

С.А. Таха, О.П. Витовская, Н.Г. Бычкова, А.М. Соколова
 Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев

Клинико-иммунологическая эффективность применения аргинина в комплексном лечении пациентов с непролиферативной диабетической ретинопатией

Цель работы — изучить показатели иммунного и цитокинового статуса у пациентов с непролиферативной диабетической ретинопатией (ДР) в динамике комплексного лечения с включением аминокислоты аргинина. **Объект и методы исследования.** Обследовано 127 пациентов с непролиферативной ДР (средний возраст — 68,3±2,1 года). Пациенты распределены на группы: традиционной терапии (группа сравнения, n=42) и получавших дополнительно к традиционной терапии аминокислоту аргинин (Тивортин®) внутривенно капельно в течение 1 мес с переходом на пероральный прием в форме суспензии на протяжении 1 мес (основная группа, n=85). Контрольную группу составили 36 здоровых лиц. **Результаты.** Применение традиционной терапии в сочетании с аргинином способствовало увеличению числа CD3+-лимфоцитов на 35,02% (p<0,05), уменьшению выраженности явлений В-лимфоцитоза на фоне достоверного уменьшения количества активированных субпопуляций лимфоцитов, экспрессирующих различные молекулы адгезии, устранению дисбаланса циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) (отмечено достоверное снижение уровня патогенных ЦИК среднего размера (11–19S) на 18,30% (p<0,05), малого (<11S) — на 25,80% (p<0,05) при одновременном повышении концентрации физиологических ЦИК большого размера (>19S) на 41,14% (p<0,05)), достоверному снижению уровня провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли-α — на 52,57% (p<0,05), интерлейкина (ИЛ)-1β — на 44,66% (p<0,05), ИЛ-6 — на 38,02% (p<0,05), трансформирующего фактора роста-β — в 2,15 раза (p<0,05)), а также повышению концентрации в плазме крови противовоспалительного ИЛ-4 на 30,11% (p<0,05) — до значений, не отличающихся от нормы. **Выводы.** Показана высокая клинико-иммунологическая эффективность включения аминокислоты аргинина в комплексную терапию больных непролиферативной ДР, которая заключается в снижении уровня активированных субпопуляций лимфоцитов, экспрессирующих различные молекулы адгезии, их эффекторных функций и миграции в очаг воспаления в сосудистой стенке. Также установлена нормализация уровня провоспалительных цитокинов и трансформирующего фактора роста-β, поскольку именно их постоянная неконтролируемая гиперпродукция является ключевым моментом последующего повреждения органа зрения при сахарном диабете с развитием более тяжелых форм диабетической ретинопатии.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая ретинопатия, цитокины, молекулы адгезии, лимфоциты, аргинин.

Введение

Сахарный диабет (СД) 2-го типа — глобальная медицинская, социальная и экономическая проблема XXI в., актуальность которой обусловлена сразу несколькими факторами: чрезвычайно высокой распространенностью заболевания, частым развитием серьезных, инвалидизирующих, а нередко и фатальных осложнений, огромным социально-экономическим бременем (World Health Organization, 2012; Маньковский Б.Н., 2013; Ташук В.К., 2016). Неминущее без адекватной терапии поражение сосудов и нервов на фоне СД приводит к развитию инвалидизирующих осложнений и сокращению продолжительности жизни пациентов. Именно СД 2-го типа является ведущей причиной ретинопатии и слепоты, а также почечной недостаточности во всем мире (Маньковский Б.Н., 2013).

Основным патогенетическим механизмом развития ретинопатии при СД 2-го типа, помимо стимуляции формирования микроаневризм и ремоделирования капиллярной сети с последующей ишемией, следует отнести и цитокиновый дисбаланс, включающий повышение уровня провоспалительных цитокинов и эндотелина, отмечаемое даже у пациентов с непродолжительной длительностью заболевания (Балашова Л.М., 1999).

