

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 616.379-008.64-06:616.36-092:612.017.1-07

*В. В. Сура, М. И. Балаболкин, С. Н. Савицкий, Г. Г. Мамаева, А. В. Гордеев, З. О. Георгадзе, Л. И. Людина, Е. Б. Тимофеева, Е. А. Трошина*

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА

Институт диабета (дир.—проф. М. И. Балаболкин) Эндокринологического научного центра (дир.—член.-корр. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Центральная научно-исследовательская лаборатория Лечебно-профилактического оздоровительного объединения, Москва

Сахарный диабет (СД) является одним из наиболее распространенных заболеваний эндокринной системы. Его популяционная частота в нашей стране составляет не менее 3%, а ежегодный прирост числа заболевших — 6% [1, 6]. Для СД характерно прогрессирующее течение, поражение различных органов и систем, приводящие к инвалидизации и смерти больных.

Диабетическая нефропатия (ДН — диабетический гломерулосклероз, артериолонефросклероз, пиелонефрит и их сочетания) встречается более чем у половины больных СД, являясь непосредственной причиной смерти у 9—10% больных [8, 12]. Тяжелое поражение почек, протекающее с нефротическим синдромом, артериальной гипертензией и почечной недостаточностью (синдром Киммельстиля — Уилсона), в течение 5—7 лет приводит к гибели больных СД от уремии.

В последние годы наряду с общеизвестными факторами в патогенезе ДН обсуждается роль иммунных механизмов, причем это касается как СД I типа (инсулинзависимый сахарный диабет — ИЗСД), так и СД II типа (инсулиннезависимый сахарный диабет — ИНСД) [2, 4, 5]. В качестве предрасполагающих и причинных факторов развития микроангиопатий при СД отмечают связь с определенными локусами системы HLA, нарушение регуляции иммунного ответа, повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), цитотоксических антител и т. д. [15, 17]. И если экспериментальные и клинические исследования последних лет свидетельствуют о важной роли в патогенезе СД I типа аутоиммунных механизмов, то их участие в патогенезе СД II типа, подтверждаемое некоторыми наблюдениями, практически не изучено и нуждается в обосновании.

Исследователями последних лет охарактеризован и выделен из эпителия щеточной каймы проксимальных канальцев почек нефритогенный антиген — FxIA, ответственный за возникновение экспериментального нефрита Хеймана — аналога иммунокомплексного гломерулонефрита человека [11, 18]. Ранее нами были обнаружены высокие титры антител к антигену FxIA в сыворотках крови больных активным гломерулонефритом, подагрической нефропатией и ДН [9, 14]. Подобные исследования в нашей стране и за рубежом не проводились.

## Материалы и методы

Под наблюдением находилось 76 больных ИНСД (возраст больных от 37 до 73 лет, длительность заболевания от 1 года до 25 лет) и 48 больных ИЗСД (возраст от 20 лет до 61 года, длительность заболевания от 1 года до 23 лет). Контрольная группа — 57 практически здоровых лиц.

Клиническая картина ДН имела место у 13 больных ИНСД и 10 больных ИЗСД, у которых отмечалась выраженная протеинурия (от 1 до 3,5 г/л), артериальная гипертензия. Хроническая почечная недостаточность (уровень креатинина крови более 120 мкмоль/л) выявлена у 5 больных ИНСД и 5 больных ИЗСД. Снижение уровня клубочковой фильтрации (менее 60 мл/мин) имело место у 21 больного, а ее повышение (более 150 мл/мин) — у 12 больных ИНСД и соответственно у 14 и 7 больных ИЗСД.

