

# Роль цитокинов в развитии метаболических нарушений у больных с синдромом инсулинорезистентности

А.Г. Геннадиник, А.А. Нелаева

Эндокринологический диспансер (главный врач – проф., д.м.н. А.А. Нелаева), г. Тюмень  
ГОУ ВПО ТюмГМА Минздрава России (ректор – проф., д.м.н. Э.А. Кашуба)

**Н**еоспоримым фактом является взаимосвязь иммунной и эндокринной системы. Хорошо известно, что курательные болезни метаболизма вызывают обратимую иммунную дисфункцию [5].

Метаболические нарушения (дислипидемия, гипергликемия, гиперурикемия) вызывают окислительный стресс, гликирование белков, перекисное окисление липидов, активацию цитотоксических факторов, что влечет за собой функциональный парез иммунной системы и создает условия для персистенции патогена и хронического воспаления [1, 9]. Провоспалительные факторы могут играть немаловажную роль в патогенетических механизмах развития атеросклероза (посредством эндотелиальной дисфункции, образования из макрофагов пенистых клеток, митогенного воздействия цитокинов на сосудистую стенку) и сахарного диабета 2 типа (путем снижения биологического действия инсулина и нарушения осцилляций  $\beta$ -клеток).

С учетом имеющихся данных возникла необходимость изучения показателей иммунологического статуса, а именно уровня цитокинов, характеризующих неспецифическую резистентность, клеточную и гуморальную системы иммунитета, у больных с метаболическим синдромом (МС).

Понимание закономерностей и связи иммунологических и эндокринных нарушений при МС необходимо для выбора правильного лечебного подхода, так как снижение скорости апоптоза островковых клеток поджелудочной железы может замедлить или отсрочить прогрессирование недостаточности функции  $\beta$ -клеток и развитие манифестной стадии сахарного диабета.

## Цель и задачи исследования

1. Изучить особенности липидного, углеводного обмена у больных с МС.
2. Определить содержание цитокинов (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-4) и антител к кардиолипину (Ig KL) у больных с МС.
3. Проанализировать особенности влияния провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на характер течения МС.
4. Изучить характер влияния антител к кардиолипину на метаболические показатели у больных с инсулинорезистентностью.

## Материалы и методы исследования

В исследование были включены 45 человек с МС. Средний возраст обследованных  $60,9 \pm 3,7$  лет, из них 7 мужчин, 38 женщин. В качестве группы сравнения обследовались 30 здоровых человек без ожирения и отягощенной наследственности по диабету, из них 4 мужчин, 26 женщин; средний возраст –  $59,5 \pm 4,5$  лет.

Для оценки степени и характера ожирения определяли индекс массы тела (ИМТ) и индекс талия-бедро. Оценку артериальной гипертонии (АГ) осуществляли в соответствии с рекомендациями ВОЗ и Международного общества по изучению артериальной гипертонии (ВОЗ/МОАГ, 1999). Определение инсулинорезистентности проводилось с помощью математической модели взаимодействия базальных показателей глюкозы и инсулина плазмы (индекс Саго). (Критериями инсулинорезистентности по исследованию ЭНЦ РАМН, Москва 1999-2002: индекс Саго – менее 0,33; гиперинсулинемия более  $12,8$  мкЕд/мл) [3].

Критериями МС (согласно определению ВОЗ, 1998) считалось наличие любого из нарушений углеводного обмена наряду с двумя или более дополнительными критериями. В данном исследовании критериями включения являлись – инсулинорезистентность, абдоминальное ожирение,  $\text{ИМТ} > 30$  кг/м<sup>2</sup>, АГ.

В исследование не включались больные с геморрагическим васкулитом, получавшие лечение антикоагулянтами или фибринолитиками, с новообразованиями, сердечной, почечной или печеночной недостаточностью, принимающие ГКС или иммунодепрессанты, с обострением очагов хронической инфекции.

Содержание глюкозы в плазме крови определяли глюкозооксидазным методом на глюкометре «Эксан-ГЭ».

Определение уровня гликированного гемоглобина (HbA1c) проводилось методом аффинной хроматографии на анализаторе «КФК 2МП» (Россия).

