Таргетная терапия диабетической нейропатии: фокус на тиамин

Несмотря на широкую распространенность, экономические издержки, ухудшение качества жизни и выживаемости пациентов с сахарным диабетом (СД) 1 и 2 типа, проблемы, связанные с микроваскулярными нарушениями, особенно такими, как диабетическая нейропатия (ДН), по-прежнему остаются нерешенными. Помимо отсутствия точного знания о механизмах патогенеза заболевания и недостаточности гликемического контроля на практике открытыми остаются вопросы ранней диагностики и эффективного лечения ДН, базирующиеся на принципах доказательной медицины. С этих позиций перспективной является стратегия предотвращения активации патологических биохимических путей утилизации глюкозы, ведущих к нарушениям метаболизма и развитию микроваскулярных осложнений. Она базируется на данных исследований клеточной биологии и генетики и включает в себя поиск информативных и доступных генетических биомаркеров для ранней диагностики ДН, а также определение высокоточных мишеней для биологической терапии метаболических нарушений.

Актуальность проблемы диабетической полинейропатии

Диабетическая полинейропатия (ДПН), обусловленная микроваскулярными нарушениями, является наиболее распространенным осложнением СД. Оно встречается в 30% случаев СД и достигает 50% по мере увеличения возраста пациентов (D. Ziegler et al., 2014). ДПН служит предиктором опасных конечных точек, таких как сердечно-сосудистая заболеваемость (J.R. Brownrigg et al., 2014) и смертность (J. Calles-Escandon et al., 2010).

ДПН ложится тяжелым бременем на пациентов не только из-за хирургических осложнений (язвы стопы, необходимость ампутации), но и невропатической боли, которая существенно ухудшает качество жизни, а ее лечение требует увеличения личных и социальных расходов (A. Sadosky et al., 2015; C.J. Alleman et al., 2015). Кроме того, ДПН является наименее диагностированным, а следовательно, наиболее недооцененным из всех диабетических осложнений (E.M. Hoffman et al., 2015).

Для оценки ДПН пока еще не создано информативного и доступного теста, например такого как микроальбуминурия при диабетической нефропатии. Поэтому появление эквивалентного скрининга ДПН, основанного на оценке признаков и симптомов заболевания, является актуальным как для диабетологов, так и для врачей общей практики. Более того, несмотря на то что гликемический контроль оказался эффективным в качестве профилактики СД 1 типа, для успешного мониторинга СД 2 типа его оказалось недостаточно. При СД 2 типа ДПН может появляться даже раньше, т.к. ему часто предшествует нарушение толерантности к глюкозе (НТГ) или длительный период недиагностированного СД.

В настоящее время диагностический подход к ДПН в основном базируется на клинической оценке симптомов и признаков сенсомоторной дисфункции, а также на исследовании нервной проводимости. Вместе с тем современные исследователи считают, что наряду с гликемическим контролем необходимо продолжить поиск дополнительных мишеней при дальнейшем изучении прогрессирования данного заболевания (B. Fullerton et al., 2014; B.C. Callaghan et al., 2012).

Сегодня для лечения нейропатической боли при ДПН существует целый ряд препаратов различных групп. И хотя ни один из них не является универсальным, все же насчитывается несколько вариантов, приемлемых индивидуально для каждого больного СД, а новые вещества изучаются в ходе более чем 20 клинических исследований (EU Clinical Trials Register, 2016).

Патофизиологические механизмы развития ДПН

Результаты недавно опубликованных исследований, с одной стороны, обогатили знания о патогенезе ДПН, а с другой – поставили целый ряд новых вопросов. В настоящее время патогенез ДПН рассматривается как сложное взаимодействие синергических биохимических реакций, триггером для которых является не только гипергликемия, но и ряд других метаболических расстройств и состояний (дислипидемия, ожирение, артериальная гипертензия). Однако получены новые данные о том, что прогноз относительно развития и прогрессирования микроваскулярных осложнений у того или иного пациента не может базироваться только на наличии гипергликемии или других факторов риска.

