

Коллектив авторов, 2005

В.В. Смирнов, Е.Е. Петряйкина, В.Г. Макушева, А.Б. Полетаев

СОДЕРЖАНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ АУТОАНТИТЕЛ РАЗЛИЧНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Кафедра детских болезней лечебного факультета РГМУ, Морозовская детская клиническая больница, Медицинский исследовательский центр «Иммункулус», Москва

Обследовано 57 детей, больных сахарным диабетом в возрасте от 2 до 15 лет, методом ИФА с целью изучения уровня естественных аутоантител к инсулину, инсулиновым рецепторам, минорным эпитопам инсулина, фактору роста нервов (ФРН), ДНК и ревматоидному фактору (РФ) в сыворотке крови. Повышение уровня аутоантител к инсулину выявлено в 60% случаев (наличие аутоиммунного повреждения β -клеток панкреатических островков). У 28% пациентов отмечалось избыточное содержание аутоантител к инсулиновым рецепторам; у 28% детей — избыточное количество аутоантител к минорным эпитопам инсулина и ФРН (высокий риск развития патологии нервной ткани). Уровень аутоантител к ДНК и РФ избыточен у 10% больных (повышение общей активности иммунной системы); уменьшение их количества выявлено у 26% больных, и у 64% пациентов отмечалась нормальная иммунологическая активность в организме. Сочетание высоких уровней аутоантител к инсулину и инсулиновым рецепторам отмечалось в 26% случаев, что указывает на наличие смешанных форм диабета у данной категории обследованных.

Authors examined 57 children aged 2—15 years old with diabetes mellitus in order to study serum level of natural antibodies to insulin, insulin receptors, minor insulin epitopes, nervous growth factor (NGF) and to DNA and rheumatoid factor (RF) by immunoassay method. Increased level of autoantibodies to insulin (i. e. presence of autoimmune lesion of pancreatic β -cells) was detected in 60% of cases. 28% of patients had increased level of antibodies to insulin receptors and 28% of patients — increased level of autoantibodies both to minor insulin epitopes and to NFR (high risk of nervous tissue damage development). Level of antibodies to DNA and RF were increased in 10% of patients (i.e. they demonstrated increased immune system activity on the whole); decreased level of these antibodies was detected in 26% of cases, and 64% of patients demonstrated normal immunologic activity. Combination of high antibodies level both to insulin and to insulin receptors occurred in 26% of cases, and in proved the presence of mixed variant of diabetes in these patients.

Развитие патологического процесса в любой ткани организма сопровождается изменениями в синтезе и распаде молекулярных компонентов клеток, составляющих эту ткань. В свою очередь эти изменения обязательно отражаются колебаниями уровней сывороточного содержания естественных аутоантител (а-АТ) разной специфичности [1]. Такие а-АТ на протяжении всей жизни постоянно синтезируются в организме человека, начиная с периода внутриутробного развития [1]. Часть а-АТ взаимодействует с повсеместно присутствующими антигенами (ДНК, коллаген и др.), другие а-АТ обладают тропностью (сродством) к определенным органоспецифическим антигенам (например, к белкам нервной ткани, тогда их относят к нейротропным а-АТ; к инсулину — панкреатотропные а-АТ и др.) [1]. Установлено, что продукция естественных а-АТ регулируется по принципу обратных связей содержанием соответствующих антигенов-мишеней, поэтому изменение в их уровне с определенной органной направленностью можно рассматривать как маркерный признак возникновения или наличия патологии в данном органе. Так,

изучая сывороточные наборы естественных а-АТ у больных сахарным диабетом (СД), можно наблюдать изменения в количественном содержании специфичных для данной патологии а-АТ. К ним относятся, прежде всего, а-АТ к инсулину и его рецепторам [1].

