

СТАН ІМУННОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ II ТИПУ

Н.Г. Бичкова

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця

Резюме. У статті наведено результати дослідження показників клітинної та гуморальної ланок імунної системи у хворих на цукровий діабет II типу та при його ускладненні діабетичною ретинопатією. Показано, що у пацієнтів із діабетичною ретинопатією спостерігаються явища вторинного імунодефіциту із аутоімуними проявами, що потребує додаткового призначення до традиційної терапії імунокоректорів.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична ретинопатія, клітинний імунітет, гуморальний імунітет, інтерлейкіни.

Вступ. Діабетична ретинопатія (ДР) – тяжке офтальмологічне ускладнення цукрового діабету (ЦД), яке займає друге місце серед причин сліпоти хворих найбільш працездатного віку в розвинутих країнах світу та на Україні. ДР формується в результаті розвитку патологічних змін в судинному руслі ока від початкових проявів, які характеризуються підвищеною проникністю ретинальних судин, до найбільш тяжкої стадії діабетичного ураження сітківки, яке характеризується розростанням новоутворених судин та гліальної тканини. У літературі існують різні дані про ступінь порушень в імунній системі у хворих на ДР, однак вони носять різнонаправлений характер і досить фрагментарні [1].

Мета роботи – вивчити показники клітинної та гуморальної ланок імунної системи у хворих на ЦД II типу, ускладнений ДР.

Матеріали та методи дослідження. Обстежено 59 хворих, середній вік яких становив 64,3±3,8 роки, з них 35 чоловіків та 24 жінки, які знаходилися на обстеженні та лікуванні в Олександрівській лікарні м.Києва. Контрольну групу склали 25 здорових осіб, співставлюваних за віком та статтю. Першу групу пацієнтів в кількості 25 осіб склали хворі на ЦД без офтальмологічних ускладнень. Другу

групу хворих склали 34 пацієнти з ДР. Діагноз ЦД та ДР встановлювався на підставі детального анамнестичного, клінічного, лабораторного та інструментального методів дослідження за рекомендаціями Міжнародної Діабетологічної Федерації (IDF), 2005 [2].

Вміст основних та активованих популяцій та субпопуляцій лімфоцитів вивчали непрямим імуофлюоресцентним методом за допомогою моноклональних антитіл на аналізаторі Facscan (Beckton Dickinson) [3]. Функціональну активність Т-лімфоцитів вивчали морфологічним методом шляхом визначення проліферативної активності лімфоцитів у реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) з мітогеном фітогемаглютиніном (ФГА) фірми «Welcome Biotech» [4]. Фагоцитарну активність нейтрофілів оцінювали за ступенем поглинання часток латексу із обчисленням фагоцитарного індексу Гамбурга та фагоцитарного числа Райта [5]. Вивчення функціонального стану В-лімфоцитів проводили, визначаючи рівень основних класів сироваткових імуноглобулінів Ig G, Ig A, Ig M методом простої радіальної імунодифузії в гелі за G. Mancini et al., 1965 [6]. Концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в сироватці крові визначали методом преципітації в розчині поліетиленгліколю (ПЕГ-6000) на мікроспектрофотометрі «Spocol-21» (Німеччина) при довжині хвилі 450 нм [7]. При цьому на основі диференційованої преципітації в 2,5%, 3,5% та 7,0% розчині ПЕГ-6000 виділяли фракції ЦІК з різною молекулярною масою – великомолекулярні (> 19S), середньо- (11-19S) та дрібномолекулярні (< 11S) ЦІК, причому дві останні фракції ЦІК виявляли високі патогенні властивості.

Результати дослідження та їх обговорення. В результаті проведених досліджень у групі хворих на ЦД і ДР встановлено наявність значних порушень в показниках основних популяцій і субпопуляцій лімфоцитів, що вірогідно відрізняються від рівня здорових осіб. В той же час, вміст лейкоцитів у периферичній крові обох груп пацієнтів не мав достовірних відмінностей як від значення у здорових осіб, так і між собою ($p > 0,1$). Відносний вміст лімфоцитів у пацієнтів на ЦД також не відрізнявся від показника контрольної групи ($p > 0,1$), однак при наявності ДР – був вище значення здорових осіб на 22,5% ($p < 0,01$).