## Специальные методы исследования

1. Содержание общего холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ) в сыворотке определяли с помощью ферментных наборов фирмы «Randox» на автоанализаторе «Centrifichem-600». ХС ЛПВП определяли после осаждения из сыворотки ЛПНП и ЛОНП фосфоровольфра-

матом магния, затем по формуле Friedwald вычисляли содержание ХС ЛПНП.

2. Иммунореактивный инсулин в плазме крови определялся методом «одношагового» сэндвичего иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов фирмы «DSL» на стандартном иммуноферментном анализаторе.

3. Для определения TNF- $\alpha$  в сыворотке крови использовался метод твердофазного иммуноферментного анализа с применением набора реактивов фирмы «Cytimmune».

4. Определение интерферона-гамма (IFN- $\gamma$ ) и интерлейкина-4 (IL-4) человека проводилось методом «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Набор реактивов фирмы «Biosource».

5. Для определения антител к кардиолипину классов Ig G, Ig M, Ig A использовался иммуноферментный набор фирмы «Orgentec» с применением непрямого твердофазного иммуноферментного анализа и сорбции антител насыщением ячеек высокоочищенным человеческим  $\beta$ 2-гликопротеином I.

Анализ данных проводился с помощью статистического пакета STATISTICA (версия 6). Данные представлены в виде средних арифметических значений и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента. Для исследования зависимостей между переменными использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для всех проведенных анализов различия считались достоверными при двустороннем уровне значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

ИМТ у больных с МС ( $36,6 \pm 0,8$  кг/м<sup>2</sup>) соответствовал II степени ожирения и достоверно отличался от группы контроля ( $p < 0,0001$ ). Средние значения окружности талии ( $107 \pm 1,6$  см) и индекса талия/бедро ( $0,92 \pm 0,01$ ) подтверждают абдоминальный тип ожирения ( $p < 0,0001$ ). Средние показатели систолического ( $145,73 \pm 2,9$  мм. рт. ст.) и диастолического ( $90,00 \pm 1,59$  мм. рт. ст.) артериального давления в группе обследованных с МС соответствовали критериям артериальной гипертензии ( $p < 0,0001$ ).

При анализе метаболических показателей установлено, что в обследуемой группе показатель HbA1c достоверно выше, чем в группе контроля, несмотря на то, что уровень гликемии достоверно не отличался от группы здоровых обследованных. Уровень инсулина у больных с МС превышал аналогичный показатель в группе контроля. В группе пациентов с МС установлено достоверное снижение индекса Саго, что свидетельствует об инсулинорезистентности (табл. 1).

При изучении иммунологических показателей в группе больных с МС установлено, что IFN- $\gamma$  достоверно не отличался от нормальных значений, хотя имел тенденцию к повышению, что может свидетельствовать об адекватной функциональной активности Т-клеточной системы иммунитета у пациентов с МС. В то же время у больных МС зарегистрировано увеличение уровня TNF- $\alpha$  более, чем в два раза по сравнению с верхней границей нормы. Высокий уровень TNF- $\alpha$  может объясняться гормональной активностью жировой ткани, а также метаболическими нарушениями, вызы-

Таблица 1

Сравнительная характеристика метаболических показателей в обследованных группах

Показатели	Контроль (n=30)	МС (n=45)	P
Глюкоза, моль/л	4,10 $\pm$ 0,17	3,9 $\pm$ 0,1	$p > 0,05$
HbA1c, %	4,70 $\pm$ 0,18	5,7 $\pm$ 0,11	$p < 0,0001$
Инсулин, мкЕд/мл	9,10 $\pm$ 1,1	19,6 $\pm$ 2,2	$p < 0,001$
Индекс Саго	0,55 $\pm$ 0,03	0,33 $\pm$ 0,04	$p < 0,001$
ХС, моль/л	5,2 $\pm$ 0,35	5,1 $\pm$ 0,2	$p > 0,05$
ТГ, моль/л	1,2 $\pm$ 0,07	1,2 $\pm$ 0,2	$p > 0,05$
ХС ЛПНП, моль/л	2,4 $\pm$ 0,15	2,44 $\pm$ 0,15	$p > 0,05$
ХС ЛПВП, моль/л	1,6 $\pm$ 0,02	1,5 $\pm$ 0,07	$p > 0,05$

вающими оксидативный стресс и экспрессию провоспалительных цитокинов. IL-4, обладающий некоторыми противовоспалительными эффектами и представляющий гуморальный иммунитет, у больных с МС статистически значимо снижен.

