

УДК 616.379-008.64-085:616-097

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АКТИВНОСТИ ИММУННОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА ПОД ВЛИЯНИЕМ ТЕРАПИИ

Князева Л.И., Окрачкова И.В., Бондырева А.В., Маслова Т.А.

ГБОУ ВПО «КГМУ» Минздравсоцразвития России, e-mail: kafedra_n1@bk.ru

В данной статье представлены результаты исследования сывороточного содержания провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α , p ФНО- α p₁), лептина, растворимой изоформы лиганда 40 (p CD40L), моноцитарного хемоаттрактантного протеина (MCP-1) у 60 больных сахарным диабетом (СД) 2 типа. Установлены более выраженные изменения изучаемых показателей иммунного статуса у больных СД 2 типа с ожирением в сравнении с показателями у больных СД 2 типа и ИМТ < 25 кг/м². У больных СД 2 типа с ожирением определено достоверно более высокое содержание в сыворотке крови холестерина, триглицеридов в сравнении с больными СД 2 типа с ИМТ < 25 кг/м², при этом у больных с ожирением уровень холестерина липопротеидов высокой плотности был ниже. Выявлены достоверные корреляционные связи между уровнем провоспалительных цитокинов и показателями липидного спектра крови. Определено, что фенофибрат, наряду с гиполипидемическим, обладает плеiotропным противовоспалительным действием.

Ключевые слова: провоспалительные цитокины, лептин, растворимая изоформа лиганда 40L, моноцитарный хемоаттрактантный протеин, сахарный диабет, ожирение.

CHANGES OF PARAMETERS OF IMMUNE INFLAMMATION ACTIVITY IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS UNDERGOING TREATMENT

Knyazeva L.I., Okrachkova I.V., Bondyрева A.V., Maslova T.A.

GBOU VPO KSMU Ministry of Health and Social Development of Russia, kafedra_n1@bk.ru

This article contains the results of research of serum levels of proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α , p TNF- α p₁), leptin, soluble isoform of 40L ligand (p CD40L), monocyte chemoattractant protein (MCP-1) in 60 patients with type 2 diabetes mellitus (DM). It was found out that more prominent changes of immune status parameters occurred in patients with type 2 DM and obesity, compared to parameters in patients with type 2 DM and BMI < 25 kg/m². Patients with type 2 DM and obesity had significantly higher levels of cholesterol and triglycerides in blood serum, compared to patients with type 2 DM and BMI < 25 kg/m²; besides, patients with obesity had a lower level of high-density cholesterol lipoproteins. Significant correlation relationships were determined between the level of proinflammatory cytokines and blood lipid spectrum parameters. It was determined, that in addition to lipid-lowering effect, fenofibrate also has pleiotropic anti-inflammatory activity.

Key words: proinflammatory cytokines, leptin, soluble isoform of 40L ligand, monocyte chemoattractant protein, diabetes mellitus, obesity.

Сахарный диабет (СД) 2 типа – одно из наиболее распространенных заболеваний в мире, поражающее население как экономически развитых, так и развивающихся стран. В настоящее время около 285 млн человек в мире страдает СД [6]. Следует отметить, что у больных СД 2 типа частота артериальной гипертензии и ИБС значительно выше, чем у людей без диабета, что позволяет объяснить раннее развитие ХСН [2]. При этом к числу независимых факторов сердечно-сосудистого риска при СД 2 типа относятся увеличение индекса массы тела (ИМТ), гипергликемия, дислипидемия и др. [2; 3]. Получены убедительные данные о том, что провоспалительные цитокины рассматриваются в качестве маркеров атеросклеротического риска [4; 5; 7]. Повышение уровня p CD40L дискутируется в

качестве фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний и связано с неблагоприятным прогнозом у больных ИБС.

Исследованиями последних лет установлено, что независимым предиктором инфаркта миокарда у мужчин и женщин с артериальной гипертензией является лептин. Наряду с влиянием на метаболизм липидов в сосудистой стенке, окислительной модификацией липопротеинов плазмы крови, снижением параоксидантной активности и холестерина ЛПВП, лептин оказывает и другие проатерогенные эффекты, участвуя в процессах гемостаза, воспалении, эндотелиальной дисфункции [9]. Надо отметить, что прогностическая функция лептина и р CD40L при сердечно-сосудистых заболеваниях, в том числе при СД 2 типа, окончательно не определена.

