

СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ ПРИ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЯХ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1-ГО ТИПА

Новоселова М.В., Самойлова Ю.Г., Жукова Н.Г.

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 634050 Томск

Сахарный диабет 1-го типа (СД 1-го типа) — одно из распространенных хронических метаболических заболеваний, которое в настоящее время является социально значимой проблемой вследствие ранней инвалидизации больных в молодом возрасте и уменьшения продолжительности их жизни. Одним из осложнений СД 1-го типа является поражение центральной нервной системы с дальнейшим формированием когнитивных нарушений, которые могут быть обусловлены метаболическими расстройствами. В случае своевременной диагностики и лечения когнитивные нарушения, связанные с метаболическими изменениями, могут полностью или частично регрессировать. Целью настоящего исследования был анализ содержания нейроспецифических белков при когнитивных нарушениях у пациентов с СД 1-го типа. Обследовано 58 пациентов с СД 1-го типа в возрасте от 16 до 30 лет, контрольную группу составили 29 здоровых молодых людей, сопоставимых по полу и возрасту. Комплекс обследования включал нейропсихологическое тестирование, для которого использовали Монреальскую шкалу оценки когнитивных функций — Montreal Cognitive Assessment (MoCa-тест). Для оценки ранних маркеров нарушения когнитивных функций были определены нейроспецифические белки — протеин S100, глиальный фибриллярный кислый белок, основной белок миелина. В результате проведенного исследования выявлен повышенный уровень нейроспецифических белков, который коррелировал с гипергликемией и когнитивным дефицитом (MoCa-тест менее 26 баллов).

Ключевые слова: сахарный диабет 1-го типа; нейроспецифические белки; когнитивные нарушения.

THE LEVEL OF NEUROSPECIFIC PROTEINS IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS AND COGNITIVE DISORDERS

Novoselova M.V., Samoilova Yu.G., Zhukova N.G.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Type 1 diabetes mellitus (DM1) is a widespread metabolic disease of social significance due to early disability in young patients and reduced life expectancy. One of the DM1 complications is CNS lesions resulting in cognitive dysfunction mediated through metabolic disorders. This condition can be partly or completely reversed if diagnosed and treated at an early stage. The aim of this study was to determine the level of neurospecific proteins in 58 patients aged 16-30 years with type 1 diabetes mellitus and cognitive disorders in comparison with 29 healthy controls of similar age. All the participants underwent neuropsychological testing based on the Montreal scale for rapid screening of cognitive disorders (MoCA-test). Protein S100, glial fibrillary acidic protein, and myelin basic protein served as early markers of cognitive dysfunction. The study revealed an enhanced level of neurospecific proteins that correlated with hyperglycemia and cognitive deficit (MoCA score 26).

Key words: type 1 diabetes mellitus, neurospecific proteins, cognitive disorders.

Сахарный диабет (СД) в настоящее время является глобальной медико-социальной, психологической и экономической проблемой; так, по данным Международной федерации диабета (2012), во всем мире страдают СД 371 млн человек [1].

Патогенез когнитивных нарушений при СД 1-го типа во многом остается неопределенным [2, 3]. Корреляция между нарушением когнитивных функций и степенью гипергликемии, полученная в ряде исследований, может свидетельствовать, что именно это основное метаболическое отклонение у больных СД 1-го типа может быть причиной когнитивных нарушений [4—6].

Для определения нарушения когнитивных функций при различных нозологических формах в последнее время исследователи широко используют Монреальскую шкалу оценки когнитивных функций — Montreal Cognitive Assessment (MoCA-тест), которая была разработана как средство быстрого скрининга когнитивных нарушений [7, 8]. В оценке результатов этого теста, однако, нельзя исключить субъективный фактор. Так, В.В. Захаров [9] отметил возможность получения как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов при проведении MoCa-теста.

В связи с возможностью субъективной оценки показателей нейропсихологического тестирования ведется поиск специфических маркеров повреждения вещества головного мозга. В настоящее время известны следующие неспецифические биохимические маркеры, указывающие на повреждение головного мозга различной этиологии — это нейроспецифические белки [10]. Среди них наиболее изученными являются глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) и белок S100 — маркеры гибели астроцитов, а также основной белок миелина (MBP) — индикатор повреждения олигодендроцитов [11—14]. Повышение уровня нейроспецифических белков в крови указывает на повреждение ткани головного мозга и позволяет дать прижизненную оценку состояния центральной нервной системы [15, 16].

