

О значении интерферона в патогенезе поздних осложнений сахарного диабета

Л.Д.Сидорова, И.А.Бондарь, А.Н.Евстропов, В.Е.Яворовская, А.А.Колокольников

*Кафедра внутренних болезней (зав. - акад. РАМН Л.Д. Сидорова)
лечебного факультета Новосибирской медицинской академии*

Известно, что к цитокинам относятся интерфероны (ИФН) - группа биологически активных белков или гликопротеидов, синтезируемых клетками в процессе защитной реакции на чужеродную информацию: вирусную инфекцию, антигенное или митогенное воздействие. Известно около 20 ИФН, различающихся по структуре и биологическим свойствам и составляющих 3 вида (α , β , γ), объединенные в 2 типа (I - α и β , II - γ) [4]. Способность ИФН вмешиваться в регуляцию синтеза нуклеиновых кислот и белков клеток обуславливает их противовирусный, антимикробный, антипролиферативный, противоопухолевый и иммуномодулирующий эффекты [3].

В норме все три типа ИФН синтезируются в определенной пропорциональной зависимости, и титры циркулирующего ИФН (смесь α , β , γ) не превышают фоновых значений (< 4 ед./мл) [12]. Однако при некоторых аутоиммунных заболеваниях (ревматоидный артрит, СПИД, СКВ) высокий уровень ИФН в сыворотке и наличие патологических ИФН рассматриваются как факторы иммуноагрессии, ответственные за прогрессирование болезней.

Большой интерес представляют исследования о роли ИФН в патогенезе СД и его осложнений. Так, ИФН- γ является универсальным индуктором экспрессии генов HLA II класса *in vitro* на β -клетках поджелудочной железы, приводящим к индукции каскада аутоиммунных реакций [10, 25, 27]. При aberrантной экспрессии генов HLA II класса на β -клетках последние приобретают свойства классических антиген-представляющих клеток, что в конечном итоге приводит к их иммунодеструкции [6].

Существует и другая гипотеза возникновения СД через активацию процессов ПОЛ и индукцию синтеза оксида азота, инициатором этих процессов являются ИФН- γ , ИФН- α , ИЛ- β , ФНО [12, 17]. Свободные радикалы и, главным образом, оксид азота вызывают дисфункцию и деструкцию островковых клеток и развитие СД [18, 22].

Помимо данных, указывающих на роль ИФН- γ в патогенезе ИЗСД, существуют доказательства участия и ИФН- α в возникновении заболевания [10, 11, 15, 17, 22]. В эксперименте показано, что экспрессия ИФН- α на β -клетках поджелудочной железы

вызывает их повреждение, а введение антител к ИФН- α способно предотвращать развитие СД [24]. Персистирующая вирусная инфекция может быть ответственной за синтез ИФН- α , который обнаруживается в большинстве островков Лангерганса у больных ИЗСД, в последующем в аутоиммунный процесс вовлекаются другие клетки. Даже малые дозы индуктора ИФН- α (полудана) вызывают повышение в сыворотке крови уровня ИФН- α и ускоряют развитие СД [23].

Культивирование островковых клеток поджелудочной железы человека в присутствии человеческого лейкоцитарного ИФН приводило к существенному снижению стимулированного глюкозой синтеза проинсулина по сравнению с контролем. Снижение синтеза проинсулина наблюдается также при инфицировании культивируемых β -клеток β -цитотропными вирусами и обусловлено локально высокими концентрациями ИФН- α [21].

Подтверждением участия ИФН- α в патогенезе СД является ряд клинических наблюдений, когда терапия человеческим рекомбинантным ИФН- α больных хроническим гепатитом, лейкоемией приводила к развитию ИЗСД [13-16, 19, 26]. Человеческий рекомбинантный ИФН- α влияет на обмен липидов при СД, этот эффект обусловлен подавлением ИФН- α печеночной триглицеридлипазы [28]. Эти данные позволяют предположить, что ИФН могут играть роль в возникновении СД, его прогрессировании и, возможно, в появлении поздних осложнений.