Материалы и методы исследования

Нами были проанализированы 57 сывороток крови, полученных от детей в возрасте от 2 до 15 лет, страдающих СД I типа (24 ребенка с впервые выявленным СД, 33 больных имели стаж заболевания от 1 до 12 лет). У 4 больных имел место отягощенный семейный анамнез по данной патологии. Все дети получали инъекции инсулина в дозах от 12 до 66 Ед. в сутки. Осложнения основного заболевания и сопутствующую патологию имели более половины детей (табл. 1).

Образцы сывороток пациентов исследовали на содержание а-АТ класса IgG, направленных к следующим антигенам — инсулину, рецепторам инсулина, а-АТ к минорному эпитопу инсулина, перекрестно реагирующих также с фактором роста нервов (ФРН), а-АТ к ДНК

Таблица 1

Частота сопутствующей патологии и осложнений сахарного диабета у обследованных детей

Сопутствующая патология и осложнения СД	Число больных	Частота, %
Хронический тонзиллит	13	23
Гепатопатия	12	21
Артропатия	5	9
Полинейропатия	2	3,5
Ангиопатия	1	1,75
Нефропатия	1	1,75
Кетоацидотическая кома	1	1,75

и к Fc-фрагментам иммуноглобулинов (ревматоидный фактор). Исследования проводили с помощью специализированных иммуноферментных тест-систем ЭЛИ-ДИА-ТЕСТ (производитель — МИЦ «Иммункулус», Москва). Уровень а-АТ к ДНК и ревматоидный фактор отражали общий уровень активности иммунной системы пациента, что позволяло провести дифференцировку между избирательным повышением панкреатотропных а-АТ, являющихся маркером патологических изменений в β -клетках поджелудочной железы, и наличием общей неспецифической поликлональной активности иммунной системы (например, на фоне острого инфекционного или воспалительного процесса).

Непосредственно перед исследованием сыворотки крови обследуемых разводили 1:200 0,15 М NaCl, вносили в лунки 96-луночных полистироловых планшетов (Нунк-Максисорб, Дания) с предварительно сорбированными антигенами, инкубировали при 4 °С в течение 14—16 ч, после чего проводили стандартные процедуры ИФА [3]. В качестве хромогена использовали раствор ТМБ с H_2O_2 . Регистрацию проводили на длине волны 450 нм с помощью ИФА-анализатора «ЭФОС», Россия. Результаты оценки сывороточной иммунореактивности (ИР) анализируемых проб, полученные в единицах оптической плотности, пересчитывали по отношению к ИР сыворотки «внутреннего стандарта» с теми же антигенами, как описано ранее [2], и выражали в условных единицах ИР (у. е.) по формуле: $\frac{R(ar) \cdot 100}{R(st)} - 100$, где $R(ar)$ — величина оптической плотности реакции анализируемой сыворотки крови в лунках, с соответствующими антигенами; $R(st)$ — величина оптической плотности реакции сыворотки «внутреннего стандарта» в лунках, содержащих те же антигены.

При этом если ИР анализируемой сыворотки с каким-либо антигеном была выше реакции «внутреннего стандарта», она выражалась в у. е. со знаком «плюс» (например, 150% от ИР реакции «внутреннего стандарта» соответствовало +50 у. е.); если ИР анализируемой сыворотки с каким-либо антигеном была ниже реакции «внутреннего стандарта» с тем же антигеном, она выражалась в у. е. со знаком «минус» (например, 80% от ИР реакции «внутреннего стандарта» соответствовало -20 у. е.).

Постановку реакций «внутреннего стандарта» с каждым из антигенов проводили на каждом из планшетов, что позволило свести к минимуму вариации результатов, получаемых в разные дни на разных планшетах. В качестве «внутреннего стандарта» использовали одну и ту же сыворотку клинически здорового донора, не имевшего признаков соматических, неврологических, эндокринных, инфекционных и воспалительных заболеваний.

