальной микроскопии роговицы оценивать восстановление нервных волокон, было проведено исследование, в котором морфология роговичных нервов и чувствительность роговицы оценивались у пациентов с диабетом 1 типа до и после пересадки поджелудочной железы. Авторы продемонстрировали значительную потерю нервных волокон роговицы перед операцией, что соответствует тяжёлой нейропатии у пациентов, подвергающихся трансплантации поджелудочной железы. Несмотря на наличие выраженных изменений, через 6 месяцев после трансплантации у всех пациентов отмечалось значимое увеличение плотности нервных волокон и длины нервных волокон роговицы, что свидетельствует о раннем восстановлении на фоне нормализации гликемии. Это является подтверждением

того, что конфокальная микроскопия роговицы может использоваться в клинических исследованиях для оценки эффективности новых методов лечения диабетической полинейропатии [24].

Выявление полинейропатии на ранних стадиях является крайне важным, так как в этом случае контроль гликемии и других факторов риска могут предотвратить прогрессирование заболевания [5]. Конфокальная микроскопия роговицы наряду с биопсией кожи даёт возможность выявлять минимальные повреждения нервных волокон, когда неврологическое обследование, количественные сенсорные тесты и нейрофизиологические исследования ещё не показывают изменения. В одном из исследований была показана высокая чувствительность и специфичность конфокальной микроскопии роговицы в диагностике полинейропатии на ранних стадиях и определения риска язвообразования [26].

Конфокальная микроскопия роговицы также может использоваться в диагностике нейропатии не диабетической этиологии. Были проведены исследования, в которых продемонстрирована высокая чувствительность данного метода в выявлении повреждения нервных волокон у пациентов в болезни Фабри и идеопатической нейропатией малых волокон на ранних стадиях [41,42].

Метод выявления диабетической полинейропатии на ранних стадиях должен быть неинвазивным, дающим точный количественный результат и легко повторяющимся для оценки изменений в динамике. Конфокальная микроскопия роговицы обладает всеми перечисленными свойствами. Основное её преимущество это неинвазивность, возможность получить точную количественную оценку нервных волокон роговицы, выявить их повреждение и восстановление. Поэтому конфокальная микроскопия роговицы может служить методом ранней диагностики диабетической полинейропатии, определения её степени тяжести, а также может использоваться для оценки эффективности новых методов лечения в клинических исследованиях.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Аветисов С. Э., Егорова Г. Б., Федоров А. А.* и др. Конфокальная микроскопия роговицы. Сообщение 1. Особенности нормальной морфологической картины // Вестник офтальмологии. — 2008. — № 3. — С. 3–5.
2. *Ткаченко Н. В., Астахов Ю. С.* Диагностические возможности конфокальной микроскопии при исследовании поверхностных структур глазного яблока // Офтальмологические ведомости. — 2009. — Т. 2, № 1. — С. 82–89.
3. *Штейн Г. И.* Руководство по конфокальной микроскопии. — СПб.: ИНЦ РАН, 2007. — С. 6–10

