

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ВМІСТУ ЦИТОКІНІВ У ХВОРИХ НА ПОВІЛЬНО ПРОГРЕСУЮЧИЙ АВТОІМУННИЙ ДІАБЕТ ДОРΟΣЛИХ

Тихонова Т. М.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків
tanya_tykhonova@mail.ru

Згідно сучасним уявленням, серед механізмів розвитку та еволюції цукрового діабету (ЦД) одна з провідних ролей відводиться імунологічній ланці патогенезу даного захворювання. Виступаючи на етапі маніфестації в якості відповідної реакції на вплив пускових чинників, як, наприклад, при ЦД 1 типу, імунні порушення визначають подальший характер перебігу самого ЦД, в тому числі швидкість розвитку і виразність його специфічних ускладнень, а також атиповість перебігу супутніх запальних процесів [1, 2]. Механізм розвитку автоімунного ЦД зводиться до клітинно-опосередкованої автоімунної деструкції β -клітин підшлункової залози. Однак критичну роль в ініціації загибелі β -клітин відіграють цитокіни [3, 4]. Існують дані про значні індивідуальні коливання продукції різних видів цитокінів та їх надходження в циркуляторне русло як у здорових осіб, так і у хворих на ЦД 1 типу. В той же час для хворих на ЦД 1 типу і, особливо, осіб, які перебувають в доклінічній стадії захворювання, характерним є підвищення продукції ряду цитокінів — інтерлейкінів ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-12 та фактору некрозу пухлин- α (ФНП- α). Дані цитокіни чинять гальмуючий вплив на продукцію β -клітинами інсуліну та призводять їх до апоптозу [5]. Незважаючи на те, що ЦД 2 типу не належить до групи автоімунних захворювань, порушення імунного статусу при цьому захворюванні також мо-

жуть впливати не тільки на його патогенез, але й на розвиток діабетичних ускладнень. Натепер встановлена роль прозапальних цитокінів в патогенезі ЦД 2 типу, їх участь у розвитку інсулінорезистентності, особливо у пацієнтів з ожирінням, а також у формуванні хронічних ускладнень, зокрема виникненні ангіопатій. Доведено суттєвий внесок активації імунозапального цитокінового ланцюга до розвитку ремоделювання міокарда, зниження фракції викиду та тяжкості серцевої недостатності у хворих на ЦД 2 типу [6].

В останні роки в якості підтипу ЦД 1 типу визначена особлива форма ЦД, а саме — повільно прогресуючий автоімунний діабет дорослих (ППАДД, Latent autoimmune diabetes of the adults — LADA) [7, 8]. Незважаючи на значну кількість робіт щодо вивчення порушень гуморального імунітету у хворих на ЦД, дані щодо вмісту ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 у хворих на ЦД 1 типу та ППАДД нечисленні та суперечливі. Так, Т. С. Прохоренко та співавт. встановили зростання вмісту ІЛ-4 у хворих на ППАДД у порівнянні із таким у осіб з ЦД 1 та 2 типу. В той же час підвищений рівень ІЛ-2 та ІЛ-10 у хворих на ППАДД не відрізнявся від такого, що спостерігався у хворих на ЦД 1 та 2 типу. Зниження рівня ІЛ-10 у хворих на ППАДД визначалось лише за умов розвитку мікроангіопатій [9]. В інших дослідженнях встановлено, що для хворих на ЦД 1 типу хара-

ктерним є значне збільшення рівня цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-4 та ФНП- α , яке залежить від віку, тривалості перебігу патологічного процесу та асоціюється з розвитком судинних ускладнень, характеризуючи наявність хронічного запалення [10]. Порівняльний аналіз системи ФНП- α у хворих на ЦД 1 типу та ППАДД дозволив визначити максимально високий вміст лімфоцитів, що несуть рецептори до ФНП- α , у хворих на ЦД 1 типу. Також було встановлено значуще зниження концентрації розчинної форми рецептора типу 1 до ФНП- α у хворих на ЦД 1 типу у порівнянні з таким у пацієнтів з ППАДД. Ці дані, на думку дослідників [11], відображають відмінності в швидкості розвитку автоімунного інсуліту у хворих на ЦД 1 типу та ППАДД. Між тим, результати більшості

