

Маркеры аутоиммунного поражения печени у пациентов с сахарным диабетом 1 типа

Деревянко О.С., Далантаева Н.С., Иванова О.Н., Гончаров Н.П., Никонова Т.В., Смирнова О.М.

ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва
(директор — академик РАН и РАМН И.И. Дедов)

Цель. Изучить частоту встречаемости аутоантител, характерных для аутоиммунных гепатитов у пациентов с сахарным диабетом 1 типа (СД1), особенности клинической картины у лиц, положительных по данным параметрам.

Материалы и методы. Обследовано 84 пациента (39 мужчин, 45 женщин) с СД1, которые были разделены на две группы в зависимости от наличия аутоиммунного заболевания помимо СД1. Проведено биохимическое, иммунологическое и инструментальное обследование.

Результаты. Выявлена высокая частота встречаемости маркеров аутоиммунного гепатита у пациентов с СД1, в том числе у пациентов с отсутствием клинических и диагностических признаков поражения печени.

Заключение. На основе полученных данных можно предположить, что пациенты с СД1 имеют более высокий риск возникновения аутоиммунного поражения печени с возможностью его бессимптомного течения.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 типа; аутоиммунный гепатит; аутоантитела

Markers for hepatic autoimmune disorders in patients with type 1 diabetes mellitus

Derevyanko O.S., Dalantaeva N.S., Ivanova O.N., Goncharov N.P., Nikonova T.V., Smirnova O.M.
Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

Aim. To assess the occurrence of autoantibodies characteristic of autoimmune hepatitis in patients with type 1 diabetes mellitus (T1DM), and to analyze clinical features of positive subjects.

Materials and Methods. 84 patients (39 male, 45 female) with T1DM were subdivided into two groups and underwent biochemical, immunologic and instrumental examination.

Results. Markers for hepatic autoimmune disorders were found to be highly prevalent in patients with T1DM, even in those asymptomatic according to clinical and instrumental diagnostic methods.

Conclusion. Our data suggests that T1DM patients are at higher risk of corresponding, though possibly asymptomatic autoimmune disorders.

Keywords: type 1 diabetes mellitus; autoimmune hepatitis; autoantibodies

DOI: 10.14341/DM2014129-33

Наличие сахарного диабета 1 типа (СД1) является признаком наследственно-обусловленных нарушений механизмов ауто толерантности. HLA аллели и гаплотипы, предрасполагающие к развитию СД1, могут быть ассоциированы и с другими аутоиммунными заболеваниями [1, 2].

У пациентов с СД1 и их родственников частота встречаемости сопутствующих аутоиммунных заболеваний в 3–5 раз выше в сравнении с общей популяцией и составляет от 0,5 до 15% [1, 3]. При этом заболевания желудочно-кишечного тракта аутоиммунной природы являются наименее изученными и прогностически неблагоприятными.

Аутоиммунный гепатит (АИГ) представляет собой хроническое воспалительное заболевание печени, характеризующееся наличием специфических аутоантител, повышением уровня гамма-глобулинов и положительным ответом на иммуносупрессивную терапию.

АИГ может наблюдаться в любом возрасте. Как и большинство других аутоиммунных заболеваний, он встречается преимущественно у женщин в возрасте 20–30 лет и 50–70 лет. Аутоиммунный гепатит может наблюдаться и в детском возрасте, может манифестировать в острой форме, позднее переходя в хроническую [4].

Изменения лабораторных данных, характерные для АИГ, включают в себя повышение уровня гамма-глобулинов или иммуноглобулина G (IgG) в 1,5 раза, а также появление в сыворотке крови специфических аутоантител.

Среди аутоантител, характерных для АИГ, наиболее важными являются аутоантитела к гладкой мускулатуре, или антигладкомышечные антитела (АГМА), и антинуклеарные антитела (АНА). АГМА обнаруживаются несколько реже, чем АНА, но в более высоких титрах (1:100) и выше, в связи с чем АГМА считаются более специфичными для АИГ, чем АНА. АГМА направлены против актина микрофиламентов миоцитов и пере-

крестно реагируют с актин-содержащими микрофиламентами гепатоцитов [4].

АНА обнаруживаются у 40–80% больных АИГ и являются наиболее часто выявляемыми при этом заболевании антителами. Они определяются как у взрослых, так и у детей [5, 6].