Известно, что большое значение в инициации воспаления в эндотелии сосудистой стенки играют моноциты, макрофаги, адгезия и миграция моноцитов в сосудистую стенку, превращение их в макрофаги с последующей активацией липидов. MCP-1 является одним из цитокинов, ответственных за миграцию моноцитов в интиму в местах формирования атеросклеротических бляшек. Уровень MCP-1 в сыворотке крови рассматривается в качестве маркера субинфарктного атеросклероза [10]. Изучение связи между показателями цитокинового статуса и липидного спектра крови представляет интерес с позиции их вклада в прогрессирование жесткости артериального русла.

Прогностическая ценность этих исследований заключается не только в определении механизмов прогрессирования структурно-функциональных нарушений сосудистого русла у больных СД 2 типа с ожирением, но и дает новые направления для терапевтического вмешательства.

Поэтому целью настоящего исследования явилось изучение динамики показателей иммунного статуса, липидного профиля у больных СД 2 типа с ожирением на фоне терапии фенофибратом.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 60 больных СД 2 типа, среди них 25 мужчин (58%) и 35 женщин (42%). Средний возраст составил $41 \pm 6,5$ лет. Длительность СД 2 типа у обследованного контингента колебалась от 1 года до 5 лет. Степень тяжести течения и фазы компенсации сахарного диабета определялись согласно алгоритмам специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом [1] с учетом клинико-лабораторных признаков (контроль базальной и суточной гликемии и глюкозурии, уровня гликозилированного гемоглобина), данных осмотров окулиста и невролога.

Критериями включения в исследование являлись следующие: СД 2 типа средней тяжести, удовлетворительный контроль СД (гликемия натощак $< 7,0$ ммоль/л; гликемия

постпрандиальная <19,0 ммоль/л; HbA1 <7%); АГ не выше 1 степени; индекс массы тела свыше 30 кг/м², соотношение окружности талии к окружности бедер (ОТ/ОБ) более 0,85 у женщин и более 0,9 у мужчин; информированное согласие пациента о включении в исследование.

Критериями исключения являлись: АГ выше 1 степени, тяжелое течение СД 2 типа; нестабильная компенсация СД (HbA1 >10%); хроническая сердечная недостаточность более II ФК по NYHA; диабетическая нефропатия; хроническая почечная недостаточность.

Группу сравнения составили 32 больных СД 2 типа с ИМТ менее 25 кг/м² в возрасте 36–49 лет, 18 мужчин и 12 женщин.

Группу контроля составили 24 лица без нарушений углеводного обмена и сердечно-сосудистых заболеваний: 10 мужчин и 14 женщин в возрасте от 35 до 50 лет, средний возраст составил 40,2±6,3 лет.

Исследования показателей иммунного статуса проводились дважды: до начала лечения и после 6 месяцев терапии.

Оценка липидного спектра крови проводилась с помощью реактивов Ольвекс Диагностикум, Россия.

Содержание в сыворотке крови ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6 исследовали иммуноферментным методом согласно инструкциям к тест-системам («Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург). Уровень р ФНО-α р₁ в сыворотке крови исследовали иммуноферментным методом (Biosource, Бельгия). Количественное содержание MCP-1 изучали иммуноферментным методом с использованием тест-систем (ОМБ, г. Москва). Содержание лептина оценивали иммуноферментным методом – DRV (Германия), р CD40L – BenderMedSystems (Австрия).

Лечение больных включало: диету – диетотерапию; пероральные сахароснижающие препараты, производные сульфанилмочевины второй генерации глибенкламид (манинил – 5,0) – 32 пациента, гликлазид (диабетон) – 28 человек, комбинированную терапию (манинил 5,0 + сиофор 850) – 30 больных. После определения исходных параметров терапия больных СД 2 типа была дополнена производным фиброевой кислоты – фенофибратом в дозе 145 мг 1 раз в сутки.

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием парного и непарного критерия Стьюдента, коэффициента корреляции Спирмена с применением программного комплекса Statistica 6,0 for Windows.