Результаты и их обсуждение

Повышенные значения а-АТ к инсулину наблюдались у 39 детей, что составляет 60% от общего числа обследованных, среди них 15 детей (38%) с впервые выявленным и 24 ребенка (62%) с длительно текущим СД. У 7% (4 пациента) был выявлен низкий уровень а-АТ к инсулину (у одного из них СД был впервые выявлен, у 3 детей стаж заболевания составлял более 1 года).

Содержание а-АТ к инсулиновым рецепторам превышало нормальные значения у 28% (16 детей) среди всех обследованных. У детей с впервые выявленным СД подъем уровня а-АТ к рецепторам инсулина выше нормы отмечался несколько чаще, чем при длительном течении СД (соответственно 12% и 9%) (рис. 1).

У 26% (15 детей) наблюдалось повышение содержания как а-АТ к инсулину, так и а-АТ к инсулиновым рецепторам.

Повышенные количества а-АТ, перекрестно реагирующих с минорными эпитопами инсулина и ФРН, наблюдались у 28% (16 детей).

При анализе содержания а-АТ к ДНК и ревматоидного фактора у 26% (15 детей) была отмечена общая иммуносупрессия, для 10% (6 больных) была характерна иммуноактивация, 64% (36 пациентов) имели нормальную общую ИР (табл. 2).

В развитии иммунопатологических процессов при СД существенную роль играют панкреатотропные а-АТ: повышенный уровень а-АТ к инсулину

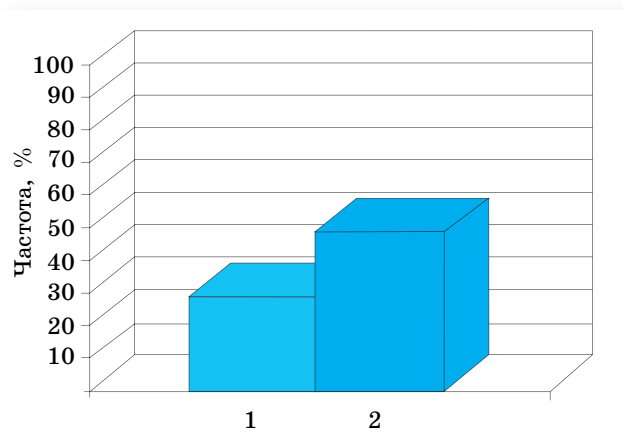


Рис. 1. Частота выявления повышенного содержания аутоантител к инсулину в зависимости от длительности СД I типа.

1 — впервые выявленный СД, 2 — стаж болезни более года.

Таблица 2

Частота избыточного содержания сывороточных аутоантител у больных сахарным диабетом I типа

Антигены, использовавшиеся для выявления а-АТ	n	%
Инсулин	39	60
Рецепторы инсулина	16	28
Общий минорный эпитоп инсулина и ФРН	16	28
ДНК	6	10,5
Ревматоидный фактор	4	7

является маркером и участником патологических изменений в β -клетках островков Лангерганса. Известно, что у больных СД I типа уровень а-АТ к инсулину бывает постоянно или периодически повышенным [1]. Наличие а-АТ к собственному инсулину является маркерным признаком иммунологических нарушений в догипергликемическую стадию болезни [3]. Это важно у людей, входящих в группы риска развития инсулинзависимого СД [1], и обусловлено тем, что аутоиммунная агрессия предшествует нарушению толерантности к глюкозе при СД I типа, причем опережение может составлять до 10 лет, хотя чаще оно составляет от 2 мес до 3 лет.

Аномально низкий уровень а-АТ к инсулину (ниже -50 у. е.), защищающих гормон от преждевременной протеолитической деградациии в сыворотке крови, может сопровождаться повышением его гидролиза. Это может вести к гипоинсулинемии, что чаще наблюдается при СД II типа [1].

