

Thus, the complex treatment of patients with PAR PR leads to normalization of the quantitative and functional activity of immune cells. It wasn't observed any complications related to the use of the drug "Immodin".

Immunotropic therapy of patients with PAR PR promotes functional activity of T-lymphocytes in peripheral blood blast transformation in response to nonspecific mitogens and KOH LM-A, provides the activation of thymus-

dependent suppressor and helper, as well as the normalization of the immunoregulatory index.

During the treatment of patients with PAR PR with "Immodin" against the background of traditional therapy significantly reduced the amount of IgE, which indicates a decrease in sensitization of the organism.

Keywords: immodin, polyposis rinosinit, perennial allergic rhinitis.

УДК 616.36-002.576.343-57.05.12

ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА И НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

ЛИТВИНЕНКО Е.А.¹, БОДНАР П.Н.¹, ЛИСЯНЫЙ Н.И.², ПОТАПОВА А.И.²

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца¹

ГУ «Институт нейрохирургии имени академика А.П. Ромоданова НАМН Украины»²

Сахарный диабет относится к числу самых распространенных заболеваний. Согласно современных данных в 2013 в мире насчитывалось 382 млн. людей с диабетом, как известно сахарный диабет 2 типа (СД2) составляет 85-90% от их общего количества [1].

Среди механизмов развития сахарного диабета второго типа (СД2), одна из ведущих ролей отводится иммунологическому звену патогенеза. СД2 сочетается с ожирением и нарушением функции печени, проявляется изменениями в иммунной системе, развитием аутоиммунных процессов [1-5]. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является многофакторным интегральным поражением органа при СД. Она встречается у 10-75% больных СД2. НАЖБП протекает с участием иммунных реакций, активацией процессов перекисного окисления липидов, приводящих к повреждению митохондрий, биомембран гепатоцитов, стимуляции разрастания соединительной ткани и развитием цирроза печени [6-9].

Сочетание сахарного СД2 и НАЖБП осложняет лечение этих больных и понимание особенностей патогенеза этой патологии [10, 11, 3, 2]. Иммунологическая дисфункция при СД2 и НАЖБП и изучены недостаточно, а имеющиеся данные в литературе во многом противоречивы [4].

Доказан дисбаланс основных субпопуляций лимфоцитов, снижение уровня Т хелперов и Т цитотоксических лимфоцитов [3, 13] у больных СД2 и НАЖБП. Однако, некоторые авторы не отметили подобных изменений субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у этой категории больных [4, 14].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Целью настоящей работы было изучение содержания основных субпопуляций лимфоцитов у больных с СД 2, НАЖБП и при их сочетании.

Под нашим наблюдением было 110 больных, среди них: 60 пациентов с СД2 типа и НЖБП (I группа), 25 – с СД2 (II группа) и 25 пациентов с НАЖБП (III группа). Контрольную группу составляло 25 здоровых людей.

Исследование содержания субпопуляций лимфоцитов в крови проводилось из утренней порции крови, взятой до приема пищи.

Количественный состав субпопуляций лимфоцитов в периферической крови обследуемых изучали на проточном цитофлюориметре «FC-500» («Beckman Coulter», США) по программе Cytomics CXP Software с использованием двойных комбинаций моноклональных антител, производства «Beckman Coulter», США и антител фирмы «Сорбент», Россия. При этом оценивали в (%) показатели Т-клеточной популяции: общее количество Т-лимфоцитов (CD3+), количество Т-хелперов (CD4+), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), естественных клеток-киллеров (NK-клеток - (CD16+). В клеточной популяции (CD19+) лимфоцитов, а также относительное содержание лимфоцитов, несущих маркеры ранней активации (CD25+) и маркерный антиген апоптоза (CD95+). Постановку реакции определения субпопуляций лимфоцитов с помощью моноклональных антител проводили согласно инструкции изготовителей антител и медицинских рекомендаций Пинегина Б.В. [15] с цельной кровью и последующим лизисом эритроцитов. Статистическую обработку проводили пакетом программ для ПК «Statistica» с

определением среднего арифметического (M), средней квадратической ошибки (m) и достоверности (p) по таблицам Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучение содержания лейкоцитов и лимфоцитов в крови больных СД2 и НАЖБП

или их сочетанием было установлено, что для изолированной патологии (II и III группы) характерно незначительное недостоверное увеличение лейкоцитов (таблица 1), что, в общем, согласуется с наличием у них скрытой воспалительной реакции.

