

# Состояние иммунной системы у больных сахарным диабетом 2 типа

Белякова Н.А., Руденко Е.В., Михайлова Д.Г., Егорова Е.Н., Некрасова Е.Г., Гогина Е.Д.

ГОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия, Тверь  
(ректор — д.м.н., проф. М.Н. Калинин)

**Цель.** Выяснить особенности ауторозеткообразования (АРО) и иммунологического статуса, а также выявить факторы, ассоциированные с ними у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2).

**Материалы и методы.** Обследовано 148 больных СД2 и 63 практически здоровых человека. У всех определялись количество ауторозеток в периферической крови по стандартной методике, уровень С-реактивного белка, а также оценивалось состояние гуморального иммунитета по содержанию иммуноглобулинов в крови, проводились спонтанный и индуцированный НСТ-тесты.

**Результаты.** Установлено, что у пациентов с нарушением углеводного обмена в периферической крови регистрируется максимальное число ауторозеток, дисиммуноглобулинемия, повышение уровня острофазового белка и снижение функциональной активности нейтрофилов. Процесс АРО у больных СД2 усиливается при большей длительности заболевания, при повышении АД.

**Заключение.** С увеличением длительности СД2, при его тяжелом течении, наличии АГ, микро- и макроангиопатиях, а также при выраженных гипергликемии и триглицеридемии усугубляются сдвиги в иммунологическом статусе.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, иммунный статус, эндогенное ауторозеткообразование

## Immunological status in patients with type 2 diabetes mellitus

Belyakova N.A., Rudenko E.V., Mikhailova D.G., Egorova E.N., Nekrasova E.G., Gogina E.D.  
Tver State Medical Academy, Tver

**Aim.** To elucidate peculiarities of autorosette formation (ARF), immunological status and associated factors in patients with type 2 diabetes mellitus.

**Materials and methods.** The study included 148 patients with DM2 and 63 practically healthy subjects. The following parameters were measured: the number of autorosettes in peripheral blood, C-reactive protein level, and humoral immunity (from blood immunoglobulin levels); spontaneous and induced TNB tests were performed.

**Results.** Patients with DM2 suffered disturbances of carbohydrate metabolism and had an elevated number of autorosettes in peripheral blood, dysimmunoglobulinemia, increased level of acute phase protein, impaired functional activity of neutrophils.

**Conclusion.** Intensity of ARF increases with duration of DM2 and a rise in AP. Patients with long-standing severe DM2, AH, micro- and macroalbuminuria, hyperglycemia, and triglyceridemia experience deterioration of immunological status.

**Key words:** type 2 diabetes mellitus, immune status, endogenous autorosette formation

В настоящее время все большее внимание уделяется изучению состояния иммунной системы не только у пациентов с сахарным диабетом 1 типа (СД1), но и 2 типа (СД2). Так, с активизацией иммунных факторов, в частности, системы комплемента, повышением концентрации цитокинов в крови многие исследователи связывают инсулинорезистентность при СД2, а также появление и утяжеление осложнений [1, 2, 3]. Можно полагать, что существуют и другие подтверждения участия иммунологических сдвигов в прогрессировании СД2. В этом отношении представляет интерес феномен эндогенного ауторозеткообразования (АРО) в периферической крови, описанный Д.И. Бельченко в 1990 г. [4]. Данный процесс является малоизученным у больных СД2.

## Цель

Выяснить особенности АРО и иммунологического статуса, а также выявить факторы, ассоциированные с ними у больных СД2.

## Материалы и методы

Обследовано 148 больных СД2, находившихся на лечении в эндокринологическом отделении ГУЗ «Тверская областная клиническая больница» (мужчин 56 и женщин 92; средний возраст  $55,0 \pm 0,75$  лет). У 77,5% обследованных диагностировался СД2 среднетяжелого течения, и у 84,5% пациентов по данным анамнеза имелась артериальная гипертензия (АГ). Средняя длительность СД2 составила  $10,8 \pm 0,77$  лет. У большинства

пациентов отмечались поздние осложнения СД: у 100% была полинейропатия, у 74,5% обследованных диагностировались микроангиопатии (начальные проявления) и у 21,5% — макроангиопатии. У 74,5% больных СД был декомпенсирован (средний уровень гликемии натощак  $8,4 \pm 0,31$  ммоль/л;  $HbA_{1c}$  —  $10,8 \pm 0,40\%$ ). Все пациенты имели нормальную температуру тела, были обследованы оториноларингологом, стоматологом, дерматологом для исключения очагов хронической инфекции и острых микробно-воспалительных заболеваний.