Лечение больных диабетической ретинопатией (ДР) все еще остается полностью нерешенной задачей современной офтальмологии. Разработать единую концепцию развития ретинопатии и оптимальную схему ее лечения, воздействующую на все звенья патогенеза заболевания, до сих пор не удалось. В курс симптоматического лечения включают средства сосудотвердого, рассасывающего, тормозящего свертывание крови, стимулирующего, сосудорасширяющего действия. Обязательно назначают

препараты, улучшающие микроциркуляцию, и комплексы витаминов (А, Е, группы В) (Балаболкин М.И. и соавт., 1999; Балашова Л.М., 1999).

В настоящее время все больше исследований доказывают патогенетическую необходимость применения препаратов аргинина для улучшения функции эндотелия у больных СД и заболеваниями, ассоциированными с атеросклерозом. Выявленный еще в 1991 г. «L-аргининовый парадокс» свидетельствует о том, что L-аргинин способствует улучшению функции эндотелия независимо от причин, вызвавших снижение биодоступности оксида азота. L-аргинин активирует гуанилатциклазу и повышает уровень циклического гуанидинмонофосфата в эндотелии сосудов, уменьшает адгезию и активацию лейкоцитов и тромбоцитов, угнетает синтез молекул адгезии VCAM-1 и MCP-1, подавляет синтез эндотелина-1, который является мощным вазоконстриктором и стимулятором пролиферации гладких миоцитов сосудистой стенки. Получены также данные о его положительном эффекте при дисфункции эндотелия у лиц пожилого возраста, что способствовало достоверным снижению уровня С-реактивного протеина и интерлейкина (ИЛ)-6. Кроме того, получены данные об увеличении просвета сосудов в стенозированном сегменте на 3–24% у лиц с ишемической болезнью сердца (Ташук В.К., 2016).

Таким образом, исследование клинико-иммунологической эффективности применения аргинина в комплексном лечении больных непролиферативной ДР представляет большой интерес для получения более полной информации о патогенезе заболевания и разработки новых методов его лечения (Балаболкин М.И. и соавт., 1999; Балашова Л.М., 1999).

Цель работы — изучить показатели иммунного и цитокинового статуса у больных неопролиферативной ДР в динамике комплексного лечения с включением аминокислоты аргинина.

Объект и методы исследования

Обследовано 127 пациентов с неопролиферативной ДР (средний возраст — 68,3±2,1 года) — при первичном обращении в стационар и через 1 мес после начала терапии. Пациентов разделили на группы: традиционной терапии (группа сравнения, n=42) и дополнительного к традиционной терапии получения аминокислоты аргинина (препарат Тивортин®, «Юрия-Фарм», Украина) внутривенно капельно в течение 1 мес с переходом на пероральный прием в форме суспензии в течение 1 мес (основная группа, n=85). Контрольную группу составили 36 здоровых лиц, рандомизированных по возрасту и полу.

Иммунологическое обследование включало: определение основных популяций и субпопуляций лимфоцитов в периферической крови, уровня экспрессии на них активационных антигенов (CD25+, CD95+, CD54+, CD11b+, CD62L+, HLA-DR+), функциональной активности Т- и В-лимфоцитов, фагоцитарной активности нейтрофилов, определение концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) различной молекулярной массы и уровня про- и противовоспалительных цитокинов (Передерий В.Г. и соавт., 1995).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft XP Excel, а также при помощи стандартной версии Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 17.0.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что в динамике лечения количество лейкоцитов и лимфоцитов в обеих группах достоверно не отличалось от исходных данных (p>0,1) (табл. 1). При первичном обследовании у пациентов с ДР выявлено достоверное снижение уровня CD3+ лимфоцитов; этот показатель на фоне традиционной терапии повысился на 9,03% (p>0,1), у пациентов основной группы — на 35,02% (p<0,05).

В результате добавления к традиционной терапии аминокислоты аргинина отмечена нормализация иммунорегуляторного индекса с достоверным повышением уровня CD8+ лимфоцитов на 45,65% (p<0,05) — до значения показателя контрольной группы (p>0,1).