Объем исследований и методы

Исследования проведены у 170 больных СД I типа, у 23 с обострением хронического пиелонефрита без диабета и у 59 здоровых лиц. Среди больных СД I типа было 92 женщины и 78 мужчин в возрасте от 15 до 50 лет (52,4% в возрасте до 30 лет и 47,6% - старше 30 лет). Впервые выявленный СД (до года) наблюдался у 29 (17%), давность СД от 1 года до 10 лет была у 45,3% пациентов и 37,6% страдали СД более 10 лет. У 125 больных диагностированы диабетические микроангиопатии различной локализации: у 66 - нейропатия, у 76 - гепатоз. Поражение других эндокринных желез отмечено у 30 больных, обострение

хронического пиелонефрита имели 45 человек с СД. Исследования ИФН проведены в динамике наблюдения при поступлении в стационар (период декомпенсации) и через 3-4 нед. (период субкомпенсации или компенсации) у 111 пациентов.

Содержание ИФН (смесь ИФН- α , β , γ) в сыворотке крови определяли с помощью стандартного метода [7]: в качестве тест-системы использовали вирус везикулярного стоматита, штамм Indiana и перевиваемую линию клеток легкого эмбриона человека L-68, в качестве индикаторного вируса использовали вирус энцефаломиокардита мышей. С целью разделения интерферонов первого типа (кислостойкого) и второго (кислотолабильного) рН образцов доводилась 1N соляной кислотой до 2.0 и выдерживалась в течение ночи. Перед титрованием рН доводилась 1N NaOH до значений 7,0-7,2. Высоким уровнем ИФН считали значения выше 8 ед/мл.

Результаты и их обсуждение

Получены данные, свидетельствующие о выраженных изменениях системы интерферона у больных СД. Высокий уровень ИФН в сыворотке крови при 1 типе СД наблюдался у 58,1% больных в период декомпенсации заболевания и у 63,9% в период субкомпенсации и компенсации процесса. В контроле высокие значения ИФН встречались лишь в 15,6% случаев. Как известно, у здоровых лиц наблюдается снижение интенсивности образования ИФН с увеличением возраста, тогда как при 1 типе СД эта закономерность не выявлена (рис. 1). Чаше наблюдался высокий уровень ИФН сыворотки крови при большей продолжительности болезни: при длительности СД от 1 до 3 мес. высокий уровень ИФН обнаружен у 48,2% больных, тогда как при длительности СД более 10 лет - у 66,7% (рис. 2). Содержание ИФН не зависело от гликемии, наличия гепатоза.

Так как ИФН является одним из основных факторов противоинфекционной защиты, уровень ИФН анализировался в зависимости от частоты инфекционно-воспалительных заболеваний в анамнезе и наличия очагов инфекции. У 75 больных СД с частыми

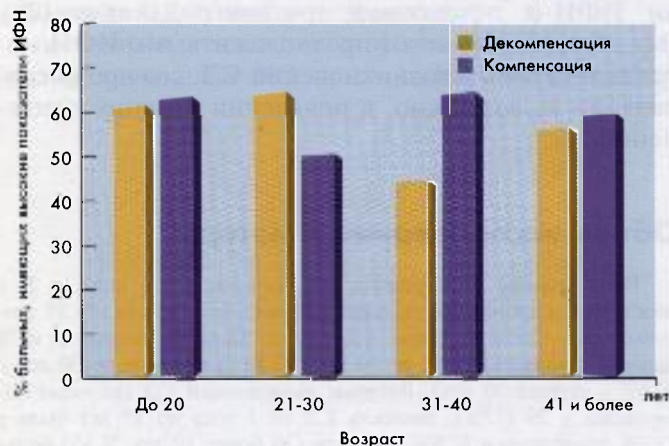


Рис. 1. Частота распределения высоких показателей ИФН сыворотки крови в зависимости от возраста больных СД 1 типа.