Таблица 1

Относительное содержание субпопуляций лимфоцитов в крови у обследованных больных

Показатели	Группы, n			
	СД2 и НАЖБП (n=60)	СД2 (n=25)	НАЖБП (n=25)	контроль (n=25)
Лейкоциты *10 ⁹ /л	5,65± 0,47	6,30 ± 0,80	6,80 ± 0,81	5,70± 0,52
Лимфоциты (%)	35,90 ± 3,12	40,76± 3,44*	31,16 ± 3,1	33,70 ± 2,0
CD3	54,54 ± 2,24	60,2± 3,85	51,49 ± 2,31	61,30 ± 3,59
CD4	32,16± 2,67	39,95 ± 2,40*	31,37 ± 2,18	34,20 ± 2,02
CD8	19,61± 1,81*	19,86 ± 1,29*	19,45 ± 1.78 *	24,30 ± 2,02
Иммунорегуляторный индекс	1,65 ± 0,15	1,88 ± 0,18*	1,64 ± 0,12	1,40 ± 0,11
CD20	12,38 ± 1,20*	13,1 ± 1,23*	8,90 ± 0,87	9,46 ± 0,84
CD16	11,25 ± 1,05*	12,06 ± 1,16*	11,47 ± 1,05*	16,6 ± 1,43
CD25	7,9 ± 0,61	8,65 ± 0,79*	9,38 ± 0,86	8,45 ± 0,77
CD95	3,7 ± 0,27*	4,08± 0,39*	3,90 ± 0,35*	2,26 ± 0,1

Примечания: * – p<0,05 по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы; n – количество обследованных больных

Вместе с тем было установлено отсутствие лейкоцитоза у больных с СД2 и НАЖБП (I группа), где регистрировался уровень лейкоцитов в

крови равный показателям контрольной группы (таблицы 1,2).

Таблица 2

Абсолютное содержание субпопуляций лимфоцитов в крови у обследованных больных

Показатели	Группы, n			
	СД2 и НАЖБП (n=60)	СД2 (n=25)	НАЖБП (n=25)	контроль (n=25)
Лейкоциты *10 ⁹ /л	5,65± 0,47	6,30 ± 0,8	6,80 ± 0,81	5,70± 0,52
Лимфоциты (%)	35,90 ± 3,12	40,76± 3,44*	31,16 ± 3,10	33,70 ± 2,0
Лимфоциты, абс. кол-во *10 ⁹ /л	1959,0 ± 188,0	2557,0 ± 206,8*	2094,0 ± 196,0	1921,0 ± 187,0
CD3	1108,0 ± 106,0	1549,8 ± 143,9*	1076,0 ± 96,7	1179,0 ± 109,0
CD4	636,0 ± 87,0	946,5 ± 80,8*	656,3 ± 56,8	658,0 ± 56,0
CD8	386,0 ± 31,0*	405,5 ± 36,27	407,3 ± 48,5	468,0 ± 44,0
CD20	240,4 ± 27,6*	332,5 ± 30,6*	186,8± 17,8	181,0 ± 13,6
CD16	235,5 ± 29,3*	306,4 ± 36,2	239,4 ± 25,04*	316,9 ± 25,6
CD25	155,5 ± 23,4	221,6 ± 22,8*	196,5 ± 24,9	163,1 ± 15,3
CD95	78,7 ± 7,20*	84,3 ± 6,11*	82,9 ± 7,0*	42,6 ± 4,1

Примечания: * – p<0,05 по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы; n – количество обследованных больных

Относительный и абсолютный уровень лимфоцитов в крови был наибольшим в группе больных с СД2 (II группа), в остальных двух группах больных он был близким к верхней границе показателей уровня лимфоцитов в крови контрольной группы. При исследовании отдельных субпопуляций лимфоцитов была установлена разнонаправленная динамика изменений, с одной стороны отмечалось снижение уровня CD3+ лимфоцитов (Т клетки) при НАЖБП (III группа) или в сочетании СД2 и НАЖБП (I группа), вместе с тем, отмечается увеличение уровня CD20 лимфоцитов (В клетки) на 20-30% выше нормы. При СД2 (II группа) отмечается наибольшее увеличение CD20 лимфоцитов. Уровень в крови Т-хелперных лимфоцитов (CD4) практически не снижается при НАЖБП и увеличивается при СД2, тогда как уровень CD 8-цитотоксических лимфоцитов существенно снижается во всех трех группах больных, что отражается на увеличении иммунорегуляторного индекса с 1,40 до 1,88 при СД2 (II группа).

