

О. А. Захарьина, А. А. Тарасов, Т. А. Безбородова, Е. А. Каменева, А. Р. Бабаева

Кафедра факультетской терапии ВолгГМУ

## РОЛЬ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ В ДИАГНОСТИКЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ АНГИОПАТИИ

УДК 616.379-008.64:616 - 097

Разработаны методы лабораторной диагностики диабетической ангиопатии путем количественного определения цитокинов и уровня антител к гликозаминогликанам (ГАГ), коллагену и гиалуроновой кислоте в крови больных сахарным диабетом. Обнаружено увеличение уровня цитокинов и антител к ГАГ, коллагену и гиалуроновой кислоте у больных сахарным диабетом по сравнению с контрольной группой, выраженность лабораторных сдвигов зависит от степени тяжести сахарного диабета и наличия сосудистых осложнений.

*Ключевые слова:* сахарный диабет, гликозаминогликаны, антитела, гиалуроновая кислота, коллаген, цитокины.

O. A. Zaharina, A. A. Tarasov, T. A. Bezborodova, E. A. Kameneva, A. R. Babaeva

## ROLE OF IMMUNE DISORDERS IN THE DIABETIC ANGIOPATHY DIAGNOSIS

The purpose of the study is to develop laboratory methods of diagnostics of diabetic angiopathy by measuring the level of cytokines and antibodies to glycosaminoglycans (GAG), collagen and hyaluronic acid in the blood of patients with diabetes mellitus. An increased level of cytokines and of antibodies to GAG, collagen and hyaluronic acid in patients with diabetes mellitus type 2 was determined in comparison with control group. The extent of laboratory changes depended on the severity of disease and vascular complications.

*Key words:* diabetic angiopathy, glycosaminoglycans, antibodies, collagen, hyaluronic acid, cytokines.

Сахарный диабет (СД) представляет собой серьезную медико-социальную проблему в связи с его высокой распространенностью, тенденцией к росту заболеваемости, хроническим, неуклонно прогрессирующим течением, высокой инвалидизацией больных. В мире СД страдают около 8 % взрослого населения [8]. По данным экспертов Международной федерации диабета, в настоящее время около 300 миллионов человек в мире больны СД, а в течение 20 лет их число увеличится до 500 миллионов [10].

Риск ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда у лиц, страдающих СД, возрастает более чем в 2 раза, инсульта у мужчин — в 2 раза, у женщин — в 3 раза, гангрены — более чем в 20 раз. Сердечно-сосудистые заболевания являются причиной смерти более 80 % больных СД [1, 8, 11]. Помимо развития и прогрессирования макрососудистых осложнений, СД также вызывает микроангиопатию, приводящую к диабетической нефропатии, способствующей терминальной стадии почечной недостаточности и диабетической ретинопатии, которая может прогрессировать вплоть до потери зрения и слепоты. Таким образом, в настоящее время проблема СД превратилась в проблему сосудистой патологии [1, 6].

В патогенезе макроангиопатии при СД выделяют как неспецифические факторы риска (возраст, наследственность, гипертонию, дислипидемию, курение, ожирение, инсулинорезистентность), так и специфические (гипергликемию, десульфатирование гликозаминогли-

канов (ГАГ) сосудистого матрикса, повышение конечных продуктов гликозилирования, оксидативный стресс, снижение продукции оксида азота, активацию ренин-ангиотензин-альдостероновой системы) [8]. В последние годы широко обсуждается воспалительная теория атеросклероза [1—3]. В результате многочисленных исследований были выявлены признаки хронической воспалительной реакции — повышение в сыворотке крови уровня С-реактивного белка, фибриногена, плазминогена, провоспалительных цитокинов [1, 5]. Пусковым механизмом развития ангиопатии у пациентов с СД является гипергликемия [7]. Гликозилирование белков базальной мембраны (коллагена, ГАГ-полисульфата) приводит к изменению их конфигурации, потере зарядоселективности, к нарушению проницаемости сосудистой стенки, накоплению во внесосудистом матриксе гликозилированных альбумина, иммуноглобулинов и, соответственно, иммунных комплексов. Такие комплексы становятся «чужеродными» для организма, что вовлекает в процесс иммунокомпетентные клетки. Белки, содержащие продукты конечного гликозилирования, взаимодействуют с рецепторами макрофага, который в ответ на это синтезирует и секретирует серию цитокинов (интерлейкин-1, фактор некроза опухоли альфа и др.), способствующих, в свою очередь, пролиферации клеток и матрикса сосудистой стенки. При СД содержание гепаран-сульфата в базальной мембране сосудов снижается за счет уменьшения его синтеза и увеличения выхода в кро-

веносное русло, что приводит к потере отрицательной заряженности базальной мембраны. Кроме того, гликозаминогликаны с измененной структурой откладываются в стенку сосуда, что приводит к патологическим иммунным реакциям и вызывает антителообразование к ним [4].