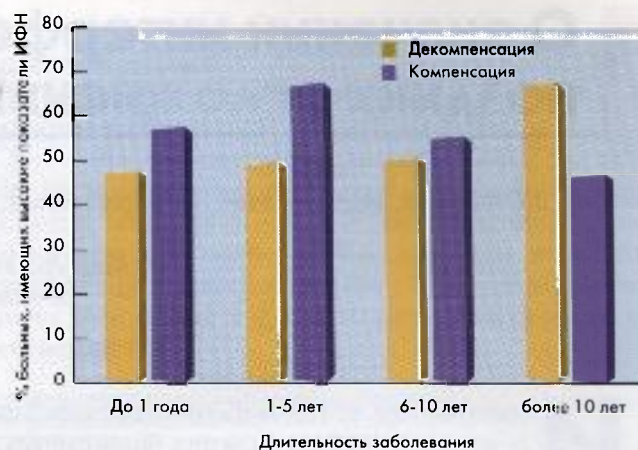


Рис. 2. Частота распределения высоких показателей ИФН сыворотки крови в зависимости от длительности заболевания.

инфекциями в анамнезе высокое содержание ИФН встречалось редко, что свидетельствует об истощении системы ИФН при острой инфекции и нарушениях метаболизма; у 60,6% больных СД и пиелонефритом уровень ИФН был выше уровня в контроле.

При сравнении значений ИФН у лиц с СД и пиелонефритом с аналогичными показателями у больных при обострении пиелонефрита без СД выявлены значительные отличия по частоте распределения нормальных и высоких показателей ИФН (хи-квадрат = 5,04, $p < 0,05$). У больных пиелонефритом высокие значения встречались в 91,3% случаев, а при СД с острой инфекцией лишь в 60,6% (рис. 3). Следовательно, в период декомпенсации СД система ИФН адекватно не отвечает на инфекцию. Полученные данные позволили заключить, что при выраженных метаболических нарушениях острая или хроническая инфекция, частые инфекционно-воспалительные заболевания не являются причиной высокого уровня ИФН в сыворотке крови.

При анализе уровня ИФН сыворотки и зависимости от локализации, длительности ангиопатий и их прогрессирования обнаружено, что содержание ИФН выше нормы при микроангиопатиях встречается в 56,5%, без них - только в 23,1% случаях. Группы по частоте распределения показателей достоверно различались (хи-квадрат = 6,79, $p < 0,01$).

Высокий уровень ИФН определялся у половины больных с давностью ретинопатии до года, его частота возрастала до 64% при быстром прогрессировании ретинопатии. Значимое различие между группами было у больных с наличием и отсутствием микроангиопатий конечностей (59,0% и 32,4%, хи-квадрат = 6,9, $p < 0,01$).

Диабетическая нефропатия (ДН) сопровождалась высоким уровнем ИФН у 68% больных на стадии протеинурии (при появлении первых клинических симптомов нефропатии), но с увеличением давности

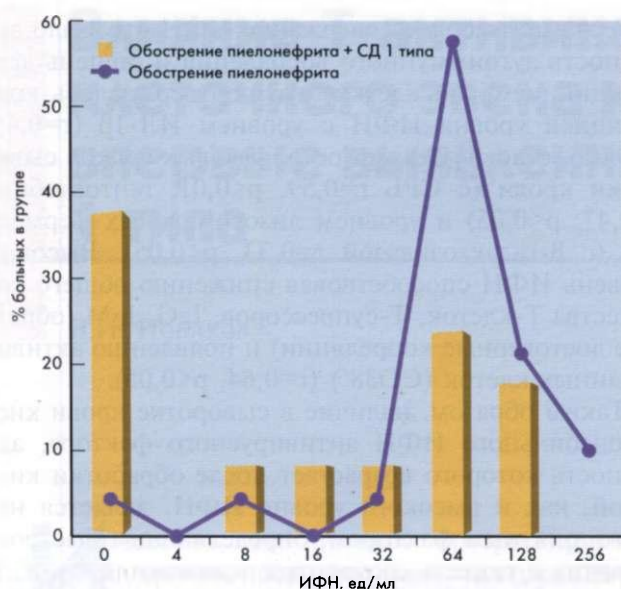


Рис. 3. Частота распределения уровня ИФН в сыворотке у больных СД с обострением пиелонефрита и пациентов, страдающих только пиелонефритом.