Следовательно, несмотря на относительный и абсолютный лимфоцитоз, имеется снижение в крови уровня цитотоксических Т лимфоцитов и увеличение уровня В лимфоцитов при сохранении стабильного уровня общих Т лимфоцитов и Т хелперных субпопуляций клеток. Содержание субпопуляции естественных киллерных клеток было достоверно снижено на 30-40% во всех трех группах больных. Наименьший уровень этих клеток в крови выявлен у больных с НАЖБП, осложненной СД2 (II группа).

Сопоставляя относительное и абсолютное содержание отдельных субпопуляций лимфоцитов в крови больных во всех трех группах отмечается однонаправленные изменения иммунных показателей, свидетельствующие о снижении цитотоксического звена и стимуляции В клеточного звена иммунитета. Важным пока-

зателем состояния иммунной системы является изучение активирующих и апоптических процессов в клетках иммунной системы. Изучение уровня CD25+ лимфоцитов, отражающих ранние процессы активации лимфоцитов через рецепторы ИЛ-2, было установлено, что у больных II и III групп отмечается незначительное колебание уровня этих клеток в крови, а при СД2 и НАЖБП (I группа), отмечается несущественное снижение в крови уровня CD25+ положительных клеток, что указывает на нормальное протекание процессов активации иммунных клеток, в частности, CD4 лимфоцитов, которые обеспечивают развитие иммунопатологических реакций при этой патологии.

Апоптическая готовность клеток (CD95+) во всех трех группах была увеличена в 1,5-1,8 раза. Следовательно, наличие СД2 или НАЖБП вызывает у лимфоцитов крови экспрессию CD95 рецептора апоптоза, что вероятно, является причиной дисбаланса в составе лимфоцитов, особенно, CD8 и CD16 клеток. Снижение уровня цитотоксических лимфоцитов и натуральных киллеров можно также объяснить уходом их из крови в пораженные органы (поджелудочную железу и печень) где они и реализуют свою цитотоксическую функцию. В тоже время значительной активации лимфоцитов, оцениваемой по уровню рецептора к ИЛ-2 (CD25+ клеток), не было установлено. Это можно объяснить большим участием в этих процессах В-клеточно-гуморального звена. Косвенным подтверждением развития гуморальной иммунной реакции при НАЖБП является 2-кратное увеличение уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) (рис. 1), что свидетельствует не только о недостаточной фильтрующей функции печени, но и наличии высокого уровня комплексов антиген+антитело в крови.

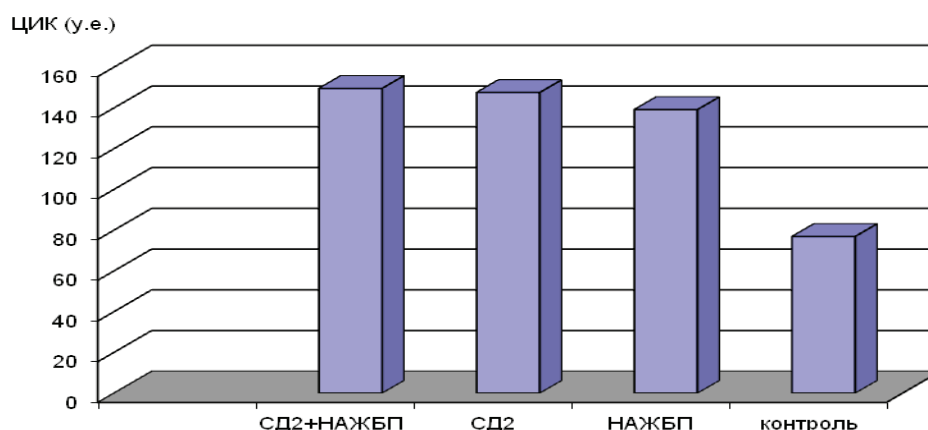


Рис. 1. Содержание циркулирующих иммунных комплексов у исследуемых больных.