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Повысить эффективность диагностики диабетической ангиопатии у больных СД, используя метод количественного определения цитокинов и уровня антител к компонентам соединительной ткани (коллагену, гиалуроновой кислоте, ГАГ-полисульфату).

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено одномоментное поперечное исследование 65 больных СД типа 2, из них 43 женщины и 22 мужчины от 51 до 74 лет [средний возраст ( $62,5 \pm 2,4$ ) года], находившихся на стационарном лечении в клинике факультетской терапии Волгоградского государственного медицинского университета. Длительность заболевания в исследуемой группе составила от 1 года до 25 лет, средняя продолжительность 11 лет. Пациенты были разделены на 3 группы: 1-я группа — с клинико-лабораторными признаками микроангиопатии (30 человек), 2-я группа — с сочетанием микро- и макроангиопатии (28 человек), 3-я группа — без клинических проявлений ангиопатий (7 человек). Из настоящего исследования были исключены пациенты с выраженной сопутствующей патологией. Контрольная группа состояла из 30 лиц, не страдающих СД и другими заболеваниями, сопровождающимися поражением сосудистой стенки, сопоставимых по полу и возрасту с пациентами основной группы и имеющих не более 2 факторов сердечно-сосудистого риска.

Обследование больных СД проводилось в соответствии с Национальными стандартами. Наряду с общепринятыми исследованиями, всем больным проводилось определение антител к коллагену, гиалуроновой кислоте, ГАГ-полисульфату в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). В качестве антигенов использовали коммерческие препараты: коллаген в концентрации 25 мкг/мл, гиалуроновую кислоту — 100 мкг/мл, ГАГ-полисульфат — 50 мкг/мл. Разведение исследуемой сыворотки составило 1:8. В качестве конъюгата использовали антитела диагностические к иммуноглобулину человека, меченые пероксидазой, производства НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи. Для оценки активности системного воспаления у всех включенных в исследование больных изучали содержание интерлейкина (ИЛ)-1 $\beta$ , ИЛ-6 и фактора некроза опухоли (ФНО)- $\alpha$  в сыворотке крови методом твердофазного ИФА (диагностические наборы «Цитокин-ИФА-БЕСТ»). Обработка результатов проводилась при помощи методов вариационной статистики. Для определения достоверности различий использовался *t*-критерий Стьюдента или *U*-критерий Манна-Уитни в зависимости от параметров распределения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В 1-й группе диабетическая нефропатия наблюдалась у 43 % больных и была представлена следующим образом: I—III стадии (по Mogensen) — 66 % больных, IV стадия — 16 %, V стадия — 16 %. Диабетическая ретинопатия в этой группе встречалась у 53 % больных и была представлена следующим образом: I стадия — 62 % больных, II стадия — 38 % больных, полинейропатия — 54 % больных.

Во 2-й группе микроангиопатии и макроангиопатии наблюдались у всех больных. Микроангиопатии в этой группе были представлены следующим образом: нефропатия у 57 % больных (I—III стадия — 75 %, IV стадия — 25 %), ретинопатия — у 47 % больных (I стадия — 57 %, II стадия — 43 %), полинейропатия — у 46 % больных. Макроангиопатия была представлена следующим образом: ишемическая болезнь сердца — в 71 % случаев (стенокардия напряжения была диагностирована у 46 % больных, постинфарктный кардиосклероз — у 25 %), поражение сосудов нижних конечностей — у 11 %, церебральный атеросклероз — у 18 % больных.

В 3-й группе больных не было выявлено клинических признаков ангиопатии.

Компенсация СД по показателю HbA1c имела место лишь у 9 % включенных в исследование пациентов. Средний уровень исследуемого показателя составил ( $8,2 \pm 0,56$ ) %, что свидетельствовало о наличии у пациентов декомпенсации углеводного обмена. Уровень С-реактивного пептида был повышен у 95 % обследованных пациентов.

Уровень антител к коллагену, гиалуроновой кислоте, ГАГ-полисульфату у пациентов с СД в сравнении с контрольной группой отражен в табл. 1.

ТАБЛИЦА 1

Уровень антител к коллагену, гиалуроновой кислоте, ГАГ-полисульфату у пациентов с СД типа 2 и здоровых лиц

Компоненты соединительной ткани	СД типа 2	Частота положительных проб, %	Контрольная группа	Частота положительных проб, %
ГАГ-полисульфат, ед. опт. пл. $\times 10^{-2}$	$10,16 \pm 0,75^*$	79	$7,49 \pm 0,31$	13
Коллаген, ед. опт. пл. $\times 10^{-2}$	$10,12 \pm 0,63^*$	76	$8,75 \pm 0,31$	19
Гиалурон. кислота, ед. опт. пл. $\times 10^{-2}$	$7,94 \pm 0,26^*$	66	$7,11 \pm 0,17$	14

\* При  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой.