Таким образом, относительная недостаточность специфического В-лимфоцитарного звена иммунитета может создавать предпосылки для гиперактивации неспецифического иммунного ответа и существования длительного воспалительного процесса, предиктором которого служит TNF- $\alpha$ .

Изучение уровня антител к кардиолипину выявило отсутствие различий между исследуемыми группами по данному показателю (табл. 2).

Одним из важнейших механизмов нарушения функций системы иммунитета является патология клеточных мембран иммунокомпетентных клеток в результате нарушения углеводного и липидного обмена, что приводит к метаболической иммунодепрессии. Патогенетическим фактором метаболических нарушений у больных с МС является инсулинорезистентность и гиперинсулинемия. Данные о взаимовлиянии метаболических нарушений и иммунной дисфункции [4, 8] дают возможность предположить существование особого синдрома – аутометаболического варианта аутоиммунной патологии. Предполагается, что метаболические нарушения могут приводить к накоплению аутоантигенов и нарушению в Т-клеточной системе иммунитета, от функции которой зависит ингибирование аутоиммунных процессов [1].

Вопросы, возникшие в данной предметной области побудили косвенно оценить функциональное состояние звеньев иммунной системы на основании исследования уровня цитокинов. В результате настоящего исследования у больных с МС выявлено, во-первых, отсутствие снижения Т-клеточных механизмов иммунитета, во-вторых, усиление неспецифического иммунного ответа, что, возможно, объясняется повышенными требованиями к

Таблица 2

Сравнительная характеристика иммунологических показателей в обследованных группах

Показатели	Контроль (n=30)	МС (n=45)	P
TNF- $\alpha$ , пг/мл	10 $\pm$ 2,3	136,55 $\pm$ 35,6	$p < 0,01$
IL-4, пг/мл	7,4 $\pm$ 1,07	4,3 $\pm$ 0,15	$p < 0,01$
IFN-g, пг/мл	31,4 $\pm$ 6,4	37,2 $\pm$ 8,4	$p > 0,05$
Ig к кардиолипину, МЕ/мл	3,5 $\pm$ 0,89	5,6 $\pm$ 1,4	$p > 0,05$

макрофагам в результате повреждающего действия клеток продуктами нарушенного метаболизма.

Следовательно, можно предположить, что в группе больных с МС отсутствуют факторы, определяющие развитие аутометаболического варианта аутоиммунной патологии. Альтерация собственных тканей активными формами кислорода в результате воздействия конечных продуктов гликирования и провоспалительных цитокинов на ретикуло-эндотелиальную систему не достаточный фактор для иницирования аутоиммунных процессов. Для запуска аутоиммунного процесса необходимы своевременные костимуляторы взаимодействия «CD40-CD40L» и «B7-CD28», чему способствуют инфекционные патогены [4, 5].

Отсутствие достоверного увеличения антител к KL также косвенно подтверждает вывод об отсутствии достаточных условий для возникновения аутоиммунной патологии в группе больных МС. Известно, что антитела к KL образуются при системных аутоиммунных заболеваниях (вторичный антифосфолипидный синдром) или аутоиммунных процессах, индуцированных инфекционными факторами (первичный антифосфолипидный синдром) [2]. Предположительно у больных с МС и вторичным иммунодефицитом можно ожидать увеличения титра антител к KL, что будет свидетельствовать об индукции аутоиммунных реакций патологически измененными аутоантигенами.

Следующим этапом работы было изучение корреляций между параметрами углеводного, липидного обмена и иммунологическими показателями (табл. 3).

Существуют данные, что ЛПНП могут способствовать снижению функции моноцитарно-макрофагальной и Т-клеточной системы иммунитета, тогда как ЛПВП обладают противоположным эффектом [1]. Это подтверждается выявленной в группе пациентов с МС обратной корреляцией IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  с ЛПНП и прямой зависимостью между TNF- $\alpha$  и ЛПВП.

Положительная сильная корреляция обнаружена между TNF- $\alpha$  и уровнем IFN- $\gamma$ . TNF- $\alpha$  является маркером активации макрофагов, принимающих участие в дифференцировке наивных лимфоцитов в Th1, в связи с чем уровень IFN- $\gamma$  повышается при условии более высокой концентрации антигена на поверхности антигенпредставляющих клеток (например, при внутриклеточных инфекциях). Данная зависимость в изучаемой группе больных в полной мере не проявлена, по-видимому, из-за отсутствия стимулирующего воздействия на иммунокомпетентные клетки инфекционных возбудителей (что более характерно для иммунокомпроментированных больных), хотя все-таки наблюдалась тенденция к увеличению уровня IFN- $\gamma$ .

