

## ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И УРОВЕНЬ АУТОАНТИТЕЛ К ОСНОВНОМУ БЕЛКУ МИЕЛИНА ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ У ДЕТЕЙ

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Росздрава (ректор – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В.Говорин)

Диабетическая полинейропатия (ДПН) является одним из наиболее частых и трудно поддающихся лечению осложнений сахарного диабета. Частота ее по разным данным колеблется от 15 [5] до 85% [2] и коррелирует с давностью болезни. Среди пациентов, страдающих СД типа 1 от 0 до 4-х лет, ДПН выявляется у 31% детей, при давности заболевания от 5 до 9 лет - у 61% [4]. В исследовании DCCT (1998) [1], где диагностика ДПН проводилась с использованием клинических и инструментальных методов обследования, распространенность дистальной нейропатии составила 62,5% при длительности диабета 8±4 года.

Распространенность ДПН у детей и подростков по данным разных авторов колеблется от 40% до 54,8% [3].

Патогенез ДПН сложен. Поздние осложнения сахарного диабета являются результатом взаимодействия многочисленных генетических и внешних (средовых) факторов, таких как метаболические и сосудистые.

В настоящее время считается, что ДПН является следствием прежде всего метаболических нарушений в периферических нервах [1,7].

В последние годы появились работы, посвященные участию аутоиммунных механизмов в патогенезе диабетической нейропатии. У больных ДПН были выявлены аутоантитела (аАТ) к структурам двигательных и чувствительных нервов, к глутаминовой кислоте, к фосфолипидам [9]. Подтверждено наличие у больных ДПН органоспецифических аАТ к антигенам мозгового слоя надпочечников и ганглиям симпатической нервной системы [8]. Показано снижение синтеза фактора роста нервов вследствие перекрестной реактивности к нему антиинсулиновых аАТ, присутствующих в кровотоке больных СД типа 1 [6].

В то же время известно, что одним из основных иммунологических показателей демиелинизирующего процесса служит повышенный уровень аАТ к основному белку миеллина (ОБМ), поскольку

именно белковые структуры миеллина являются основным местом приложения аутоиммунных реакций в нервной системе.

**Материалы и методы.** Нами обследовано 42 ребенка, больных СД типа 1 в возрасте от 6 до 17 лет с различной давностью заболевания: впервые заболевшие и болеющие первый год - 13 человек, болеющие от 2-х до 3-х лет - 12 человек, дети с давностью заболевания 3-5 лет - 7, более 5 лет - 10 человек. Всем детям проводилось клиническое обследование с оценкой степени компенсации заболевания согласно критериям ВОЗ (1995). Неврологическое обследование включало выявление характерных жалоб (боли в конечностях, парестезии, гиперестезии, снижение чувствительности), эмоционального тонуса поведенческих реакций; мышечного тонуса, сухожильных рефлексов, исследование функции черепно-мозговых нервов. У пациентов оценивалась тактильная чувствительность при помощи волокон хлопковой ваты, порог болевой чувствительности определяли тупой иглой, температурная чувствительность - с помощью неврологического молоточка. Были выделены 2 группы больных: с начальными проявлениями ДПН - 11 человек, с клинически выраженными симптомами - 13. Всем больным проводилась оценка показателей клеточного и гуморального иммунитета и определялся уровень аАТ к основному белку миеллина. Контрольную группу составили 15 здоровых детей в возрасте от 6 до 16 лет.

Определение параметров клеточного и гуморального иммунитета проводилось методом проточной цитофлуориметрии. Уровень аАТ к ОБМ определялся методом твердофазного иммуноферментного анализа, в качестве антигена использовался Myelin Basic Protein фирмы "Sigma". Уровни иммуноглобулинов определялись с помощью набора реагентов "Протеиновый контур". Полученные данные обрабатывались с помощью компьютерной программы "Biostat" с определением критерия Сьюдента.

**Результаты и обсуждение.** У больных СД-1, с проявлениями ДПН и без таковых, были выявлены нарушения со стороны клеточного иммунитета (таблица 1).

