

УДК 616.379-008.64-085-06:611.986

В.О.Малижєв, Л.В.Анастасій, В.М.Скибун

## Вміст анти-GAD антитіл у сироватці крові хворих на діабетичну нейропатію при лікуванні їх еспа-ліпоном

*Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, м.Київ*

Одним з тяжких ускладнень цукрового діабету (ЦД) є дистальна полінейропатія, що має прогресуючий характер розвитку, навіть при застосуванні широкого арсеналу терапевтичних засобів [6]. Дослідженнями останніх років встановлено, що в організмі хворого на інсулінозалежний цукровий діабет (ІЗЦД) утворюється певна кількість аутоантитіл, які є свідками аутоімунної деструкції (3-клітин [1, 3]. Відзначено також, що ці ж антитіла вступають в реакцію і з відповідними антигенами нервових клітин. Виявлено корелятивний зв'язок між рівнем антиінсулінових антитіл, антитіл до декарбоксілази глутамінової кислоти (анти-GAD), антитіл до фосфоліпідів, гангліозидів і фактора росту нервів у сироватці крові та проявами діабетичної нейропатії [4].

Виходячи з цього, сформувався припущення, що в генезі полінейропатії певне значення мають не тільки відомі механізми (накопичення у периферійних нервах сорбітолу та фруктози, що призводить до осмотичного набряку клітин; виснаження міоїнозитулу, в разі чого порушуються біоенергетичні процеси в аксоні; неферментативне глікування тривало існуючих протеїнів; ушкодження інтраневральних судин), але й патологічні зміни в мієлізованих та немієлізованих аксонах нервів, що обумовлені аутоімунними реакціями. Ця обставина диктує необхідність пошуку нових лікарських засобів, які б специфічно змінювали перебіг аутоімунних процесів.

Раніше нами було встановлено, що такий препарат -ліпоєвої кислоти як еспа-ліпон у хворих на діабетичну стопу проявляв не тільки нейротропні, але й імунотропні властивості [2]. Зокрема, це маніфестувалося підвищенням загальної кількості Т-лімфоцитів, зниженням кількості природних кілерів та нормалізацією вмісту в сироватці крові прозапальних цитокінів.

Природно, що терапевтичний ефект препарату щодо нейропатії міг бути пов'язаний теоретично і з інгібіцією аутоімунних реакцій. Реальність цього припущення була метою даної роботи.

**Матеріали та методи.** Під наглядом перебувало 40 хворих на ЦД. У 36,3 % із них встановлено діагноз ІЗЦД, у 63,7 % - ІНЦД. Термін захворювання становив в середньому 12,7 років. У всіх хворих діагностувалась дистальна полінейропатія різного ступеня тяжкості.

Анти-GAD у сироватці крові виявляли за імуноферментним методом за допомогою діагностичного набору фірми Boehringer Mannheim за стандартною методикою.

Усі хворі в комплексному лікуванні одержували ос-ліпоєву кислоту у вигляді препарату еспа-ліпон (Еспарма, Магдебург, Німеччина). Еспа-ліпон вводили внутрішньовенне у дозі 600 мг в 200 мл 0,9 % ізотонічного розчину 1 раз на добу протягом 15 або 20 днів, залежно від тяжкості полінейропатії.

Клінічні та лабораторні дослідження проводили до та після курсу лікування еспа-ліпоном за загальноприйнятими методиками.

Статистична обробка даних включала підрахунок середніх величин, дисперсійний та кластерний аналізи.

**Результати та обговорення.** Дослідження вмісту анти-GAD антитіл в сироватці крові хворих на ЦД показали, що цей вид аутоантитіл виявляється не у всіх хворих, і частота їх знаходження залежить від типу діабету. Як наведено в табл. 1, найчастіше дані антитіла зустрічаються у хворих на ІЗЦД (72,7 %). У пацієнтів з ІНЦД анти-GAD діагностуються лише у 3 осіб із 29. Такий розподіл анти-GAD позитивних пацієнтів повністю збігається з даними літератури [1]. Дисперсійний аналіз клінічних та лабораторних показників у обстежених хворих на ІЗЦД та ІНЦД за наявності (І група) та відсутності (ІІ група) анти-GAD антитіл виявив достовірну різницю між показниками індексу маси тіла, глюкозурії та больової і тактильної чутливостей нижніх кінцівок з вірогідністю 95% ( $P < 0,05$ ).

Як видно з табл. 2, у хворих з наявністю анти-GAD антитіл індекс маси тіла суттєво нижчий від такого показника у хворих, у яких не визначались аутоантитіла. Пояснюється це тим, що до І групи переважно входили хворі на ІЗЦД, а до ІІ - хворі на ІНЦД, яким притаманне характерне ожиріння. Останнім притаманний і менший ступінь гіперглікемії, а отже, і глюкозурії. Інтерес становлять дані, що характеризують функцію периферійних нервів, яку оцінювали за больовою, тактильною та вібраційною чутливістю згідно з методиками, запропонованими Американською діабетичною Асоціацією. Виявлено, що у разі циркуляції в крові анти-GAD антитіл ці види чутливості, окрім вібраційної, значно менші від таких у хворих без антитіл. Це свідчить про більш тяжкий перебіг нейропатії у хворих, у яких відбувається синтез аутоантитіл до декарбоксілази глутамінової кислоти.

