<https://doi.org/10.32863/1682-7392-2019-3-67-39-42>

ПРОТЕИНОЦЕНТРИЧЕСКАЯ ГИПОТЕЗА ПАТОГЕНЕЗА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Головкин В.И., Гулак Д.А., Давыдова Н.И., Калашникова А.А.

СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Введение. Существующие представления о патогенезе сахарного диабета 2-го типа (СД2) и его осложнений преимущественно выступают в виде составляющих трех теорий. Наиболее старая из них – глюкоцентрическая (с ключевыми словами инсулинорезистентность и гиперинсулинемия). В конце 80-х гг. прошлого века ей на смену пришла липоцентрическая теория (ключевым словом ожирение, или висцероабдоминальное ожирение). Наконец, в настоящее время наиболее бурно развиваются исследования в русле липокиновой (вариант липоцентрической) теории (с ключевым словом лептин) [1, 4]. При этом известно, что ОНМК при СД2 могут развиваться и при нормогликемии, аза нетромботический инсульт часто принимают декомпенсацию диабетической дисметаболической энцефалопатии, а ввозрасте до 40 лет в случае непродолжительного течения СД часто развиваются кровоизлияния в мозг [3]. Механизм же связи ожирения и метаболического синдрома до сих пор не изучен [2]. Более того, 40 % больных СД2 не имеют ожирения вообще. Здесь важно напомнить, что в физиологическом состоянии препятствуют гипергликемии регулирующие олигопептиды поджелудочной железы (С-пептид, соматостатин и др.), а не инсулин, и гликирование белков, например, гемоглобина происходит до развития симптомов сахарного диабета. Жизнь, вообще-то, – это способ существования именно белковых тел.

Цель работы. Используя иммунологические, гистологические методики и лабораторный эксперимент с адгезией бета-амилоидного пептида на поверхности моноцитов крови попытаться уловить белково-конформационный компонент диабетической энцефалопатии.

Материал и методы. У 20 пациентов (4 мужчин, 16 женщин) пожилого (62,4±3,14) и старческого (84,6±4,48) возраста с ДбЭ выполнены иммунологические анализы крови для определения спонтанной, индуцированной продукции и сывороточного содержания IL-1b, а также для изучения особенностей адгезии амилоидного пептида моноцитами. Оценку концентрации IL-1b проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА): Использовали тест-системы Интерлейкин-1 бета-ИФА-БЕСТ (Вектор Бест, Россия). Постановку анализа проводили согласно инструкции производителя. В качестве индуктора использовали пирогенал (ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ). Учет результатов адгезии β-амилоида к поверхности моноцитов проводили методом проточной цитометрии на цитофлюориметре Navios (BeckmanCoulter, США). Использовались моноклональные антитела против моноцитов и лейкоцитов, конъюгированных с красителями CD14 PE и CD45 APC соответственно. В опытную пробирку добавляли раствор лиофилизированного бета-амилоидного пептида (ANASPEC, USA) и рассчитывали плотность экспрессии FAB фрагмента бета-амилоида на моноцитах (bA-FAB+CD14). Кроме того, в 19 случаях ДбЭ, осложнённой фатальными ишемическими инсультами проведено гистологическое исследование головного мозга с окраской микротомных срезов гематоксилин-эозином, по Ван Гизону и конго красным. В качестве группы сравнения иммунологически обследовано 19 больных гипертензивной и атеросклеротической ДЭ в возрасте 84,36±4,0 года.

Результаты исследования и их обсуждение.

Таблица 1.

ИЛ-1b при диабетической (ДбЭ) и дисциркуляторной (ДЭ) энцефалопатии ($M \pm mng/мл$)

	спонтанная	индуцированная	сывороточное
	продукция	продукция	содержание
ДбЭ (n=20)	1,0±0,0	1267,0±92,2*	1,0±0,0
ДЭ (n=10)	3,0±1,1	780,0±313,0*	1,0±0,0