Таким образом, актуальность настоящего исследования определяется не только медико-социальной значимостью заболевания, но и недостаточным количеством в отечественной и зарубежной литературе данных о значимости нейроспецифических белков в развитии нарушений когнитивных функций у пациентов с СД 1-го типа.

Цель исследования — оценить роль нейроспецифических белков у пациентов с СД 1-го типа в развитии когнитивных нарушений.

Материал и методы

Обследовано 58 пациентов (29 мужчин и 29 женщин) с СД 1-го типа; средний возраст $22,45 \pm 4,62$ года, длительность заболевания $6,6 \pm 3,95$ года; 56,9% пациентов с СД 1-го типа составили школьники старших классов или студенты, 43,1 % — работающие люди. Контрольную группу составили 29 здоровых обследованных (14 мужчин и 15 женщин; средний возраст $22,37 \pm 4,72$ года) без хронических и острых заболеваний.

Исследование проводили на клинических базах кафедры эндокринологии и диабетологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России. Протокол исследования был утвержден комитетом по этике ГБОУ ВПО СибГМУ № 3199 от 24.12.12, больными подписано информированное согласие на участие в исследовании. У всех пациентов проанализировали данные анамнеза и оценили результаты объективного обследования. Диагноз СД 1-го типа верифицировали с учетом диагностических критериев ВОЗ (1999—2006 гг.), ISPAD (2009 г.), алгоритмов специализированной медицинской помощи больным СД (2011 и 2013 гг.) [17—19].

Глюкозу плазмы крови исследовали с помощью биохимического анализатора Hitachi 912 (Hoffmann-La Roche Ltd/Roche Diagnostics GmbH, Швейцария). Уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) оценивали методом жидкостной хроматографии на анализаторе гликированного гемоглобина DS5 Glycomat (Drew Scientific, Нидерланды).

Для оценки неврологического статуса все пациенты были проконсультированы неврологом и протестированы с помощью Монрельской шкалы оценки когнитивных функций — Montreal Cognitive Assessment (MoCA-тест), разработанной для быстрого скрининга легких и умеренных когнитивных нарушений и оценивающей разные функции: зрительно-пространственное восприятие (тест рисования часов и куба), исполнительные функции (задание по созданию альтернирующего пути и проверки способности к абстрактному мышлению), внимание, концентрацию и оперативную память (серийное вычитание по 7 и воспроизведение цифрового ряда в прямом и обратном порядке). Речь оценивали с помощью задания по определению изображенных животных, повторению двух синтаксически сложных предложений и теста на беглость речи, оценивающего также и исполнительные функции [20].

Для анализа количественного содержания протеина S100 использовали тест COBAS, Roche Elecsys 1010 (Швейцария). Определение содержания GFAP проводили с помощью иммуноферментного анализа по стандартному протоколу с использованием набора реактивов фирмы-производителя (Human Fas ELISA, Bender MedSystems GmbH, Австрия). Уровень MBP был изучен с применением набора Roche (США).

Полученные результаты обработаны с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2010 и IBM SPSS Statistics 21.0. Для количественных показателей рассчитывали среднюю арифметическую величину (M) и стандартное отклонение (SD). Для определения значимости различий между независимыми группами использовали непарный t -критерий Стьюдента при нормальном распределении и непараметрический тест Манна—Уитни в случае ненормального распределения. Для нахождения корреляции между исследуемыми параметрами при нормальном распределении данных использовался коэффициент Пирсона, а при ненормальном распределении — коэффициент Спирмена. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез считали $p < 0,05$ [21—23].

Результаты и обсуждение

Показано, что пациенты с СД 1-го типа не достигали целевых значений показателей углеводного обмена, который у подростков составлял менее 7,5%, а у пациентов в возрасте от 19 до 30 лет — менее 6,5%. У больных СД 1-го типа средний уровень HbA1c составлял $8,5 \pm 1,83\%$, гликемии натощак — $10,0 \pm 4,95$ ммоль/л, что свидетельствовало о неудовлетворительном метаболическом контроле (табл. 1).

В результате исследования выявлено значимое повышение концентрации нейроспецифических белков: S100, MBP и GFAP у пациентов с СД 1-го типа по сравнению с показателями в контрольной группе ($p < 0,001$; табл. 2).