Диагноз «аутоиммунный гепатит» устанавливается на основании комплекса критериев, разработанных Американской ассоциацией по изучению болезней печени (AASLD) [7]. В состав диагностического комплекса входит повышение титра АНА и АГМА более 1:80, повышение уровня IgG. Морфологическое исследование ткани печени не является обязательным для подтверждения диагноза, но, безусловно, дает значимую дополнительную информацию.

Прогноз при АИГ зависит от своевременности постановки диагноза. Факторами риска неблагоприятного течения являются поздняя диагностика, высокая активность воспаления, позднее начало лечения, молодой возраст, а также генотип *HLA DR3* [4].

Учитывая, что течение АИГ часто не имеет патогномичных признаков и диагноз устанавливается лишь на стадии цирроза печени, необходимо проводить скрининг, раннюю диагностику, своевременное лечение и профилактику.

Цель

Изучить частоту встречаемости аутоантител, характерных для АИГ у пациентов с СД1, особенности клинической картины у пациентов, положительных по данным параметрам.

Материалы и методы

В исследование были включены 84 пациента (39 мужчин, 45 женщин) с различной длительностью СД1 (от 1 месяца до 40 лет). Больные были разделены на 2 группы в зависимости от наличия дополнительно установленного аутоиммунного заболевания помимо СД1. В 1-ю группу вошли пациенты с СД1 без сопутствующих аутоиммунных заболеваний – 58 человек; 2-ю группу составили 26 человек с СД1 в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями (аутоиммунный тиреоидит, ревматоидный артрит, целиакия, витилиго, надпочечниковая недостаточность и др.). Диагноз СД1 был установлен в соответствии с критериями ВОЗ [8]. Длительность заболевания пациентов 1-й группы составила 15,0 [7,0; 22,0] лет, 2-й – 16,0 [7,0; 22,0] лет ($p=0,96$).

Аутоиммунный тиреоидит был установлен по данным лабораторных исследований – повышение тиротропного гормона (ТТГ) в сочетании с повышенным титром антител к тиреопероксидазе и тиреоглобулину. Все пациенты на момент исследования получали терапию левотироксином и имели нормальные показатели ТТГ. Диагнозы ревматоидный артрит, целиакия, витилиго, надпочечниковая недостаточность были установлены по данным предоставленной медицинской

документации. Пациенты с надпочечниковой недостаточностью получали лечение глюкокортикоидными и минералокортикоидными препаратами (преднизолон и флудрокортизон), больные с ревматоидным артритом – лечение метотрексатом.

Критериями исключения являлись: наличие гепатитов вирусной природы.

Контрольную группу составили практически здоровые лица (21 человек), сопоставимые по возрасту и полу с пациентами исследуемых групп. Критериями включения в контрольную группу были: отсутствие нарушений углеводного обмена и установленных заболеваний аутоиммунного генеза.

Клиническое обследование включало осмотр, сбор жалоб, анализ анамнестических данных.

30% больных предъявляли жалобы на диспепсию по данным анкетирования, где отмечались: боли и дискомфорт в области живота, правом подреберье; раннее насыщение, ощущение, что желудок переполняется сразу после начала еды, независимо от объема принятой пищи; переполнение, неприятное ощущение задержки пищи в желудке, связанное или не связанное с приемом пищи; вздутие, чувство распираания в области живота, тошнота.

По данным осмотра желтушности кожных покровов, склер у пациентов отмечено не было. При перкуссии и пальпации увеличение границ печени было выявлено у 5% пациентов.

При сборе анамнеза особое внимание уделялось наличию семейного анамнеза аутоиммунных заболеваний и перенесенных детских инфекций.

У 21% больных была отмечена наследственная отягощенность по аутоиммунным заболеваниям (аутоиммунный тиреоидит, СД1, ревматоидный артрит), у 13% – по детским инфекциям (краснуха, корь, паротит, ветряная оспа).

39% отмечали связь развития СД1 с предшествующими провоцирующими факторами – вирусные инфекции, психоэмоциональный стресс. В 61% случаев СД1 развивался без видимых причин на фоне общего благополучия.

Уровень печеночных ферментов (АЛТ, АСТ) был повышен у 8% обследуемых.

Всем пациентам было проведено обследование для исключения гепатитов вирусной природы.