Не менее важная роль в развитии иммунологических нарушений при СД II типа принадлежит а-АТ к рецепторам инсулина. Повышение уровня таких а-АТ обычно сопровождается развитием инсулинорезистентности и характерно для некоторых форм СД II типа и реже I типа [1]. При инсулинзависимом СД инсулинорезистентность отмечается у 40% больных, леченных инсулином [3]. В рамках проведенного нами исследования избыточное содержание а-АТ к рецепторам инсулина было выявлено у 28% детей.

Ауто-АТ к рецепторам инсулина у больных СД I типа являются антиидиотипическими, а их повышенный синтез запускается первичной избыточной продукцией а-АТ против инсулина [3]. Действие, оказываемое а-АТ к инсулиновым рецепторам, неоднозначно: часть из них может вызывать инсулинорезистентность, тогда как другая часть — обуславливать инсулиномиметические эффекты, что составляет основу патогенеза лабильного СД с колеблющейся потребностью в экзогенном инсулине [3].

Одновременное повышение содержания а-АТ к инсулину и инсулиновым рецепторам часто встречается при смешанных формах СД (MODY - type, LADA - type и др.) [1]. Такая картина была характерна для 26% от всех обследованных нами больных.

Уровень а-АТ, перекрестно реагирующих как с минорными эпитопами инсулина, так и с ФРН, был повышен у 28% больных. Ранее было показано, что это является характерным признаком развития диабетической нейропатии [2]. Выраженность клинических симптомов этого осложнения коррелировала со степенью повышения уровня таких антител: он был выше в сыворотках детей, у которых отмечалось наличие диабетической нейропатии (6% обследованных), и ниже (26%) — у детей, которые имели лишь начальные изменения, не сопровождающиеся появлением клинической симптоматики.

Анализ результатов проведенного исследования позволяет сделать вывод о том, что специфические изменения иммунного статуса пациента, сопровождающиеся изменениями продукции а-АТ к инсулину и/или инсулиновым рецепторам, напрямую связаны с наличием у него патологического процесса, характерного для СД I и/или II типа.

Отметим, что получение достоверной информации возможно лишь при оценке изменений не только со стороны а-АТ определенной органной направленности (неспецифический транзиторный подъем содержания, к примеру, антиинсулиновых или любых других а-АТ сопровождается поликлональную активацию иммунной системы при любых острых инфекционных или воспалительных процессах). В этой связи, помимо анализа специфических изменений в сыворотках крови больных СД, важно было одновременно оценить наличие или отсутствие поликлональной активации лимфоцитов по повышению уровней естественных а-АТ класса IgG к ДНК (что отражает интенсификацию процессов апоптоза), а также повышенные значения ревматоидного фактора (отражает наличие активных воспалительных изменений в организме). Снижение содержания а-АТ к ДНК и ревматоидного фактора является универсальным признаком иммуносупрессии, ведущей к снижению эффективности клиренса организма от продуктов обмена и их избыточному накоплению, вызывающему хроническую интоксикацию и медленно прогрессирующую астенизацию [1]. Среди обследованных в данной работе детей, больных СД, повышение общей активности иммунной системы наблюдалось у 10%, а признаки общей иммуносупрессии — у 26% обследованных. Нормальные уровни содержания таких а-АТ были зарегистрированы в 64% случаев, следовательно, в большинстве случаев мы могли достоверно судить о наличии или отсутствии специфической аутоиммуноагрессии к β -клеткам островков Лангерганса, периферическим инсулиновым рецепторам и инсулину/ФРН (рис. 2).