досліджень свідчать про схожість змін гуморального імунітету, зокрема IFN- γ та ІЛ-13, у хворих на ППАДД та ЦД 1 типу [12]. Останнє можна пояснити спільними патогенетичними особливостями цих форм ЦД із втратою імунотолерантності. Таким чином, дані щодо вмісту окремих видів цитокінів у хворих на ЦД достатньо суперечливі, а порівняльний аналіз їх рівня в залежності від варіанту перебігу захворювання проводився у поодиноких дослідженнях.

Метою дослідження, що подається, було порівняння вмісту цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 та ФНП- α) у хворих на повільно прогресуючий автоімунний діабет дорослих та у пацієнтів з класичними варіантами перебігу ЦД 1 та 2 типу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В дослідження було включено 76 хворих на ЦД 1 та 2 типу, а також на ППАДД, що перебували на обстеженні та лікуванні в клініці ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України».

Всі пацієнти були розподілені на три групи. До групи 1 (основної) були віднесені 38 хворих (13 чоловіків та 25 жінок, середній вік — $47,27 \pm 1,62$ років), яким за даними анамнезу, а саме за наявності повільної маніфестації захворювання та розвитку інсулінозалежності в строки від 0,5 до 6 років від діагностування ЦД, був встановлений попередній діагноз — ППАДД.

Групу 2 склали 18 хворих на ЦД 1 типу (7 чоловіків та 11 жінок, середній вік — $30,27 \pm 2,41$ років) із класичною гострою маніфестацією захворювання, у певній кількості випадків — із розвитком пре- або коматозних станів.

До групи 3 були віднесені 20 пацієнтів із діагнозом ЦД 2 типу (9 чоловіків та 11 жінок, середній вік — $52,11 \pm 1,56$ років), у яких призначення пероральної цукрознижуючої терапії призводило до тривалої стабільної компенсації вуглеводного обміну. Для більшості хворих характерним був перебіг захворювання середньої тяжкості. Діабетичний анамнез в усіх групах спостере-

ження коливався від 0,5 до 6,5 років. До контрольної групи були віднесені 10 практично здорових осіб 25–50 років (5 чоловіків і 5 жінок).

Верифікація ППАДД здійснювалася шляхом визначення антитіл до цитоплазматичного антигену клітин острівців Лангерганса (ICA ab) за допомогою набору Qualitative ELISA Test for the Detection of Circulating Autoantibodies Against Islet Cell Antigens (США), антитіл до декарбоксілази глютамінової кислоти (GAD ab) — за допомогою Qualitative ELISA Test for the Detection of Circulating Autoantibodies Against GAD antigens (США), антитіл до тирозинфосфатази (IA-2A ab) за допомогою Qualitative ELISA Test for the Detection of Circulating Autoantibodies Against IA-2A (США). Для побудовання калібрувального графіка використовували метод параметричної апроксимації, де тангенс кута визначався за інтерсепте. Титр антитіл вважали позитивним, якщо оптична щільність була вище ніж така у контролі.

Рівень інтерлейкінів ФНП- α визначали за допомогою наборів для імуноферментного аналізу (Ветор-Бест, Россия) із використанням моно- та поліклональних антитіл відповідно до ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 та ФНП- α . Імуноферментні дослідження ви-

конувались із використанням імуноферментного фотометричного аналізатора «StatFax 2100».

Статистична обробка отриманих даних виконувалась за допомогою пакета програм Statistica v. 6 [13]. Для візуалізації залежностей між двома змінними X і Y використовувалась діаграма розсіювання. Дані відображаються крапками в двовимірному просторі, де осі відповідають змінним (X — гори-

зонтальній, а Y — вертикальній осі). Дві координати, які визначають положення кожної крапки, відповідають двум значенням змінних для цієї крапки.