Кроме того, выявлено, что пациенты с неудовлетворительным контролем углеводного обмена имели более высокие уровни S100, GFAP и MBP. Так, найдена положительная корреляционная связь всех изучаемых нейроспецифических белков с уровнем HbA1c и гликемии натощак ($p < 0,05$; табл. 3), что доказывает роль хронической гипергликемии в процессах апоптоза клеток нервной ткани.

Анализ результатов исследования показал, что у 72,2% пациентов с СД 1-го типа имело место выраженное нарушение когнитивных функций (суммарная оценка 25 баллов), в то время как в контрольной груп-

Таблица 1. Показатели углеводного обмена у обследованных пациентов ($M \pm SD$)

Показатель	Пациенты с СД 1-го типа ($n = 58$)	Контрольная группа ($n = 29$)
HbA1c, %	$8,5 \pm 1,83^*$	$5,0 \pm 0,64^*$
Гликемия натощак, ммоль/л	$10,0 \pm 4,95^*$	$5,0 \pm 0,725^*$

Примечание. Здесь и в табл. 3—4: * — $p < 0,001$.

Таблица 2. Содержание нейроспецифических белков у обследованных ($M \pm SD$)

Показатель	Пациенты с СД 1-го типа ($n = 58$)	Контрольная группа ($n = 29$)
MBP, нг/мл	$0,13 \pm 0,043^*$	$0,10 \pm 0,036^*$
GFAP, нг/мл	$0,11 \pm 0,041^*$	$0,08 \pm 0,033^*$
S100, нг/л	$121,65 \pm 66,39^*$	$62,85 \pm 19,66^*$

Таблица 3. **Взаимосвязь содержания нейроспецифических белков с показателями HbA1c и гликемии натощак**

Показатель	S100, нг/л	MBP, нг/мл	GFAP, нг/мл
HbA1c, %	0,663*	0,362*	0,254*
Гликемия натощак, ммоль/л	0,317*	0,300*	0,233*

пе когнитивные функции оставались нормальными (суммарная оценка 30 баллов). При оценке показателей MoCA-теста регистрировалось статистически значимое снижение кратковременной памяти и внимания (задания — числовой ряд и серийное вычитание 7) у пациентов с СД 1-го типа по сравнению с показателями в контрольной группе ($p < 0,05$).

Повышение уровня нейроспецифических белков у пациентов с СД 1-го типа само по себе еще не дает права считать именно их маркерами нарушения когнитивной функции. В связи с чем были проанализированы корреляционные связи содержания нейроспецифических белков и когнитивных нарушений. Наиболее важной находкой явилось снижение функции памяти и зрительно-конструктивных навыков при одновременном повышении уровня изучаемых нейроспецифических белков.

В заданиях на внимание и беглость речи была найдена связь преимущественно с S100 и GFAP.

Суммарный балл, отражающий общее значение когнитивной функции, имел отрицательные корреляционные связи с исследуемыми биомаркерами. Этот факт свидетельствует о возможности использования указанных белков в качестве диагностических маркеров когнитивных нарушений (табл. 4).

Заключение

Основной целью исследования было изучение роли маркеров повреждения вещества головного мозга у па-

Таблица 4. **Взаимосвязь содержания нейроспецифических белков и показателей MoCA-теста**

Показатель	MBP, нг/мл	GFAP, нг/мл	S100, нг/л
MoCA-1	-0,223*	-0,220*	-0,329*
MoCA-2	-0,200	-0,251*	-0,186
MoCA-3	-0,377*	-0,058	-0,428*
MoCA-4	0,141	-0,181	0,014
MoCA-5	-0,334*	-0,248*	-0,578*
MoCA-6	-0,376*	-0,151	-0,261*
MoCA-7	-0,361*	-0,034	-0,303*
MoCA-8	-0,155	-0,120	-0,338*
MoCA-9	-0,096	-0,340*	-0,460*
MoCA-10	-0,422*	-0,193	-0,268*
MoCA-11	-0,109	-0,026	-0,163
MoCA-12	-0,430*	-0,250*	-0,559*

Примечание. MoCA-1 — альтернирующий путь; MoCA-2 — куб; MoCA-3 — часы; MoCA-4 — называние; MoCA-5 — память; MoCA-6 — внимание; MoCA-7 — повторение фразы; MoCA-8 — беглость речи; MoCA-9 — абстракция; MoCA-10 — отсроченное воспроизведение; MoCA-11 — ориентация; MoCA-12 — суммарный балл.