Специальное иммунологическое обследование включало выявление специфических аутоантител в сыворотке крови: АГМА и АНА методом флуоресцентной микроскопии с использованием коммерческих наборов согласно регламенту, указанному производителем.

Положительный титр АГМА определяется при свечении стенки кровеносных сосудов на препарате со срезами почки во флуоресцентном микроскопе; положительный титр АНА устанавливался при свечении ядер на Нер-2 клетках. Нер-2 – это клеточная линия, полученная из аденокарциномы гортани человека, представляющая собой крупные полиплоидные не ороговевающие плоские эпителиоциты, образующие монослой различных ядерных антигенов на стекле.

Иммунологическое исследование включало также определение аутоантител к β -клеткам поджелудочной железы. Количественное определение антител к островковым клеткам (ICA), глутаматдекарбоксилазе (ГДК), тирозинфосфатазе (IA-2A) в сыворотке крови осуществляли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов Medizum фирмы Medipan MGBH.

Содержание гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии высокого давления (HPLC) на аппарате D-10 («Bio-Rad») по стандартной методике производителя.

Определение базальной концентрации С-пептида в крови для оценки функционального состояния β -клеток проводили иммунохемилюминесцентным методом на аппарате Elecsys 2010 (Roche).

Всем пациентам была проведено ультразвуковое исследование органов брюшной полости (УЗИ) с оценкой размеров и эхографических характеристик печени.

Всеми пациентами было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с помощью пакета прикладных программ Statistica v 6.0 for Windows. Сравнение показателей выделенных групп пациентов проводилось по U-критерию Манна-Уитни. Количественные показатели представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха [Q25; Q75].

Критический уровень значимости принимался равным 5%.

Результаты и их обсуждение

Уровень HbA_{1c} на момент обследования в обеих группах был сопоставим и составил 8,75% [7,85; 10,0] в 1-й группе, 8,7% [7,3; 9,4] – во 2-й.

Базальный уровень С-пептида у пациентов исследуемых групп также не отличался значимо и был равен:

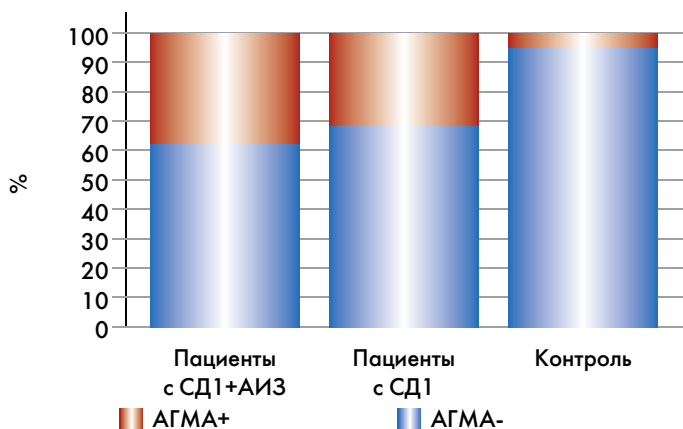


Рис. 1. Встречаемость АГМА у пациентов с несколькими аутоиммунными заболеваниями и СД1 и у пациентов с СД1 без сопутствующей аутоиммунной патологии в сравнении с группой контроля (%).

в первой группе 0,050 нмоль/л [0,025; 0,245], во второй группе – 0,03 нмоль/л [0,01; 0,33] ($p=0,2$).

В контрольной группе уровень С-пептида был равен 1,9 нмоль/л [1,7; 2,3].

В нашем исследовании была выявлена достоверно большая частота встречаемости АГМА у пациентов 1-й группы (у 10 из 26 пациентов – 38%) в сравнении с группой контроля (5%) – $p=0,018$, а также у пациентов с СД1 без сопутствующих аутоиммунных заболеваний (у 18 из 58 – 32%) в сравнении с группой контроля (5%) – $p=0,029$. В группе контроля АГМА были выявлены лишь у 1 пациентки из 21, что составило 5%.

При этом между собой исследуемые группы по данному параметру не различались ($p=0,75$) (рис. 1).

Интересно, что все пациенты с АГМА имели нормальные уровни АЛТ, АСТ. Повышение печеночных ферментов (АЛТ, АСТ) у 8% обследуемых в нашем исследовании, возможно, было обусловлено другими неаутоиммунными причинами.

