

МАРКЕРЫ АУТОИММУННОГО ПРОЦЕССА ПРИ ИНСУЛИНЗАВИСИМОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Кафедра внутренних болезней с пропедевтикой внутренних болезней (зав. — проф. В. А. Галенок)
педиатрического факультета Новосибирского медицинского института

Инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗСД) рассматривается в настоящее время большинством исследователей как аутоиммунное заболевание с деструкцией β -клеток островков поджелудочной железы, развивающееся под действием факторов окружающей среды при наличии генетической предрасположенности [1, 5, 14]. Аутоиммунный процесс (АИП), протекающий у больных с разной степенью агрессии, клинически характеризуется различным течением заболевания.

На фоне заболевания у больных манифестируют, а затем начинают прогрессировать проявления ангиопатий. Именно ими определяется социальная значимость патологии, так как поражение сосудов является наиболее частой причиной инвалидизации и летальности пациентов (ампутации конечностей, слепота, хроническая почечная недостаточность — ХПН, ишемическая болезнь сердца) [13]. В сложном генезе ангиопатий заметную роль играют аутоиммунные механизмы [3, 4, 17]. Все это делает актуальным поиск маркеров активности АИП при ИЗСД с целью возможно ранней иммунокоррекции.

Большинство работ по иммуногенезу ИЗСД посвящено характеристике клеточного звена иммунного ответа [11, 15, 16, 19, 20]. Выявлено, что при прогрессировании АИП у больных ИЗСД повышается экспрессия маркеров активации на Т-лимфоцитах: увеличиваются количество DR-позитивных клеток, уровень сывороточного неоптерина как маркера эндогенной продукции — γ -интерферона, антигенов Т9 (рецептора к трансферрину) и CD25 (рецептора к интерлейкину-2) [8, 9, 22]. Вместе с тем в последние годы показано, что деструкция β -клеток поджелудочной железы в становлении ИЗСД включает 2 этапа [18]: моноцитарный и Т-лимфоцитарный. Моноцитарный этап характеризуется активацией под влиянием секретируемых моноцитами интерлейкина-1 и опухоленекротизирующего фактора α свободнорадикальных процессов с деструктивным влиянием на β -клетки и денатурацией β -клеточных белков с приобретением последними антигенных свойств. Известны также многочисленные работы о роли аутоантител при ИЗСД [3—5, 7, 10, 12]. Таким образом, в иммунном ответе при ИЗСД участвуют моноцитарное и гуморальное звенья, которые и были проанализированы в настоящем исследовании.

Материалы и методы

Обследовано 88 больных ИЗСД мужского и женского пола в возрасте от 9 до 67 лет (средний возраст $22,14 \pm 4,51$ года) с длительностью заболевания от впервые выявленного до продолжающегося в течение 44 лет (в среднем $6,61 \pm 4,34$ года). По 20 человек составили группы больных с впервые выявленным диабетом и длительностью

заболевания от 6 мес до 5 лет, у 48 больных заболевание продолжалось более 5 лет. В последней группе у 43 (89,6%) пациентов наблюдались диабетические ангиопатии разной степени выраженности, нередко в сочетании друг с другом. Наличие ангиопатий выявляли клинически и лабораторными исследованиями, включающими реовазографию, периферических сосудов, реоэнцефалографию, электроэнцефалографию, общий анализ мочи по Нечипоренко, Зимницкому, пробу Реберга, ренографию, а также осмотр окулистом и невропатологом. Характеризуя ангиопатии, можно отметить, что непролиферативная и препролиферативная ретинопатии наблюдались у 48,8% больных, пролиферативная ретинопатия — у 51,2%, нефропатия без ХПН — у 37,2 %, с I—II стадией ХПН — у 48,8 %, с III—IV стадией ХПН — у 14%, полинейропатия — у 100%, энцефалопатия — у 30,2% больных. Пациенты или не имели сопутствующей патологии, или имели заболевания без аутоиммунного патогенеза (хронический бронхит и пиелонефрит, ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь). Больные получали инсулинотерапию в базис-болюсном режиме, при наличии соответствующих показаний ангиопротекторы, дезагреганты, метаболические средства, мочегонные препараты. Кровь на исследование брали натощак в начале госпитализации больного в стационар. В контрольную группу вошли 30 доноров мужского и женского пола в возрасте от 18 до 42 лет (средний возраст $21,11 \pm 1,08$ года) без наличия АИП в анамнезе, в том числе и у близких родственников.