Процесс внутрисосудистого АРО изучали по стандартной методике. У обследованных брали капиллярную кровь, каплю наносили на предметное стекло и делали мазок. Фиксация мазков крови проводилась в смеси Никифорова, окраска — по методу Романовского-Гимзы, после чего их хорошо промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе. Подсчет ауторозеток (АР) производили в окрашенных мазках методом иммерсионной микроскопии в абсолютном количестве (109/л) и в процентах на 100 лейкоцитов. За АР принимали клеточную ассоциацию, образованную нейтрофилом или моноцитом с плотно прилегающими к их поверхности тремя и более эритроцитами.

Состояние гуморального иммунитета оценивали по уровню иммуноглобулинов (Ig A, G, M) в сыворотке крови, определяемых турбодиметрическим анализом. Нормальные значения составили: для Ig A — 0,9–2,5 г/л; Ig G — 8,0–18,0 г/л; Ig M — 0,6–2,8 г/л. Врожденное звено гуморального иммунитета, а также активность воспалительного процесса определяли по С-реактивному белку (СРБ) в сыворотке крови. Для этого использовался принцип двухсайтового иммуноферментного анализа. За норму принимали значения СРБ от 0 до 5 мг/л.

Таблица 1

Количество АР, регистрируемых в периферической крови пациентов в зависимости от уровня систолического артериального давления (М±m)					
Количество АР в периферической крови (%)	Уровень САД, мм. рт. ст.			p	p <sub>1</sub>
	120–139; n=22	140–159; n=40	160–179; n=11		
Без лизиса	29,6±1,35	30,5±1,59	40,6±2,83	>0,05; <0,01	<0,01
С лизисом	5,1±0,34	4,0±0,46	6,5±0,96	<0,05; >0,05	<0,05

Примечание: p – статистическая значимость различий 1-й группы со 2-й и 3-й группами; p<sub>1</sub> – статистическая значимость различий между 2-й и 3-й группами; n – количество обследованных в группе.

Клеточное звено врожденного иммунитета или активность кислородзависимой микробицидности нейтрофилов оценивали по тесту восстановления нитро-синего тетразолия (НСТ-тест). Спонтанный НСТ-тест характеризовал исходное состояние данного показателя, а индуцированный – потенциальную способность нейтрофилов активизировать свою киллерную функцию в ответ на микробный стимул. Нормальными значениями считали: для спонтанного НСТ-теста – % НСТ позитивных клеток – 10–15%, индекс активации нейтрофилов (ИАН) – 0,1–0,15 усл. ед.; для индуцированного НСТ-теста соответственно 40–80% и 0,5–1,5 усл. ед.

Контрольную группу для изучения АРО составили 63 практически здоровых человека (49 мужчин и 14 женщин; средний возраст 47,3±2,31 год).

Статистическая обработка и анализ материалов исследования осуществлялись с использованием статистических пакетов программы Statistica 6.0, 2003. В зависимости от нормальности распределения полученных результатов использовались методы параметрической (критерий Стьюдента) и непараметрической (критерий Манна-Уитни) статистики. Наличие взаимосвязи и ее направленность устанавливали, проводя корреляционный анализ с применением критерия Спирмена (r).

Информированное согласие пациентов на обследование имеется. Исследование проводилось на базе эндокринологического отделения ГУЗ «Тверская областная клиническая больница». При госпитализации с пациентами заключался письменный договор об их согласии на все необходимые обследования и лечение, которые проводятся в стационаре. Данный договор вклеивается в историю болезни. Дополнительные исследования проводились только с согласия пациентов.

## Результаты и их обсуждение

При исследовании внутрисосудистого АРО у больных СД2 среднее количество, розеток регистрирующихся в периферической крови, составило 31,5±1,08% при 0,75±0,11% у здоровых лиц (p<0,001). У всех обследованных преобладали АР, образованные нейтрофилами (22,1±0,79% у больных и 0,61±0,01% у здоровых) и моноцитами (6,8±0,35% и 0,14±0,03% соответственно). Однако у больных СД2, в отличие от здоровых лиц, встречались также эозинофильные (0,6±0,11%), базофильные (1,4±0,18%) и тромбоцитарные (0,6±0,07%) АР.

Активация внутрисосудистого АРО у больных СД2, очевидно, связана с изменениями мембран клеток крови [4, 5], повышающими уровень их адгезии, что не может быть безразлично для осуществления их биологических функций, в том числе и иммунной в отношении нейтрофилов и моноцитов.

При оценке факторов, определяющих интенсивность процесса АРО, было отмечено, что с увеличением длительности СД2 в периферической крови обследованных регистрировалось нарастание числа АР (с 22,3±0,66% при длительности СД2 менее 5 лет до 39,7±1,06% при длительности более 10 лет; p<0,001; r=0,9; p<0,001).