Відносний вміст CD3+ клітин в обох групах пацієнтів був нижче даних контрольної групи: у пацієнтів на ЦД – на 20,0% (53,5+4,84%), а

у хворих на ДР – на 25,7% (49,7+3,96%), при рівні у здорових – 66,9+3,13% ($p < 0,01$). Дані зміни свідчать про значний дефіцит Т-лімфоцитів у хворих на ЦД, який збільшується по мірі зростання тяжкості даного захворювання і появі ускладнень.

Вміст CD4+ лімфоцитів в обох групах хворих не мав істотних відмінностей від рівня здорових осіб ($p > 0,1$) – 44,2+3,58% і 48,3+3,86 – відповідно, при рівні у здорових осіб – 45,2+4,04%.

Поряд з цим в обох групах хворих спостерігалось зниження рівня Т-цитотоксичних лімфоцитів/супресорів, коли у хворих на ДР рівень CD8+ лімфоцитів був нижче показника контрольної групи на 31,2% ($p < 0,01$) і нижче аналогічного показника у хворих на ЦД без ускладнень – на 17,4% ($p < 0,01$). Це призвело до того, що імунорегуляторний індекс у групі хворих на ДР складав 2,47+0,21, перевищуючи значення здорових осіб у 1,54 рази ($p < 0,01$), а у хворих на ЦД – у 1,3 рази. Виявлені нами зміни свідчать про наявність як Т-клітинного імунodefіциту у хворих із ДР, так і розвиток на його тлі аутоімунних змін, що, безумовно, обтяжує перебіг основного захворювання і вимагає оптимізації терапії хворих із ДР і призначення їм імунотропних препаратів.

Відносний вміст CD19+лімфоцитів був підвищеним як у групі хворих із ізольованим ЦД (20,5+2,31%) – на 29,7% ($p < 0,01$), так і у хворих із ДР (32,1+3,05%) – у 2,03 рази ($p < 0,01$), при рівні 15,8+1,85% – в контрольній групі. Наявність В-лімфоцитозу в периферичній крові відзначено також і іншими дослідниками як у хворих на ЦД, так і при різних формах ДР. На наш погляд, дані зміни можуть носити компенсаторний характер внаслідок зниження кількості CD3+ лімфоцитів і свідчити про активацію імунної системи, що виникає при порушенні офтальмогематологічного бар'єру.

Вміст NK-клітин у всіх групах хворих не мав достовірних відмінностей від значень контрольної групи ($p > 0,1$), що обумовлено, у першу чергу, функціональним значенням цих клітин – активацією у відповідь на вплив вірусних і пухлинних антигенів [8].

З огляду на виявлені нами зміни в кількісному складі основних популяцій і субпопуляцій лімфоцитів, а також їх виражений аутоімунний характер було вивчено експресію основних активаційних антигенів на лімфоцитах хворих на ЦД і ДР, визначаючи кількість активованих Т і В-лімфоцитів.

Проведені дослідження показали, що у хворих на ЦД навіть без супутніх офтальмологічних ускладнень в імунній системі спостерігаються зміни, характерні для аутоімунних процесів, однак ступінь їхнього прояву був найбільш вираженим при наявності ДР. Так, рівень CD25+ лімфоцитів у першій групі хворих перевищував значення контрольної групи на 33,3% і становив $12,9 \pm 0,57\%$ ($p < 0,01$), а в другій – у 2,1 рази ($17,9 \pm 1,43\%$) ($p < 0,01$), що свідчить про значне переважання в периферичній крові Т-лімфоцитів, а саме Т-хелперів 1 типу. Аналогічну тенденцію мав і рівень HLA-DR+ лімфоцитів: у першій групі перевищував показники контрольної групи на 43,5% і становив $17,2 \pm 1,38\%$ ($p < 0,01$), а в другій – $22,5 \pm 1,85\%$, тобто у 1,79 рази ($p < 0,01$). Виходячи з отриманих даних, можна констатувати, що причиною активації Т- і В-лімфоцитів периферичної крові є основне захворювання – цукровий діабет, однак, по мірі його прогресування і появи органних ускладнень, а саме ретинопатій, активація клітин імунної системи підсилюється з найбільшою ймовірністю за рахунок появи в крові аутоантигенів при порушенні природних бар'єрів.