4. *Boulton A., Malik R., Arezzo J.* Diabetic Somatic Neuropathies // *Diab. Care.* — 2004. — Vol. 27, N 6. — P. 1458–1486.
5. *Bretzel R.* Intensive insulin regimens: evidence for benefit // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* — 2004. — Vol. 28 (Suppl. 2). — P. 8–13.
6. DCCT (The Diabetes Control and Complications Trial Research Group). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus // *N. Engl. J. Med.* — 1993. — Vol. 329. — P. 977–986.
7. *Devigili G., Tugnoli V., Penza P.* The diagnostic criteria for small fibre neuropathy: from symptoms to neuropathology // *Brain.* — 2008. — Vol. 131. — P. 1912–1925.
8. *Donaghy M., Hakin R., Bamford J.* et al. Hereditary sensory neuropathy with neurotrophic keratitis // *Brain.* — 1987. — Vol. 110, N 3. — P. 563–583
9. *Dyck P., Karnes J., O'Brien P.* et al. The Rochester Diabetic Neuropathy Study: reassessment of tests and criteria for diagnosis and staged severity // *Neurol.* — 1992. — Vol. 42. — P. 1164–1170.
10. *Erie J., McLaren J., Hodge D.* et al. Recovery of corneal subbasal nerve density after PRK and LASIK // *Am. J. Ophthalmol.* — 2005. — Vol. 140. — P. 1059–1064.
11. *Erie J., McLaren J., Hodge D.* et al. The effect of age on the corneal subbasal nerve plexus. // *Cornea.* — 2005. — Vol. 24. — P. 705–709.
12. *Franklin G., Kahn L., Baxter J.* et al. Sensory neuropathy in noninsulin-dependent diabetes mellitus. // *Am. J. Epidemiol.* — 1990. — Vol. 131. — P. 633–43.
13. *Franklin G., Shetterly S., Cohen J.* et al. Risk factors for distal symmetric neuropathy in NIDDM. // *Diabetes Care.* — 1994. — Vol. 17. — P. 1172–1177.
14. *Fraunfelder F., Rich L.* Laser-assisted in situ keratomileusis complications in diabetes mellitus // *Cornea.* — 2002. — N 21. P. 246–248.
15. *Gelber D., Pfeifer M., Broadstone V.* Components of variance for vibratory and thermal thresholds testing in normal and diabetic subjects // *Diabetes Complications.* — 1995. — Vol. 9. — P. 170–176.
16. *Hirai A., Yasuda H., Joko M.* Evaluation of diabetic neuropathy through the quantitation of cutaneous nerves // *J. Neurolog. Sci.* — 200. — Vol. 172. — P. 55–62.
17. *Jacot J., Hosotani H., Glover J.* Diabetic-like corneal sensitivity loss in galactose-fed rats ameliorated with aldose reductase inhibitors // *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* — 1998. — Vol 14, N 2. — P. 169–180
18. *Jalbert I., Stapleton F., Papas E.* et al. In vivo confocal microscopy of the human cornea // *Br. J. Ophthalmol.* — 2003. — Vol. 87, N 2. — P. 225–236.
19. *Kallinikos P., Berhanu M., O'Donnell C.* et al. Corneal nerve tortuosity in diabetic patients with neuropathy // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2004. — Vol 45. — P. 418–422.
20. *King R.* The role of glycation in the pathogenesis of diabetic polyneuropathy. // *Mol Pathol.* — 2001. — Vol. 54. — P. 400–408.
21. *Linna T., Tervo T.* Real-time confocal microscopic observations on human corneal nerves and wound healing after excimer laser photorefractive keratectomy // *Curr Eye Res.* — 1997. — Vol. 16. — P. 640–649.
22. *Malik R., Kallinikos P., Abbott C.* et al. Corneal confocal microscopy: a non-invasive surrogate of nerve fibre damage and repair in diabetic patients // *Diabetologia.* — 2003. — Vol. 46, — P. 683–688.
23. *Manes C., Papazoglou N.* Prevalence of Diabetic Neuropathy and Foot Ulceration: Identification of Potential Risk Factors — A Population-Based Study // *Wounds.* — 2002. — Vol. 14. — P. 11–15.
24. *Mehra S., Tavakoli M., Kallinikos P.* Corneal confocal microscopy detects early nerve regeneration after pancreas transplantation in patients with type 1 diabetes // *Diabetes Care.* — 2007. — Vol. 30. — P. 2608–2612
25. *Minsky M.* Memoir on inventing the confocal scanning microscope // *Scanning.* — 1988. — Vol. 10, — P. 128–38.
26. *Mitra T., Cristian Q., Carolin A.* A novel noninvasive test to diagnose and stratify the severity of human diabetic neuropathy // *Diabetes Care.* August. — 2010. — Vol. 33, N. 8. — P. 1792–1797.
27. *Mojaddidi M., Quattrini C., Tavakoli M.* et al. Recent developments in the assessment of efficacy in clinical trials of diabetic neuropathy // *Curr Diab Rep.* — 2005. — Vol. 5. — P. 417–422.
28. *Müller L., Vrensen G., Pels L.* et al. Architecture of human corneal nerves // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 1997. — Vol. 38. — P. 985–994
29. *Murphy P., Corbett M., Verma S.* et al. Loss and recovery of corneal sensitivity following photorefractive keratectomy for myopia // *J. Ref. Surg.* — 1999. — N 15. — P. 38–45.
30. *Oliveira-Soto L., Efron N.* Morphology of corneal nerves using confocal microscopy // *Cornea.* — 2001–N20, — P. 374–384.
31. *Paisley A., Abbott C., van Schie C.* et al. A comparison of the Neuropen against standard quantitative sensory threshold measures for assessing peripheral nerve function // *Diabet. Med.* — 2002. — Vol. 19. — P. 400–405.
32. *Partanen J., Niskanen L., Lehtinen J.* et al. Natural history of peripheral neuropathy in patients with non-insulin dependent diabetes // *New. Engl. J. Med.* — 1995. — Vol. 333, — P. 39–84.
33. *Pirart J.* Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4,400 patients observed between 1947 and 1973 // *Diabetes Care.* — 1978. — Vol. 1. — P. 168–188.
34. *Quattrini C., Tavakoli M., Jeziorska M.* Surrogate markers of small fiber damage in human diabetic neuropathy // *Diabetes.* — 2007. — Vol. 56, — P. 2148–2154.
35. *Robert A., Edward L., Schultz R.* Neurotrophic Corneal Ulcers in Diabetes Mellitus // *Arch. Ophthalmol.* — 1977. — Vol. 95, N 12, — P. 2193–2196
36. *Rosenberg M., Tervo T., Immonen I.* et al. Corneal structure and sensitivity in type 1 diabetes mellitus // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* — 2000. — N 41. — P. 2915–2921.
37. *Sumner C., Sheth S., Griffin J.* The spectrum of neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance // *Neurology.* — 2003. — Vol. 60. — P. 108–111.
38. *Szafik J.* Comparison of in vivo confocal microscopy of human cornea by white light scanning slit and laser scanning systems // *Cornea.* — 2007. — Vol. 26, N 4, — P. 438–445.