Враховуючи великий розкид даних та відмінний від нормального їх розподіл, обробка отриманих результатів проводилась шляхом визначення медіани (Me), процентилей [Me 25; 75] з використанням непараметричного критерію Краскела-Уолліса.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати визначення рівнів цитокінів ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 та ФНП- α в крові у хворих на ППАДД представлено на рис. 1–5.

Показники рівня цитокінів в залежності від варіанту перебігу захворювання та у порівнянні із даними контролю представлено у таблиці.

При аналізі отриманих даних виявлено порушення цитокінової системи з підвищенням як прозапальних (ІЛ-2, ІЛ-8, ФНП- α), так і протизапальних цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-10), встановлена наявність значущих відмінностей рівня ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 та ФНП- α у хворих основних груп в порівнянні

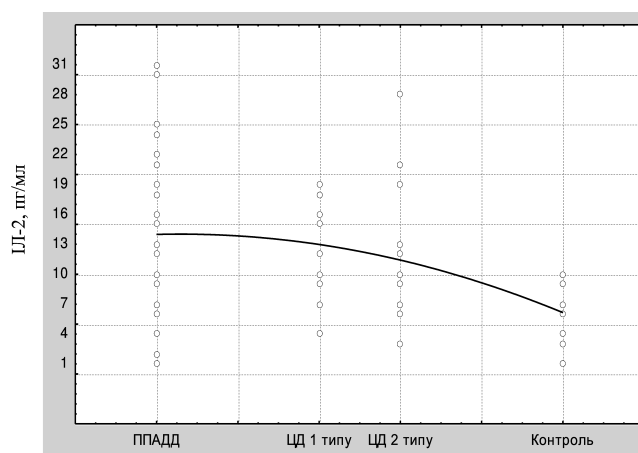


Рис. 1. Діаграма розсіювання рівня ІЛ-2 у хворих груп обстеження.

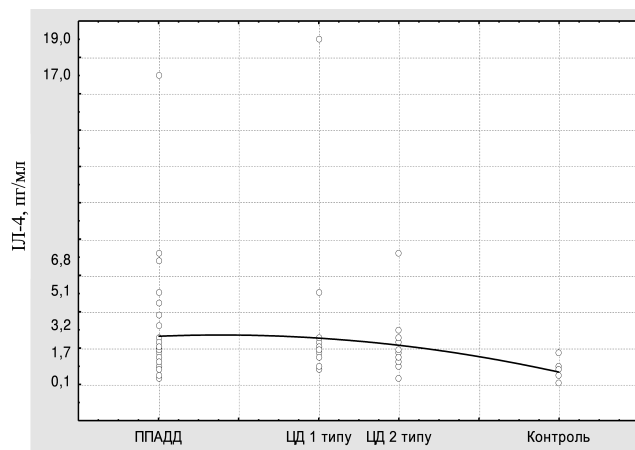


Рис. 2. Діаграма розсіювання рівня ІЛ-4 у хворих груп обстеження.

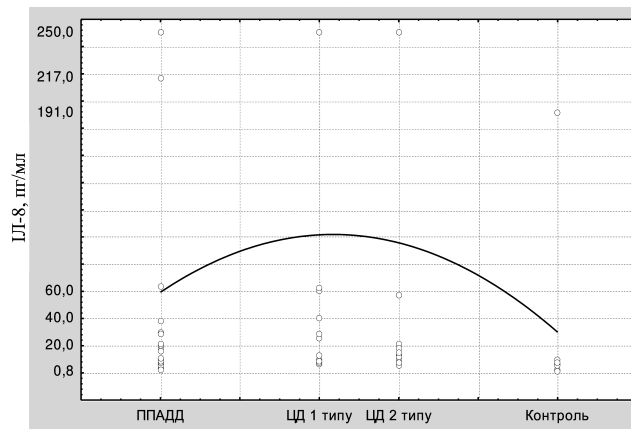


Рис. 3. Діаграма розсіювання рівня ІЛ-8 у хворих груп обстеження.