Звертає на себе увагу високий вміст у периферичній крові обох груп хворих лімфоцитів, які експресують FAS-рецептор і готові вступити в апоптоз: відносний вміст CD95+ лімфоцитів у першій групі хворих був збільшений в 2,5 рази ($7,3 \pm 0,65\%$) ($p < 0,01$), а в другій становив $13,1 \pm 1,02\%$, тобто був вище у 4,1 рази ($p < 0,01$). Така висока процентна кількість цих активованих лімфоцитів обумовлена, на наш погляд, насамперед явищами запальної реакції і дією основного прозапального цитокіну ФНП- \pm , що є активним індуктором апоптозу імунокомпетентних клітин.

Дослідження функціональної активності Т-лімфоцитів показало, що стимульована ФГА проліферативна активність лімфоцитів у групі хворих на ЦД без ускладнень не мала істотних відмінностей ($p > 0,1$) від значень контрольної групи, а у пацієнтів із ДР була зниженою ($p < 0,01$) на 12,6% у порівнянні зі здоровими особами. У той же час спонтанна проліферативна активність лімфоцитів у цій групі пацієнтів була високою – у 1,7 рази вище, ніж у контрольній групі ($p < 0,01$), що свідчить про наявність циркулюючих аутоантигенів, що стимулюють проліферацію клітин.

Фагоцитарна активність нейтрофілів в обох групах пацієнтів не мала достовірних відмінностей від значень контрольної групи ($p > 0,1$)

ні за рівнем фагоцитарного індексу, ні за значенням фагоцитарного числа Райта. На наш погляд, це обумовлено як відсутністю бактеріальної інфекції, що стимулює процеси фагоцитозу, так і протилежних (вірусних, пухлинних) змін, що призводять до їхнього пригнічення.

Як було зазначено вище, у хворих із ДР спостерігається високий відносний вміст В-лімфоцитів у периферичній крові, у зв'язку з чим нами була досліджена сироваткова концентрація імуноглобулінів і ЦІК.

В результаті проведених досліджень встановлено, що у хворих на ЦД без офтальмологічних ускладнень рівень імуноглобулінів усіх класів у сироватці крові не мав достовірних відмінностей від значень контрольної групи ($p > 0,1$) і складав: IgG – $11,75 \pm 1,21$ г/л, IgA – $1,25 \pm 0,13$ г/л, IgM – $0,92 \pm 0,09$ г/л. У пацієнтів із ДР сироваткова концентрація IgM не відрізнялася від аналогічного показника як першої групи ($0,95 \pm 0,04$ г/л, $p > 0,1$), так і здорових осіб ($0,98 \pm 0,09$ г/л, $p > 0,1$). У той же час вміст IgG у сироватці крові був вище ($p < 0,01$) на 27,8%, а Ig A – нижче ($p < 0,01$) у 1,6 рази в порівнянні з контрольною групою, дані показники також вірогідно відрізнялися від значень у пацієнтів першої групи ($p < 0,01$).