Примечание: * – $t=2,2$; $p < 0,05$

Интерлейкин 1 бета, как известно, синтезируется кратковременно, а не постоянно, и только в ответ на попадание в организм антигена (индуцированная продукция) и почти исключительно в гипоталамусе и гиппокампе. Являясь про-воспалительным цитокином, участвует в повреждении тканей, в частности в гибели В-клеток островков Лангерганса, что во многом определяет дальнейшее развитие заболевания. Однако, в таких случаях должно быть существенное увеличение остаточного сывороточного интерлейкина [5, 6], чего не обнаружено в нашем исследовании. Более того, при изучении анализов крови больной церебральной амилоидной ангиопатией [7] статус ИЛ-1b был аналогичным: 25 – 1584 – 1 пг/мл, что в данном случае объяснялось стимуляцией цитокина амилоидным белком. В свою очередь ИЛ-1бета, воздействует на глиальные клетки ЦНС, вызывает продукцию гепатоцитами белков острой фазы, например, амилоида А, т.е. активирует диспротеиноз с появлением аномально-го фибриллярного белка в межклеточной ткани и в стенках сосудов [8].

Таблица 2.

Адгезия моноцитами бета-амилоидного пептида при диабетической (ДбЭ) и дисциркуляторной (ДЭ) энцефалопатии

Группы больных (1), (2), (3)	ДбЭ (1) пожилые (9 чел.)	ДбЭ (2) старые (9 чел.)	ДЭ (3) старые (9 чел.)
Возраст (лет)	62,4±3,14	84,6±4,48	83,6±4,48
Моноциты, связавшие амилоид (%)	93,6±8,8	98,95±1,9	91,7±6,15
Плотность экспрессии амилоида на поверхности моноцитов	5,7±2,2 (1)	15,7±3,8 (2)	7,3±1,8 (3)

Примечание: $t_{1-2} - 5,99$; $p_{1-2} < 0,05$; $t_{2-3} - 3,99$; $p_{2-3} < 0,05$

Несмотря на зависимость экспрессии амилоида от возраста больных и, естественно, от длительности заболевания (в данном случае интенсивности гликирования белков), что можно расценивать и как признак старческого амилоидоза, но достоверность различий между больными ДЭ и ДбЭ одного возраста всё-таки обращает внимание на существенный вклад гипергликемии в процесс конформации белков (в данном случае токсичность бета-амилоида в деле нарастания когнитивных нарушений, характерных для ДбЭ, а не для ДЭ).

Для уточнения особенностей адгезии амилоида моноцитами приводим результирующие гистограммы этого эксперимента у двух больных (см. рис 1 и рис.2). Очевидна разница в конфигурации гистограмм, площади их основания и в количестве пиков концентраций адгезированных веществ на поверхности моноцитов крови.

Плазматическая мембрана изучаемых клеток, как известно, пронизана множеством рецепторов к различным стимулам, таким как рецепторы АТФ (показатели местного повреждения тканей), toll-like рецепторы TLR, которые реагируют на молекулы, высвобождаемые гибнущими клетками (DAMPs: damage-associatedmolecularpatterns) или патогенами (PAMPs: pathogenassociatedmolecularpatterns) [9]. Поэтому возможно, что высокая адгезия у пациентки с большим стажем заболевания связана с тем, что при длительном воспалительном процессе амилоид связывается не только со специфическими рецепторами к амилоиду, но и с другими рецепторами, взаимодействующими с DAMP (собственными антигенами, которые появляются при разрушении тканей). При этом, как правило имеется взаимосвязь высокой плотности амилоида и про-воспалительного цитокина IL-1b. Тем более это вероятно, что при специальном изучении аутопсийных материалов [10] нами выявлено смещение танатогенеза ДбЭв сторону полиморбидной соматической патологии. Так, несмотря на клинические диагнозы ОНМК, выставленных во всех посмертных эпикризах, патологоанатомическое подтверждение острых инфарктов мозга найдено только в 40 % случаев. В 15 % сосудистые нарушения квалифицированы как декомпенсация на фоне ранее произошедших повторных лакунарных инсультов, судя по найденным в 60 % случаев кистам подкорковых структур, что характерно для развитой ДбЭ. В 45 % заключениях ПАО указана гипердиагностика ОНМК, а причина летального исхода помещена в т.н. соматическую декомпенсацию, развившуюся вследствие полиморбидной патологии: сердечно-лёгочная недостаточность (45 % случаев), эндогенная онкологическая и гангренозная интоксикация при ОАСНК (40 % случаев), другая висцеральная отягощённость: некроз кишечника, инфаркт почки, рак поджелудочной железы и пр. (15 % случаев). Интересно, что уровень гипергликемии, а, следовательно, и гликирования белков, был существенно выше при соматической, чем при сосудистой декомпенсации: $16,44 \pm 5,05$; $6,0 \pm 0,5$; $7,85 \pm 1,1$ ммоль/л соответственно.