Патофизиологическую основу микроваскулярных нарушений при СД составляют четыре биохимических пути, вызванных индуцированным гипергликемией процессом избыточного синтеза митохондриями супероксида (M. Brownlee, 2001). Накопление супероксида способствует перенаправлению гликолиза на патологические сигнальные пути, связанные с чрезмерным использованием глюкозы клеткой с образованием и накоплением недоокисленных промежуточных метаболитов. Одними из этих метаболитов являются фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат, которые, в свою очередь, являются конечными продуктами неокислительной фазы пентозофосфатного пути (H.P. Hammes et al., 2003). Их синтез регулируется тиаминдифосфатзависимым ферментом – транскетолазой (ТКТ), которая катализирует несколько ключевых реакций неокислительной фазы пентозофосфатного пути и служит мостиком между окислительной его фазой и декарбоксилированием пирувата, позволяя клетке адаптироваться к разнообразию метаболических потребностей в различных условиях окружающей среды (J. Zhao, C.J. Zhong, 2009).

Еще в 1998 г. G. Shenk и соавт. установили, что в физиологических условиях активность ТКТ примерно пропорциональна уровню гликемии и метаболитов, образующихся в результате обычного гликолиза. А в 2003 г. H.P. Hammes и соавт. выявили, что индуцированное гипергликемией повышение концентрации фруктозо-6-фосфата и глицеральдегид-3-фосфата может трансформироваться в пентозо-5-фосфаты и эритрозо-фосфаты только в условиях полной активации ТКТ ее кофактором – тиамином.

Биохимические пути метаболизма глюкозы и ключевая роль тиамина в активации ТКТ изображены на рисунке. Гипергликемия индуцирует отклонение нормального метаболизма глюкозы в сторону полиолового, гексозаминового путей, образования протеинкиназы С.

Метилглиоксаль синтезируется из промежуточных гликолитических соединений (глицеральдегид-3-фосфат и дигидроацетонфосфат), что в итоге ведет к образованию и накоплению продуктов конечного гликирования (AGE – Advanced Glicated End products). Глиоксалазная система (глиоксалаза 1 и 2) в ходе гликолиза способна метаболизировать метилглиоксаль в пируват. Все описанные метаболические расстройства ведут к развитию оксидативного стресса с образованием большого количества свободных радикалов, разрушению митохондрий на фоне снижения активности собственных антиоксидантных ферментных систем клеток; в результате развивается повреждение эндотелия и нервных волокон.

При активации тиамином в клетке ТКТ перенаправляет гликолиз фруктозо-6-фосфата и глицеральдегид-3-фосфата по пентозофосфатному пути. Пентозофосфатный шунт защищает клетки от повреждения AGE-продуктами и препятствует развитию микроваскулярных осложнений при СД. Снижение или блокада ТКТ нарушает этот защитный механизм, а тиамин является единственным активатором ТКТ, выводящей промежуточные метаболиты глюкозы через пентозофосфатный шунт (N. Karachalias et al., 2010; N. Rabbani et al., 2011; L. Pacal et al., 2014).

Таким образом, все патологические биохимические реакции при СД осуществляются с помощью различных сигнальных путей, некоторые из них функционируют в качестве своеобразных «хабов», являясь ключевыми в развитии повреждений нервных волокон и эндотелия: оксидативный стресс и митохондриальная дисфункция (S. Tesfaye et al., 2010). Уменьшения метаболических нарушений при СД можно достичь путем снижения оксидативного стресса или синтеза промежуточных метаболитов глюкозы и AGE-продуктов с помощью тиамина и его производных (бенфотиамин).

Новые данные о генетической восприимчивости к ДПН. Определение эффективных терапевтических мишеней

Ранее генетика развития ДПН была гораздо менее изученной и обсуждаемой темой по сравнению с диабетической ретинопатией и диабетической нефропатией. Этот факт, возможно, связан с проблемами диагностики ДПН. Кроме того, для генетических исследований необходимо большое количество пациентов с тщательно проведенной фенотипизацией, а в случае ДПН – с диагностическим подходом, основанным на исследованиях нервной проводимости или данных биопсии кожи. Вместе с тем генетические исследования требуют широкой координации между различными исследовательскими центрами, а также значительных затрат, поэтому каждый полученный результат, безусловно, представляет научную и практическую ценность.

На сегодняшний день основной темой исследований в области ДПН стал поиск генетических биомаркеров или соизмеримых показателей данного патофизиологического состояния. Эту гипотезу поддерживают факты, подтверждающие зависимость сроков развития ДПН от полиморфизма определенных генов у пациентов с СД 1 и 2 типа.