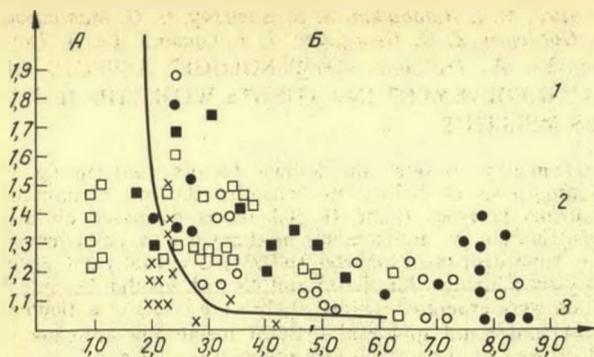
Следует отметить, что у 21 больного ИНСД диагностировали хронический пиелонефрит, у 4 из них на фоне почечнокаменной болезни, среди больных ИЗСД хронический пиелонефрит выявлялся у 12, у 1 из них на фоне почечнокаменной болезни. При отсутствии каких-либо клинико-лабораторных данных, свидетельствующих о поражении почек, микроальбуминурия отмечалась у 12 больных ИНСД и у 9 больных ИЗСД.

При исследовании содержания мочевой кислоты в крови и ее экскреции с мочой гиперурикемия (более 445 мкмоль/л) выявлялась у 13 больных ИНСД и у 1 больного ИЗСД, гиперурикозурия (более 1400 ммоль/л) — соответственно у 40 (53%) и у 19 (44%).

Нефритогенная канальцевая фракция антигена FxIA и антиген базальной мембраны клубочков (БМК) были получены из донорских трупных почек. Определяли уровень антител к антигенам FxIA и БМК почки в сыворотках крови доноров и больных ИНСД и ИЗСД, а также концентрацию, размеры и патогенность иммунных комплексов у данной категории больных.

Антитела к антигенам FxIA и БМК почки выявляли классическим методом в РПГА, предварительно определяя рабоче, субтоксические и токсические дозы антигенов. Содержание белка определяли по методу Лоури. У всех больных определяли уровень ЦИК в сыворотке крови [12] (скрининговый метод) и при 2—3 концентрациях полиэтиленгликоля (ПЭГ) — 2,5, 3,5, 7% по методу [10] (классический метод).

У 16 больных ИНСД, 19 больных ИЗСД, 27 больных ревматоидным артритом и 9 — болезнью Шегрена была проведена оценка патогенности иммунных комплексов (ИК). Данный тест заключается в одновременной оценке размера и концентрации ИК методом их преципитации ПЭГ при разных концентрациях. Чем больше размер ИК, тем меньшая концентрация ПЭГ требуется для их преципитации [7, 16]. Коэффициент патогенности (К) ИК рассчитывали как соотношение концентрации ИК 4% ПЭГ к концентрации 3% ПЭГ. Область нормы (см. рисунок) соответствовала малой концентрации ИК среднего размера ( $K=1,1-1,5$ ) и более высокой концентрации ИК крупного размера ( $K<1,1$ ). Области патологии соответствовала высокая концентрация ИК среднего размера ( $K=1,1-1,5$ ) и высокая концентрация ИК малого размера ( $K>1,5$ ).



Патогенность ИК у больных СД, ревматоидным артритом и болезнью Шегрена.

А — область нормы; Б — область патологии. 1 — ИК малого размера, 2 — среднего размера, 3 — крупного размера. Светлые кружки — больные СД I типа, темные кружки — больные СД II типа; светлые квадраты — больные ревматоидным артритом; темные квадраты — больные болезнью Шегрена; крестики — доноры. По оси ординат — К; по оси абсцисс — концентрация ИК в сыворотке крови (в мг/мл).

## Результаты и их обсуждение

Антитела к антигену FxIA с несколько большей частотой (71 %) обнаруживались у больных СД II типа (у больных СД I типа — 62 %). Следует отметить, что антитела к антигену FxIA были обнаружены у всех больных СД как II, так и I типа с ДН и у всех больных ИНСД с нарушением пуринового обмена (т. е. с гиперурикемией и/или гиперурикозурией). У большинства больных ИНСД и ИЗСД титр антител к антигену FxIA был низким или средним (1:20—1:180) и лишь у 14 % — высоким (1:160—1:320). Особое внимание заслуживает факт обнаружения высоких титров антител к антигену FxIA у 75 % (у 12 из 16) больных ИНСД и ИЗСД при отсутствии клинико-лабораторных проявлений нефропатии (белка в моче и т. д.).