ти осложнения частота высоких показателей ИФН снизилась до 26,7%.

Таким образом, высокое содержание ИФН в сыворотке крови наблюдается на ранних этапах формирования микроангиопатий. Это позволяет сделать вывод, что ИФН в сочетании с другими факторами играет определенную роль в прогрессировании сосудистых осложнений при СД. Подобный взгляд на участие ИФН в патогенезе сосудистых проявлений аутоиммунных заболеваний подтверждается клиническими наблюдениями и экспериментальными работами [2, 9].

О возможности ИФН поражать мелкие сосуды и капилляры, способности утяжелять течение диабетической ретинопатии упоминается в некоторых исследованиях [20]: описана «интерферон-ассоциированная ретинопатия», возникшая у половины больных хроническим гепатитом С обычно через 3 мес. после начала лечения ИФН. При этой ретинопатии наблюдается возникновение геморрагий и зон ишемии на глазном дне. У большинства больных (без СД) «интерферон-ассоциированная ретинопатия» не проявлялась клинически и не требовала лечения после отмены ИФН. При наличии диабетической ретинопатии лечение ИФН приводило к прогрессированию поражения сосудов сетчатки. В эксперименте показано [8], что эндотелиальные клетки сосудов на чужеродную информацию вырабатывают различные фракции ИФН. Вероятно, высокий уровень ИФН, обнаруживаемый в крови больных с аутоиммунными заболеваниями, продуцируется совместно лейкоцитами и эндотелиальными клетками в ответ на циркулирующие иммунные комплексы, персистирующую вирусную инфекцию, продукты гликирования и чужеродный белок (инсулин).

Исследование ИФН в динамике наблюдения у 111 больных показало, что его уровень достоверно изменялся в процессе лечения ($p < 0,001$), у большинства больных наблюдалось увеличение его уровня. Повышение этого показателя сочеталось с прогрессированием СД, отмечено одновременное по-

вышение содержания ИЛ-1 β , СРБ, серомукоида и гаптоглобина сыворотки.

Увеличение уровня ИФН вызывало изменение вида вводимого инсулина. Снижение в динамике уровня ИФН или отсутствие колебаний показателя при его нормальном уровне было при стабильном течении СД с медленным прогрессированием сосудистых осложнений и сопровождалось положительной клинической динамикой, быстрой компенсацией углеводного обмена. Эти данные позволяют считать, что высокий уровень ИФН сыворотки является фактором аутоагрессии, способствует развитию и прогрессированию сосудистых осложнений, а его изменение (снижение) сопровождается улучшением течения СД.

Для решения вопроса о том, какой тип ИФН играет патогенетическую роль в условиях хронической гипергликемии и гипоксии, было проведено исследование уровня ИФН сыворотки крови при обработке его кислотой. ИФН I и II типов различаются по своей устойчивости к кислоте (ИФН- α и β -кислотоустойчивы, γ - разрушается при pH=2,0). В 1975 г. была открыта кислотолабильная фракция ИФН- α (КЛ ИФН- α), которая часто обнаруживается у больных при СПИДе, вирусном гепатите и аутоиммунных заболеваниях [5, 9]. Эта фракция выявлена у 50% больных СКВ, 54% больных РА, 60% больных склеродермией, в 80-100% случаев при СПИДе. В крови этих пациентов выявлен фактор, который взаимодействует с участками молекулы ИФН- α и переводит изначально кислотостабильный в кислотолабильный ИФН- α . Возможно, выраженность патологического процесса зависит от уровня продукции КЛ ИФН- α , а также может быть связана с синтезом других «патологических» ИФН или резким снижением выработки нормальных ИФН.