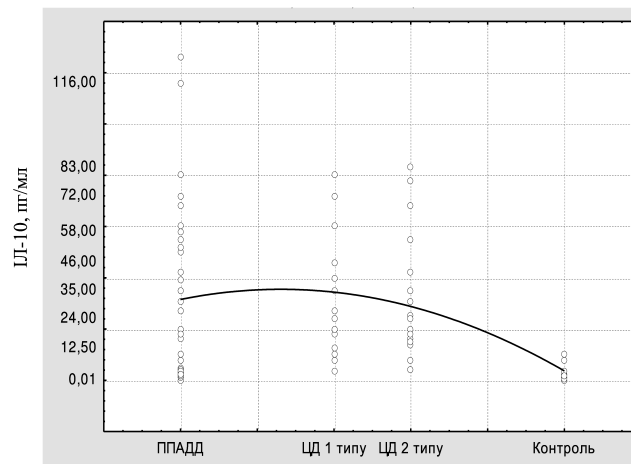


Рис. 4. Діаграма розсіювання рівня ІЛ-10 у хворих груп обстеження.

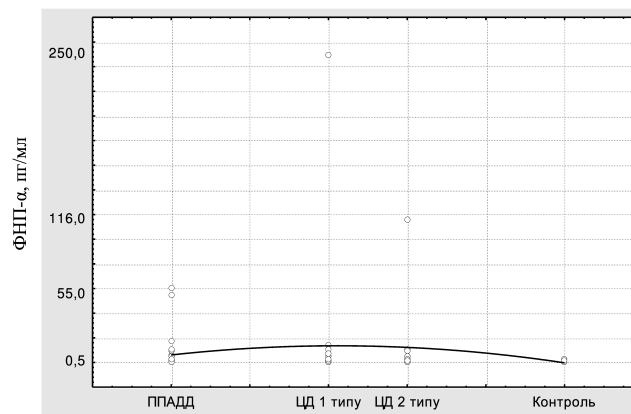


Рис. 5. Діаграма розсіювання рівня ФНП-α у хворих груп обстеження.

із такими у практично здорових осіб (див. табл.).

Статистично значуще підвищення ІЛ-2 визначено тільки у хворих на ППАДД та ЦД 1 типу. Незважаючи на деяке підвищення рівня цього цитокіну у хворих на ЦД 2 типу, статистичної значущості у порівнянні з таким у контролі воно не набувало.

Спектр біологічних функцій ІЛ-2 складається із індукування проліферації В-лімфоцитів, активації цитотоксичних Т-лімфоцитів, стимуляції кілерів. Відомо, що ІЛ-2 стимулює синтез і секрецію цілого ряду інших цитокінів, зокрема ІЛ-4. Секретується ІЛ-2, в основному, Т-хелперами та сприяє їх реактивації [14]. Встанов-

лений нами у попередньому дослідженні підвищений відносно контролю рівень імунорегуляторного індексу за умов повільного зниження Т-хелперів та ймовірного зниження Т-супресорів / цитотоксичних лімфоцитів у хворих на ППАДД [15] ми розцінюємо як відносну активацію хелперної ланки клітинного імунітету, що узгоджується із отриманими результатами щодо значущих змін ІЛ-2 у хворих на ППАДД.

За рівнем ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 та ФНП- α хворі на ЦД, незалежно від варіанту перебігу захворювання, статистично значуще відрізнялись від контрольної групи. Так, встановлено значуще підвищення вмісту ІЛ-4 у хворих на ЦД всіх трьох груп спосте-

реження. (табл.). Отримані результати щодо підвищеного рівня ІЛ-4, який є основним цитокином, що регулює диференціювання В-лімфоцитів із подальшим підвищенням антитілоутворення, свідчать про високий ступінь автоантигенності у хворих на ППАДД та ЦД 1 типу. Це обумовлено аутоімунною деструкцією β -клітин підшлункової залози за наявності даних варіантів перебігу захворювання, а також узгоджуються із отриманими нами даними щодо підвищеного рівня В-лімфоцитів у цих хворих [15].