Результаты и их обсуждение

С учетом роли дислипидемии в качестве ведущего фактора сердечно-сосудистого риска проведено исследование липидного спектра у больных СД 2 типа, установившее, что у больных с СД 2 типа с ИМТ < 25 кг/м² уровень холестерина составил 4,7±0,2 ммоль/л, триглицеридов (ТГ) – 3,7±0,12 ммоль/л, коэффициент атерогенности (КА) был равен 3,9±0,5. Содержание холестерина и ТГ у больных с ИМТ>35 кг/м² превосходило аналогичные показатели у больных СД 2 типа без ожирения соответственно на 18,3±1,1% и 26,0±2,1%. Уровень холестерина липопротеидов высокой плотности был на 9,1±0,9% (p<0,05) выше, чем у больных СД с ИМТ>35 кг/м². Коэффициент атерогенности у больных СД 2 типа с ожирением был достоверно выше показателя в группе сравнения и составлял 5,4±0,6.

Определение исходного уровня провоспалительных цитокинов показало достоверно более высокий их уровень у больных СД 2 типа с ожирением (табл. 1). У больных этой группы содержание ФНО-α – в 2,5±1,1 раза, ИЛ-1β – в 2,4±0,2 раза, ИЛ-6 – в 4,1±1,2 раза превосходило значения контроля и соответственно в 1,2±0,4 (p<0,05), 1,3±0,1 (p<0,05) и 1,3±0,2 (p<0,05) раза содержание исследуемых цитокинов у больных СД 2 типа без ожирения.

Следует отметить, что в проведенных к настоящему времени клинических исследованиях показано, что увеличение концентрации р ФНО-α р₁ коррелирует с развитием атеросклероза и его осложнений в основной популяции. Считают, что р ФНО-α р₁ обеспечивает большинство биологических активностей ФНО-α [4].

Оценка его содержания у больных СД 2 типа установила увеличение его концентрации в 1,6±0,3 раза у больных с ИМТ<25 кг/м² в сравнении с контролем (табл. 1). При наличии у больных СД 2 типа ожирения уровень р ФНО-α р₁ был в 1,9±0,1 раза выше контроля и в 1,17±0,4 раза превышал значение в группе больных СД 2 типа без ожирения.

Таблица 1 – Уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных СД 2 типа (M±m)

Параметры	Контроль (n=24)	Больные СД 2 типа	
		ИМТ>5кг/м ² (n=32)	ИМТ>35кг/м ² (n=60)
ФНО-α (пг/мл)	30,1±3,6	61,2±3,4* ¹	76,2±5,2* ^{1,2}
р ФНО-α р ₁ (пг/мл)	2,2±0,4	3,6±0,3* ¹	4,2±0,2* ^{1,2}
ИЛ-1β (пг/мл)	34,2±3,9	54,1±2,9* ¹	69,9±3,6* ^{1,2}
ИЛ-6 (пг/мл)	15,2±3,9	48,3±4,1* ¹	62,3±6,7* ^{1,2}

* отмечены достоверные отличия средних арифметических ($p < 0,05$), цифры рядом со звездочкой указывают по отношению к показателям какой группы эти различия достоверны.

Изучение содержания МСР-1 в сыворотке крови больных СД 2 типа показало его увеличение при СД 2 типа с ожирением в сравнении с контролем ($110,4 \pm 3,2$ пг/мл) в $1,6 \pm 0,3$ раза ($p < 0,05$) и в $1,3 \pm 0,2$ раза ($p < 0,05$) выше показателя у больных СД 2 типа с ИМТ < 25 кг/м². Наибольшая концентрация имела место в группе больных СД 2 типа с ожирением и гиперлипидемией ($198,4 \pm 7,4$ пг/мл, $p < 0,05$).

Лептин рассматривается в настоящее время как один из маркеров сердечно-сосудистого риска [9]. Проведенные исследования показали, что у всех больных СД 2 типа имеет место повышение уровня лептина в сыворотке крови $13,7 \pm 1,4$ нг/мл ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой ($4,9 \pm 0,54$ нг/мл). Следует отметить, что концентрация лептина у больных СД 2 типа с ожирением на $33,1 \pm 2,1\%$ превышала его уровень у больных СД 2 типа с ИМТ < 25 кг/м². Максимальная концентрация лептина ($18,1 \pm 0,9$ нг/мл, $p < 0,01$) была отмечена у больных с ожирением и дислипидемией. Выявлены прямые корреляционные связи между уровнем лептина, ОХ и ТГ ($r = 0,58$, $p < 0,05$; $r = 0,62$, $p < 0,05$ соответственно).