Наші дослідження також показали, що у хворих на ЦД без офтальмологічних порушень уже спостерігається дисбаланс рівня ЦІК, що виражалось у збільшенні концентрації патогенних ЦІК ($p < 0,01$) і зменшенні – фізіологічних ЦІК великого розміру ($p < 0,01$). Наявність у хворих на ЦД ускладнення – ДР характеризувалося вираженим порушенням вмісту ЦІК: так, рівень ЦІК великого розміру в цій групі хворих був нижче в 1,6 рази і складав $31,9 \pm 2,24$ ум.од. ($p < 0,01$), у здорових – $51,7 \pm 3,12$; рівень середньомолекулярних патогенних ЦІК був вище в 1,2 рази – $41,8 \pm 2,93$ ум.од, у здорових – $34,54 \pm 2,02$, ($p < 0,01$), а патогенних ЦІК малого розміру – вище в 2,9 рази – $30,8 \pm 2,36$ ум.од. ($p < 0,01$), чим у здорових осіб ($10,94 \pm 1,13$ ум.од.). Виявлені зміни підтверджують порушення в клітинній ланці імунної системи аутоімунної природи.

Дослідження сироваткового рівня концентрації основних про- і протизапальних цитокінів в двох групах хворих показало, що у хворих на ЦД, особливо при розвитку уражень органів-мішеней, спостерігаються значні зміни рівня цитокінів у бік значної переваги активності прозапальних. Так, у першій групі хворих на ЦД рівень ФНП- \pm був вище ($p < 0,01$) значень

контрольної групи на 49,9%, складаючи $63,4 \pm 5,2$ пг/мл., у здорових – $42,3 \pm 4,9$, а в другій – у 2,3 рази ($98,9 \pm 5,2$ пг/мл). Сироваткова концентрація ІЛ-11 мала таку ж тенденцію: збільшення показника на 32,2% у хворих з ізольованим ЦД ($52,1 \pm 3,8$ пг/мл) і – у 1,9 разів при ДР ($74,2 \pm 9,4$ пг/мл), у здорових – $39,42 \pm 4,5$ пг/мл. Дані результати показали значну роль прозапальних цитокінів у генезі ураження органів-мішеней при ЦД і формуванні, у першу чергу, офтальмологічних ускладнень. Слід зазначити високий корелятивний зв'язок між вмістом активованих HLA-DR+ лімфоцитів і концентрацією ФНП-± ($r = 0,91$), HLA-DR+ лімфоцитів і концентрацією ІЛ-11 ($r = 0,78$), а також між відносною кількістю CD95+ активованих лімфоцитів і вмістом ФНП-± ($r = 0,63$) у хворих на ДР.

Рівень ІЛ-4 не мав достовірних відмінностей ($p > 0,1$) між групами хворих ($17,9 \pm 4,5$ та $19,2 \pm 5,4$ пг/мл відповідно) і показником у здорових осіб ($15,42 \pm 3,3$ пг/мл), що може бути обумовлено відсутністю алергійного компонента порушень в імунній системі в даній категорії хворих.

Сироватковий вміст ІЛ-6 також не мав ($p > 0,1$) достовірних відмінностей з показником у здорових осіб ($10,31 \pm 4,3$ пг/мл) і між групами пацієнтів ($15,4 \pm 3,5$ та $13,2 \pm 2,9$ пг/мл відповідно).

Дослідження стану місцевого імунітету за рівнем SIgA у сльозі показало достовірне зниження його концентрації як у хворих на ЦД ($0,45 \pm 0,02$ г/л), так і на ДР – $0,39 \pm 0,02$ г/л, у здорових – $0,98 \pm 0,07$ г/л.

Висновки

1. У хворих із ДР у порівнянні з хворими на ЦД без ураження органів – мішеней спостерігаються значні зміни в імунній системі, що полягають у дефіциті Т-клітинної ланки, субпопуляції Т-цитотоксичних лімфоцитів/супресорів, сироваткового рівня IgA і секреторного IgA у сльозі, а також значному зниженні проліферативної активності лімфоцитів.

2. Дані зміни поєднуються з активацією і збільшенням кількості В-лімфоцитів і синтезу ними IgG, дисбалансом імунорегуляторних субпопуляцій зі збільшенням кількості Т-хелперів, значною активацією Т- і В-лімфоцитів з перевагою кількості активованих лімфоцитів, що мають виражену здатність до міграції у вогнища запалення і через ушкоджений ендотелій.

