

УДК 616.366-002-036.12:616.379-008.64:612.112.94.015.2

СТАН ІМУНОЛОГІЧНОГО ТА ЦИТОКІНОВОГО СТАТУСУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ХОЛЕЦИСТИТ І ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

Н.В. Григоренко

Харківський державний медичний університет

Ключові слова: цукровий діабет, хронічний холецистит, дискінезія жовчного міхура, цитокіни, інтерлейкін-1 β , фактор некрозу пухлин α , лімфоцити, імунологія.

Важливою тенденцією розвитку медицини на нинішньому етапі є інтерес до ролі ендогенних імуномодуляторів цитокінів. Визначення профілю цитокінового балансу слід розглядати як важливу характеристику стану імунної системи, оскільки майже всі імунологічні механізми реалізуються через рівень молекул-ефекторів — цитокінів. Порухення цитокінового балансу — один із доведених патогенетичних механізм формування цукрового діабету (ЦД) [4]. Механізм ушкодження В-клітин Т-лімфоцитами здійснюється через активацію секреції прозапальних інтерлейкінів, які синергічно реалізують апоптоз панкреоцитів [13].

Фактор некрозу пухлин α (ФНП- α) відіграє роль фінального летального ефектора. Але є інформація про різну роль цитокінів на різних стадіях прогресування аутоімунного діабету, а саме про можливість цитопротекторної дії ФНП- α за певних передумов [8]. ФНП- α — одна з найважливіших «смертельних молекул», але є клітини, нечутливі до апоптичних впливів ФНП- α . Чутливість клітин до апатичних ефекторів залежить від мікрооточення клітин, балансу численних біологічно активних речовин [5, 10].

Інтерлейкін-1 β (ІЛ-1 β) також належить до родини цитокінів, історично його стали досліджувати у клінічній практиці одним із перших. ІЛ-1 β характеризується широким спектром біологічної дії. Окрім функції модулятора апоптозу, ІЛ-1 β стимулює метаболізм сполучної тканини — проліферацію фібробластів, синтез колагену та колагенази, активує процеси перебудови сполучної тканини [1, 6]. ІЛ-1 β має певні властивості гормону, є активатором системи гіпоталамус — гіпофіз — наднирникові залози, він діє і на рівні гіпоталамуса, і на рівні гіпофіза. ІЛ-1 β має властивості міжсистемного інтегратора — забезпечує взаємодію між нервою, ендокринною та імунною системами [7].

Усі цитокіни мають доволі широкий спектр біологічної активності. Доведено, що ФНП- α — ключовий медіатор інсулінорезистентності при цукро-

вому діабеті (ЦД). ФНП- α модифікує дію інсуліну, блокує активоване інсуліном засвоєння глюкози [9, 14]. ФНП- α індукує розвиток резистентності клітин до дії інсуліну на транспорт глюкози [13], відіграє велику роль у розвитку інсулінорезистентності у щурів як при ожирінні, так і без нього [12].

Загальними властивостями ФНП- α та ІЛ-1 β є здатність викликати гіперкатаболічний та гіпердинамічні ефекти, спричинювати каскад гуморальних реакцій [3].

Діабетична гепатопатія і холецистопатія вирізняються мізерною клінічною симптоматикою, не супроводжуються порушенням біохімічних показників [2]. За таких обставин постає завдання забезпечити діагностику цих ускладнень за допомогою неінвазивних, доступних та високочутливих діагностичних тестів. Важливо мати відпрацьовані та стандартизовані методики визначення індикаторних речовин, що дає змогу результати досліджень впроваджувати у клінічну практику. Таким вимогам відповідають тест-системи для визначення цитокінів, зокрема ФНП- α та ІЛ-1 β .

Слід зазначити, що робіт, присвячених імунологічному та цитокіновому статусу хворих на ЦД та хронічний холецистит (ХХ) дуже мало, тому такі дослідження актуальні. На тлі масиву інформації щодо ролі цитокінів у формуванні ЦД не досліджено значення цього класу біорегуляторів у формуванні ускладнень ЦД в цілому та зокрема у розвитку діабетичних холецистопатій.