В настоящее время p CD40L рассматривается как важный маркер воспаления и тромбообразования, повышение его уровня является фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний [8].

Определение содержания p CD40L у больных СД 2 типа с ожирением и ИМТ < 25 кг/м² установило достоверное увеличение его концентрации в сравнении с контрольной группой. Уровень p CD40L у больных СД 2 типа с ожирением превышал значения контроля ($5,1 \pm 1,2$ нг/мл) в $2,6 \pm 0,3$ раза ($p < 0,05$) и в $1,4 \pm 0,2$ раза ($p < 0,05$) – его содержание у больных СД 2 типа без ожирения. Наибольший уровень p CD40L определен в сыворотке крови больных СД 2 типа с ожирением и гиперлипидемией ($15,2 \pm 0,8$ нг/мл).

Известно, что провоспалительные цитокины (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6) обладают свойствами индуцировать развитие эндотелиальной дисфункции, так ФНО- α активирует лейкоциты, участвующие в воспалительных реакциях, вызывает экспрессию молекул адгезии на поверхности эндотелиоцитов. Следствием чего является адгезия нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов с развитием воспалительной инфильтрации сосудистой стенки. Данный цитокин является мощным фактором активации перекисного окисления липидов, активирует систему свертывания крови, усиливает тромбогенную и вазоконстриктивную активность эндотелия, снижает синтез NO, что потенцирует повышение жесткости артериального русла. ИЛ-1 β оказывает провоспалительное действие на эндотелиоциты, гладкомышечные клетки сосудов,

макрофаги, усиливает инфильтрацию сосудистой стенки воспалительными клетками, атерогенез [4; 7]. При хронических заболеваниях ФНО- α также способен индуцировать инсулинорезистентность и дислипидемию [4]. Увеличение концентрации р ФНО- α р1 коррелирует с развитием и прогрессированием атеросклероза. ИЛ-6 действует через ФНО- α и ИЛ-1 β , вызывает дисфункцию эндотелия, потенциально являясь триггером острых коронарных событий [4].

По разнообразию клеточных источников продукции и мишеней биологического действия ИЛ-6 является одним из наиболее активных цитокинов, который принимает участие в реализации иммунного ответа и воспалительных реакций, проявляя свою активность не только в жировой ткани, но и системно [4]. Особенно важно, что ИЛ-6 повышает кардиоваскулярный риск, нарушая соотношение атерогенных и антиатерогенных липидов, липопротеидов и их белковых компонентов (апо В/апо А1, ХС/ХС ЛПВП и ХС ЛПВП/ХС ЛПНП) [10]. Проведенный корреляционный анализ выявил наличие высокой достоверной взаимосвязи между уровнем лептина и ИЛ-6 ($r=0,68$, $p<0,01$), уровнем лептина и индексом массы тела ($r=0,62$, $p<0,05$), содержанием ИЛ-6 и ИМТ ($r=0,59$, $p<0,05$) и ОХ, ТГ ($r=0,52$, $p<0,05$; $r=0,54$, $p<0,05$ соответственно).

Согласно литературным данным, МСР-1 рассматривается в качестве субклинического маркера атеросклеротического поражения сосудистого русла, отражает также активность иммунного воспаления и активацию моноцитарно-макрофагального звена иммунитета [10].

Лептин, наряду с влиянием на метаболизм липидов в сосудистой стенке, оказывает и другие проатерогенные эффекты, участвуя в процессах гемостаза, активации функции тромбоцитов, гипертрофии гладкомышечных клеток. Высокий уровень лептина в плазме крови нередко сопровождается эндотелиальной дисфункцией, оксидативным стрессом, провоспалительной и противовоспалительной цитокинемией. Лептин структурно гомологичен с ФНО- α , ИЛ-6 и др. семействами цитокинов и вследствие этого считается цитокиноподобной субстанцией [5; 9]. Воспаление и тромбоз играют важную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Одним из механизмов, связывающих воспаление и тромбообразование, является активация сигнальной системы CD40/CD40L, CD40 и CD40 лиганд-трансмембранные гликопротеиды, относящиеся к семейству рецепторов ФНО и семейству ФНО соответственно. CD40 и CD40L экспрессируются различными клетками атеросклеротической бляшки: В-лимфоцитами, макрофагами/моноцитами, эндотелиальными и гладкомышечными клетками [8].