В периферической крови доноров и больных в динамике изучали характеристики моноцитарного и В-клеточного звеньев иммунного ответа. Количество моноцитов оценивали в монослосе, подсчитывая экспрессирующие Fc-рецептор клетки методом ЕА-розеткообразования. ЕА-комплексы состояли из эритроцитов барана, нагруженных кроличьими антителами в субагглютинирующей дозе. Функциональную активность моноцитов определяли в тесте НСТ-редукции [6]. Количество В-лимфоцитов подсчитывали методом непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами CD19 ("Сорбент", Москва), а их функциональную активность определяли по уровню иммуноглобулинов (Ig) классов G, M, A в сыворотке методом радиальной иммунодиффузии.

Статистическую обработку данных производили методами вариационной статистики [2]. Вариационные ряды сравнивали с помощью непараметрического Т-парного критерия Вилкоксона.

Результаты и их обсуждение

Характеристика моноцитарного звена иммунного ответа представлена в табл. 1. В общей попу-

Таблица 1

Характеристика моноцитарного звена иммунного ответа у больных ИЗСД в сравнении с донорами

Показатель	Доноры (n = 30)	Больные ИЗСД (n = 88)
Fc-позитивные клетки, %	17,4 ± 0,8	82,9 ± 3,2*
НСТ-редукция моноцитов	19,3 ± 1,1	5,9 ± 0,7*

Примечание. * — различия достоверны ($p < 0,001$) в сравнении с группой доноров.

ляции больных ИЗСД количество моноцитов в 4,8 раза выше, чем у доноров, а их активность в 3,3 раза ниже. Названные особенности выявлены у 86 (97,7%) обследованных независимо от длительности заболевания, характера клинического течения и лечения. У 2 больных показатели соответствовали среднестатистической норме, однако не известен их уровень до заболевания: возможно, показатели являются повышенными в сравнении с индивидуальной нормой больного. Выявленные особенности моноцитарного звена наблюдались и у больных с впервые диагностированным ИЗСД. Вероятно, они имеют место и на доклинической стадии заболевания, учитывая данные о первичности моноцитарного этапа поражения β -клеток поджелудочной железы.

Характеристика гуморального звена иммунного ответа представлена в табл. 2. Как видно из табл. 2, относительное количество В-лимфоцитов у больных ИЗСД достоверно ($p < 0,05$) выше, чем у доноров. При этом в динамике у пациентов с впервые выявленным заболеванием количество В-лимфоцитов повышено, на протяжении болезни оно несколько снижается, а при развитии ангиопатий вновь увеличивается. Изменение показателей абсолютного количества В-лимфоцитов недостоверно. Наши результаты согласуются с данными литературы об участии В-лимфоцитов в патогенезе диабета и диабетических ангиопатий [7, 9, 12]. В табл. 2 также показано, что среди сывороточных Ig в общей популяции больных ИЗСД достоверно ($p < 0,05$) повышен только уровень IgG, при этом наибольшее повышение выявлено в группе с впервые выявленным заболеванием, а затем величина показателя снижается, максимально — при развитии ангиопатий. Количество IgM

имеет тенденцию к повышению, наибольшую при наличии у пациента поражения сосудов. Среднестатистическое количество IgA у больных не изменено, но у отдельных пациентов, преимущественно из группы с впервые диагностированным заболеванием, резко снижено.

Конечно, сывороточные Ig характеризуют не только специфические для ИЗСД антитела, но, учитывая, что под наблюдением находились больные либо без сопутствующей патологии, либо с наличием заболеваний, для которых нехарактерно образование антител в большом количестве, можно предположить, что выявленные изменения определяются особенностями основного заболевания.