Наведені результати відображають також статистично значуще підвищення концентрації ІЛ-8 у хворих на ЦД. Відомо, що підвищення рівня цього цитокину в сироватці крові асоціюється, як правило, з хроні-

Т а б л и ц я

Рівні інтерлейкінів та фактору некрозу пухлин- α в групах спостереження (хворі та контроль)

Статистичний показник	Рівні цитокинів				
	ІЛ-2, пг/мл	ІЛ-4, пг/мл	ІЛ-8, пг/мл	ІЛ-10, пг/мл	ФНП- α , пг/мл
Контрольна група (n = 10)					
$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	6,20 \pm 1,04	0,77 \pm 0,14	23,58 \pm 18,63	3,06 \pm 1,05	0,90 \pm 0,28
Me [25; 75]	6,50 [3,00; 9,00]	0,80 [0,50; 1,00]	5,50 [2,00; 8,00]	1,75 [1,00; 3,50]	0,50 [0,50; 0,50]
Група 1 — ППАДД (n = 38)					
$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	14,42 \pm 1,22	2,61 \pm 0,47	62,71 \pm 15,67	32,75 \pm 4,91	6,19 \pm 2,08
Me [25; 75]	15,00 [9,00; 19,00]	1,90 [1,20; 2,30]	10,50 [8,00; 38,00]	27,00 [8,00; 50,00]	2,00 [5,00; 5,00]
Група 2 — ЦД 1 типу (n = 18)					
$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	13,44 \pm 0,90	2,92 \pm 0,97	89,00 \pm 24,59	33,92 \pm 5,07	16,78 \pm 13,73
Me [25; 75]	15,00 [10,00; 16,00]	1,90 [1,50; 2,10]	34,50 [9,00; 250,00]	31,00 [20,00; 46,00]	2,00 [2,00; 3,00]
Група 3 — ЦД 2 типу (n = 20)					
$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	11,30 \pm 1,29	1,90 \pm 0,32	111,50 \pm 26,13	30, 35 \pm 5,25	9,25 \pm 5, 65
Me [25; 75]	9,50 [8,00; 13,00]	1,50 [1,20; 2,30]	39,00 [11,00; 250,00]	22,00 [15,50; 38,50]	3,00 [2,00; 5,00]
Критерій Краскела-Уолліса	H = 16,012	H = 17,628	H = 16,489	H = 20,912	H = 12,108
Значущість розбіжностей	p ₁ = 0,002 p ₂ = 0,004	p ₁ = 0,0006 p ₂ = 0,0007 p ₃ = 0,012	p ₁ = 0,0387 p ₂ = 0,0025 p ₃ = 0,0013	p ₁ = 0,0003 p ₂ = 0,0001 p ₃ = 0,0009	p ₁ = 0,040 p ₂ = 0,029 p ₃ = 0,007

П р и м і т к а. p₁ — значущість відмінностей між групою 1 та контролем; p₂ — значущість відмінностей між групою 2 та контролем; p₃ — значущість відмінностей між групою 3 та контролем.

чними та гострими запальними станами та корелює з тканинною інфільтрацією нейтрофілами. Отримані дані щодо підвищеного вмісту ІЛ-8 у хворих на ЦД слід пов'язати із участю цього цитокіну у процесах коагуляції та розвитку мікросудинних уражень [16, 17].

Встановлений підвищений рівень ІЛ-10 у хворих на ЦД, незалежно від варіанту перебігу захворювання, свідчить про активацію Т-регуляторних лімфоцитів та може бути обумовлений не тільки автоімунною природою захворювання, але й метаболічними порушеннями, притаманними ЦД [18].