Необходимость определения чувствительных биомаркеров также подтверждается возможностью выявления в будущем пациентов с высоким риском развития ДПН еще на доклинической стадии. Более того, генетические биомаркеры, относящиеся к конкретным патогенетическим путям, смогут определять, какие механизмы развития осложнений активны для каждого пациента, и таким образом выявлять соответствующие терапевтические мишени. Поэтому роль генетически обусловленных факторов остается ключевой в прогнозировании развития, ранней диагностике и эффективном лечении ДПН.

В этой парадигме значительный научный и практический интерес представляют результаты исследований взаимосвязи недостаточности эссенциальных микронутриентов (тиамина) с метаболическими расстройствами при СД 1 и 2 типа.

Целью британского исследования P.J. Thornalley и соавт. (2007) было изучение маркеров метаболического контроля и сосудистой дисфункции для выявления их взаимосвязи с низкой плазменной концентрацией тиамина при СД. В исследовании приняли участие 26 пациентов с СД 1 типа и 48 – 2 типа. Контрольная группа была представлена 20 здоровыми добровольцами. Определялась активность эритроцитарной ТКТ, концентрация тиамина и сопряженных фосфорилированных метаболитов в плазме крови, эритроцитах и моче, а также маркеры метаболического контроля и сосудистой дисфункции (глюкоза плазмы крови, показатели липидного обмена, артериальное давление, скорость клубочковой фильтрации, некоторые факторы свертывания крови, молекулы адгезии сосудистых клеток sVCAM-1).

При оценке статуса тиамина у пациентов с СД 1 и 2 типа было обнаружено значительное снижение его плазменной концентрации по сравнению с группой здоровых добровольцев. Среднее значение плазменной концентрации тиамина составило: 64,1±12,0 нмоль/л (группа добровольцев), 15,3±9,6 нмоль/л (пациенты с СД 1 типа) и 16,3±11,5 нмоль/л (пациенты с СД 2 типа). При этом значимой разницы плазменных концентраций тиамина у пациентов с СД обоих типов, а также между пациентами с микроальбуминурией или без нее не выявлено ($p \geq 0,05$).

У пациентов исследуемых групп была обнаружена повышенная экскреция тиамина с мочой по сравнению с контрольной группой – в 4 раза при СД 1 типа и 3 раза при СД 2 типа. Средние значения (минимум-максимум) этого показателя, согласно U-тесту Манна - Уитни, составили: 1,36 (0,39-7,65) – µмоль/сут у пациентов с СД 1 типа; 1,04 (0,08-6,85) µмоль/сут – у пациентов с СД 2 типа и 0,31 (0,23-2,45) µмоль/сут – у здоровых добровольцев. При этом экскреция тиамина с мочой хотя и была выше у пациентов с СД 1 типа по сравнению с больными СД 2 типа, но существенно не отличалась у больных СД с микроальбуминурией или без нее в обеих исследуемых группах. Авторами исследования был сделан вывод, что механизм повышения клиренса тиамина при СД нуждается в дальнейшем изучении.