Как видно из табл. 1, применение традиционной терапии в сочетании с аргинином способствовало уменьшению выраженности явлений В-лимфоцитоза на фоне достоверного уменьшения количества активированных субпопуляций лимфоцитов, экспрессирующих различные молекулы адгезии, а именно рецептора ICAM-1 (CD54+) на лимфоцитах периферической крови, а также рецепторов CD11b+ (лиганд рецептора CD54+) и CD62L+, обеспечивающих прикрепление клеток к эндотелиальной стенке, ее повреждение и иммунное воспаление. Эти результаты свидетельствуют о выраженном противовоспалительном эффекте применяемой схемы, восстановлении рецепторного аппарата лимфоцитов, что клинически проявлялось уменьшением прогрессирования ДР.

Изучение функциональной активности иммунокомпетентных клеток показало, что у пациентов основной группы в динамике лечения произошло повышение стимулированной пролиферативной активности Т-лимфоцитов на 20,21% (p<0,05), что свидетельствует о восстановлении чувствительности рецепторного аппарата Т-клеток, а также нормализации спонтанной реакции бласттрансформации лейкоцитов (РБТЛ), уровень которой снизился на 35,1% (p<0,05), достигнув значений контрольной группы, что, в свою очередь, свидетельствует об уменьшении выраженности аутоиммунных проявлений с постоянной антигенной стимулирующей аутоантигенами ткани глаза и снижении степени повреждения эндотелия сосудов как проявления СД 2-го типа (табл. 2).

По данным анализа показателей гуморального звена иммунитета у пациентов основной группы, получавших дополнительно к традиционной терапии аминокислоту аргинин, установлено нормализацию измененных показателей концентрации иммуноглобулина (Ig)G и А после проведенного лечения; содержание IgM оставалось неизменным (табл. 3). Проведенное лечение также способствовало устранению дисбаланса ЦИК — у пациентов

Таблица 1. Уровень основных популяций и субпопуляций лимфоцитов у больных ДР в динамике лечения (M±m)

Иммунологические показатели	До лечения (n=127)	После лечения		Контрольная группа (n=36)
		Группа сравнения (n=42)	Основная группа (n=85)	
Лейкоциты, ·10 ⁹ /л	4,61±0,38	4,95±0,52	5,64±0,47	5,13±1,47
Лимфоциты, %	32,10±1,25*	31,65±1,04	29,04±0,86	26,40±3,05
CD3+ лимфоциты, %	49,72±2,16*	54,21±1,95*	67,13±2,31**,*	66,90±3,13
CD4+ лимфоциты, %	48,35±1,79	48,76±1,73	45,36±1,52	45,20±4,04
CD8+ лимфоциты, %	19,21±0,65*	20,49±2,17*	27,98±1,24**,*	28,60±3,11
CD4+/CD8+	2,51±0,19*	2,38±0,26*	1,62±0,12**,*	1,62±0,12
CD19+ лимфоциты, %	31,04±1,14*	30,57±1,49*	26,04±1,21*	15,80±1,85
CD16+ лимфоциты, %	15,20±0,83	15,68±0,73	14,57±0,65	17,80±2,06
CD25+ лимфоциты, %	17,93±0,92*	18,24±0,81*	15,28±0,56**,*	8,81±0,19
CD95+ лимфоциты, %	13,17±0,78*	11,89±0,96*	7,95±0,29**,*	3,04±0,02
HLA-DR+ лимфоциты, %	22,56±1,04*	20,96±1,14*	18,64±0,47**,*	12,31±1,27
CD54+ лимфоциты, %	19,58±1,13*	17,93±1,34*	12,98±0,61**,*	11,09±1,65
CD11b+ лимфоциты, %	36,21±1,81*	35,61±1,33*	22,67±1,05**,*	21,53±1,4
CD62L+ лимфоциты, %	40,93±1,25*	39,72±1,47*	30,18±1,14**,*	28,38±1,7

В табл. 1–4: * достоверность различий показателей относительно данных контрольной группы p<0,05; ** достоверность различий показателей до и после лечения p<0,05; * достоверность различий показателей между основной группой и группой сравнения p<0,05.