Повышенный уровень ЦИК выявлен у 47 % больных ИНСД и 54 % больных ИЗСД, причем у больных ИНСД с нарушением пуринового обмена частота обнаружения повышенного уровня ЦИК была еще выше — 62 %. Почти с такой же частотой повышенный уровень ЦИК определялся у больных ИНСД с ДН — у 60 % и обострением хронического пиелонефрита — у 54 %.

При анализе ПЭГ-преципитатов, полученных с использованием разных концентраций ПЭГ, нарастание оптической плотности у больных ИНСД носило преимущественно скачкообразный характер (в среднем по группе 0,047 при концентрации ПЭГ 2,5 %, 0,075 — при 3,5 %, 0,240 — при 7 %), у больных ИЗСД — преимущественно линейный характер (в среднем по группе соответственно 0,083, 0,150, 0,262). Таким образом, можно предположить, что для больных ИНСД более характерно наличие в сыворотке крови средне- и низкомолекулярных ИК, а для больных ИЗСД — крупно- и среднемолекулярных ИК.

Практически для всех больных как ИНСД, так и ИЗСД был характерен средний и крупный размер ИК при их высокой концентрации в сыворотке крови (область патологических изменений), однотипные реакции наблюдались у больных с болезнью Шегрена и большинства больных ревматоидным артритом. Представляется перспективной

оценка патогенности ИК в динамике СД. Так, у 3 больных СД на фоне лечения большими дозами (до 600 мг в сутки) витамина Е коэффициент патогенности ИК нормализовался.

Средний и высокий уровень антител к антигену БМК почки (1:80 и выше) был обнаружен примерно у половины больных СД: у 41,9 % больных ИНСД и 51,9 % — ИЗСД. Обращает внимание большая частота обнаружения высокого уровня антител к антигену БМК почки (как, впрочем, и к антигену FxIA) у 55,6 % (у 10 из 18) больных СД с нарушением пуринового обмена. Высокий уровень антител регистрировался у больных с гиперурикемией (у 4), с гиперурикозурией (у 14) и отсутствием белка в моче (у 5). Кроме того, низкие титры антител к антигену БМК почки (1:20 и ниже) были обнаружены у 2 (11 %) из 18 доноров, а крайне высокие (1:320 и 1:1280) — у 2 больных с синдромом Гудпасчера.

Настоящее сообщение носит предварительный характер. Дальнейшее изучение данной проблемы, возможно, позволит выйти на раннюю диагностику такого грозного осложнения СД, как ДН, и проводить ее активную профилактику с учетом характера иммунопатологических реакций.

## Выводы

1. Полученные данные позволяют высказать предположение об участии иммунных механизмов в патогенезе поражений почек при СД. Это базируется на обнаружении в сыворотке крови более чем у 60—70 % больных СД I и II типов циркулирующих антител к почечным структурам, а именно к антигенам нефритогенной фракции эпителия щеточной каймы проксимальных канальцев и БМК почки, повышенного уровня ЦИК.

2. Определяется как сходство, так и различие иммунных реакций у больных СД I и II типов. У всех больных ИЗСД и ИНСД с ДН регистрировались различные титры антител к антигенам FxIA и БМК почки. Как у больных ИНСД, так и у больных ИЗСД (у 60 и 70 % соответственно) обнаружено повышение уровня ЦИК в сыворотке крови. В то же время для больных ИНСД был характерен мелкосредний состав ИК, а для больных ИЗСД — средnekрупный.