Мета роботи — удосконалення діагностики ХХ при ЦД шляхом визначення стану імунологічного та цитокінового статусу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У групу обстежених включали хворих на цукровий діабет у поєднанні з хронічним холециститом. Пацієнти перебували на лікуванні в ендокринологічному та гастроентерологічному відділеннях обласної клінічної лікарні Харкова. Загалом обстежено 152 хворих на ЦД. З них ЦД 1 типу (ЦД-1) —

72 випадки, ЦД 2 типу (ЦД-2) — 80. Для визначення впливу на параметри, що підлягали дослідженню та аналізу, власне запалення у жовчному міхурі (ЖМ), обстежено групу хворих на ХХ, які не мали супутнього ЦД — 40 осіб. До контрольної групи увійшли 40 здорових донорів.

Встановлювали та верифікували діагноз ХХ при ЦД та у пацієнтів без ЦД за єдиною схемою на підставі результатів комплексного клініко-лабораторного, біохімічного та інструментального дослідження відповідно до стандартів обстеження хворих на ХХ, визначених Дніпропетровським НДІ гастроентерології. Обстеження включали: оглядову та динамічну ехогепатохолецистографію; багатофазове дуоденальне зондування з клінічним та біохімічним дослідженням жовчі.

Стан клітинного імунітету із визначенням кількості Т- і В-лімфоцитів та субпопуляції Т-лімфоцитів досліджували за реакцією непрямой імунофлюоресценції з використанням моноклональних антитіл. Визначали абсолютний та процентний вміст таких субпопуляцій лімфоцитів: Т-лімфоцитів (CD3+); Т-хелперів (CD4+); Т-супресорів (CD8+); В-лімфоцитів (CD22+) та імунорегуляторний індекс CD4+/CD8+. Вміст ІЛ-1 β та ФНП- α у сироватці крові визначали за допомогою набору реагентів для наукових досліджень ТОВ «Протеїновий контур» (Санкт-Петербург) та імуноферментного аналізатора відкритого типу АІФ-Ц-01С.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Усі хворі на ЦД із ХХ були розділені на когорти залежно від варіанту порушення моторно-кінетичної функції ЖМ. Першу когорту (76 осіб) становили пацієнти з ЦД та ХХ та змішаною гіпертонічно-гіпокінетичною дискінезією ЖМ, з них 36 випадків — ЦД-1 (I група), 40 — ЦД-2 (II група). З гіпертонічно-гіпокінетичною дискінезією ЖМ було відібрано 20 хворих на ХХ без ЦД (III група). До другої когорти (76 осіб) увійшли хворі на ХХ із гіпотонічно-гіпокінетичного типу дискінезією ЖМ, з них 36 пацієнтів були з ЦД-1 (IV група) та 40 пацієнтів — з ЦД-2 (V група). З аналогічною гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією ЖМ відібрано 20 хворих на ХХ без ЦД, репрезентативних за віком та статтю групі хворих на ЦД із ХХ (VI група).

Рівень CD3+ був достовірно меншим за контрольні значення у пацієнтів I та II групи (табл. 1).

Достовірно була різниця показника між пацієнтами I та III, а також II та III групи. Загальний рівень недиференційованих лімфоцитів знижувався лише у хворих на ХХ та ЦД, незалежно від типу ЦД.

Відносний вміст CD4+ достовірно зменшувався також лише у пацієнтів I та II групи. Достовірно була різниця показника між хворими I та II, I та III, а також між хворими II та III групи.