Таблица 2. Функциональная активность иммунокомпетентных клеток у больных ДР в динамике комплексного лечения (M±m)

Иммунологические показатели	До лечения (n=127)	После лечения		Контрольная группа (n=36)
		Группа сравнения (n=42)	Основная группа (n=85)	
РБТЛ спонтанная, %	4,50±0,20*	3,96±0,17*	2,92±0,14**,*	2,80±0,56
РБТЛ с фитогемагглютинином, %	63,40±3,52*	70,85±3,41	76,21±3,25**,*	72,20±4,45
Фагоцитарное число	5,80±0,37	5,91±0,42	6,18±0,21	6,30±0,58
Фагоцитарный индекс, %	63,51±2,41	63,97±2,76	64,27±2,25	62,60±3,74

Таблица 3. Показатели гуморального звена иммунитета у больных ДР в динамике комплексной терапии с включением аргинина (M±m)

Иммунологические показатели	До лечения (n=127)	После лечения		Контрольная группа (n=36)
		Группа сравнения (n=42)	Основная группа (n=85)	
IgG, г/л	16,94±1,25*	15,27±1,35	12,75±0,64**,*	12,68±1,42
IgA, г/л	0,93±0,08*	0,98±0,07	1,45±0,08**,*	1,52±0,19
IgM, г/л	0,97±0,06	1,0±0,09	1,05±0,07	0,98±0,09
ЦИК (>19S), у.е.	30,94±2,14*	34,75±1,90*	43,67±2,15**,*	51,70±3,21
ЦИК (11–19S), у.е.	47,98±2,51*	42,70±1,13*	39,20±1,19**,*	34,54±2,02
ЦИК (<11S), у.е.	29,18±1,64*	28,74±1,27*	21,65±0,73**,*	10,94±1,13

Таблица 4. Содержание цитокинов в плазме крови у больных ДР в динамике лечения (M±m)

Показатели	До лечения (n=127)	После лечения		Контрольная группа (n=36)
		Группа сравнения (n=42)	Основная группа (n=85)	
ФНО-α, пг/мл	98,50±4,51*	83,15±4,7*	46,72±3,28**,*	42,30±4,7
ИЛ-1β, пг/мл	76,13±3,92*	69,40±3,5*	42,16±3,85**,*	39,42±3,5
ИЛ-6, пг/мл	19,41±1,12*	17,31±1,3*	12,03±0,92**,*	10,31±0,85
ИЛ-4, пг/мл	19,70±1,35*	20,65±1,75	25,63±1,59**,*	25,42±1,3
ТФР-β, пг/мл	96,35±7,31*	85,49±6,5*	44,81±2,63**,*	41,37±2,48

основной группы отмечено достоверное снижение уровня патогенных ЦИК среднего размера (11–19S) на 18,30% (p<0,05), а малого (<11S) — на 25,80% (p<0,05) при одновременном повышении концентрации физиологических ЦИК большого размера (>19S) на 41,14% (p<0,05).

Динамика уровня основных цитокинов в плазме крови под влиянием терапии с включением аргинина представлена в табл. 4. В результате проведенного лечения в основной группе пациентов установлено достоверное снижение уровня провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухоли (ФНО)-α — на 52,57% (p<0,05), ИЛ-1β — на 44,62% (p<0,05), ИЛ-6 — на 38,02% (p<0,05), трансформирующего фактора роста (ТФР)-β — в 2,15 раза (p<0,05), а также повышение концентрации в плазме крови противовоспалительного ИЛ-4 на 30,10% (p<0,05) — до значений, не отличавшихся от нормы. В то же время в группе сравнения в динамике лечения достоверных отличий уровня цитокинов от исходных значений не выявлено (p>0,1).