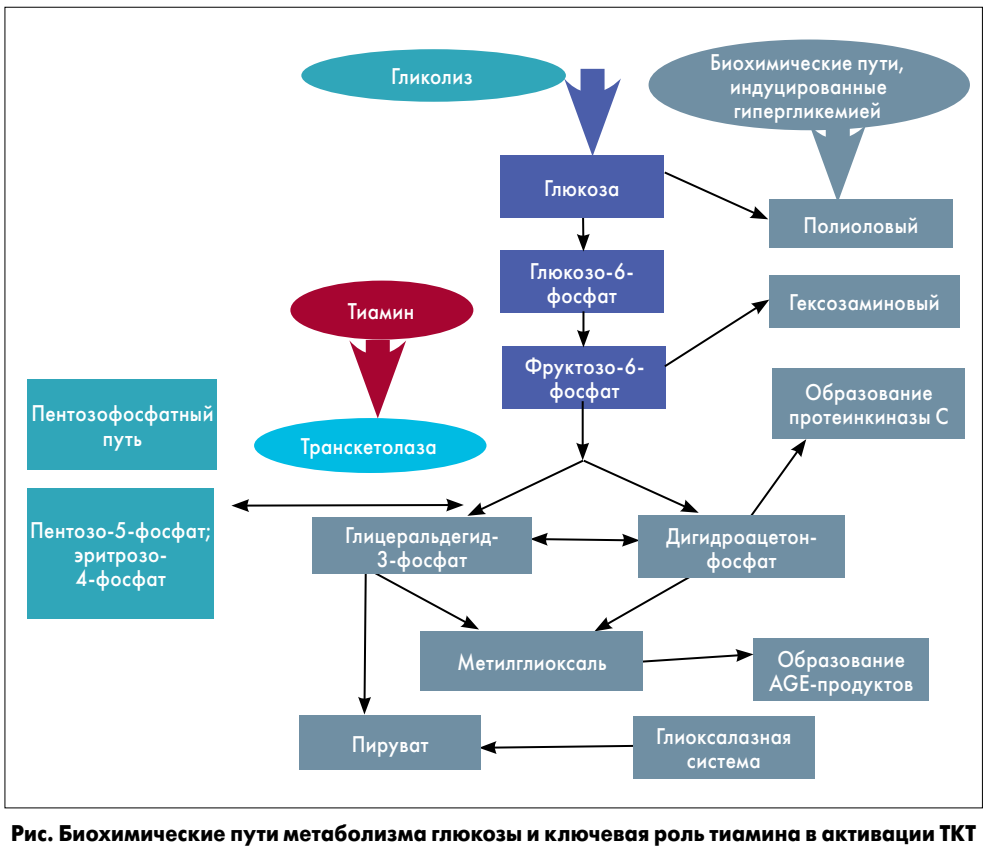

Рис. Биохимические пути метаболизма глюкозы и ключевая роль тиамина в активации ТКТ

Дефицит тиамина также устанавливался путем измерения активности ТКТ эритроцитов. При этом был обнаружен интересный феномен: эритроцитарная активность ТКТ и концентрация тиамина в эритроцитах у пациентов с СД 1 и 2 типа существенно не отличалась от таковой у добровольцев, в то время как плазменная концентрация тиамина в исследуемых группах по сравнению с контрольной была значительно снижена. Исследователи выявили, что дефицит тиамина в эритроцитах при СД обоих типов «маскируется» повышенным содержанием белков – переносчиков этого микронутриента. В связи со снижением способности эритроцитов синтезировать белок повышение содержания транспортных белков происходит путем увеличения экспрессии генов, которые их кодируют. Повышение экспрессии генов, кодирующих белки – переносчики тиамина, а также уровня данных белков в плазме – это ответ на дефицит тиамина и коррелирует с его низкой плазменной концентрацией у пациентов с СД 1 и 2 типа. Поэтому оценка дефицита тиамина по уровню активности эритроцитарной ТКТ не является объективной и нуждается в эквивалентных генетических биомаркерах.

Низкая плазменная концентрация тиамина достоверно коррелирует с маркерами сосудистой дисфункции при СД двух типов. В ходе исследования была установлена обратная корреляция между низкой плазменной концентрацией тиамина при СД и содержанием в плазме крови маркера эндотелиальной дисфункции и повышенного риска атеросклероза sVCAM-1.

Низкая плазменная концентрация тиамина у пациентов с СД могла быть не столь значимой, если бы ткани могли регулировать экспрессию генов и уровень белков – переносчиков тиамина, а также поддерживать нормальную активность ТКТ. Это происходит при нормальном уровне глюкозы в крови. Однако при гипергликемии стимуляция гексозаминового пути способна блокировать повышенную экспрессию генов, кодирующих белки – переносчики тиамина, в результате чего возникает его дефицит в тканях и усугубление характерных для СД метаболических нарушений.

В данном исследовании также было установлено, что уровень sVCAM-1 был повышен у пациентов с СД двух типов и нормальной почечной функцией, что было связано с макро- и микроваскулярными осложнениями СД. Кроме того, было выявлено, что связь развития осложнений с гликемическим контролем менее достоверна.