По результатам проведенных исследований установлено наличие дисбаланса в субпопуляционном составе лимфоцитов, активацию процессов апоптоза лимфоцитов и увеличение уровня циркулирующих иммунных комплексов, что согласуется с полученными результатами [2, 1], отмечавших увеличение иммунорегуляторного индекса и апоптической готовности лимфоцитов, а также снижение уровня цитотоксических Т лимфоцитов у больных с СД2. В работах указанных авторов также не выявлено ранней активации лимфоцитов. В тоже время полученные нами данные не совпадают с данными Белоусовой И.В. и др., отмечавших у больных с НАЖБП снижение уровня CD4 лимфоцитов в крови при сохранности CD8 и CD16 цитотоксических клеток, что можно частично объяснить различной тяжестью обследованных больных, различиями между иммуноморфологическим и цитометрическим методами определения этих клеток в крови.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов всех обследуемых групп выявлено наличие дисбаланса в составе субпопуляций лимфоцитов, проявляющегося увеличением концентрации CD20+ клеток, снижением содержания CD8 и CD16 клеток при относительно стабильном уровне Т хелперной (CD4) субпопуляции клеток.
2. У больных с СД2 и НАЖБП отмечается повышенная апоптическая готовность лимфоцитов, что проявляется увеличением содержания CD95+ клеток в крови.
3. Дисбаланс субпопуляций лимфоцитов на фоне увеличенного содержания циркулирующих иммунных комплексов в крови, может быть доступным методом оценки степени и тяжести иммунных нарушений у больных сахарным диабетом типа 2.

ЛИТЕРАТУРА

1. IDF Diabetes Atlas Sixth edition, 2013 – 155 p.
2. Боднар П.М., Михальчишин Г.П., Кобиляк Н.М. Неалкогольна жирова хвороба печінки у хворих на цукровий діабет типу 2: патогенез, діагностика та лікування // Ендокринологія. – 2012. – Том 17. – №1. – с. 94-101
3. Тихонова Т.М. Особенности состояния клеточного иммунитета у больных сахарным диабетом в зависимости от варианта течения заболевания // Междун. мед. ж – 2011, №4 – С.82-86.
4. Трушина Э.Н., Мустафина О.К., Сото С.Х. и др. Субпопуляционный состав лимфоцитов

периферической крови больных сахарным диабетом типа 2 и ожирением // Вопросы питания – Т.81 – №5 – 2012 – С.60-65.

5. Білоусова І.В., Гарник Т.П., Фролов В.М. Клінічна ефективність фітозасобів у хворих на неалкогольний стеатогепатит, поєднаний із ожирінням, та їхній вплив на показники клітинного імунітету // Сімейна медицина. №2 (20) – 2007 – С.91-95.
6. Фадеенко Г.Д., Кравченко Н.А., Виноградова С.Д. Патофизиологические и молекулярные механизмы развития стеатоза и стеатогепатита // Сучасна гастроентерологія. – 2005. №3. – С.88-95.
7. Фадеенко Г.Д., Кравченко Н.А. Стеатогепатит. Биохимические маркеры и проблемы диагностики // Сучасна гастроентерологія – 2006 – №1 – С.8-14.
8. Brunt E.M. Non-alcoholic steatohepatitis definition and pathology /E.M.Brunt// Sem. Liv. Dis – 2001 – V.21 – P.3-16.
9. Pessayre P. Nonalcoholic steatohepatitis: potential causes and pathogenic mechanisms /P.Pessayre, A.Mansouri // Hepatol – 2000. V.35 – P.57-76.
10. Daoud A.K., Tayyar M.A., Foudo I.M., Hafeil N.A. Effects of diabetes mellitus vs in vitro hyperglycemia on select immune cell function // J. Immunotoxicol – 2009 – №6(1) – P.36-41.
11. Olefsky J.M., Glass C.K. Macrophages, inflammation and insulin resistance // Ann. Rev. Physiol – 2010 – №72 – P.219-246.
12. Белякова Н.А., Руденко Е.В., Михайлова Д.Г. и др. Состояние иммунной системы у больных сахарным диабетом 2 типа // Вопросы патогенеза – №2 – 2011 – С.9-11.
13. Сульская Ю.В., Белоглазов В.А. Клеточное звено иммунитета у больных сахарным диабетом 2-го типа // Иммунологія та алергологія – 2009 – №4 – С.55-61.
14. Дедов И.И., Чугунова Л.А., Смирнова О.М. и др. Особенности клеточного иммунитета у больных с впервые выявленным инсулинзависимым сахарным диабетом // Пробл. эндокринология – 1994 – №1 – С.17-19.
15. Пинегин Б.В., Ярилин А.А., Симонова А.В. и др. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека /Пособие для врачей-лаборантов // Гос. научный центр РФ – Ин-т иммунологии МЗ РФ – М. – 2001 – 53с.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЛИВОСТІ СУБПОПУЛЯЦІЙНОГО СКЛАДУ ЛІМФОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ ТА НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ

ЛИТВИНЕНКО К.О.¹, БОДНАР П.М.¹, ЛІСЯНИЙ М.І.,²
ПОТАПОВА А.І.²

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця¹
ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А.П.Ромоданова
НАМН України»²