Таким образом, установлено, что сочетание традиционной терапии с аминокислотой аргинином оказывает выраженный противовоспалительный эффект, который заключается в снижении уровня ФНО- α и ИЛ-1 β , что имеет патогенетическое значение для лечения ДР при СД 2-го типа. Именно ФНО- α рассматривают как медиатор инсулинорезистентности при ожирении и СД, снижающий активность тирозинкиназы инсулинового рецептора, а также внутриклеточных транспортеров глюкозы в мышечной и жировой тканях. Наличие у больных СД дислипидемии и атеросклероза также обуславливает специфические изменения в иммунной системе, поскольку в последние годы накоплено большое количество данных об участии иммунных механизмов в патогенезе атеросклероза и предложены иммунные теории атерогенеза (Ташук В.К., 2016). Нормализация уровня ТФР- β также имеет очень важное патогенетическое значение, поскольку дефекты его сигнальных путей обуславливают усиление пролиферации и эффекторной функции иммунных клеток и могут привести к неконтролируемой форме иммунного ответа. При патологических состояниях именно ТФР- β является индуктором процессов фиброза, повышает синтез коллагена звездчатыми клетками печени. Гиперпродукция ТФР- β и других цитокинов инициирует и регулирует неонатогенез, при этом патологический процесс в сетчатке глаза часто прогрессирует и приводит к развитию пролиферации (Балаболкин М.И. и соавт., 1999).

Выводы

Таким образом, показана высокая клинико-иммунологическая эффективность включения аминокислоты аргинина в комплексную терапию больных неproлиферативной ДР. Выявлено достоверное снижение уровня активированных субпопуляций лимфоцитов, экспрессирующих различные молекулы адгезии, их эффекторных функций и миграции в очаг воспаления в сосудистой стенке. Также установлена нормализация уровня провоспалительных цитокинов и ТФР- β , поскольку именно их постоянная неконтролируемая гиперпродукция является ключевым моментом последующего повреждения органа зрения при СД с развитием более тяжелых форм ДР.

Список использованной литературы

- Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. (1999) Патогенез ангиопатий при сахарном диабете. Сахарный диабет, 1: 2–8.
- Балашова Л.М. (1999) Морфологические особенности и иммуногемостатические механизмы развития диабетической ретинопатии. Вест. офтальмол., 115(5): 45–48.
- Маньковский Б.Н. (2013) Сахарный диабет – эпидемиология, этиология, патогенез. Здоров'я України, 2: 17.
- Передерий В.Г., Земсков А.М., Бычкова Н.Г., Земсков В.М. (1995) Иммунный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений. Здоров'я, Киев, 211 с.
- Ташук В.К. (2016) Патогенетический подход к терапии ишемии сердца. Нов. мед. фармац., 14: 8–10.
- World Health Organization (2012) Burden: mortality, morbidity and risk factors (http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_chapter1.pdf?ua=1).

Клініко-імунологічна ефективність застосування аргініну в комплексному лікуванні пацієнтів з неproліферативною діабетичною ретинопатією

С.А. Таха, О.П. Витовська, Н.Г. Бичкова, А.М. Соколова

Резюме. *Мета роботи* – вивчити показники імунного та цитокінового статусу у пацієнтів з неproліферативною діабетичною ретинопатією (ДР) в динаміці комплексного лікування з включенням амінокислоти аргініну. *Об'єкт і методи дослідження.* Обстежено 127 пацієнтів з неproліферативною ДР (середній вік – 68,3 \pm 2,1 року). Пацієнти розподілені на групи: традиційної терапії (група порівняння, n=42) і тих, які додатково до традиційної терапії отримували амінокислоту аргінін (Тивортін[®]) внутрішньовенно крапельно протягом 1 міс з переходом на пероральний прийом у формі суспензії впродовж 1 міс (основна група, n=85). Контрольну групу становили 36 здорових осіб. *Результати.* Застосування традиційної терапії в поєднанні з аргініном сприяло збільшенню кількості CD3+–