У здоровых лиц при обработке сыворотки кислотой во всех пробах мы не выявили КЛ ИФН- α . У больных I типом СД отмечена достоверно значимая корреляционная взаимосвязь уровня ИФН без обработки уровня ИФН с обработкой кислотой в различные периоды заболевания ($r=0,55$, $p < 0,001$ в период декомпенсации и $r=0,59$, $p < 0,001$ - после лечения). Это свидетельствовало о том, что высокий уровень ИФН сыворотки крови больных СД I типа в основном представлен кислотостабильной фракцией ИФН I типа.

Уровень КЛ ИФН- α у 14,8% больных СД I типа, наличие кислотолабильной фракции ИФН было свойственно больным с небольшой длительностью СД и быстрым появлением сосудистых осложнений, а также при сочетании СД с панкреатитом и поражением других эндокринных желез. Это позволило заключить, что агрессивность СД обусловлена активным аутоиммунным процессом, в развитии которого кислотолабильная фракция ИФН играет существенную роль (рис. 4).



Рис. 4. Клинические особенности течения ИЗСД и изменения противовирусной активности интерферона после обработки кислотой (pH=2).

В 55,7% случаев ИФН сыворотки был представлен кислотостабильной фракцией ИФН 1 типа (ИФН не изменялся после обработки кислотой). Эта группа состояла из пациентов с впервые выявленным СД (23,5%), а у больных с длительным СД не было сосудистых осложнений или они развивались медленно.

У 29,5% пациентов содержание ИФН после обработки кислотой возрастало в 2-4 раза. Увеличение противовирусной активности сыворотки крови нельзя было связать с наличием ингибитора, так как у этих больных отсутствовала вирусная инфекция и колебания ИФН были очень значимыми. Вероятно, в сыворотке крови при СД 1 типа находится антивирусный фактор неинтерфероновой природы, который активируется после обработки при pH=2,0. Известно, что иммунокомпетентные клетки могут вырабатывать белковые факторы с противовирусной активностью. Подобный фактор был выделен Н.В.Грибковой и соавт. [1], он сохранял свою активность при кипячении и инкубации при pH 2,0-10,0, стимулировал синтез клеточных РНК и белков, обладал противовирусной активностью, но при тестировании в его составе не обнаружено ИФН-α и ФНО, что позволило отнести его к цитокинам неинтерфероновой природы. Возможно, и в нашем исследовании при СД у некоторых больных в крови появляется такой цитокин с противовирусной активностью. Присутствие в сыворотке крови антивирусного фактора «ИФН», повышающего свою активность после обработки кислотой, было характерно преимущественно для тяжелого, осложненного течения СД. Видимо, наличие такого антивирусного фактора в сыворотке крови свидетельствует о выраженных нарушениях синтеза ИФН клетками у больных СД.

У больных СД выявлены иные, чем у здоровых людей и больных пиелонефритом, взаимосвязи ИФН с иммунологическими и биохимическими па-

раметрами: высокое содержание ИФН отражало активность аутоиммунного воспаления и степень деструкции мембран клетки, что подтверждалось корреляцией уровня ИФН с уровнем ИЛ-1β ($r=0,45$, $p<0,05$), с показателями острофазовых белков сыворотки крови (с СРБ $r=0,59$, $p<0,01$, гаптоглобина $r=0,47$, $p<0,05$) и уровнем лизосомальных ферментов (с β-галактозидазой $r=0,33$, $p<0,05$). Высокий уровень ИФН способствовал снижению общего количества Т-клеток, Т-супрессоров, IgG, IgM (обратные достоверные корреляции) и появлению активированных клеток (CD38⁺) ($r=0,64$, $p<0,05$).

Таким образом, наличие в сыворотке крови кислотолабильного ИФН антивирусного фактора, активность которого возрастает после обработки кислотой, как и высокого уровня ИФН, является неблагоприятным фактором, определяющим быстроту развития и тяжесть сосудистых осложнений при СД. Полученные данные заставляют пересмотреть показания к индукторам ИФН, а также назначению препаратов ИФН при СД.