Результаты, полученные в ходе исследования, позволили его авторам сделать целый ряд важных практических выводов:

- для пациентов с СД 1 и 2 типа характерна низкая плазменная концентрация тиамина;
- стандартный метод определения содержания тиамина по активности ТКТ эритроцитов может быть неинформативным в связи с повышением уровня белков – переносчиков тиамина;
- дефицит тиамина при СД может увеличить восприимчивость сосудистых клеток к побочным эффектам гипергликемии и таким образом повышать риск развития микроваскулярных осложнений;
- сниженная концентрация тиамина в плазме и повышенное содержание маркера эндотелиальной дисфункции sVCAM-1 может быть предиктором риска развития микроваскулярных осложнений при СД 1 и 2 типа вне зависимости от особенностей национальной диеты и способов приготовления пищи;
- коррекция низких плазменных концентраций тиамина путем дополнительного приема больших его доз может снизить риск микроваскулярных осложнений при СД 1 и 2 типа.

L. Pacal и соавт. (2014) опубликовали обзор исследований физиологической роли тиамина в метаболизме глюкозы и аминокислот, распространенности и степени дефицита тиамина у пациентов с СД, а также описали последствия дефицита (клинически проявленного либо латентного). В обзоре авторы отмечают, что содержание тиамина в плазме преимущественно отражает уровень его потребления, а не клеточную концентрацию, и объясняют, почему при СД необходимость в тиамине увеличивается. Также было показано, что лечение тиамином и его производными (бенфотиамин) повышает активность пентозофосфатного шунта.

M. Porta и соавт. (2015) изучали роль генетических факторов в развитии тяжелых микроваскулярных осложнений при СД. Поскольку тиамин регулирует внутриклеточный метаболизм глюкозы и корректирует образование множественных повреждающих факторов, индуцированных гипергликемией, было установлено, что некоторые пациенты с СД 1 типа менее склонны к развитию тяжелой ретинопатии и/или нефропатии вследствие наличия у них двух определенных однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphismus – SNP) в локусе SLC19A3 белка – переносчика тиамина. Полученные данные свидетельствовали о том, что генетические вариации этого белка играют важную роль в патогенезе микроваскулярных осложнений при СД и подтверждают важность генетически детерминированной изменчивости транспорта тиамина на индивидуальную восприимчивость к гипергликемии.

В проспективном когортном исследовании GDS (German Diabetes Study), проведенном D. Ziegler и соавт. (2016), изучалась новая гипотеза о том, что генетически обусловленная вариабельность ТКТ может способствовать повышенной склонности к более раннему развитию ДПН у пациентов с впервые выявленным СД 1 и 2 типа. Более того, дальнейшее обследование пациентов с недавно диагностированным СД показало ассоциацию определенных генотипов ТКТ с ранним развитием ДПН у мужчин с СД 2 типа. Этот факт позволяет провести стратификацию рисков ДПН в зависимости от типа диабета и гендерных различий.

В исследовании приняли участие 538 пациентов: 165 – с СД 1 типа и 373 – с диабетом 2 типа. Критериями включения пациентов в исследуемые группы были также длительность СД менее 1 года и возраст 18-69 лет. Критериями исключения были: несахарный диабет, беременность, тяжелые сопутствующие заболевания (например, онкопатология), психические расстройства, иммуносупрессивная терапия, ограниченная способность к сотрудничеству и невропатия по причинам, отличным от диабета.

Примерно у 22% от общего числа пациентов была идентифицирована ДПН; диагностическая оценка включала симптомы и объективные признаки нарушения нервной проводимости. Статистический анализ данных обеих групп пациентов включал в себя также маркеры метаболического контроля и сосудистой функции.

При генотипировании ТКТ авторы выбрали 13 из 76 SNP (single nucleotide polymorphismus) – меток гена ТКТ, обнаруженных с малой частотой аллеля (MAF ≥0,02). Дальнейшее генотипирование было успешным для 9 SNP-меток, которые охватывают 73% всех общих мутаций гена ТКТ в локусе 3-й хромосомы.

Особенностью этого исследования было также измерение уровня метилглиоксаля в плазме. Известно, что это вещество представляет собой промежуточный продукт гликолиза, который в результате дальнейшего неферментативного связывания с остатками аргинина трансформируется в AGE-продукты.

Ранее была установлена связь между повышением уровня метилглиоксаля в плазме и развитием болевой формы ДПН (в отличие от безболевой) у пациентов с СД 2 типа. Этот факт подтверждает гипотезу о том, что метилглиоксаль может служить биомаркером при определении различных фенотипов ДПН (A. Bierhaus et al., 2011; C.S. Hansen et al., 2012; J.B. Groener et al., 2013; E. Scapare et al., 2013).