Как следует из результатов табл. 1, уровень антител к коллагену, гиалуроновой кислоте и

ГАГ-полисульфату у пациентов с СД типа 2 оказался выше по сравнению с контрольной группой. С учетом значений уровня антител в контрольной группе ( $M + \sigma$ ), значения антител к ГАГ-полисульфату выше чем 7,8 ед. опт. пл.  $\times 10^{-2}$ , к коллагену выше чем 9,06 ед. опт. пл.  $\times 10^{-2}$ , к гиалуроновой кислоте выше чем 7,28 ед. опт. пл.  $\times 10^{-2}$  расценивались нами как повышенные. Частота положительных проб у больных СД составила 79 % при исследовании уровня антител к ГАГ-полисульфату, 76 % — к коллагену, 66 % — к гиалуроновой кислоте по сравнению с контрольной группой (13, 19 и 14 % соответственно).

Уровень антител к коллагену, гиалуроновой кислоте, ГАГ-полисульфату у пациентов с СД 2 типа в зависимости от выраженности ангиопатии представлен в табл. 2.

ТАБЛИЦА 2

**Уровень антител к коллагену, гиалуроновой кислоте, ГАГ-полисульфату в зависимости от выраженности ангиопатии, ед. опт. пл.  $\times 10^{-2}$**

Выраженность заболевания	ГАГ-полисульфат	Коллаген	Гиалурон. кислота
Без ангиопатии	9,19 $\pm$ 1,05	8,99 $\pm$ 0,55	7,75 $\pm$ 0,49
Микро-ангиопатия	10,82 $\pm$ 1,12*	9,64 $\pm$ 0,31	8,02 $\pm$ 0,33*
Микро- и макро-ангиопатия	10,94 $\pm$ 0,78*	11,24 $\pm$ 0,79*	7,91 $\pm$ 0,14*
Контрол. группа	7,49 $\pm$ 0,31	8,75 $\pm$ 0,31	7,11 $\pm$ 0,17

\* При  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой.

Анализ результатов табл. 2 показал, что уровень антител к коллагену, гиалуроновой кислоте, ГАГ-полисульфату у пациентов с СД типа 2 без ангиопатии выше по сравнению с контрольной группой. Уровень антител к ГАГ-полисульфату и коллагену нарастает в зависимости от выраженности ангиопатии и достоверно повышен к обоим исследуемым показателям при наличии макроваскулярных осложнений. Уровень антител к гиалуроновой кис-

ТАБЛИЦА 4

**Уровень провоспалительных цитокинов у больных в основной и в контрольной группах, Me, (межквартильный размах), пг/мл**

Показатели	Основная группа (СД)	Частота положительных проб, %	Контрольная группа (без СД)	Частота, положительных проб, %
Уровень ИЛ-1 $\beta$	210 (46,6; 262,5)*	61,5*	42,6 (22,6; 58,4)	16,7
Уровень ФНО- $\alpha$	39,3 (12,0; 79,9)*	58,5*	10,3 (2,4; 14,8)	10,0
Уровень ИЛ-6	31,4 (10,8; 54,6)*	55,4*	11,4 (3,4; 15,8)	10,0

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой.

лоте достоверно повышен в обеих группах с микроангиопатиями и сочетании микро- и макроангиопатии, однако более выражен у пациентов с СД типа 2, имеющих микроангиопатию.

Уровень антител к коллагену, гиалуроновой кислоте, ГАГ-полисульфату в исследуемых группах в зависимости от тяжести СД типа 2 отражен в табл. 3.

Как видно из результатов табл. 3, уровень антител ко всем исследуемым антигенам повышен и нарастает в зависимости от тяжести СД.

Данные об уровне провоспалительных цитокинов и о количестве больных с повышенным уровнем провоспалительных цитокинов в основной и в контрольной группе представлены в табл. 4.

В группе больных СД типа 2 уровень ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 был достоверно повышен по сравнению с пациентами контрольной группы. С учетом значения уровней провоспалительных цитокинов в контрольной группе значения концентрации ИЛ-1 $\beta$  выше 58,4 пг/мл, ФНО- $\alpha$  выше 14,8 пг/мл и ИЛ-6 выше 15,8 пг/мл соответственно расценивались нами как повышенные. Частота положительных проб при исследовании уровня ИЛ-1 $\beta$  у больных СД составила 61,5 %, ФНО- $\alpha$  — 58,5 %, ИЛ-6 — 55,4 % по сравнению с контрольной группой, где частота положительных проб была 16,7, 10 и 10 % соответственно.