IgG через связывание эндогенного инсулина и активацию комплемента способствует деструкции β -клеток поджелудочной железы [12]. Со временем количество функционирующих β -клеток уменьшается, а уровень IgG снижается. В развитии диабетических ангиопатий принимают участие циркулирующие иммунные комплексы, в состав которых входят антитела классов G и M [3, 12]. В первичном иммунном ответе участвуют IgM-антитела, и при развитии и прогрессировании ангиопатий наблюдается их избыточная секреция. Во вторичном иммунном ответе большую роль играют IgG-антитела, которые, связываясь с липопротеидными антигенными комплексами, участвуют в образовании циркулирующих иммунных комплексов, а уровень свободного IgG в сыворотке снижается. Известно также, что дефицит IgA связан с агрессивным течением аутоиммунных заболеваний, в том числе ИЗСД [11]. По нашим данным, сниженный уровень IgA чаще наблюдается на этапах заболевания, когда АИП наиболее активен, т. е. когда для последнего есть субстрат, функционирующие β -клетки.

3-летний катамнестический анализ полученных результатов указывает на прогностическое значение исследования гуморального звена у больных ИЗСД. Мы обратили внимание на следующие маркеры активности АИП. Повышенное количество В-лимфоцитов при манифестации заболевания прогностически неблагоприятно. Больные с дефицитом IgA в наших наблюдениях характеризовались тяжестью клинических проявлений, с гиперпродукцией IgG при манифестации — быст-

Таблица 2

Характеристика гуморального звена иммунного ответа у больных ИЗСД в сравнении с донорами

Показатель (1)	Доноры (n = 30) (2)	Все больные ИЗСД (n = 88) (3)	Больные ИЗСД		
			с впервые поставленным диагнозом (n = 20) (4)	с длительностью болезни	
				6 мес—5 лет (n = 20) (5)	более 5 лет (n = 48) (6)
CD19-позитивные клетки, %	16,9 ± 2,2	20,7 ± 0,9 $p_{3-2} < 0,05$	25,3 ± 1,5 $p_{4-3} < 0,05$	18,3 ± 1,1	23,2 ± 2,0
CD19-позитивные клетки, $\cdot 10^9/\text{л}$	0,25 ± 0,14	0,31 ± 0,18	0,38 ± 0,24	0,32 ± 0,26	0,34 ± 0,26
IgG, мг/дл	1096 ± 24	1173 ± 49 $p_{3-2} < 0,05$	1899 ± 61 $p_{4-3} < 0,001$	1270 ± 29	912 ± 74
IgM, мг/дл	141 ± 23	226 ± 71	186 ± 54	200 ± 82	294 ± 66
IgA, мг/дл	184 ± 56	176 ± 47	188 ± 55	179 ± 52	181 ± 55

Примечание. Отмечены только достоверно значимые различия.

рыми темпами снижения уровня С-пептида в сыворотке (в течение нескольких недель — 4 мес) с увеличением потребности в дозе инсулина. Гиперпродукция IgM сопровождалась прогрессированием имеющихся или появлением новых локализаций сосудистых поражений.

Приведем несколько примеров прогностического значения результатов исследования гуморального звена иммунного ответа у больных.

Больная С., 11 лет. Страдает ИЗСД 7 мес. Уровень В-лимфоцитов 29%, IgG 1682 мг/дл, IgM 375 мг/дл, IgA 60 мг/дл. Показатели свидетельствуют о сравнительно недавно начавшемся инсулите (увеличение количества В-лимфоцитов и повышение уровня IgG), быстром прогрессировании АИП (повышение уровня IgG и снижение содержания IgA), развитии микроангиопатий (повышение уровня IgM). В динамике через 1,5 года болезни у пациентки в общем анализе мочи протеинурия 0,5 г/л, снижение клубочковой фильтрации по пробе Реберга до 76 мл/мин, на глазном дне обоих глаз признаки ангиоретинопатии.