Мета роботи - дослідження рівня основних субпопуляцій лімфоцитів у хворих на цукровий діабет 2 типу (ЦД-2) ЦД -2 і НАЖБП. Обстежено 110 хворих, серед них: 60 пацієнтів з ЦД- 2 типу та НАЖХП (I група), 25 - з ЦД2 (II група) і 25 пацієнтів з НАЖХП (III група). Контрольну групу склали 25 здорових людей. Кількісний склад субпопуляцій лімфоцитів периферичної крові обстежуваних вивчали на проточному цитофлюориметрії «FC- 500» («Beckman Coulter», США) за програмою Cytomics CXP Software з використанням подвійних комбінацій моноклональних антитіл, виробництва «Beckman Coulter», США і антитіл фірми «Сорбент», Росія. У пацієнтів всіх обстежуваних груп виявлено дисбаланс у складі субпопуляцій лімфоцитів, що проявлявся збільшенням концентрації CD20 + клітин, зниженням вмісту CD8 і CD16 клітин при відносному стабільному рівні Т хелперної (CD4) субпопуляції клітин. У хворих на ЦД2 та НАЖБП відзначається підвищена апоптична готовність лімфоцитів, що проявлялась збільшенням вмісту CD95+ клітин в крові. Дисбаланс субпопуляцій лімфоцитів на тлі збільшеного вмісту циркулюючих імунних комплексів у крові, може бути доступним методом оцінки ступеня і тяжкості імунних порушень на цукровий діабет типу 2.

Ключові слова: цукровий діабет типу 2, неалкогольна жирова хвороба печінки, субпопуляції лімфоцитів, циркулюючі імунні комплекси.

SUMMARY

FEATURES OF THE SUBPOPULATIONS OF LYMPHOCYTES IN PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES AND NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

LYTVYNNENKO K.O.¹, BODNAR P.N.¹, LYSYANYK N. I.²,
POTAPOVA A.I.²

National O.O. Bohomolets Medical University, Kyiv, Ukraine¹
Institute of neurosurgery named after A.P. Romodanov
of NAMS of Ukraine²

Purpose - to study the content of basic lymphocyte subpopulations in patients with type 2 diabetes and NAFLD when combined. We examined 110 patients, including 60 patients with type 2 diabetes (DM2) and NAFLD (I group), 25 - with DM2 (II group) and 25 patients with NAFLD (III group). The control group was 25 healthy people. Quantitative composition of the lymphocyte subpopulations in peripheral blood of the subjects were studied by flow cytometry «FC- 500» («Beckman Coulter», USA) Cytomics CXP Software program using binary combinations of monoclonal antibodies production «Beckman Coulter», and antibodies U.S. company « Sorbent », Russia. Patients of all of the groups revealed the presence of an imbalance in the composition of lymphocyte subpopulations, manifested increasing concentration of CD-20+ cells, decrease in the content CD- 8 and CD- 16 cells at a relatively stable level of T helper (CD- 4) cell subpopulations. In patients with type 2 diabetes and NAFLD have an increased willingness to apoptotic lymphocytes, which manifests an increase in the content of CD- 95+ cells in the blood. Imbalance of lymphocyte subpopulations, with increased content of circulating immune complexes in the blood, may be available method for assessing the extent and severity of immune disorders with type 2 diabetes mellitus.

Key words: type 2 diabetes, nonalcoholic fatty liver disease, lymphocyte subsets, circulating immune complexes.

Удк 616-097.1/.3-076

ОЦЕНКА АНАЛИТИЧЕСКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ, ВАРИАбельНОСТИ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИФА ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО IgE

ПРИЛУЦКИЙ А.С., ЛЕСНИЧЕНКО Д.А., КУЗНЕЦОВА Л.В.,
ПРИЛУЦКАЯ И.А., ПУЗИК А.А., НАЗАРЕНКО А.П., МАЦЕГОРА А.С.,
БОРЗЕНКО Б.Г., РЕЗНИЧЕНКО Н.А.

Донецкий национальный медицинский университет им.М.Горького,
Национальная медицинская академия последипломного
образования им. П.Л. Шупика

В последнее время наблюдается повсеместный рост частоты аллергических заболеваний. При исследовании динамики распространенности аллергических заболеваний за последние 30 лет показано, что каждые 10 лет число лиц,

страдающих аллергией, удваивается [1]. Стремительному распространению аллергических заболеваний способствуют следующие факторы: резкое увеличение числа аллергенов в среде обитания, как следствие научно-технического