У пацієнтів I та II групи достовірно зменшувався відносний вміст CD8+. Достовірно була різниця

Таблиця 1. Показники імунологічного та цитокинового статусу у хворих на ЦД та ХХ з гіпертонічно-гіпокінетичною дискінезією жовчного міхура ($M \pm m$)

Показник	Група			
	контрольна (n = 20)	I (n = 36)	II (n = 40)	III (n = 20)
CD3+, %	62,1 \pm 1,0	53,6 \pm 1,2 ^{К) I—III)}	54,18 \pm 0,19 ^{К) II—III)}	60,4 \pm 1,3
CD4+, %	34,12 \pm 0,41	28,4 \pm 0,4 ^{К) I—II) I—III)}	27,5 \pm 0,2 ^{К) II—III)}	34,8 \pm 0,3
CD8+, %	22,5 \pm 1,4	11,2 \pm 1,2 ^{К) I—III)}	11,0 \pm 0,9 ^{К) II—III)}	22,9 \pm 1,1
CD4+/CD8+	1,54 \pm 0,17	2,56 \pm 0,32 ^{К) I—III)}	2,46 \pm 0,25 ^{К) II—III)}	1,63 \pm 0,21
CD22+, %	8,6 \pm 0,7	7,34 \pm 0,9	8,11 \pm 0,5	9,1 \pm 0,9
ТНФ- α , пг/мл	22,3 \pm 3,4	218,1 \pm 2,1 ^{К) I—II) I—III)}	709,2 \pm 2,4 ^{К) II—III)}	63,4 \pm 4,1 ^{К)}
ІЛ-1 β , пг/мл	10,2 \pm 0,6	505,9 \pm 4,5 ^{К) I—II) I—III)}	488,6 \pm 3,2 ^{К) II—III)}	72,8 \pm 1,1 ^{К)}

Примітка: ^{К)} — достовірно при порівнянні ідентичних показників у хворих з контролем ($P < 0,05$); ^{I—II)} — достовірно при порівнянні ідентичних показників між I та II групами ($P < 0,05$); ^{I—III)} — достовірно при порівнянні ідентичних показників між I та III групами ($P < 0,05$); ^{II—III)} — достовірно при порівнянні ідентичних показників між II та III групами ($P < 0,05$).

Таблиця 2. Показники імунологічного та цитокинового статусу у хворих на ЦД та ХХ з гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією жовчного міхура ($M \pm m$)

Показник	Група			
	контрольна (n = 20)	IV (n = 36)	V (n = 40)	VI (n = 20)
CD3+, %	62,1 ± 1,0	50,7 ± 1,1 ^{к) IV-VI}	52,8 ± 0,8 ^{к) V-VI}	60,1 ± 0,9
CD4+, %	34,12 ± 0,41	26,92 ± 0,41 ^{к) IV-VI}	27,15 ± 0,28 ^{к) V-VI}	33,32 ± 0,37
CD8+, %	22,5 ± 1,4	11,25 ± 0,96 ^{к) IV-VI}	12,13 ± 0,76 ^{к) V-VI}	20,3 ± 1,2
CD4+/CD8+	1,54 ± 0,17	2,36 ± 0,2 ^{к) IV-VI}	2,25 ± 0,17 ^{к) V-VI}	1,65 ± 0,15
CD22+, %	8,6 ± 0,7	7,11 ± 0,85	8,23 ± 0,72	8,1 ± 0,52
ТНФ-α, пг/мл	22,3 ± 3,4	221,84 ± 2,7 ^{к) IV-VI}	730,5 ± 3,6 ^{к) V-VI}	72,8 ± 2,9 ^{к)}
ІЛ-1β, пг/мл	10,2 ± 0,6	511,5 ± 4,1 ^{к) IV-VI}	484,9 ± 1,7 ^{к) V-VI}	93,1 ± 3,2 ^{к)}

Примітка: ^{к)} — достовірно при порівнянні ідентичних показників у хворих із контрольною групою ($P < 0,05$); ^{IV-VI} — достовірно при порівнянні ідентичних показників у хворих IV та V групами ($P < 0,05$); ^{IV-VI} — достовірно при порівнянні ідентичних показників у хворих IV та VI групами ($P < 0,05$); ^{V-VI} — достовірно при порівнянні ідентичних показників у хворих V та VI групи ($P < 0,05$).

показника між хворими I та III, а також між хворими II та III групи.

Хелперно-супресорне співвідношення CD4+ / CD8+ достовірно відрізнялося від контрольних значень у хворих I та II груп. Достовірною була різниця показника між хворими I та III, а також між хворими II та III групи. Депресія кожної ланки імунокомпетентних клітин супроводжувалася змінною співвідношення між основними імунорегуляторними ланками.