39. Tavakoli M., Hossain P., Malik R. Clinical applications of corneal confocal microscopy // *Clinical. Ophthalmology*. — 2008. — N 2. — P. 435–445
40. Tavakoli M., Kallinikos P., Efron N. Corneal sensitivity is reduced and relates to the severity of neuropathy in patients with diabetes. // *Diabetes. Care*. — 2007. — Vol. 30. — P. 1895–1897
41. Tavakoli M., Marshall A., Pitceathly R. Corneal confocal microscopy: a novel means to detect nerve fibre damage in idiopathic small fibre neuropathy // *Exp. Neurol*. — 2010. — Vol. 223. — P. 245–250.
42. Tavakoli M., Marshall A., Thompson L. Corneal confocal microscopy: a novel noninvasive means to diagnose neuropathy in patients with Fabry disease // *Muscle. Nerve*. — 2009. — Vol. 40. — P. 976–998.
43. Tavee J., Zhov L. Small fiber neuropathy: A burning problem // *Cleveland Clinic Journal of medicine*. — 2009. — Vol. 76, N 5. — P. 297–305.
44. Tesfaye S., Chaturvedi N., Simon E. et al. Vascular Risk Factors and Diabetic Neuropathy // *The New England Journal of Medicine*. — 2005. — Vol. 352, N 4. — P. 341–350.
45. Thomas P. Nerve biopsy // *Diabet Med*. — 1997. — Vol. 16. — P. 351–352
46. Uenda S., Del Cerro M., Rao G. The Epithelial innervation in human cornea. A light and electron microscopic study. // *The Cornea: transactions of the World Congress on the Cornea*. — New York<sup>^</sup> Raven Press, 1988. — P. 63–67
47. Urban P., Forst T., Lenfers M. Incidence of subclinical trigeminal and facial nerve involvement in diabetes mellitus // *Electromyogr Clin Neurophysiol*. — 1999. — Vol. 39, N 5. — P. 267–72.
48. Vinik A., Suwanwalailom S., Stansberry K. et al. Quantitative measurement of cutaneous perception in diabetic neuropathy // *Muscle Nerve*. — 1995. — Vol. 18. — P. 574–584.
49. Vinik A., Strotmeyer E., Nakave A. Diabetic Neuropathy in older adults // *Clin. Geriatr. Med*. — 2008. — Vol. 24, N 3. — P. 407–420.
50. Yarnitsky D., Sprecher E., Zaslansky R. Heat pain thresholds: normative data and repeatability // *Pain*. — 1995. — Vol. 60. — P. 329–332.

### COULD CORNEAL CONFOCAL MICROSCOPY ASSESS NERVE FIBER DAMAGE IN PATIENTS WITH DIABETIC POLYNEUROPATHY?

*Krasavina M. I., Astakhov Y. S., Shadrichev F. E.*

✧ **Summary.** Early diagnosis of diabetic polyneuropathy, which is one of the most frequent complications of diabetes mellitus, nowadays is related to significant difficulties. Corneal confocal microscopy allows visualizing nerve fiber damage in patients with diabetic polyneuropathy because in the cornea, nerve endings density is the highest in all human body. This method makes possible revealing the earliest signs of diabetic polyneuropathy. In some studies, a correlation between the damage of peripheral and corneal nerves in diabetic patients was shown. Corneal confocal microscopy could become an alternative to existing invasive examination methods.

✧ **Key words:** corneal confocal microscopy; diabetic polyneuropathy; small nerve fibers; corneal nerve fibers.

#### Сведения об авторах:

**Красавина Мария Игоревна** — заведующая офтальмологическим отделением. ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова». 196232, Санкт-Петербург пр. Пархоменко, д.15. E-mail: mk702@yandex.ru.

**Астахов Юрий Сергеевич** — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой офтальмологии. Кафедра офтальмологии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. 197089, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6–8, корпус 16. E-mail: astakhov@spmu.rssi.ru.

**Шадричев Фёдор Евгеньевич** — к. м. н., заведующий, офтальмологическое отделение, Санкт-Петербургский территориальный диабетологический центр. 194354, Санкт-Петербург, ул. Сикейроса, д. 10 Д. E-mail: shadrichev\_dr@mail.ru.

**Krasavina Mariya Igorevna** — head of the ophthalmology department.

196232, St. Petersburg, Parkhomenko, 15.  
E-mail: mk702@yandex.ru.

**Astakhov Yuriy Sergeevich** — MD, doctor of medical science, professor, head of the department. Department of Ophthalmology of the I. P. Pavlov State Medical University.

197089, Saint-Petersburg, Lev Tolstoy st., 6–8, building 16.  
E-mail: astakhov@spmu.rssi.ru.

**Shadrichev Fedor Evgenievich** — MD, candidate of medical science, head of the ophthalmology department, St. Petersburg territorial diabetology center, 194354, St. Petersburg, Sikeiros str., 10.  
E-mail: shadrichev\_dr@mail.ru.