В данной группе также обнаружена корреляция между TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , уровнем антител к KL и чувствительностью рецепторов к инсулину, показателем которой является индекс Caro. Не исключается, что уже на стадии МС эн-

Таблица 3

Двусторонняя корреляция иммунологических и метаболических показателей у больных с МС (n=45)

Корреляционные параметры		Коэффициент корреляции, $p < 0,05$
ХС ЛПНП, ммоль/л	IFN- $\gamma$ , пг/мл	-0,73
	TNF- $\alpha$ , пг/мл	-0,79
ХС ЛПВП, ммоль/л	TNF- $\alpha$ , пг/мл	0,53
	IFN- $\gamma$ , пг/мл	0,86
Caro	TNF- $\alpha$ , пг/мл	0,48
	IFN- $\gamma$ , пг/мл	0,77
	Ig к KL, МЕ/мл	0,56

дотелиальная дисфункция, нарушение микроциркуляции, иммунные реакции, вызванные провоспалительными цитокинами, способствуют латентному снижению секреторной функции  $\beta$ -клеток. При этом в соответствии с принципом компенсаторной регуляции экспрессия «запасных» рецепторов к инсулину повышается, что позволяет организму длительно сохранять углеводный гомеостаз.

TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , вызывая повреждения клеточных мембран, возможно, инициируют выработку короткоживущих специфических антител [6, 7]. Имеются мнения, что аутоантитела выполняют «санитарную» роль и служат транспортными белками для «отживших» макромолекул из разрушенных клеточных структур. Длительный метаболический стресс, наблюдающийся у больных диабетом, гипотетически может вызвать задержку антител и стать причиной развития аутоиммунной патологии. Однако в группе больных с МС образование антител к эндогенным антигенам связано с нарушением эндотелиального гемостаза и является частным механизмом иммунорегуляции, осуществляющим элиминацию нежизнеспособных клеток. Тенденция к увеличению антикардиолипидных антител у больных с МС свидетельствует о возрастании цитотоксических воздействий иммунных и метаболических факторов на клеточные мембраны, в результате деструкции которых образуются антитела, реагирующие с фосфолипидами собственных мембран. Наблюдаемая корреляция между уровнем антител к KL и индексом Caro косвенно указывает на потенциальный риск повреждения эндокринной функции  $\beta$ -клеток при увеличении провоспалительных иммунных медиаторов.

### Выводы

1. Уровень TNF- $\alpha$  сочетается с низкой чувствительностью к инсулину в группе пациентов с МС.
2. У больных с МС преобладают провоспалительные факторы неспецифической системы иммунитета.
3. Провоспалительные цитокины могут снижать функциональную активность инсулярного аппарата, что косвенно подтверждается корреляцией TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  с индексом Caro.

### Литература

1. Дильман В.М. Четыре модели медицины. – Москва, 1987. – 286с.
2. Насонов Е.Л. Антифосфолипидный синдром: диагностика, клиника, лечение. //РМЖ. – 1998. - Т.6. - № 18. – С.4.
3. Ожирение. / Под редакцией И.И.Дедова, Г.А. Мельниченко. - М. Медицинское информационное агенство, 2004. – 456 с.
4. Ройт А., Бростовф Д., Мейл Д. Иммунология. - М., 2000. – 592 с.
5. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. – Москва, 2000. – 432 с.
6. Ширинский В.С. Вторичные иммунодефициты – проблемы диагностики и лечения. – Новосибирск, 1997. – 111 с.
7. Ярилин А.А. Основы иммунологии. – Москва, 1999. – 608 с.
8. Finegood D.T. Obesity, inflammation and type II diabetes. //Int. J. Obesity. – 2003. – Vol. 27. – P.4-5.
9. Vgontzas A.N., Bixler E.O. Papanicolaou D.A., et al. Chronic systemic inflammation in overweight and obese adults.// JAMA. – 2000. – P. 283:2235.
10. Unger R.H. Lipotoxic Diseases.//Annu Rev Med. – 2002. – V. 53. – P. 319-336.