циентов с сахарным диабетом 1-го типа в развитии у них когнитивной дисфункции. Полученные данные позволили сделать вывод, что для пациентов с сахарным диабетом 1-го типа характерно достоверно значимое повышение уровня всех изученных нейроспецифических белков; доказана их положительная корреляционная связь с уровнем гликированного гемоглобина и гипергликемии натощак, что свидетельствует о влиянии декомпенсации углеводного обмена у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа. Повышение уровня нейроспецифических белков у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа можно рассматривать как возможный показатель когнитивных нарушений.

Сведения об авторах:

Сибирский государственный медицинский университет, Томск

Новоселова Мария Владимировна (Novoselova M.V.) — соискатель кафедры эндокринологии и диабетологии, novoselova.maria@yandex.ru

Самойлова Юлия Геннадьевна (Samojlova J.G.) — д-р мед. наук, проф. каф. эндокринологии и диабетологии.

Жукова Наталья Григорьевна (Zhukova N.G.) — д-р мед. наук, проф. каф. неврологии и нейрохирургии.

ЛИТЕРАТУРА

- IDF Diabetes Atlas. 2013 <http://www.idf.org/diabetesatlas> (Дата обращения: 09.10. 2013).
- Craft S. The role of metabolic disorders in Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch. Neurol.* 2009; 66: 300-5.
- Kalaria R.N. Diabetes, microvascular pathology and Alzheimer disease. *Nature Rev. Neurol.* 2009; 5: 305-6.
- Cox D.J., Kovatchev B.P., Gonder-Frederick L.A. Relationships between hyperglycemia and cognitive performance among adults with type 1 and type 2 diabetes. *Diabet. Care.* 2005; 28: 71-7.
- Brands A. M.A., Biessels G.J., De Haan E.H. et al. The effects of type 1 diabetes on cognitive performance: a meta-analysis. *Diabetes Care.* 2005; 28 (3): 726-35.
- Ryan C.M., Geckle M.O., Orchard T.J. Cognitive efficiency declines over time in adults with Type 1 diabetes: effects of micro- and macrovascular complications. *Diabetologia.* 2003; 46: 940-8.
- Nasreddine Z.S., Phillips N.A., Bedirian V., Charbonneau S., Whitehead V., Collin I., Cummings J.L., Chertkow H. The Montreal Cognitive Assessment (MoCA®): A brief screening tool for mild cognitive impairment. *J. Am. Geriatr. Soc.* 2005; 53: 695-9.
- Sinclair A.J., Girling A.J., Bayer A.J. Cognitive dysfunction in older subjects with diabetes mellitus: impact on diabetes self-management and use of care services. All Wales Research into Elderly (AWARE) Study. *Diabet. Res. Clin. Pract.* 2000; 50: 203-12.
- Захаров В.В. Нейропсихологические тесты. Необходимость и возможность применения. *Consilium Medicum.* 2011; 13(2): 82—90.
- Гришанова Т.Г., Будаев А.В., Григорьев Е.В. Повреждение головного мозга при тяжелой травме: значимость клинических шкал и нейрональных маркеров. *Медицина неотложных состояний.* 2011; 1—2: 32-3.
- Zimmer D.B., Weber D.J. The calcium-dependent interaction of S100B with its protein targets. *Cardiovasc. Psychiatry Neurol.* 2010; 5: 1—18.
- Павлов К.А., Гурина О.И., Дмитриева Т.Б., Макаров А.В., Чехонин В.П. Разработка иммуноферментного анализа GFAP на основе рекомбинантного антигена. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2008; 11: 535-9.
- Li Jing, Qingping He, Jian-Zhong Zhang, Andy Li P. Temporal profile of astrocytes and changes of oligodendrocyte-based myelin