В группах больных детей абсолютное и относительное количество Т-лимфоцитов (CD3+) незначительно повышалось. Отмечена тенденция к повышению абсолютного количества Т-хелперов (CD3+, CD4+). Незначительно повышенным этот показатель оставался у детей с проявлениями ДПН и практически не отличался от нормы -

Таблица 1

## Состояние клеточного иммунитета у больных СД-1, с ДПН и без ДПН

Исследуемые параметры	Контрольная группа (n=15)	Больные СД-1 (n=10)	Больные ДПН (n=10)	Больные без ДПН (n=10)	Больные с ДПН 1 ст. (n=10)	Больные с ДПН 2ст. (n=10)
Лейкоциты, мкл	6,7±0,39	7,23±0,39	6,85±0,45	7,1±0,37		
Лимфоциты, мкл	2077,5±195,1	2503,1±232,7 P<0,001	2520,61±259,5 P<0,001	2085±145,67	2876±249,4 P<0,001	2092,1±125,6
Лимфоциты,%	97,25±0,59	98,52±0,75	98,47±0,84	99,4±0,12	97,8±1	99,36±0,04
Т-лимфоциты (CD3+), мкл	1526,875±163,9	2009,7±198,4 P<0,001	2012,3±221,7 P<0,001	1612,8±120,6	2298,6±233,7 P<0,001	1669,7±64,4
Т-лимфоциты (CD3+), %	72,12±2,79	79,08±1,7 P<0,05	78,56±1,82	76,9±1,58	77,1±1,15 P<0,001	80,3±1,9 P<0,001 P*<0,001
Т-хелперы (CD 3+, CD4+),мкл	858,29±103	1208,9±129,06	1196,4±143,6	981,3±103,01	1409±145,96 P<0,001 P*<0,001	927,7±30,38
Т-хелперы (CD 3+, CD4+),%	44,38±2,4	47,53±1,9	46,63±1,9	46,94±2,06	47,3±1,3 P<0,05	45,18±2,14
Т-киллеры (CD 3+, CD8+), мкл	607,62±82,6	677,9±65,1	692,2±71,03	545,1±45,5	761,2±77,04 P<0,001 P*<0,001	616,9±38,7 P*=0,001
Т-киллеры (CD 3+, CD8+), %	27,25±1,96	26,77±0,83	27,18±0,8	25,95±0,9	25,6±0,43	29,41±0,51 P<0,005 P*<0,001
Иммунорегуляторный индекс	1,4±0,08	1,91±0,14 P<0,001	1,85±0,13 P<0,001	1,82±0,13 P<0,001	2,08±0,14 P<0,001 P*<0,001	1,54±0,07 P<0,001 P*<0,001
NK (CD3-, CD16+, CD56+), мкл	248,63±30,7	192±38,4 P<0,001	208±39	170,8±43,4 P<0,001	252,4±28,9 P*<0,001	167,9±38,7 P<0,001
NK (CD3-, CD16+, CD56+), %	15,1±0,7	7,48±1,3 P<0,001	8,08±1,33 P<0,001	7,75±1,7 P<0,001	9,06±1,03 P<0,001	7,51±1,43 P<0,001
Т-NK (CD3+, CD16+, CD56+), мкл	38,7±5,8	76,2±12,7 P<0,001	78,55±13,9 P<0,001	100,4±17,7 P<0,001	79,4±15,6 P<0,001	77,7±9,64 P<0,001 P*<0,05
Т-NK (CD3+, CD16+, CD56+), %	3,21±0,69	3,08±0,52	3,16±0,57	4,7±0,83 P<0,001	2,62±0,48 P*<0,001	3,77±0,5
Ta (CD3+, HLA-DR+), мкл	86,9±8,3	106,8±28,3 P<0,05	112,3±31,05 P<0,001	55±3,7 P<0,001	143,4±34,02 P<0,001 P*<0,001	75,9±14,1 P*<0,001
Ta (CD3+, HLA-DR+), %	3,23±0,7	3,92±0,69	4,08±0,75 P<0,05	2,74±0,29	4,46±0,68 P<0,001 P*<0,001	3,76±0,76 P*<0,001

Примечание: P - достоверность результатов в сравнении с контролем; P\* - достоверность результатов в сравнении больных ДПН и без ДПН.

без ДПН. Наблюдалось увеличение иммунорегуляторного индекса во всех группах больных, особенно - СД-1.