Положительный титр АГМА определялся свечением стенки кровеносных сосудов на срезах почки при флуоресцентной микроскопии (рис. 2).

Среди пациентов с изменениями в печени, выявленными при ультразвуковом исследовании, положительный титр АГМА был выявлен сопоставимо часто в сравнении с пациентами с нормальными эхографическими характеристиками печени (14 и 38% случаев, $p=0,15$). По результатам нашего исследования, положительный титр АГМА не был ассоциирован с измененной эхографической картиной печени.

АГМА выявлялись с одинаковой частотой среди пациентов, имевших жалобы на диспепсию, и среди пациентов без проявлений диспепсии (36 и 33% соответственно).

АНА в 1-й группе встречались достоверно чаще в сравнении со 2-й группой (в 46% случаев в сравнении с 16%, $p=0,007$) и в сравнении с группой контроля (5% $p=0,005$) (рис. 3).

Таким образом, по результатам нашего исследования можно предположить наличие более высокого риска

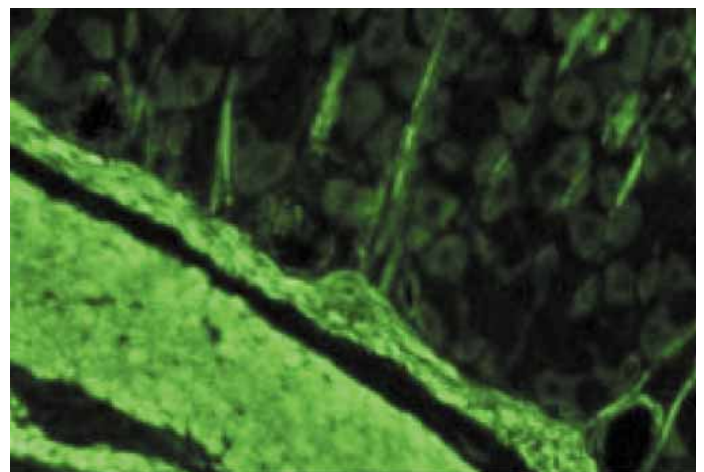


Рис. 2. Положительный титр АГМА – свечение стенки кровеносных сосудов почки. Фото с микроскопа.

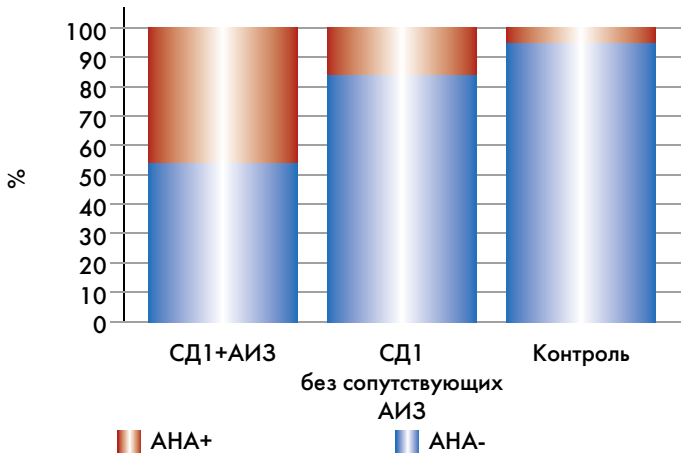


Рис. 3. Частота выявления АНА у пациентов с несколькими АИЗ, пациентов с СД1 без сопутствующей аутоиммунной патологии в сравнении с группой контроля.

развития аутоиммунного поражения печени у пациентов с несколькими аутоиммунными заболеваниями с положительным титром АНА. В нашем исследовании не было получено данных о взаимосвязи полиаутоиммунности с частотой выявления АГМА, при этом АГМА является наиболее специфичным маркером АИГ. Более высокая встречаемость АНА у пациентов с несколькими аутоиммунными заболеваниями может быть обусловлена меньшей специфичностью этих АТ, их действие может быть направлено против нескольких органов.