В свою очередь, D. Ziegler и соавт. (2016) предположили, что если генетически обусловленная вариабельность снижает внутриклеточную активность ТКТ, то ожидаемым последствием будет уменьшение активности пентозофосфатного шунта и перенаправление гликолиза на альтернативные пути с повышением уровней метилглиоксаля и AGE-продуктов. Авторами исследования был сделан вывод о том, что активация ТКТ является защитным механизмом, препятствующим синтезу и накоплению недоокисленных продуктов гликолиза. В ходе исследования впервые была установлена ассоциация между ДПН и некоторыми SNP ТКТ, способными служить биомаркерами для определения терапевтических мишеней и отбора кандидатов для лечения данного осложнения. Эта ассоциация более релевантна для СД 2 типа и мужского пола.

Сильными сторонами указанного исследования также являются наличие относительно больших, однородных и широко фенотипированных групп пациентов с ранними проявлениями диабета и комплексная количественная оценка у них функции периферических нервов.

Перспективы применения тиамина и его производных

Результаты недавних исследований подтверждают, что риск осложнений СД не полностью объясняется длительностью заболевания и долгосрочным гликемическим воздействием.

Идентификация ассоциации полиморфизма генов, кодирующих ТКТ и метаболизм тиамина, с риском развития ДПН может быть первым шагом в определении генетического профиля такого риска и потенциальных терапевтических мишеней. Таким образом, по-прежнему существует потребность в высококачественных клинических исследованиях для устранения пробелов в доказательствах и расширения рекомендаций по использованию тиамина и его производных в терапии генетически модифицированных осложнений СД (A.D. Raval et al., 2015).

Результаты, полученные D. Ziegler и соавт. (2016), фокусируют внимание исследователей как на дальнейшем поиске генетических биомаркеров ДПН, так и на попытках определения ТКТ, продуктов дисфункционального метаболизма, а также применения тиамина и бенфотиамина в диагностике, лечении и предотвращении ДПН на ранних стадиях.

Известно, что в ежедневной клинической практике целесообразнее применять комплексное введение препаратов, повышающее комплайенс пациентов, что особенно важно для страдающих такими тяжелыми заболеваниями, как СД 1 и 2 типа.

В Украине для патогенетической терапии ДПН применяется оригинальный комплексный препарат Мильгамма («Верваг Фарма», Германия), который зарегистрирован в двух лекарственных формах: растворе для инъекций в ампулах и таблетках. Инъекционная форма препарата содержит тиамин, пиридоксин по 100 мг и цианокобаламин в дозе 1000 мкг. Наряду с тиамином пиридоксин (витамин B_6) блокирует образование и накопление AGE-продуктов, а также является кофактором многих ферментов, регулирующих белковый и жировой обмен. Цианокобаламин (витамин B_{12}) также регулирует процессы клеточного обмена и способствует миелинизации нервных волокон, уменьшая болевые ощущения при их поражении. Кроме того, в состав препарата входит 20 мг лидокаина, способствующего уменьшению болевых ощущений при внутримышечном введении; это имеет особенное значение для пациентов с болевыми формами ДПН и повышает их приверженность лечению.

Мильгамма таблетки содержат 100 мг бенфотиамина и 100 мг пиридоксина. Жирорастворимое производное тиамина – бенфотиамин при пероральном введении имеет большую биодоступность по сравнению с водорастворимым тиамином, поскольку лучше всасывается в кишечнике, не разрушается тиаминазами и легко проникает через липидные слои клеточных мембран.

Безопасность и эффективность нейротропных комплексов Мильгамма в случае необходимости их длительного приема подтверждена в многочисленных клинических исследованиях, а также более чем 10-летним опытом применения в Украине.

Таким образом, изучение фармакогеномики, рассматривающей генетически детерминированные варианты ТКТ, а также метаболизма тиамина и его производных (бенфотиамина) становится долгосрочной стратегией в оптимизации терапии метаболических расстройств при СД 1 и 2 типа с позиций доказательной медицины и персонифицированного подхода к пациенту. Очевидно, что дальнейшие исследования в этой области позволят расширить рекомендации по применению тиамина и бенфотиамина для лечения и предупреждения ДПН.

Подготовила ***Наталия Позднякова***