Таблиця 1

**Наявність анти-GAD в сироватці крові хворих на ЦД (абсолютні та відносні показники)**

Показник	Загальна кількість, %	Хворі на ІЗЦД, кількість, %	Хворі на ІНЦД, кількість, %
Кількість хворих	40 100%	11 36,3%	29 63,7%
Наявність анти-GAD	11 36,3%	8 72,7%	3 10,3%

Внаслідок проведення кластерного аналізу одержано додаткові дані. Виявилось, що група хворих, у яких не визначались анти-GAD антитіла, була однорідною за всіма 35 клінічними і лабораторними показниками, що аналізувалися. У той же час, пацієнти з наявністю аутоантитіл чітко розподілилися на 3 кластери, кожний з яких відповідно містив 18,18%; 63,64%; 18,18% хворих. Така ситуація може свідчити про існування різних форм однакової патології, що потребує в подальшому ретельніших досліджень.

Після проведеного лікування хворих еспа-ліпоном насамперед підтвердилась його нейротропна активність, оскільки у них суттєво поліпшувався функціональний стан периферійних нервів. Про це свідчить підвищення рівнів вібраційної (загальної для обох стоп), тактильної та больової чутливостей (табл. 3). Паралельно спостерігалось і покращання самопочуття хворих: відмічались зниження парестезій, зменшення болю та слабкості в кінцівках. Отже препарат сприяв певному відновленню функції ушкоджених нервів у хворих як при ІЗЦД, так і ІНЦД. Хоча в останньому випадку не відмічалось суттєвого покращання больової чутливості.

Таблиця 2

**Показники, між якими існують вірогідні розрізнення ( $P < 0,05$ ) у групі хворих з наявністю анти-GAD антитіл**

Показник	З наявністю антитіл (n=11)	Без антитіл (n=29)
Індекс маси тіла, кг/м <sup>2</sup>	26,64±1,51	30,33±0,96
Глюкозурія, %	2,14±0,35	1,00±0,21
Больова чутливість, відн.од.	1,45±0,16	0,88±0,15
Тактильна чутливість, відн.од.	1,55±0,16	1,06±0,14

Таблиця 3

**Зміни порогу чутливості у хворих на нейропатію при лікуванні еспа-ліпоном**

Показник	Середні величини показників			
	Хворі з наявністю анти-GAD		хворі без анти-GAD	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Вібраційна чутливість	2,5±0,56	5,18±0,58*	2,37±0,49	4,56±0,30*
Больова чутливість	1,45±0,15	0,45±0,16*	0,86±0,15	0,5±0,13
Тактильна чутливість	1,54±0,16	0,46±0,16*	1,06±0,14	0,31±0,11*

Примітка: \* -  $P < 0,05$ .

Таблиця 4

**Вміст анти-GAD в сироватці крові хворих на ЦД з дистальною полінейропатією до та після курсу лікування еспа-ліпоном (нг/мл)**

Групи хворих	Кількість хворих	Середній вміст анти-GAD	
		до лікування	після лікування
Хворі на ІЗЦД	8	156,3±20,6	115,9±18,3
Хворі на ІНЦД	3	649,2±43,1	513,8±31,3
Усі хворі	11	290,75±160,82	224,38±120,79

Означена імуотропна дія еспа-ліпону, проте, не була пов'язана зі змінами в аутоантитілогенезі. Як видно з табл. 4, в усіх хворих на ІЗЦД і ІНЦД еспа-ліпон не спричинив суттєвого зниження кількості анти-GAD антитіл, хоча деякою мірою і є позитивна тенденція до падіння їх рівня у сироватці.

Одержані результати підтвердили, що анти-GAD антитіла найчастіше зустрічаються у хворих на ІЗЦД навіть у терміни, коли, априорі, в організмі вже відсутні р-клітини підшлункової залози. На нашу думку, довготривала їх персистенція в циркуляції може бути пов'язана лише з постійною стимуляцією специфічних антигенреактивних клітин за рахунок антигенних детермінант GAD іншої локалізації, зокрема, нервових волокон. Цьому сприяє, певно, ушкодження нервових клітин, притаманне діабетичній нейропатії, що приводить до своєрідного оголення антигена на їх поверхні. Оскільки нейропатія реєструвалась нами і у

хворих на ІНЦД без наявності анти-GAD антитіл, можна припустити, що останні не відіграють патологічної ролі при формуванні цього ускладнення діабету. У такому разі вони можуть розглядатися лише як свідки деструкції нервових клітин. Якщо це так, то визначена нами імунотропна дія еспа-ліпону може опосередковано свідчити про здатність препарату посилювати процеси регенерації нервів. Про це свідчить виявлена нами тенденція до зниження кількості анти-GAD антитіл при одночасному відновленні функції периферійних нервів. Врешті-решт висновок з цього питання може бути зроблений при вимірюванні кількості антитіл у віддалені терміни після початку лікування еспа-ліпоном. Це впливає з відомого факту про відносно тривалий термін життя імуноглобулінів, у тому числі і антитіл до ферменту, які вивчалися.