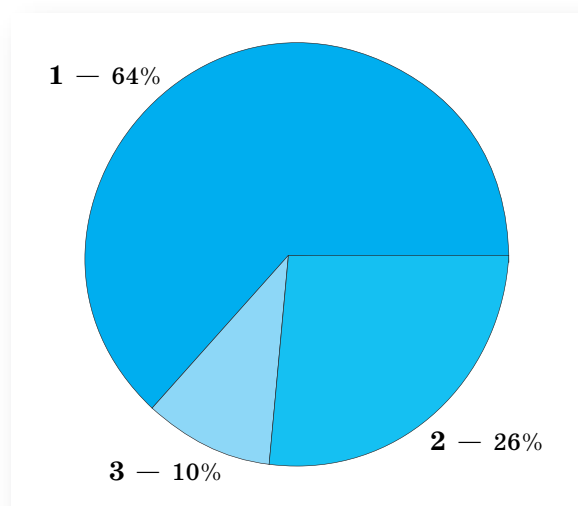


Рис. 2. Структура различных вариантов ИР у наблюдаемых больных СД.
1 — нормальная ИР, 2 — иммуносупрессия, 3 — иммуноактивация.

Выводы

1. Маркерные иммунологические признаки, характерные для СД I типа, имеют свое лабораторное

подтверждение (повышенный уровень естественных а-АТ к инсулину) лишь в 60% случаев. Именно у таких детей развитие заболевания связано с наличием патологических изменений, затрагивающих β -клетки островков Лангерганса поджелудочной железы.

2. Среди всех обследованных у 26% детей отмечается сочетанное повышение уровней антител как к инсулину, так и к его мембранным рецепторам, что может свидетельствовать о наличии у них смешанных форм СД (тип I + тип II).

3. Избирательно повышенное содержание а-АТ к инсулиновым рецепторам при отсутствии повышения содержания а-АТ к инсулину позволяет ставить вопрос о наличии у пациента скорее СД II типа, а не I типа.

4. Развитие осложнений СД находит отражение в изменениях сыровоточных наборов естественных а-АТ: развитие диабетической нейропатии сопровождается патологическим повышением уровня а-АТ к ФРН, перекрестно реагирующих с минорными эпитопами инсулина. Избыток а-АТ к ФРН при отсутствии клинических проявлений нейропатии можно рассматривать как прогностически неблагоприятный признак вероятности ее развития, что требует своевременной коррекции терапевтического подхода и индивидуализации схем лечения пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Полетаев А.Б. О новых тенденциях и перспективах в медицинской лабораторной диагностике. Общая характеристика методов группы ЭЛИ-Тест.— М., 2004.— 32 с.
2. Полетаев А.Б., Вабищевич Н.К., Гнеденко Б.Б. и др. // Вестн. рос. ассоц. акуш. гинекол.— 1998.— Том 18, № 3.— С. 31—36.
3. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы патохимии.— СПб., 2001.— 688 с.

© Коллектив авторов, 2006

О.З. Пузикова, А.А. Афонин, Е.В. Вербицкий

НАРУШЕНИЯ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОЙ СФЕРЫ У ПОДРОСТКОВ, БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ I ТИПА

Ростовский НИИ акушерства и педиатрии, НИИ нейрокибернетики им. А.Б. Когана Ростовского государственного университета, г. Ростов-на-Дону, РФ

Целью исследования явилось выяснение частоты и установление взаимосвязи между психологическими нарушениями (ПН) у 125 подростков, больных сахарным диабетом (СД) I типа и клинко-метаболическими характеристиками заболевания. У пациентов с СД, по данным вербальных тестов, выявлена повышенная частота ПН — тревоги (36,8%) и субдепрессии (у 31,2%), возрастающая по мере увеличения длительности заболевания и развития микрососудистых осложнений. Частота выявления ПН увеличилась вдвое при применении проективных методик исследования. Не обнаружены статистически достоверные корреляции между частотой ПН и уровнем гликированного гемоглобина, показателями липидного спектра. Установлено, что уровень нейроспецифической енолазы в крови, свидетельствующий о повреждении нейрональных мембран, у пациентов с высокой личностной тревожностью был выше в 3,1 раза, а у пациентов с субдепрессией — в 1,4 раза, чем у пациентов без ПН. Обсуждается роль некоторых преморбидных