лімфоцитів на 35,02% (p<0,05), зменшенню вираженості явищ В-лімфоцитозу на тлі достовірного зменшення кількості активованих субпопуляцій лімфоцитів, що експресують різні молекули адгезії, усуненню явищ дисбалансу циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) (відзначено достовірне зниження рівня патогенних ЦІК середнього розміру (11–19S) – на 18,30% (p<0,05), малого (<11S) – на 25,81% (p<0,05) при одночасному підвищенні концентрації фізіологічних ЦІК великого розміру (>19S) на 41,14% (p<0,05)), а також достовірному зниженню рівня прозапальних цитокинів (фактора некрозу пухлини- α – на 52,57% (p<0,05), інтерлейкіну (ІЛ)-1 β – на 44,66% (p<0,05), ІЛ-6 – на 38,02% (p<0,05), трансформуючого фактора росту- β – у 2,15 разів (p<0,05)), а також підвищенню концентрації в плазмі крові протизапального ІЛ-4 на 30,11% (p<0,05) – до значень, які не відрізнялися від норми. **Висновки.** Показана висока клініко-імунологічна ефективність включення амінокислоти аргініну в комплексну терапію хворих на неproліферативну ДР, яка полягає у зниженні рівня активованих субпопуляцій лімфоцитів, що експресують різні молекули адгезії, їх ефекторних функцій та міграції у вогнище запалення в судинній стінці. Також встановлено нормалізацію рівня прозапальних цитокинів і трансформуючого фактора росту- β , оскільки саме їх постійна неконтрольована гіперпродукція і є ключовим моментом подальшого пошкодження органа зору при цукровому діабеті з розвитком тяжких форм ДР.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична ретинопатія, імунітет, цитокини, молекули адгезії, активовані лімфоцити, аргінін.

Clinical and immunological efficacy of arginine in the complex treatment of patients with non-proliferative diabetic retinopathy

S.A. Taha, O.P. Vytovskaya, N.G. Bychkova, A.M. Sokolova

Summary. *The aim of this work* was to study the performance of the immune and cytokine status in patients with nonproliferative diabetic retinopathy (DR) during complex treatment with the inclusion of the amino acid arginine. *Material and methods.* There were examined 127 patients with nonproliferative DR (average age – 68.3 \pm 2.1 years). The patients were divided into two groups: those who have received traditional therapy (comparison group, n=42) and the amino acid arginine (Tivortin) in addition to the traditional therapy during 1 month intravenously with transition to oral suspension during 1 month (main group, n=85). The control group consisted of 36 healthy individuals. *Results.* The appointment of traditional therapy in combination with arginine contributed to the increase in the number of CD3+–lymphocytes on 35.02% (p<0.05), reduction of the B-lymphocytosis in the background of significant changes in number of activated lymphocyte subpopulations expressing various adhesion molecules, to restore balance to the circulating immune complexes (there was a significant decrease in the level of pathogenic CIC of medium size (11–19S) – 18.30% (p<0.05), small size (<11S) – by 25.81% (p<0.05) while increase in the concentration of physiological CIC of large size (>19S) by 41.14% (p<0.05)) and significant decrease of proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor- α – by 52.57% (p<0.05), IL-1 β – by 44.66% (p<0.05), IL-6 – by 38.02% (p<0.05), transforming growth factor- β – by 2.15 times (p<0.05), as well as an increase of serum concentrations of anti-inflammatory IL-4 by 30.11% (p<0.05) – to values that did not differ from the norm. *Conclusions.* It was shown high clinical and immunological efficacy of adding the amino acid arginine in the complex therapy of patients with non-proliferative DR: reduce of the level of activated subpopulations of lymphocytes expressing different adhesion molecules, their effector functions, and migration to the inflammatory focus in the vascular wall. It was also found normalization of proinflammatory cytokines and transforming growth factor- β , as their constant uncontrolled hyperproduction is the crucial point for the subsequent damage of organ of vision in diabetes mellitus with the development of severe forms of DR.

Key words: diabetes mellitus, diabetic retinopathy, cytokines, adhesion molecules, lymphocytes, arginine.

Адрес для переписки:

Салах Ахмад Таха
01023, Киев, ул. Шелковичная, 39/1
Александровская городская клиническая больница
E-mail: taha.s.a@live.com

Получено 27.02.2017