Больная Я., 20 лет. При манифестации ИЗСД количество В-лимфоцитов (15 %), уровень IgG (1500 мг/дл), IgM (105 мг/дл), IgA (188 мг/дл) не изменены. На протяжении 3 лет наблюдения показатели сохранялись в пределах нормы. Через 3 года — диабет субкомпенсирован, доза инсулина 0,48 ЕД/кг массы тела, признаков ангиопатий не выявлено.

Больная Д., 14 лет. Страдает ИЗСД 6 лет. В анамнезе кетоацидотические состояния до 6—7 раз в год на фоне частого нарушения диеты. При обследовании количество В-лимфоцитов (18%), IgG (1325 мг/дл), IgM (200 мг/дл), IgA (159 мг/дл) без отклонений от нормы. Доза инсулина 0,72 ЕД/кг массы тела, признаков ангиопатий не обнаружено.

Больной К., 9 лет. При манифестации ИЗСД количество В-лимфоцитов 21 %, IgG 1888 мг/дл, IgM 243 мг/дл, IgA 272 мг/дл. Увеличены уровни IgG и IgA, что прогностически неблагоприятно в плане быстрого прогрессирования болезни. Через 2,5 года — диабет субкомпенсирован, доза инсулина 1,02 ЕД/кг массы тела. При обследовании: количество В-лимфоцитов 30 %, уровень IgG 700 мг/дл, IgM 517 мг/дл, IgA 328 мг/дл. Значительно повышено содержание IgM, увеличился уровень В-лимфоцитов (признаки ангиопатий). В анализах мочи периодически протеинурия до 0,12 г/л, снижение кровенаполнения сосудов ног при реовазографии. Повышенный уровень IgA, вероятно, свидетельствует о продолжающейся активности АИП.

Больной А., 26 лет. Болен ИЗСД с 6 лет. В анамнезе — нарушения диеты, эпизоды кетоацидотических состояний. С 10 лет у больного выявлены признаки наличия микроангиопатии периферических сосудов по результатам реовазографического исследования, с 19 лет в анализах мочи периодически белок до 0,5 г/л, ангиоретинопатия. При обследовании 6 мес назад количество В-лимфоцитов 25 %, IgG 604 мг/дл, IgA 220 мг/дл, IgM 411 мг/дл. Резко повышен уровень IgM, что свидетельствует о быстром прогрессировании ангиопатий, хотя клинических и лабораторных признаков прогрессирования в то время не найдено. Ухудшение состояния последние 3—4 мес: резко снизилось зрение, появились постоянные боли, чувство онемения и холода в стопах и голенях, протеинурия увеличилась до 7—8 г/л.

Следует отметить, что показатели моноцитарного звена у всех перечисленных больных соответствовали таковым в общей популяции пациентов и не имели прогностического значения.

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что исследование гуморального звена иммунного ответа имеет прогностическое значение у больных с манифестировавшим ИЗСД. Изучение же моноцитарного звена показано у предрасположенных к ИЗСД людей. Трудности проведения последних исследований связаны с отсутствием четких критериев для формирования групп риска по ИЗСД. Остается также неясным, на каком доклиническом этапе заболевания эти изменения могут быть зарегистрированы у человека. Эти проблемы требуют дополнительных исследований, хотя известно, что на жи-

вотных уже получены положительные результаты по предупреждению диабета на доклинической стадии через воздействие на моноциты с помощью, например, интерлейкина-10, угнетающего продукцию интерлейкина-12 и тем самым препятствующего активации клеточного этапа деструкции β -клеток [21].

Проведенное исследование не дает ответа на вопрос о первичности и вторичности патогенеза ангиопатий по отношению к ИЗСД: являются ли ангиопатии осложнением заболевания или его проявлением? Для решения этого вопроса необходимы дальнейшие эксперименты.

Изучение разных звеньев иммунного ответа показало актуальность их исследования у больных ИЗСД. Необходима разработка показаний к направлению пациента на иммунологическое обследование, периодичности и объема обследования при повторных взятиях крови. Проведенные эксперименты подтверждают назревшую актуальность разработки вопросов иммуномодулирующей терапии больных ИЗСД с целью замедления прогрессирования АИП, что требует углубленных исследований.