Відносний вміст лімфоцитів CD22+ достовірно від контрольних значень не відрізнявся у пацієнтів I, II та III групи.

Рівень ФНП-α достовірно перевищував контрольні значення у пацієнтів I, II та III групи. Достовірною була різниця показника між пацієнтами I та II, I та III групи, а також між хворими II та III групи.

Рівень ІЛ-1β у пацієнтів I, II та III групи достовірно перевищував контрольні значення. Достовірною була різниця показника у хворих I та II, I та III, а також II та III групи.

Відносний вміст CD3+ був достовірно меншим за контрольні значення у пацієнтів IV та V групи (табл. 2). Достовірною була різниця показника між пацієнтами IV та VI, а також V та VI групи.

Відносний вміст CD4+ достовірно зменшувався також лише у пацієнтів IV та V групи. Достовірною була різниця показника між хворими IV та VI групи, а також між хворими V та VI групи.

У пацієнтів IV та V групи достовірно зменшувався відносний вміст CD8+. Достовірною була різ-

ниця показника між хворими IV та VI групи, а також між хворими V та VI групи.

Хелперно-супресорне співвідношення CD4+ / CD8+ було достовірно зменшене у хворих IV та V групи. Показник відрізнявся між хворими IV та VI, а також між хворими V та VI групи.

Відносний вміст лімфоцитів CD22+ достовірно від контрольних значень не відрізнявся у пацієнтів IV, V та VI групи.

Рівень ФНП-α достовірно перевищував контрольні значення у пацієнтів IV, V та VI групи. Достовірною була різниця показника між пацієнтами IV та V, IV та VI групи, а також між хворими V та VI групи.

Рівень ІЛ-1β у пацієнтів IV, V та VI групи достовірно перевищував контрольні значення. Достовірною була різниця показника у хворих IV та V, IV та VI групи, а також V та VI групи.

Загальний рівень недиференційованих лімфоцитів знижувався лише у хворих на ХХ та ЦД, незалежно від типу ЦД. ЦД та ХХ спричинили депресію лімфоїдної ланки імунної системи.

Поєднання ХХ та ЦД зумовили дефіцит лімфоцитів з хелперною активністю. У пацієнтів з ізолюваним ХХ такий феномен не виявлявся.

ЦД та ХХ супроводжувалися дефіцитом лімфоцитів із супресорною активністю та змінною хелперно-супресорного співвідношення. Вираженість змін залежала від типу ЦД. У хворих на ХХ без ЦД зміни супресорної активності не було.

ХХ супроводжувався підвищенням рівня прозапального цитокину ФНП-α. Але у хворих на ХХ та

ЦД цей показник був значно вищим. Максимально високий рівень ФНП- α спостерігався у хворих на ЦД-2.

Підвищення рівня ІЛ-1 β у хворих на ЦД та ХХ значно перевищувало активацію показника у хворих на ХХ без ЦД.

ВИСНОВКИ

ХХ супроводжувався підвищеним вмістом прозапальних цитокінів ФНП- α та ІЛ-1 β , що узгоджується з відомими властивостями цих цитокінів брати участь у реалізації процесів запалення та імунної реактивності.

Наявність ЦД у хворих на ХХ характеризується ще різкішою активацією прозапальних цитокінів. Причиною гіперактивації цитокінового каскаду в

разі поєднання ЦД та ХХ є феномен взаємного обтяження, оскільки цитокіни беруть участь як у формуванні запальної відповіді, так і в регуляції гомеостазу глюкози. Поєднання ХХ та ЦД зумовило достовірно більш виражене підвищення концентрації ФНП- α та ІЛ-1 β , ніж у хворих на ХХ без ЦД.

Рівень ФНП- α був максимальним у хворих на ЦД-2. Це, найімовірніше, пов'язано з феноменом інсулінорезистентності у цих хворих.