3. Обнаружение циркулирующих антител к антигену FxIA более чем у 70 % больных СД в отсутствие белка в моче может быть использовано в качестве тест-системы диагностики предстadium ДН и основания для назначения соответствующего лечения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. А. Актуальные вопросы эндокринологии. — М., 1986.
2. Васильева Е. В., Сура В. В., Смирнова О. И. // Тер. арх. — 1989. — № 11. — С. 145—151.
3. Максимов Н. А., Балкаров И. М., Савицкий С. Н. и др. // Всесоюзный съезд нефрологов, 3-й. — М., 1990. — Т. 1. — С. 101—102.
4. Саложин К. В., Насонов Е. Л., Сура В. В. // Тер. арх. — 1989. — № 2. — С. 135—140.
5. Саложин К. В., Насонов Е. Л., Сура В. В. // Там же. — 1991. — № 6. — С. 55—58.
6. Сахарный диабет. Доклад исследовательской группы ВОЗ: / Серия техн. докладов № 727 /.— Женева, 1987.
7. Стручков П. В., Константинова Н. А., Лаврентьев В. В. и др. // Лаб. дело. — 1985. — № 7. — С. 410—412.

8. *Сура В. В.* Клиническая нефрология.— М., 1983.
9. *Balabolkin M. I., Mamayeva G. G., Savitsky S. N. et al.* // Diabetes Care and Research in Europe: Meeting, 2-d.— Budapest, 1992.— P. 214.
10. *Digeon M., Laver M., Riza I. et al.* // J. Immunol. Meth.— 1989.— Vol. 16.— P. 165.
11. *Edgington T. S., Glasscock R. Y., Watson Y. I. et al.* // J. Immunol.— 1990.— Vol. 90, N 6.— P. 1199—1211.
12. *Hamburger I., Grosnier I., Grunfeld I.* Nephrology.— New York, 1990.— P. 733—745.
13. *Haskowa V., Kaslik Y., Richa Y.* // Z. Immun.— Forsch.— 1978.— Bd 154.— S. 399—406.
14. *Mamayeva G., Savitsky S., Balabolkin M. et al.* // International Congress of Endocrinology, 9-th.— Nice, 1992.— P. 392.
15. *Niskanen L., Karjalainen Y., Sarlund H.* // Diabetologia.— 1991.— Vol. 34.— P. 402—408.
16. *Ostreiko K., Tumanova Y., Sykulev Y. et al.* // Immunol. Lett.— 1993.— Vol. 6.— P. 29—32.
17. *Rabinowe S. G., Brown F. M. et al.* // Diabet. Care.— 1990.— Vol. 13.— P. 1084—1088.
18. *Westberg N. G., Michal N. F. et al.* // Biochemistry.— 1970.— Vol. 9, N 19.— P. 3837—3845.

Поступила 04.06.93

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1994

УДК 616.379-008.64-056.257-092:612.017.1]-07

*М. С. Молдобаева, Д. А. Адамбеков, Г. Р. Бестужева, С. И. Тихонина, К. Т. Абазбекова*

## **ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ СДВИГИ У ЖИТЕЛЕЙ НИЗКОГОРЬЯ И ВЫСОКОГОРЬЯ ТЯНЬ-ШАНЯ, БОЛЬНЫХ ОЖИРЕНИЕМ И ИНСУЛИННЕЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

Кыргызский медицинский институт, Бишкек

В генезе ангиопатий при сахарном диабете (СД) может участвовать иммунокомплексный компонент [4—6]. В литературе [1, 7, 15] имеются указания на взаимосвязь тяжести сосудистой патологии и показателей иммунного статуса при СД.

Макро- и микроангиопатии при СД осложняют течение заболевания и приводят к ранней инвалидности больных, поэтому целесообразно их комплексное исследование для выявления иммунологического маркера еще в доклинической стадии.

Наиболее важным иммунологическим маркером считается антитела к цитоплазматическим компонентам островковых клеток (АОК), которые уже к началу клинических проявлений СД определяются у 90 % обследованных больных [11].

Повышенное содержание патогенных циркулирующих иммунокомплексов (ЦИК) и антител к инсулину в крови у больных ожирением позволяет отнести ожирение к факторам риска по развитию аутоиммунной патологии [10], СД и ангиопатии.