Результати визначення ФНП- α також вказують на значуще підвищення рівня цього цитокіну у хворих на ЦД незалежно від варіанту перебігу захворювання. Доведено, що ФНП- α є прозапальним цитокіном, який продукується різними видами клітин, а саме: макрофагами, Т-, В- та ЕК-клітинами, нейтрофілами, тучними клітинами та ін. [14]. На сьогодні встановлений достатньо широкий спектр біологічної дії цього цитокіну. Так, відомо, що основним цитоплазматичним субстратом ферментативної активності інсулінового рецептору є IRS-1 [20]. Можливо, ФНП- α , взаємодіючи з рецептором

IRS-1, інгібує шлях передачі інсулінового сигналу до клітини. Також ФНП- α порушує функцію транспортного білка GLUT-4, який забезпечує інсулінзалежне включення глікози в м'язову та жирову тканини. Визначена роль цього цитокіну у патогенезі діабетичних ускладнень [17]. Припускається, що зміни в системі ФНП- α при ЦД обумовлені, по-перше, метаболічними порушеннями (вуглеводного та ліпідного обмінів), та, відповідно, «метаболічним імунодефіцитом», по-друге — генетично детермінованими факторами, які поряд з іншими механізмами обумовлюють імунопатогенез автоімунного варіанту перебігу цього захворювання [11].

Статистично значущих відмінностей між рівнями ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 та ФНП- α серед хворих на ЦД, в залежності від варіанту перебігу захворювання, встановлено не було.

Таким чином, отримані результати свідчать про порушення цитокінової ланки імунітету у хворих на ЦД. Визначено значуще підвищення вмісту ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 та ФНП- α у хворих на ЦД незалежно від варіанту перебігу захворювання. Між тим, значуще підвищення ІЛ-2 встановлено лише у хворих на ЦД 1 типу та ППАДД.

ВИСНОВКИ

1. Підвищення рівня ІЛ-2 встановлено тільки у хворих на повільно прогресуючий автоімунний діабет дорослих та цукровий діабет 1 типу.
2. Рівні ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 та ФНП- α у хворих на цукровий діабет, незалежно від варіанту перебігу захворювання, значуще вищі, ніж у практично здорових осіб.
3. Статистично значущі відмінності показників ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 та ФНП- α серед хворих на цукровий діабет в залежності від варіанту перебігу захворювання не спостерігаються.

ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Balabolkin MI, Klebanova EM, Kreminskaya VM. *Moskva, Med Inform Agentstvo*, 2008:752 p.
2. Polyakova IN, Filatova GA, Chachiashvili MV, Davydov AL, pod red. Grishinoy TI. *Moskva, MGMSU*, 2006:42 p.
3. Saicrian KA. *Stocholm, Karolinska Institute*, 2010:69 p.
4. Repina EA. *Sakharный Diabet* 1983; 10:21-26.
5. Zak KP, Popova VV. *Ukr Med Chasopis* 2006; 1(51):78-88.
6. Kravchun NO. Osoblyvosti formuvannya sertsevodynyh uskladnen' tsukrovogo diabetu 2 typu u hvoryh iz riznymy proyavamy metabolichnogo syndromu ta yih farmakologichna korektsiya, *Kharkiv*, 2007:41 p.
7. Report of Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003;1:S5-20.

8. Clark A, Desai M. *Diabetologia* 2006; 26:2222-2224.
9. Prokhorenko TS, Saprina TV, Lazarenko FE, et al. *Mezhdunar Zhurn Prikladnykh Fundamental'nykh Issledovaniy* 2010; 10:76-77.
10. Tarasenko NV. Patogenetika sakharnogo diabeta 1 tipa i ego oslozhneniy: geny sintaz oksida azota i tsitokinov, *Tomsk*, 2008:182 p.
11. Prokhorenko TS, Saprina TV, Lazarenko FE, et al. *Byul Sibirskoy Meditsiny* 2011; 1:64-69.
12. Strom A, Menart B, Simon MC, et al. *Cytokine* 2012; 58(2):148-151.
13. Glants S. Mediko-biologicheskaya statistika, *Moskva, Praktika*, 1999:459 p.
14. Rabson, A. Osnovy meditsinskoj immunologii, *Moskva, Mir*, 2006:320 p.
15. Tikhonova TM. *Mezhdunar Med Zhurn* 2011; 17(4):82-86.
16. Liu J, Shi B, He S, et al. *Mol Vision* 2010; 16:2931-2938.
17. Chernenok VV. Immunnye narusheniya i rigidnost' sosudistoy stenki u bol'nykh sakharnym diabetom 2 tipa i ikh korrektsiya, *Kursk*, 2009:141 p.
18. Krekova YuV. Izmenenie funktsional'nogo sostoyaniya immunnoy sistemy u bol'nykh razlichnymi tipami sakharnogo diabeta, *Sankt-Peterburg*, 2002:122 p.
19. Uil'yams G, Pikap D. Rukovodstvo po diabetu, *Moskva, Medpress-Inform*, 2003:248 p.
20. Dedov II, Shestakova MV. Sakharnyy diabet: rukovodstvo dlya vrachey, *Moskva, Universum Publishing*, 2003:455 p.