На особливу увагу заслуговують дані про реєстрацію анти-GAD антитіл у невеликого відсотка хворих на ІНЦД. При цьому привертає увагу вищий їх рівень у сироватці порівняно з хворими на ІЗЦД. Аналіз літератури у цьому плані [5] дозволяє стверджувати, що ці антитіла можуть бути причиною або наслідком руйнування  $\beta$ -клітин, тобто такі хворі мають, найвірогідніше, латентний аутоімунний ЦД. У разі підтвердження цього висновку, наявність анти-GAD антитіл у хворих на ІНЦД може слугувати діагностичним критерієм розвитку аутоімунного ураження інсулінсекретуючих елементів.

Висновки:

1. У хворих з діабетичною дієтальною нейропатією у сироватці крові визначаються анти-GAD антитіла: при ІЗЦД у 72,7% випадків, при ІНЦД - у 10,3%.

2. За наявності у сироватці крові анти-GAD антитіл відзначаються виразніші ушкодження функціональної діяльності периферійних нервів.

3. Лікувальний ефект еспа-ліпону при діабетичній нейропатії супроводжується тенденцією до зниження вмісту анти-GAD антитіл у сироватці крові.

4. При ІЗЦД, на стадії повної відсутності ( $\beta$ -клітин, визначення анти-GAD антитіл слід розглядати як показник структурно-функціонального ушкодження нервових клітин, тоді як їх наявність при ІНЦД може бути ознакою аутоімунного руйнування  $\beta$ -клітин підшлункової залози.

1. Малижєв С.О. // Иммунол. та алергол. - 1998. - №1, - С. 47-59.

2. Скибун Б.М. // Ліки. - 1998. - №2. - С. 89-92.

3. Bingley P.J., Donifacio E., Alistair J.K. et al. // Diabetes. - 1997. - V.46, №11. - P. 1701-1710.

4. Diabetes Mellitus/Ed. by D.Le Roith, S.I. Taylor, J.M.Olefsky. - Philadelphia, New York: Lippincott-Raven Publ., 1996. - P. 751-758.

5. Sato A, Uchigata Y., Abiru N. et al. // J. Jap. Diabet. Soc. - 1998. - V.41, №2. - P. 103-109.

6. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive diabetes therapy on the development and progression of neuropathy // Ann. intern. Med. - 1995. - V.122. - P. 561-568.

Надійшла до редакції  
29.04.99

В.А.Малыжєв, Л.В.Анастасий, В.Н.Скибун

### Содержание анти-GAD антител в сыворотке крови больных диабетической нейропатией при лечении их эспа-липонам

Настоящая работа была проведена для выяснения возможного нейротропного действия эспа-липона, связанного с ингибированием аутоиммунных реакций, которые гипотетически рассматриваются в качестве причины диабетической нейропатии. Исследовали сыворотки крови 40 больных ИЗСД и ИНСД. Определяли содержание в них антител к декарбоксилазе глутаминовой кислоты (GAD) иммуноферментным методом. Обнаружено, что данные антитела наиболее часто встречаются при ИЗСД (в 72,7% случаев). У больных ИНСД анти-GAD антитела выявлялись только у 10,3% пациентов. При применении эспа-липона на протяжении 15-20-ти дней наблюдалось существенное улучшение функции дистальных нервных окончаний, на фоне чего обнаруживалась лишь тенденция к снижению количества анти-GAD антител в крови. Сравнительный анализ этих показателей с 35 клинико-лабораторными параметрами позволил заключить, что анти-GAD антитела не принимают участия в разрушении нервных клеток, а являются лишь маркерами их структурных изменений. Детекция этих антител в крови может служить показателем тяжести нейропатии и критерием лечебного эффекта проводимой терапии.

V.A.Malyzhev, L.V.Anastasy, V.N. Skibun

### The concentration of anti-GAD autoantibodies in blood serum of patients with diabetic neuropathy treated with espa-lipon

We have studied the connection of the neurotrophic effect of espa-lipon with level of anti-GAD antibodies in 40 patients with IDDM or NIDDM. The treatment by espa-lipon substantially reduced the symptoms of diabetic peripheral neuropathy without causing significant changes in the amount of anti-GAD in blood serum. We conclude that anti-GAD autoantibodies can't destroy nerves cells but its concentration in blood can be the criterion for assessing the size of destruction of nerve fiber.