Результаты исследований показали, что на фоне приема фенофибрата в течение шести месяцев уровень холестерина и триглицеридов у больных СД 2 типа с ожирением снизился

соответственно на $10,5 \pm 0,6\%$ и $11,3 \pm 0,7\%$ ($p < 0,05$), индекс атерогенности плазмы уменьшился на $15,4 \pm 0,4\%$ ($p < 0,05$), уровень холестерина липопротеидов высокой плотности увеличился на $8,9 \pm 0,6\%$ ($p < 0,05$).

После 6 месяцев терапии фенофибратом определено снижение провоспалительной цитокинемии, уровень ФНО- α уменьшился на $16,2 \pm 0,3\%$ ($p < 0,05$), ИЛ-1 β – на $12,3 \pm 0,2\%$ ($p < 0,05$), ИЛ-6 – на $15,4 \pm 0,4\%$ ($p < 0,05$), р ФНО- α р₁ на $15,6 \pm 0,2\%$ ($p < 0,05$). Установлено достоверное снижение концентрации лептина на $9,5 \pm 0,4\%$, р CD40L на $14,4 \pm 0,2\%$ ($p < 0,05$), MCP-1 на $13,6 \pm 0,3\%$ ($p < 0,05$) у больных СД 2 типа с ожирением.

Полученные результаты свидетельствуют о корригирующем влиянии фенофибрата на показатели липидного спектра и активность иммунного воспаления, что потенциально связано с уменьшением риска развития сердечно-сосудистых осложнений у этой категории больных.

Выводы

1. У больных СД 2 установлено достоверное повышение в сыворотке крови уровня цитокинов провоспалительного действия (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α , р ФНО- α р₁), лептина, р CD40L, MCP-1 в большей степени при наличии ожирения.

2. Терапия фенофибратом оказывает корригирующее влияние на нарушения иммунного статуса у больных СД 2 типа с ожирением.

Список литературы

1. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. – М., 2009. – Вып. 4. – 103 с.
2. Бондарь И.А. Роль мозгового натрий-уремического пептида и его N-концевого предшественника в диагностике хронической сердечной недостаточности и бессимптомной дисфункции левого желудочка при сахарном диабете 2 типа / И.А. Бондарь, Д.В. Гражданкина // Сах. диабет. – 2011. – № 3. – С. 31-35.
3. Дедов И.И. Сахарный диабет в России: проблемы и решения / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, Ю.И. Сунцов. – М., 2008. – С. 3-6.
4. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – СПб., 2008. – 552 с.
5. Клебанова Е.М. Гормоны жировой ткани и их роль в патогенезе сахарного диабета 2 типа / Е.М. Клебанова, М.И. Балаболкина // Леч. врач. – 2010. – № 11. – С. 12-16.
6. Маслова О.В. Эпидемиология сахарного диабета и микрососудистых осложнений / О.В. Маслова, Ю.И. Суянцов // Сах. диабет. – 2011. – № 3. – С. 6-11.

7. Прасолов А.В. Влияние бисопролола на иммунные маркеры кардиоваскулярного риска, эластические свойства сосудистой стенки и variability ритма сердца у больных стабильной стенокардией напряжения // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2010. – № 1. – С. 53-59.
8. Association of soluble CD40 ligand with carotid atherosclerosis in Japanese type with diabetic patients / N. Katakami, H. Kaneto, M. Matsuhisa et al. // Diabetologia. – 2006. – № 49 (7). – P. 1670-1676.
9. Beitowski J. Leptin and atherosclerosis // Atherosclerosis. – 2006. – № 189. – P. 47-60.
10. Wilkinson I.B. Nitric oxide regulates local arterial distensibility in vivo / I.B. Wilkinson, A. Quasem // Circulation. – 2009. – Vol. 105 (2). – P. 213-217.

Рецензенты:

Снимщикова И.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой иммунологии и специализированных клинических дисциплин медицинского института ГОУ ВПО «Орловский государственный университет», г. Орел.

Якунченко Т.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней Белгородского государственного университета, г. Белгород.