3. При цьому в даній групі пацієнтів зберігаються незмінними: вміст NK клітин, фагоцитарна активність нейтрофілів, загальний вміст лейкоцитів і лімфоцитів.

4. Дані зміни можна трактувати як розвиток вторинного імунodefіциту з вираженими аутоімунними змінами, що вимагають, безумовно, призначення адекватної і своєчасної терапії.

Література

1. Бездетко П.А., Добровица Я.В., Мужичук Е.П. Диабетическая ретинопатия – тяжелое проявление сахарного диабета /П.А.Бездетко, Я.В.Добровица, Е.П.Мужичук // Сімейна медицина.-2009.-№3.- С. 40-43.

2. Діагностика і лікування метаболічного синдрому, цукрового діабету, пре діабету і серцевосудинних захворювань. Методичні рекомендації.-К.-2009.-40с.

3. Parcs D.R., Lanier L.L., Herrenberg L.A. Flow cytometry and fluorescence activated cell sorting (FACS) / Handbook of Experimental Immunology.-1986.-Ch.29.-324p

4. Копелян И.И., Григорьева М.П. Разработка микромодификации культивирования клеток крови // Бюл. эксп. биол. и мед. – 1972. – №9. – С. 119-122.

5. Передерий В.Г., Земсков А.М., Бычкова Н.Г. и др. Иммунный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений / В.Г.Передерий, А.М.Земсков, Н.Г.Бычкова, В.М.Земсков. – К.: Здоров'я, 1995. – 211с.

6. Mancini G., Garbonare A., Heremans J. Immunochemical quantitation of antigens by single radial diffusion // Immunochemistry. – 1965. – №2. – P. 235.

7. Haskova V., Kastik J., Riha L. et al. Simple method of circulating immune complex detection in human sera by polyethylenglycol precipitation // Immunol. Forsch. – 1977. – Bd. – 154. – №4. – P. 399-486.

8. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Система интерлейкинов и рак (новые аспекты взаимодействия опухоли и организма).- К.: Диа, 2000.- 224с.

Summary. *The article contains the results of cell and hummoral immune investigation in patients with diabetes and diabetic retinopathy. It was determined, that patients with diabetic retinopathy have the secondary immunodeficiency with autoimmune sings. They need the prescription of immunocorrectors.*

Key words: *diabetes, diabetic retinopathy, cell immunity, hummoral immunity, interleukins.*

Резюме. В статье приведены результаты исследования показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета у больных сахарным диабетом и при его осложнении – диабетической ретинопатии. Показано, что у пациентов с диабетической ретинопатией наблюдаются явления вторичного иммунодефицита с аутоиммунными проявлениями, что требует дополнительного назначения в комплексную терапию иммунокорректоров.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая ретинопатия, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, интерлейкины.

УДК 616-036.82+616-009:577.125

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПУРИНОВОГО ОБМЕНА И ИНДЕКСА ИНТОКСИКАЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ НА МЕТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ В ОПТИМИЗАЦИИ ПРОГРАММ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

В.В. Ежов, Л.В. Ежова, П.И. Коломиец

*Крымский государственный медицинский университет
им.С.И.Георгиевского*

Санаторий «Черноморье» Службы безопасности Украины

Резюме. Назальный электрофорез сульфату Mg та пірідоксіна гідрохлориду у поєднанні із ефірними оліями вищих рослин позитивно впливає на клініко-функціональний стан хворих на гіпертонічну хворобу, має гіпотензивний ефект, а також знижує запропоновані для оцінки стану ліпідного обміну індекси ризику атеросклерозу і запалення.

Ключові слова: відновне лікування, артеріальна гіпертензій, пуриновий обмін.

Актуальность. Одной из причин развития атеросклероза и ишемической болезни сердца является активация перекисного окисления липидов. Инициатором перекисного окисления липидов могут являться стресс, гипоксические состояния, ионизирующее излучение,