Таблица 2

Количество АР, регистрируемых в периферической крови пациентов в зависимости от уровня диастолического артериального давления (М±m)			
Количество АР в периферической крови (%)	Уровень ДАД, мм рт. ст.		p
	70–89; n=12	90–109; n=58	
Без лизиса	28,1±0,83	34,7±1,42	p<0,001
С лизисом	4,5±0,28	6,8±0,75	p<0,001

Примечание: p – статистическая значимость различий между 1-й и 2-й группами; n – количество обследованных в группе.

Выявлена также взаимосвязь между АРО и наличием и уровнем артериального давления (АД) у больных СД2. Так, в таблицах 1 и 2 представлено количество АР, регистрируемых в периферической крови пациентов СД2 в зависимости от наличия и уровня систолического и диастолического АД.

Из данных, приведенных в таблицах, можно видеть, что при повышении уровня систолического АД по сравнению с нормой количество розеток у больных возрастало на 37% (p<0,01; r=0,32; p<0,05), а при повышении диастолического АД – на 23% (p<0,001; r=0,93; p<0,05).

В результате проведенного исследования не было установлено взаимосвязи между АРО и тяжестью СД и метаболическими нарушениями. Так, при гликемии натощак <6,5 ммоль/л количество АР составило 32,4±1,93% и при гликемии >6,5 ммоль/л – 30,8±1,17%. Не оказывало влияние на процесс АРО и лечение (количество АР 32,8±1,39% при инсулинотерапии и 28,3±1,16% при приеме сахароснижающих таблетированных препаратов), а также наличие поздних осложнений.

У половины обследованных (55%) значения иммуноглобулинов в крови превышали норму. При этом в 37,5% случаев были повышены одновременно несколько классов иммуноглобулинов, в основном сочетание Ig A и G, в 31,2% наблюдалось повышение Ig G, в 18,8% – Ig A и в 12,5% случаев – Ig M. У большинства больных (90%) СД2 был повышен уровень СРБ (18,5 [10,8;33,1] мг/л). Более чем у половины обследованных (70%) был изменен спонтанный НСТ-тест (в 34% случаев повышен и в 36% – снижен), в то время как индуцированный НСТ-тест у большинства больных (86%) был в норме.

Изучение взаимосвязи показателей гуморального иммунитета с различными клинико-лабораторными проявлениями диабета показало, что наиболее выраженная ассоциация уровня иммуноглобулинов была отмечена с поздними осложнениями СД2 и метаболическими нарушениями. При наличии микроангиопатий у больных снижался уровень Ig A (2,4±0,17 г/л против 3,6±0,36 г/л при отсутствии микроангиопатий; p<0,01) и Ig G (17,6±0,61 г/л и 19,8±0,87 г/л соответственно; p<0,05). Чем выше у пациентов был уровень гликемии натощак, тем ниже были значения Ig A (3,6±0,37 г/л при гликемии <6,5 ммоль/л и 2,5±0,17 г/л при гликемии >6,5 ммоль/л; p<0,01).

Уровень СРБ в крови у больных СД2 изменялся в зависимости от различных факторов. Наибольшие значения СРБ были получены у больных при длительности СД более 5 лет (22,7 [12,5;36,3] мг/л против 11,2 [8,3;14,1] мг/л при длительности СД менее 5 лет; p<0,05); наличии АГ 2 и 3 степени (20,3 [11,2;36,3] мг/л против 10,6 [5,3;18,5] мг/л при АГ 0–1 степени; p<0,05); у пациентов с макроангиопатиями (25,7 [18,1;33,1] мг/л против 12,6 [8,2;23,2] мг/л при отсутствии макроангиопатий; p<0,05), а также при гипертриглицеридемии (25,8 [15,8;36,3] мг/л против 14,3 [8,8;22,3] мг/л при триглицеридемии <2,2 ммоль/л; p<0,05).

Выявлена взаимосвязь между различными клиническими и лабораторными проявлениями СД и показателями НСТ-теста. Так, вопреки ожидаемому повышению спонтанного НСТ-теста, на основании повышенных значений СРБ более поздних стадиях СД2 в сочетании с АГ 2–3 степени, были полу-

чены следующие результаты. Наиболее низкие значения спонтанного НСТ-теста были отмечены у пациентов с тяжелым СД (10,5% [5;14] против 14,5% [9;5;30] у больных СД средней тяжести;  $p < 0,05$ ) и при гликемии  $> 6,5$  ммоль/л (10% [6;16] против 14% [13;25] при гликемии  $< 6,5$  ммоль/л;  $p < 0,05$ ). Качественный анализ также подтвердил, что при декомпенсированном СД низкий спонтанный НСТ-тест диагностировался в 46,3% случаев, против 9,1% при гликемии натощак  $< 6,5$  ммоль/л ( $p < 0,05$ ;  $r = 0,31$ ;  $p < 0,05$ ). На функциональную активность нейтрофилов оказывали влияние и поздние осложнения СД. При наличии микроангиопатий низкий спонтанный НСТ-тест наблюдался в 46,2% случаев, в то время как при их отсутствии – в 15,4% ( $p < 0,05$ ;  $r = 0,27$ ;  $p < 0,05$ ).