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ВМІСТУ ЦИТОКІНІВ У ХВОРИХ НА ПОВІЛЬНО ПРОГРЕСУЮЧИЙ АВТОІМУННИЙ ДІАБЕТ ДОРΟΣЛИХ

Тихонова Т. М.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків
tanya_tykhonova@mail.ru

У хворих на повільно прогресуючий автоімунний діабет дорослих (ППАДД), цукровий діабет (ЦД) 1 типу та ЦД 2 типу встановлені порушення цитокінової системи з підвищенням вмісту як прозапальних (ІЛ-2, ІЛ-8, ФНП- α), так і протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10) цитокінів. Визначено підвищення рівнів ІЛ-4, ІЛ-8, ІЛ-10 та ФНП- α у обстежених хворих незалежно від варіанту перебігу захворювання. Підвищення вмісту ІЛ-2 притаманне лише хворим на ППАДД та ЦД 1 типу. Істотних відмінностей у рівні досліджуваних цитокінів в залежності від типу та варіанту перебігу захворювання не встановлено.

Ключові слова: цукровий діабет 1 та 2 типу, повільно прогресуючий автоімунний діабет дорослих, цитокіни.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ МЕДЛЕННО ПРОГРЕССИРУЮЩИМ АУТОИММУННЫМ ДИАБЕТОМ ВЗРОСЛЫХ

Тихонова Т. М.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины»,
г. Харьков
tanya_tykhonova@mail.ru

У больных медленно прогрессирующим аутоиммунным диабетом взрослых (МПАДВ), сахарным диабетом (СД) 1 типа и СД 2 типа установлены нарушения цитокиневой системы с повышением содержания как провоспалительных (ИЛ-2, ИЛ-8, ФНО- α), так и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов. Отмечено достоверное повышение уровня ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10 и ФНО- α у обследованных больных вне зависимости от варианта течения заболевания. Повышение содержания ИЛ-2 установлено только у больных МПАДВ и СД 1 типа. Существенных различий в содержании изучаемых цитокинов в зависимости от типа и варианта течения заболевания не установлено.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 и 2 типа, медленно прогрессирующий аутоиммунный диабет взрослых, цитокины.

COMPARATIVE ESTIMATION OF CYTOKINES IN LATENT AUTOIMMUNE DIABETES (LADA) PATIENTS

T. M. Tikhonova

*SI «V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv
tanya_tykhonova@mail.ru*

In patients with latent autoimmune diabetes of adults (LADA), type 1 and 2 diabetes mellitus were found violations of the cytokine system with the increase of the content of the proinflammatory IL-2, IL-8, TNF- α cytokines and andante-inflammatory IL-4, IL-10 cytokines. There was increase of IL-4, IL-8, IL-10 and TNF- α level in the examined patients, regardless of the option of the disease. Elevated level of IL-2 was found only in LADA and type 1 diabetes patients. The significant differences in the content of the studies cytokines depending on the type and option of the disease is not established.

Key words: type 1 and 2 diabetes mellitus, latent autoimmune diabetes of adults, cytokines.