Рис.1: Б-ная Б, 63 года, длительность ДбЭ 3 года. Индекс плотности адгезии амилоида 3,5

Рис.2: Б-ная Д, 94 года, длительность ДбЭ 20 лет. Индекс плотности адгезии амилоида 49,7

Есть основание полагать, что также как моноциты крови ведут себя и микроглиоциты за барьером ЦНС, поскольку эти клетки «не просто знакомые, а родня» (kithandkin) [11]. Тогда дифференцированная активация микроглии может способствовать элиминации бета-амилоида из нервной ткани.

Результаты изучения аутопсийного материала с выявлением достаточно частого положительного окрашивания срезов мозговой ткани конго рот: 17 % против 5,5 % других публикаций [12] представлены в табл. 3.

Таблица 3.

Гистопатологические особенности диабетической и дисциркуляторной энцефалопатии

ДИАБЕТИЧЕСКАЯ ЭНЦЕФАЛОПАТИЯ	ДИСЦИРКУЛЯТОРНАЯ ЭНЦЕФАЛОПАТИЯ
Некроз стенок сосудов с множественными микрогеморрагиями в паренхиме мозга (15 %)	Некроз стенок сосудов с единичными микрогеморрагиями в паренхиме мозга (4 %)
Склероз сосудов с перивазальной атрофией нейронов и микрополостями с глиальной инфильтрацией (25 %)	Склероз сосудов с перивазальной атрофией нейронов и слабо выраженной глиальной инфильтрацией (10 %)
Ангиодистрофические очаги с образованием лакун и кривблур, лейкоареозом множественными фокусами глыбчатого распада паренхиматозной ткани, т.н. энцефалолиз (60 %)	Ангиодистрофические очаги с диффузным разрежением нейрона, лейкоареозом и фокусами глыбчатого распада паренхиматозной ткани (20 %)
Амилоидная ангиопатия почек, головного мозга, легких, печени (17 %)	Амилоид при окраске конго рот не выявлен.

Известно, что одним из основных путей элиминации бета-амилоида является фагоцитоз и протеолитическая деградация периваскулярными макрофагами моноцитарного происхождения [13, 14]. На экспериментальных моделях показано, что моноциты периферической крови способны проникать в ЦНС и эффективно участвовать в клиренсе бета-амилоида. У пациентов с болезнью Альцгеймера, например, отмечено снижение способности моноцитов периферической крови фагоцитировать бета-амилоид по сравнению с донорами [15]. Клетки микроглии распознают бета-амилоид посредством сквенджер-рецепторов, прежде всего SCARA-1 [16], однако дальнейшая активация и развитие воспалительных процессов связаны с активацией толл-подобных рецепторов (TLR-4, TLR-2), CD14, CD36 [17]. В патогенезе болезни клетки микроглии, моноциты и макрофаги, по-видимому, играют двойную роль. На ранних стадиях в ответ на накопление бета-амилоида активность иммунных клеток повышается. По мере прогрессирования заболевания клетки не только теряют способность к удалению бета-амилоида, но и секретируют про-воспалительные медиаторы, такие как IL-1b, усугубляющие повреждение мозга [18].

Заключение. Таким образом, на пути к «диабету мозга», т.е. амилоидозу болезни Альцгеймера больные метаболическим сахарным диабетом 2-го типа проходят воспалительно-дегенеративную стадию токсического амилоидогенного апоптоза с когнитивной дисфункцией. Эту стадию можно зарегистрировать с помощью иммунологических методов (определение индуцированного интерлейкина 1b и моноцитов крови, адгезирующего бета-амилоидный пептид).

Вывод. В диагностику диабетической энцефалопатии с позиции её протеино-центрического патогенеза следует включать тесты, выявляющие возможную конформацию белков.