Таким образом, чем активнее проводится изучение иммунопатогенеза ИЗСД, тем больше появляется новых вопросов и проблем, для решения которых необходимы дальнейшие экспериментальные работы.

Выводы

1. Исследование моноцитарного и гуморального звеньев иммунного ответа имеет прогностическое значение для характеристики АИП у больных ИЗСД.
2. Прогностическое изучение моноцитарного звена показано у предрасположенных к ИЗСД людей, а гуморального — у больных с манифестировавшим заболеванием.
3. Прогностически неблагоприятными в плане развития заболевания являются повышенное количество Fc-позитивных клеток и низкая НСТ-редукция моноцитов.
4. Прогностически неблагоприятными на фоне манифестировавшего заболевания являются высокий уровень IgG при выявлении ИЗСД, увеличение содержания IgM и количества В-лимфоцитов, а также снижение уровня IgA.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галенок В. А., Жук Е. А. // Тер. арх. — 1995. — № 12. — С. 80—84.
2. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. — Л., 1978. — С. 68—91.
3. Ефимов А. С. // Пробл. эндокринологии. — 1990. — № 4. — С. 52—57.
4. Жук Е. А., Галенок В. А. // Тер. арх. — 1995. — № 10. — С. 12—15.
5. Злобина Е. Н., Дедов И. И. // Пробл. эндокринологии. — 1993. — № 5. — С. 51—58.
6. Михеенко Т. В., Громыкина Н. Ю., Козлов В. А., Лозовой В. П. Комплекс методов изучения иммунорегуляторной функции мононуклеарных фагоцитов при оценке иммунного статуса человека: Метод. рекомендации. — Новосибирск, 1991.
7. Никонова Т. В. Изучение ряда показателей клеточного и гуморального иммунитета при I и II типе сахарного диабета. Автореф. дис. канд. мед. наук. — М., 1990.
8. Саложин К. В., Насонова Е. Л., Сура В. В. и др. // Клиническая медицина. — 1989. — № 10. — С. 118—121.

9. Саложин К. В. Показатели клеточного иммунитета при недавно выявленном сахарном диабете и диабетической нефропатии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1990.
10. Шишко П. И. // Тер. арх. — 1991. — № 6. — С. 146—151.
11. Cerutti F., Urbino A., Sacchetti C. et al. // *Pediatr. Med. Chir.* — 1988. — Vol. 10, N 2. — P. 197—202.
12. Cooke A. // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* — 1990. — Vol. 164. — P. 125—142.
13. Diabetes Mellitus: Report of a WHO Study Group (WHO Techn. Rep. Ser. 727). — Geneva, 1985.
14. Grob P. J. Diabetes and Immunology: Pathogenesis and Immunotherapy. — Vienna, 1982. — P. 119—132.
15. Hussain M. J., Peakman M., Gallati H. et al. // *Diabetologia.* — 1996. — Vol. 39, N 1. — P. 60—69.
16. Leslie R. D. C. // *Diabet. Rev.* — 1992. — Vol. 1, N 1. — P. 12—14.
17. Lopes-Virella M. F., Virella G. // *Diabetes.* — 1992. — Vol. 41, Suppl. 2. — P. 86—91.
18. Nerup J., Mandrup-Poulsen T., Helqvist S. et al. // *Diabetologia.* — 1994. — Vol. 37, Suppl. 2. — P. 82—89.
19. Peakman M., Vergani D. // *Diabet. Rev.* — 1992. — Vol. 1, N 2. — P. 5—8.
20. Poep B. O., De Vries R. R. P. // *Eur. J. Clin. Invest.* — 1992. — Vol. 22, N 11. — P. 697—711.

21. Rothe H., Burkart V., Faust A., Kolb H. // *Diabetologia.* — 1996. — Vol. 39, N 1. — P. 119—122.
22. Tomoda T., Kurashige T., Taniguchi T. // *Ibid.* — 1994. — Vol. 37, N 5. — P. 476—482.