В своеобразных горно-климатических условиях Тянь-Шаня были проведены комплексные исследования иммунного статуса у горцев, больных атеросклерозом, ишемической болезнью сердца, бронхиальной астмой, заболеваниями крови [2, 8, 9, 12, 14].

Цель настоящего исследования — изучить некоторые особенности иммунного статуса у больных алиментарным ожирением (АО) и инсулиннезависимым сахарным диабетом (ИНСД), постоянных жителей низкогорья (760—1200 м) и высокогорья (2040—3500 м) Тянь-Шаня.

*V. V. Sura, M. I. Balabolkin, S. N. Savitsky, G. G. Mamayeva, A. V. Gordeyev, Z. O. Georgadze, L. I. Lyudina, Ye. B. Timofeyeva, Ye. A. Troshina* — IMMUNOLOGIC ASPECTS OF RENAL INVOLVEMENT IN PATIENTS WITH TYPE II DIABETES MELLITUS

**Summary.** Besides the known factors contributing to the pathogenesis of diabetic nephropathy, the role of immune mechanisms in types I and II diabetes is discussed of late; the contribution of autoimmune mechanisms to pathogenesis of noninsulin-dependent diabetes (NIDM) is virtually unknown. Seventy-six patients with NIDM and 48 with insulin-dependent condition were examined. Under study were levels of antibodies to FxIA and renal glomerular basal membrane antigens in the blood sera of donors and patients with types I and II diabetes, as well as concentrations, size, and pathogenicity of immune complexes. Antibodies to FxIA antigen were detected in patients with both types of diabetes with diabetic nephropathy. Detection of circulating antibodies to FxIA antigen in more than 70 % of diabetics in the absence of protein in the urine may be used as a test system for the laboratory diagnosis of diabetic nephropathy prestage and as a criterion for prescription as early as at the initial stages of nephroprotective agents.

### **Материалы и методы**

Исследования проводили в условиях низкогорья на базе отделения эндокринологии Республиканской клинической больницы (Бишкек и районы Чуйской долины, 760—1200 м), где комплексно обследованы 64 больных АО и 118 ИНСД, и в условиях высокогорья (Нарын и районы Нарынской области, 2040—3500 м) — 42 больных АО и 49 ИНСД. Возраст больных колебался от 18 до 70 лет. Контрольные группы состояли из 32 здоровых доноров в низкогорье и 37 — в высокогорье.

Степень ожирения определяли по общепринятой классификации [3]. Для оценки состояния неспецифического иммунитета у больных определяли фагоцитарную активность лейкоцитов (ФАЛ) и НСТ-тест.

НСТ-тест основан на восстановлении поглощенного фагоцитом растворимого нитросинего тетразолия в нерастворимый диформозан, интегрально характеризующий кислороднезависимые антиинфекционные системы фагоцитоза; при этом вычисляли индекс активности нейтрофилов (ИАН).

Специфическое антителообразование и клеточный иммунитет изучали методом определения цитотоксического эффекта (ЦТЭ) лимфоцитов, основанным на способности сенсibilизированных лимфоцитов разрушать клетки-мишени, нагруженные антигеном. При этом нами использована модель ЦТЭ, разработанная В. Л. Морозовым и соавт. [13], в основе которой лежит принцип выявления киллерного действия лимфоцитов на аутологичные эритроциты, нагруженные инсулином.

### **Результаты и их обсуждение**

Уже при I и II степени ожирения в условиях как низкогорья, так и высокогорья фагоцитарная активность (ФА), фагоцитарное число (ФЧ) и фагоцитарный индекс (ФИ) у больных в базовых условиях были снижены (табл. 1). С увеличением степени ожирения ФАЛ нарушалась в большей степени. Стимуляция фагоцитоза продигозаном у больных ожирением в низкогорье существенно повышала количество и активность клеток, но