Таким образом, результаты исследования показали, что у больных СД2 имеются усиление внутрисосудистого АРО, отклонения в иммунологических показателях, которые проявляются дисиммуноглобулинемией и снижением спонтанного НСТ-теста, а также повышение острофазового белка (СРБ). Полученные данные, по-видимому, можно объяснить выраженной аутоинтоксикацией, активацией воспалительного процесса, а также изменениями иммунореактивности у данной категории больных. Снижение функциональной активности нейтрофилов у больных СД2 может свидетельствовать о неадекватности реагирования клеточных факторов врожденного иммунитета при декомпенсированном и тяжелом течении СД2. Выявленная ассоциация между иммунологическими сдвигами и клинико-метаболическими нарушениями у больных СД2 по сравнению со здоровыми лицами, а также среди больных

с различной степенью тяжести заболевания может указывать на участие иммунных механизмов в прогрессировании заболевания, что согласуется с данными литературы [6, 7]. Однако вопрос о том, что первично, а что вторично, так же как и конкретные механизмы, участвующие в описанных процессах, остаются до конца не ясными и требуют более детального изучения. Несмотря на это, полученные данные следует учитывать при ранней диагностике и профилактике поздних осложнений, а также в оценке прогноза заболевания.

## Выводы

1. У здоровых лиц в периферической крови регистрируется минимальное число АР, а у больных СД2 с АГ отмечается интенсивный процесс АРО (в основном за счет нейтрофилов и моноцитов), который усиливается при большей длительности СД, а также при повышении как систолического, так и диастолического АД.
2. В большинстве случаев у больных СД2 отмечается дисиммуноглобулинемия, нарушение функциональной активности нейтрофилов (снижение), также повышение СРБ, что рекомендуется использовать для оценки тяжести СД и прогноза прогрессирования осложнений.
3. Указанные выше изменения иммунологических показателей и острофазового белка усугубляются при большей длительности заболевания, при наличии АГ, тяжелом течении СД, микро- и макроангиопатиях, а также при выраженных гипергликемии и гипертриглицеридемии.

## Литература

1. Зак К.П., Кондрацкая И.Н., Мельниченко С.В., Попова В.В. Уровень циркулирующего ИЛ-16 в крови больных метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа // *Врачеб. дело.* – 2007. – № 5–6. – С. 46–49.
2. Шагун О.В. Клинические и иммунологические аспекты диабетической нефропатии у больных сахарным диабетом 2 типа: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.05., 14.00.03 / Шагун Ольга Владимировна; [Иркутский гос. мед. университет]. – Иркутск, 2007. – 20 с. – Библиограф.: С. С. 18–20.
3. Herder C., Baumert J., Thorand B. Elevated systemic chemokine concentrations precede the incidence of coronary heart disease and type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg study, 1984–2002 // *Diabetologia.* – 2006. – 49 (Suppl.). – P. 695.
4. Бельченко, Д.И. Эндогенное внутрисосудистое ауторозеткообразование // *Иммунология.* – 1992. – № 2. – С. 61.
5. Бельченко, Д.И. Исследование ауторозеткообразования в периферической крови // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 1993. – № 3. – С. 58–62.
6. Daoud A.K., Tayyar M.A., Fouda I.M., Harfeil N.A. Effects of diabetes mellitus vs. in vitro hyperglycemia on select immune cell functions // *J. Immunotoxicol.* – 2009. – № 6(1). – P. 36–41.
7. Olefsky J.M., Glass C.K. Macrophages, inflammation and insulin resistance // *Ann. Rev. Physiol.* – 2010. – № 72. – P. 219–46.

<b>Белякова Наталья Александровна</b>	д.м.н., профессор, зав. кафедрой эндокринологии, ГОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия, Тверь <b>E-mail: tverendo@mail.ru</b>
Руденко Евгения Владимировна	к.м.н., ассистент кафедры эндокринологии, ГОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия, Тверь
Михайлова Дарья Геннадьевна	врач-интерн кафедры эндокринологии, ГОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия, Тверь
Егорова Елена Николаевна	доцент кафедры микробиологии, ГОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия, Тверь
Некрасова Елизавета Георгиевна	ассистент кафедры кожных и венерических болезней, ГОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия, Тверь
Гогина Елена Дмитриевна	аспирант кафедры фармакологии, ГОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия, Тверь