- following middle cerebral artery occlusion in diabetic and non-diabetic rats. *Int. J. Biol. Sci.* 2013; 9(2): 190-9.
14. Pesaresi M., Giatti S., Calabrese D., Maschi O., Caruso D., Melcangi R.C. Dihydroprogesterone increases the gene expression of myelin basic protein in spinal cord of diabetic rats. *J. Mol. Neurosci.* 2010; 42(2): 135-9.
 15. Нечунаева Е.В. Иммуно-биохимические показатели в ранней диагностике хронической ишемии головного мозга: Дисс. ... канд. мед. наук. Екатеринбург; 2010.
 16. Самойлова Ю. Г., Новоселова М. В., Костюнина А. К., Пирмагомедова Э. Д., Латыпов А. В. Предикторы развития энцефалопатии у пациентов с сахарным диабетом. *Проблемы эндокринологии.* 2013; 5: 67—71.
 17. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia. Report of WHO/IDF Consultation. ... 2006.
 18. Craig M.E., Hattersley A., Donaghue K.C. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2009 Compendium. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes.* 2009; 10(Suppl. 12): 3—12.
 19. Дедов И.И., Шестакова М.В. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. 6-е изд. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, Российская ассоциация эндокринологов ФГБУ, Эндокринологический научный центр; 2013.
 20. <http://www.mocatest.org/default.asp> (Дата обращения: 10.12.2013)
 21. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. М.: Практика; 1998.
 22. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Л.: Медицина; 1973.
 23. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология: Основы доказательной медицины. М.: Медиа Сфера; 1998.
 24. tive Assessment (MoCA[®]): A brief screening tool for mild cognitive impairment. *J. Am. Geriatr. Soc.* 2005; 53: 695-9.
 25. Sinclair A.J., Girling A.J., Bayer A.J. Cognitive dysfunction in older subjects with diabetes mellitus: impact on diabetes self-management and use of care services. All Wales Research into Elderly (AWARE) Study. *Diabet. Res. Clin. Pract.* 2000; 50: 203-12.
 26. Zakharov V.V. Neuropsychological tests. Necessity and possibility of application. *Consilium Medicum.* 2011; 13 (2): 82—90. (in Russian)
 27. Grishanova T.G., Budaev A.V., Grigor'ev E.V. Brain damage in severe trauma: the importance of clinical scales and neuronal markers. *Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy.* 2011; 1—2: 32-3. (in Russian)
 28. Zimmer D.B., Weber D.J. The calcium-dependent interaction of S100B with its protein targets. *Cardiovasc. Psychiatry Neurol.* 2010; 5:1—18.
 29. Pavlov K.A., Gurina O.I., Dmitrieva T.B., Makarov A.V., Chekhonin V.P. Development of an enzyme immunoassay based on recombinant GFAP antigen. *Byulletin' experimental'noy biologii i meditsiny.* 2008; 11: 535-9. (in Russian)
 30. Li Jing, Qingping He, Jian-Zhong Zhang, Andy Li P. Temporal profile of astrocytes and changes of oligodendrocyte-based myelin following middle cerebral artery occlusion in diabetic and non-diabetic rats. *Int. J. Biol. Sci.* 2013; 9(2): 190-9.
 31. Samoylova Yu.G., Novoselova M.V., Kostyunina A.K., Pirmagomedova E.D., Latypov A.V. Predictors of the development of encephalopathy in the patients presenting with diabetes mellitus. *Problemy endokrinologii.* 2013; 5: 67—71. (in Russian)
 32. Pesaresi M., Giatti S., Calabrese D., Maschi O., Caruso D., Melcangi R.C. Dihydroprogesterone increases the gene expression of myelin basic protein in spinal cord of diabetic rats. *J. Mol. Neurosci.* 2010; 42(2): 135-9.
 33. Nechunaeva E.V. Immuno-biochemical parameters in the early diagnosis of chronic cerebral ischemia: Diss. Ekaterinburg; 2010. (in Russian)
 34. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia. Report of WHO/IDF Consultation. 2006.
 35. Craig M.E., Hattersley A., Donaghue K.C. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2009, Compendium. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes.* 2009; 10(Suppl. 12): 3—12.
 36. Dedov I.I., Shestakova M.V. Algorithms Specialized Medical Care for Patients with Diabetes. 6th ed. Moscow: Ministerstvo zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii, Rossiyskaya assotsiatsiya endokrinologov FGBU, Endokrinologicheskii nauchnyy tseentr; 2013. (in Russian)
 37. <http://www.mocatest.org/default.asp> (Accessed: 10 December 2013)
 38. Glants S. Biomedical Statistics. Moscow: Praktika; 1998. (in Russian)
 39. Gubler E.V., Genkin A.A. Application of Nonparametric Statistics in Biomedical Research. Leningrad: Meditsina; 1973. (in Russian)
 40. Fletcher R., Fletcher S., Vagner E. Clinical Epidemiology: Evidence-Based Medicine. Moscow: Media Sfera; 1998. (in Russian)

Поступила 25.03.14

Received 25.03.14