Отчетливые изменения наблюдались при исследовании количества Т-независимых естественных киллеров - НК-клеток (CD3-, CD16+, CD56+), в частности, относительное число этих клеток было ниже во всех группах больных детей (7,48±1,3% против 15,1±0,7% у здоровых детей, P<0,001). В то же время отмечалось повы-

шение абсолютного количества Т-NK (CD3+, CD16+, CD56+), содержание которых у больных СД-1 практически в два раза превышало показатели контрольной группы. Особенно высоким этот показатель был в группе больных СД-1 без проявлений диабетической нейропатии. Возможно, эта особенность связана со сроками заболевания, а именно: в эту группу преимущественно вошли больные с небольшим сроком болезни, а также дети с заболеванием, выявленным впервые.

Таблица 2

## Состояние гуморального иммунитета у больных СД-1, без ДПН и с ДПН

Исследуемые параметры	Контрольная группа (n=15)	Больные СД-1 (n=10)	Больные ДПН (n=10)	Больные без ДПН (n=10)	Больные с ДПН 1 ст. (n=10)	Больные с ДПН 2 ст. (n=10)
В-лимфоциты, %	12±1,5	13,48±1,42 P<0,05	13,47±1,59 P<0,05	14,64±1,1 P<0,001	13,78±0,74	12,75±1,95
В-лимфоциты, мкл	243,5±132,5	351±48,8 P<0,05	354,3±54,5 P<0,05	299,8±21,8	401,6±35,99 P=0,001 P* < 0,001	287,6±56,5
IgA, г/литр	2,05±0,05	2,15±0,36 P<0,001	1,95±0,05 P<0,001	2,35±0,04 P<0,001	2,25±0,02 P<0,001	1,98±0,05 P<0,001
IgM г/литр	1,0±0,06	1,38±0,034 P<0,001	0,98±0,05 P<0,001	1,5±0,03 P<0,001	1,1±0,02 P<0,001	0,98±0,05
IgG г/литр	11,1±0,6	8,67±0,5 P<0,001	7,14±0,17 P<0,001	10,2±0,8	9,2±0,5 P<0,001	7,03±0,2 P<0,001

Примечание: P - отражает достоверность различий между больными и контролем; P\* - отражает достоверность различий между больными с ДПН и без ДПН.

Практически у всех детей отмечалось повышение абсолютного количества Т-активированных лимфоцитов (CD3+, HLA-DR+).

Нами было исследовано состояние иммунитета в зависимости от тяжести ДПН.

Больные СД-1 с проявлениями ДПН 1 ст. имели повышенный уровень абсолютного и относительного количества Т-хелперов. В обеих группах больных с проявлениями нейропатии, отмечено увеличение абсолютного количества Т-киллеров (CD3+, CD8+) в сравнении как со здоровыми детьми, так и с больными СД без проявлений ДПН.

Повышение иммунорегуляторного индекса имело место у всех больных, но с ДПН 1 ст. этот показатель был наиболее высок, в том числе и по отношению к больным без проявлений нейропатии.

Нами отмечено снижение относительного количества Т-независимых естественных киллеров. Абсолютные цифры, отражающие содержание этих клеток, не отличались от показателей здоровых детей у больных с ДПН 1 ст., а у детей

без ДПН и с клинически выраженной ДПН эти показатели были снижены.

У всех больных отмечалось повышение абсолютного количества Т-зависимых НК-клеток (CD3+, CD16+, CD56+), наиболее выраженное у детей без проявлений ДПН. Процентное содержание этих клеток у больных СД-1 не было однозначным: этот показатель был повышен у больных без ДПН, снижен - у детей с ДПН 1 ст. и практически не отличался от нормы у больных с ДПН 2 ст.

Изменения числа Т-лимфоцитов, несущих маркеры CD3+ HLA-DR, также были различны у больных сахарным диабетом в зависимости от наличия или отсутствия осложнения, как то: абсолютное количество этих клеток было низким у больных без ДПН, повышенным у детей с ДПН 1 ст., существенно не отличалось от уровня здоровых детей у больных с более тяжелыми проявлениями ДПН. Относительное количество этих клеток повышалось у детей с легкими проявлениями осложнения, как в сравнении с показателями здоровых детей, так и с больными без ней-

Таблица 3

## Уровень аАТ к основному белку миелина у больных СД-1, с ДПН и без ДПН

Примечание: P - отражает достоверность различий между больными и контролем; P\* - отражает достоверность различий между больными с ДПН и без ДПН.