Поступила 18.09.96

V. A. Galenok, Ye. A. Zhuk — AUTOIMMUNE PROCESS MARKERS IN INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS

Summary. Quantitative and functional parameters of the monocyte and B-cell immunity were assessed in patients with insulin-dependent diabetes over the course of disease. Studies of the monocyte component in subjects predisposed to disease and of the humoral one in those with clinical manifestations are valuable for predicting the autoimmune process. Signs predicting a poor outcome are increase of the count of Fc-positive cells, decrease of NBT reduction of monocytes in subjects without signs of the disease, high levels of immunoglobulin G in manifest disease, and increase of IgM and B-lymphocyte count and decrease of IgA over the course of the disease.

© А. П. НЕСТЕРОВ, 1997

УДК 617.7-02:616.379-008.64

А. П. Нестеров

ДИАБЕТИЧЕСКИЕ ПОРАЖЕНИЯ ОРГАНОВ ЗРЕНИЯ

Кафедра глазных болезней (зав. — акад. РАМН А. П. Нестеров) РГМУ, Москва

Поражения органа зрения, в той или иной мере связанные с сахарным диабетом (СД), многообразны. Их можно разделить на экстраокулярные и окулярные. Заслуживает отдельного рассмотрения диабетическая ретинопатия (ДР), которая является одним из самых серьезных поздних осложнений СД.

Экстраокулярная патология

При СД часто наблюдаются поражения век (ксантелазмы, ячмени, халазионы, экзема, блефариты), конъюнктивы (острые и хронические воспаления, ангиопатии) и парезы экстраокулярных мышц. Парезы возникают у больных пожилого возраста, их связывают с ангиопатиями глазодвигательных нервов. Чаше поражается VI, реже — III пара черепно-мозговых нервов. Основные симптомы — диплопия и головные боли. Парезы обычно носят преходящий характер, но могут рецидивировать. Ангиопатии конъюнктивы заключаются в расширении, неравномерности калибра и извитости конъюнктивальных вен, появлении микроаневризм в лимбальной зоне и мелких геморрагий. Другие отмеченные выше изменения носят неспецифический характер, и СД следует рассматривать только как фактор риска, увеличивающий частоту их возникновения.

Окулярная патология

Окулярные поражения при СД можно разделить на специфические и неспецифические, но встречающиеся у больных диабетом чаще, чем у лиц с общей патологией. К неспецифическим окулярным поражениям относят дистрофию радужки, особенно ее пигментного листка, передний увеит, сенильную катаракту, первичную открытоугольную глаукому и астероидный гиалоз,

при котором в стекловидном теле появляется большое количество мельчайших белых или желтоватых частиц, содержащих кальций или холестерин.

Специфические окулярные поражения при СД включают в себя ДР, которая может осложняться грубыми изменениями в стекловидном теле, гемофтальмом, отслойкой сетчатки, неоваскуляризацией радужки и неоваскулярной глаукомой. Следует отметить, что при резко выраженной гиперлипемии, вызванной кетозом, цвет сосудов сетчатки, наблюдаемых при офтальмоскопии, становится розовым или даже желтовато-белым (lipemia retinalis). После коррекции кетоза восстанавливается нормальный цвет сосудов [13].

К специфическим поражениям относят также "истинную диабетическую катаракту", которая начинается с появления хлопьевидных помутнений под капсулой хрусталика и может затем быстро прогрессировать. Этот тип катаракты возникает у лиц молодого возраста с очень высоким содержанием сахара в крови и резкими его колебаниями [7].

ДР: эпидемиология

ДР относят к поздним осложнениям СД. Вместе с тем ее можно рассматривать не как осложнение СД, а как неизбежный результат развития патологических изменений в сосудах сетчатки у больных диабетом. По данным А. Tarkkanen [15], у пациентов с инсулинзависимым диабетом через 5 лет после установления диагноза ДР обнаруживается в 20 %, через 10 лет — в 60 %, а через 30 лет — 100 % случаев. У больных с инсулиннезависимым диабетом в связи с поздней диагностикой первые признаки ДР при постановке диагноза СД обнаруживаются в 20—30 %, а через 30 лет — в 90 % случаев. Наиболее тяжелая форма пораже-