ТАБЛИЦА 3

**Уровень антител к коллагену, гиалуроновой кислоте, ГАГ-полисульфату в зависимости от тяжести СД типа 2, ед. опт. пл.  $\times 10^{-2}$**

Форма тяжести СД типа 2	ГАГ-полисульфат	Коллаген	Гиалурон. кислота
Средняя тяжесть	9,50 $\pm$ 0,89	9,60 $\pm$ 0,36	7,71 $\pm$ 0,26
Тяжелая форма	10,67 $\pm$ 0,61*	10,65 $\pm$ 0,89*	8,17 $\pm$ 0,26*
Контрол. группа	7,49 $\pm$ 0,31	8,75 $\pm$ 0,31	7,41 $\pm$ 0,18

\* При  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Наличие у больных СД типа 2 сопровождается нарастанием уровня цитокинов и уровня антител к коллагену, гиалуроновой кислоте и ГАГ-полисульфату в сыворотке крови. При этом у больных с СД без клинически выраженной ангиопатии уровень антител к компонентам соединительной ткани выше, чем в контрольной группе. Уровень антител к исследуемым показателям нарастает в зависимости от тяжести СД и наиболее высок при наличии макрососудистых осложнений.

Это может свидетельствовать об участии аутоиммунных механизмов в реализации системного воспалительного ответа при СД типа 2. Кроме того, прямая взаимосвязь между тяжестью СД типа 2, тяжестью ангиопатии и уровнем антител к коллагену, гиалуроновой кислоте и ГАГ-полисульфату свидетельствует о патогенетической роли аутоантител в реализации сосудистого поражения при СД.

Таким образом, уровень антител к компонентам соединительной ткани отражает сосудистые поражения при СД, что свидетельствует о возможности ис-

пользования этих показателей для диагностики и оценки тяжести диабетической ангиопатии.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Бабаева А. Р., Тарасов А. А., Безбородова Т. А., Захарьина О. А. // Вестник ВолГМУ. — 2010. — №1 (33). — С. 3—8.
2. Моисеев В., Мерай И., Павликова Е., Моисеев В. // Врач. — 2003. — № 3. — С. 3—6.
3. Нагорнев В. А., Восканьянц А. Н. // Вестн. РАМН. — 2004. — № 7. — С. 3—11.
4. Салтыков Б. Б. // Архив патологии. — 2000. — Т. 62, № 2. — С. 5—9
5. Симбирцев А. С. // Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, № 2. — С. 16—22.
6. Токмакова А. Ю., Староверова Д. Н., Анциферов М. Б. // Consilium-medicum. — 2002. — Т. 4, № 10. — С. 26—29.
7. Шестакова М. В., Кошель Л. В., Вагодин В. А., Дедов И. И. // Тер. архив. — 2006. — № 6. — С. 34—39.
8. Coccheri S. // Drugs. — 2007. — Vol. 67 (7). — P. 997—1026.
9. Gotsman I., Stabholz A., Planer D., et al. // Isr. Med. Assoc. J. — 2008. — № 10 (7). — P. 494—498.
10. International Diabetes Federation. The Diabetes Atlas. Third Edition. Brussels: International Diabetes Federation. — 2006.
11. Roglic G., Unwin N., Bennett P. H., et al. // Diabetes Care. — 2005. — Vol. 28 (9). — P. 2130—2135.

**П. Р. Ягупов, С. С. Романюк, Н. А. Корнеева**

Кафедра внутренних болезней педиатрического и стоматологического факультетов ВолГМУ

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЛИЯНИЯ АЦЕФЕНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ВНИМАНИЯ У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**

УДК 616.33-002.44:616.12-008.331.1:615.214.22:614.2

Целью исследования являлась оценка эффективности влияния ацефена на расстройство внимания у больных артериальной гипертензией. Препарат оказывает активное влияние на показатели внимания и может быть рекомендован для коррекции нарушений системы внимания у больных артериальной гипертензией. Ацефен предпочтительнее при наличии признаков астенической депрессии с преобладанием тревожного компонента в клинике.

*Ключевые слова:* ацефен, внимание, артериальная гипертензия.

**P. R. Iagupov, S. S. Romaniuk, N. A. Korneyeva**

## **EFFECTIVENESS OF ACEPHEN IMPACT ON ATTENTION PARAMETERS IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION**

The purpose of research was to estimate the efficiency of Acephen impact on frustration of attention in patients with arterial hypertension. The drug displays a pronounced effect on parameters of attention and can be recommended for correction of attention disorders in patients with arterial hypertension. Acephen is more preferable when there are signs of asthenic depression with prevalence of anxiety component.

*Key words:* acephen, attention, arterial hypertension.

В течение болезни важное место занимает астенический синдром. Снижается порог физиологической адаптации организма, это ведет к снижению работоспособности, внимания, ухудшению памяти,

увеличению времени реакции и нарушениям сенсорной координации. Сложившиеся условия заставляют человека находиться в условиях хронического стресса даже при обычном режиме физической