Литература

1. Шишкин, А.Н., Классические и современные представления о метаболическом синдроме. / А.Н. Шишкин, Ю.И. Строев, Л.П. Чурилов, Е.В. Левитина, Е.В. Лукина, Ю.А. Кононова // Вестн. СПбГУ. – 2009. – №3. – С
2. Мустафина С. В. Риск сахарного диабета и метаболический синдром // Дисс. докт. мед. наук Новосибирск, 2016. – 348 с.
3. Батышева, Т.Т., Особенности ОНМК у больных сахарным диабетом / Т.Т. Батышева, А.А. Рыжак, Л.А. Новикова // Лечащий врач, 2004. – №1. – С. 30-5
4. Matsuzawa, Y. The metabolic syndrome and adipocytokines/ Y. Matsuzawa // FEBS Lett. – 2006. – Vol.22. (580). – P.21-2917
5. Кетлинский, С.А., Исследование содержания интерлейкина-1b в сыворотке крови больных системной красной волчанкой и ревматоидным артритом / С.А. Кетлинский, Т.Г. Алексеева, Н.Д. Перумов, А.С. Симбирцев // Тер. архив. – 1993. – Т.65. – №12. – С.51-54
6. Журавлёва, Л.В., Роль интерлейкина-1b в формировании диабетической кардиомиопатии у больных с повышенной массой тела / Л.В. Журавлёва, Н.В. Сокольников // Клінічні дослідження Діабет і серце, 2015. – №2 (188). – С.41-44
7. Головкин, В. И., Случай эффективного лечения бета-амилоидного церебрального васкулита / В.И. Головкин, О. А. Овдиенко, М. Л. Тихонова, Д. А. Гулак, С. Н. Жулёв // Вестн. СЗГМУ им. Мечникова, 2017. – Т.9. – № 2. – С.
8. Электронный ресурс: <https://dommedika.com/physiology/435.html>
9. Hohsfield, L.A., Intravenous Infusion of Monocytes Isolated from 2-Week-Old Mice Enhances Clearance of Beta-Amyloid Plaques in an Alzheimer Mouse Model / Lindsay A. Hohsfield, Christian Humpel // PLoS One. 2015; 10(4): e0121930.
10. Головкин, В.И., Гистопатология мозга и аспекты танатогенеза при диабете 2-го типа / В.И. Головкин, Д.А. Гулак, Т.А. Боронина, А.А. Айрапетян // Всерос. научно-практич. конф. «Давиденковские чтения» 27-30 сентября 2016 г, СПб. – С.54-55
11. Ransohoff, R. M., Microglia and monocytes: kith or kin / R. M. Ransohoff // Multiple sclerosis Journal, 2012. – V.18. – suppl.4. – A73, 28 Congress of ECTRIMS 10-13 oct, Lyon, France
12. Головкин, В.И., Случаи амилоидоза при диабетической энцефалопатии / В.И. Головкин, Д.А. Гулак, Т.А. Гаран, Е.П. Магонов // Вестн. Росс. военн.-мед. акад., 2018. – 1(61). – С.58-62.

НАУЧНЫЕ СТАТЬИ

13. Mildner, A., Distinct and non-redundant roles of microglia and myeloid subsets in mouse models of Alzheimer's disease. / A. Mildner, B. Schlevogt, K. Kierdorf, C. Buttcher et al. // J. Neurosci, 2011. – 31. – P.11159-1117.
14. Fiala, M., Ineffective phagocytosis of amyloid-beta by macrophages of Alzheimer's disease patients./M.Fiala, J. Lin, J. Ringman, V. Kermani-Arabetal.//JAlzheimersDis. 2005, Jun. – V.7(3). – P.221-32; discussion 255-62.
15. Hawkes, C.A., Selective targeting of perivascular macrophages for clearance of beta-amyloid in cerebral amyloid angiopathy/ C.A. Hawkes, J. McLaurin//Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2009. – V.106. – P.1261-1266
16. Eisele, Y. S. Targeting protein aggregation for the treatment of degenerative diseases / Y.S. Eisele at al. //Nat. Rev. Drug Discov. – 2015. – Vol.14. – N11. – P.759-780.
17. Wilkinson, K., Microglial scavenger receptors and their roles in the pathogenesis of Alzheimer's disease/ K. Wilkinson, J. El Khoury//Int J Alzheimers Dis., 2012. – V.12. – P.456-489.
18. Yu, Y., Microglial A β receptors in Alzheimer's disease/Y. Yu, R.D. Ye // Cell Mol.Neurobiol, 2015 Jan. – V.35(1). – P.71-83.