ропатии.

Состояние гуморального иммунитета характеризовалось тенденцией к повышению относительного и абсолютного содержания В-лимфоцитов, причем относительное содержание этих клеток было повышено у больных без проявлений нейропатии. Повышение уровня IgA и IgM отмечалось у больных СД, в том числе в группе больных без проявлений ДПН. У больных с проявлениями нейропатии было отмечено снижение этих показателей. Содержание IgG было сниженным во всех группах больных (таблица 2).

Содержание аАТ к основному белку миеллина у больных СД-1, без проявлений ДПН и с проявлениями этого осложнения различной степени тяжести представлено в таблице 3.

У больных СД-1 имеется повышение аАТ к основному белку миеллина класса IgM по сравнению со здоровыми детьми. Все классы иммуноглобулинов к основному белку миеллина повышены у пациентов с проявлениями ДПН. Независимо от степени тяжести осложнения повышены иммуноглобулины класса М, причем уровень его выше у больных с более тяжелыми проявлениями ДПН.

Таким образом, у детей с СД-1, осложненном полинейропатией, имеется ряд иммунологических нарушений, свидетельствующих о течение аутоиммунного процесса в нервной системе. Причем уже на ранних стадиях развития этого осложнения - у больных с ДПН 1 ст., наблюдаются выраженная активация клеточного и гуморального иммунитета, нарастание уровня аАТ к ОБМ класса IgM, что говорит о раннем вовлечении в аутоиммунный процесс нервной системы. Очевидно, в качестве аутоантигена в данном случае выступает основной белок миеллина, претерпевший посттрансляционные изменения на фоне метаболических нарушений, свойственных СД-1. В связи с чем повышение содержания аАТ классов IgG и IgM к ОБМ у больных СД-1 можно считать маркером аутоиммунного воспаления в нервной ткани, началом развития диабетической нейропатии.

Процесс может носить волнообразный характер, о чем свидетельствуют изменения со стороны клеточного и гуморального иммунитета у детей с более тяжелыми проявлениями ДПН: снизилась активность Т-хелперного звена со снижением иммунорегуляторного индекса, практически вдвое уменьшилось содержание Т-активированных лимфоцитов, повысился уровень иммуноглобулинов класса М к основному белку миеллина. Волнообразность течения аутоиммунного воспаления может поддерживаться супрессорным взаимодействием NK и Т-NK-клеток, а также стимуляцией процессов ремиелинизации через синтез противовоспалительных цитокинов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М.И., Креминская В.М. Диабетическая невропатия // Журн. неврологии и психиатр. - 2000. - N 10. - С.59-62.
2. Галстян Г.Р., Удовиченко О.В., Токмакова А.Ю. и др. Диабетическая нейропатия: эпидемиологические и клинические аспекты // Сахарный диабет. - 2000. - N 1(6). - С.19-21.
3. Касаткина Э.П., Одуд Е.А., Сивоус Г.И. и др. Современные подходы к ранней диагностике и лечению специфических осложнений сахарного диабета у детей и подростков // Сахарный диабет. - 1999. - N 2. - С.16-20.
4. Касаткина Э.П., Сивоус Г.И., Очирова Э.А. и др. Профилактика хронических осложнений сахарного диабета у детей и подростков // Сахарный диабет. - 2003. - N 4. - С.9-12.
5. Прихожан В.М. Поражение нервной системы при сахарном диабете. - М.: Медицина, 1981. - 28 с.
6. Полетаев А.Б., Будыкина Т.С., Морозов С.Г. Аутоантитела к инсулину, сахарный диабет 1 типа и диабетическая фетопатия // Сахарный диабет. - 2000. - N 4. - С. 23-25.
7. De Los Rios M. G. Патофизиология диабетической нейропатии // Диабетология. - 1999. - С.129-133.
8. Zanone M., Peakman M., Purewal T. et al. Autoantibodies to nervous tissue structures are associated with autonomic neuropathy in type 1 diabetes mellitus // Diabetologia. - 1993. - Jun 36(6). - P. 564-569.
9. Vinik A.I., Leichter S.B., Pittenger G.L. et al. Phospholipid and glutamin acid antibodies in diabetic neuropathy // Diabetes Care. - 1995. - 18. - P. 1225 - 1232.