Литература

1. Грибкова Н.В., Вотяков В.И., Горечкая И.С. и др. // Журн. Микробиологии. - 1992. - № 11-12. - С. 49-51.
2. Ершов Ф.И., Готовцева Е.П., Лаврухина Л.А. // Вопр. вирусол. - 1990. - № 6. - С. 444-448.
3. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы. - Санкт-Петербург: Гиппократ, 1992.
4. Кузнецов В.П. // Иммунология. - 1987. - № 4. С. 30-34.
5. Кузнецов В.П. // Вопр. вирусол. - 1991. - № 2. - С. 92-96.
6. Кузьменко А.П., Шорин Ю.П. // Пробл. эндокринологии. - 1991. - № 1. - С. 59-63.
7. Носик Н.Н., Ершов Ф.И. // Вопр. вирусол. - 1984. - № 5. - С. 599-603.
8. Щегловитова О.Н., Кулиева А.М., Балабанова Р.М. Современные аспекты применения интерферонов и других иммуномодуляторов. - М., 1990.
9. Щегловитова О.Н., Орлова Т.Г. // Вопр. вирусол. - 1994. - № 3. - С. 102-106.
10. Baldeon M.E., Chun T., Gaskins H.R. // Am. J. Physiol. - 1998/ - Vol. 225. - N 1, Pt. 1. - P. 25-32.
11. Chakrabarti D., Hultgren B., Stewart T.A. // J. Immunol. - 1996/ - Vol. 157. - N 2. - P. 522-528.
12. Darvill M.I., Eizirik D.L. // Diabetologia. - 1998. - Vol. 41. - N 9. - P. 1101-1108.
13. Fabris P., Betterle C., Greggio N.A. et al. // J. Hepatol. - 1998. - Vol. 28. - N 3. - P. 514-517.
14. Gross U., Seifert E. // Z. Gastroenterol. - 1993/ Vol. 31/ - N 10. - P. 609-611.
15. Imagawa A., Itoh N., Hanafusa T. et al. // Diabetologia. - 1996. - Vol. 28. - N 3. - P. 126-127.
16. Koivisto V.A. // Lancet. - 1992. - Vol. 340. - N 340. - P. 1236.
17. Lukic M.L., Stosic-Grujicic S., Shahin A. Dev. Immunol. - Vol. 6. - N 1-2. - P. 119-128.
18. Mandrup-Poulsen T., Corbett J.A., McDaniel M.L., Nerup J. // Diabetologia. - 1993. - Vol. 36. - P. 470-473.
19. Okanoue T., Sakamoto S., Yasui K., Takami S. et al. // Nippon-Shokakibyo-Gakkai-Zasshi. - 1994. - Vol. 91. - N 5. - P. 995-1002.
20. Ojuno H., Hirota T., Shiozaki Y., Injue K. et al. // Nippon Rinsho. - 1994. - Vol. 52. - N 7. - P. 1919-1923.
21. Rhodes C.L., Taylor K.W. // Diabetologia. - 1984. - Vol. 27. - N 6. - P. 601-603.
22. Rabinovitch A. // Diabet Metabol. Rev. - 1998. - Vol. 14. - N 2. - P. 129-151.
23. Sobel D.O., Ewel C.H., Zwilg B., Abbasi V. et al. // Diabetes. - 1994. - Vol. 43. - N 4. - P. 518-522.
24. Stewart T.A., Hultgren B., Huang X. et al. // Science. - 1993. - Vol. 260. - P. 1942-1946.
25. Thomas H.E., Parker J.I., Schreiber R.D., Kay T.W. // J. Clin. Invest. - 1998. - Vol. 102. - N 6. - P. 1249-1257.
26. Waguri M., Hanafusa T., Itoh N., Imagawa A. et al. // Diabetes. Res. Clin. Pract. - 1994. - Vol. 23. - N 1. - P. 33-36.
27. Wright J.R., Lacy P.E., Unanue E.R., Hauptfeld V. // Diabetologia. - 1987. - Vol. 30. - P. 441.
28. Yamagishi S., Abe T., Sawada T. // Am J. Gastroenterol. - Vol. 89, N 12. - P. 2280.