Таким чином, цитокіни ФНП- α та ІЛ-1 β є перспективними молекулами-індикаторами наявності у хворих на ЦД діабетичної холецистопатії та пов'язаного з нею хронічного холециститу. Дослідження вмісту ФНП- α та ІЛ-1 β у сироватці крові є доступними, неінвазивними, стандартизованими та високоінформативними для хворих на ЦД.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бубнова Л.Н., Глазнова Т.В., Зубарева Т.С. и др. Характеристика иммунокомпетентных клеток при некоторых органоспецифических аутоиммунных заболеваниях // Мед. иммунология.— 1999.— № 3—4.— С. 50—51.
2. Краснова А.С., Иванов А.В., Токсанбаева Г.Т. Поражение гепатобилиарной системы при различных вариантах сахарного диабета // Клини. мед.— 1999.— № 5.— С. 145—150.
3. Лейдерман И.Н. Синдром полиорганной недостаточности (ПОН). Метаболические основы // Вестн. интенсивной терапии.— 1999.— № 2.— С. 54—63.
4. Фрейдлин И.С., Кузнецова С.А. Иммунные комплексы и цитокины // Мед. радиология.— 1999.— № 1—2.— С. 27—36.
5. Chen G., Hohmer H.E., Gasa R. et al. Selection of insulinoma cell lines with resistance to interleukin-1 β and - γ -interferon-induced cytotoxicity // Diabetes.— 2000.— 49.— P. 562—570.
6. Giannoukakis N., Rudert W.A., Trucco M., Robbins P.D. Protection of human islets from the effects of interleukin-1 β by adenoviral gene transfer of an Ikappa B repressor // J. Biol. Chem.— 2000.— 275.— P. 36509—36513.
7. Halasz B. Complexity of the neuroendocrine system // Acad. Royal Med. Belg.— 1999.— 154.— N 10—12.— P. 349—355.

8. Heimberg H., Heremans Y., Jobin C. et al. Inhibition of cytokine-induced NF- κ B activation by adenovirus-mediated expression of NF- κ B super-repressor prevents p-cell apoptosis // Diabetes.— 2001.— 50.— P. 2219—2224.

9. Kubota N., Terauchi Y., Yamauchi T. et al. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation // J. Biol. Chem 2002.— 277.— P. 25863—25866.

10. Sekine N., Ishikawa T., Okazaki T. et al. Synergistic activation of NF- κ B and inducible isoform of nitric oxidase synthase induction by interferon- γ and tumor necrosis factor- α in INS-1 cells // J. Cell. Physiol.— 2000.— 184.— P. 46—57.

11. Suk K., Kim S., Kim Y.-H. et al. IFN- γ /TNF α synergism as the final effector in autoimmune diabetes: a key role for IRF-1 in pancreatic p-cell death // J. Immunol.— 2001.— 166.— P. 4481—4489.

12. Togashi N., Usa N., Higashiura K. Effect of TNF- α -converting enzyme inhibitor on insuling resistance in fructosefed rats // Hypertension.— 2002.— Vol. 39.— N 2.— P. 578—580.

13. Valverde A., Teruel T., Navazzo P. Tumor necrosis factor causes insulin receptor substrate-2-mediated insulin resistance and inhibits insulin-induced adipogenesis in fetal brown adipocytes // Endocrinology.— 1998.— 139.— N 3.— P. 1229—1238.

14. Yuan M., Konstantopoulos N., Lee J. et al. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of Ikk β // Science.— 2001.— 293.— P. 1673—1677.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ И ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ХОЛЕЦИСТИТОМ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Н.В. Григоренко

Изучены показатели иммунологического и цитокінового статуса у больных хроническим холециститом и сахарным диабетом. Полученные данные свидетельствуют об улучшении диагностики хронического холецистита с помощью провоспалительных цитокінов у больных сахарным диабетом.

IMMUNOLOGICAL AND CYTOKINE STATUS IN THE PATIENTS WITH CHRONIC CHOLECYSTITIS AND DIABETES MELLITUS

N.V. Grigorenko

The indices of immunological and cytokine status have been studied in the patients with chronic cholecystitis and diabetes mellitus. The data obtained show the improvement in diagnostics of chronic cholecystitis by means of anti-inflammatory cytokines in the patients with diabetes mellitus.