По данным литературы, около 20% пациентов с АИГ имеют сопутствующие аутоиммунным заболеваниям [14]. Аутоиммунный полигландулярный синдром (АПС) включает в себя АИГ примерно в 15% случаев. АИГ, наблюдаемый у пациентов с АПС-1, по данным некоторых авторов, часто имеет острое, fulminantное течение и не так хорошо поддается иммуносупрессивной терапии, как аутоиммунный гепатит без АПС. Эти данные обуславливают необходимость скрининга с целью ранней диагностики и своевременного лечения.

Положительный титр АНА определялся свечением ядер на Нер-2 клетках при флуоресцентной микроскопии (рис. 4).

Жалобы на диспепсию пациенты с АНА и без АНА предъявляли с одинаковой частотой – в 28% случаев среди пациентов, положительных по АНА, и в 24% случаев пациентов без АНА ($p=0,92$).

АНА были выявлены как у пациентов с изменениями печени по данным УЗИ, так и у пациентов с нормальными эхографическими характеристиками печени ($p=0,4$).

В нашем исследовании не была установлена связь наличия АНА с клиническими проявлениями и данными лабораторных и инструментальных исследований. Жалобы пациентов на диспепсию могли быть связаны с наличием диабетической нейропатии, гастропареза, заболеваний желудочно-кишечного тракта неаутоиммунного генеза. Однако нами была выявлена достоверно большая частота встречаемости АНА среди пациентов, положительных по АГМА, в сравнении с пациентами без АГМА (50% в сравнении с 13%, $p=0,0007$). Сочетание

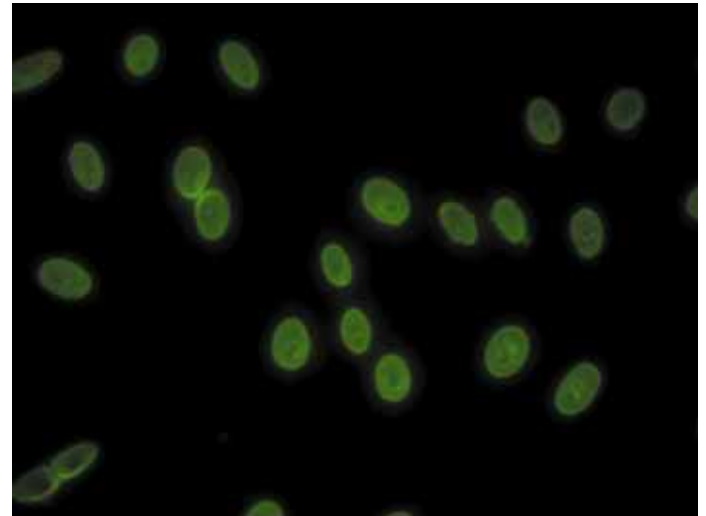


Рис. 4. Положительный титр АНА – свечение ядер на Нер-2 клетках. Фото с микроскопа.

этих двух типов аутоантител может свидетельствовать о более высоком риске развития аутоиммунного гепатита у этой категории пациентов.

Отсутствие связи положительного титра АГМА и АНА с клиническими проявлениями и данными лабораторных и инструментальных методов диагностики может быть связано с тем, что аутоантитела в сыворотке крови могут обнаруживаться у пациентов за несколько лет до клинической манифестации заболевания. Кроме того, наиболее часто АИГ проявляется неспецифическими симптомами: слабостью, утомляемостью, снижением работоспособности, миалгией, артралгией, лихорадкой. Лишь в части случаев болезнь начинается как острый гепатит с яркой клинической картиной, повышением печеночных ферментов, гепатомегалией, с последующим развитием печеночной недостаточности [9]. Описаны варианты течения с преобладанием внепеченочных проявлений, протекающих как системная красная волчанка, ревматоидный артрит, системный васкулит. По данным литературы, у ряда пациентов заболевание протекает бессимптомно и диагноз устанавливается случайно, в 10–20% случаев уже на стадии цирроза печени [10, 11, 12].

В большинстве случаев пациенты обращаются к врачу лишь с жалобами на слабость и утомляемость. Только в 1/3 случаев тяжесть клинических симптомов коррелирует с выраженностью воспаления.

Czaja A.J. (2013 г.) говорит о необходимости продолжения исследований АИГ и совершенствования диагностических методов и критериев, разработки четких и ясных алгоритмов диагностики и лечения, что подтверждает актуальность данной проблемы [13].

Заключение

Выявлена высокая частота встречаемости АГМА и АНА у пациентов с СД1 с отсутствием клинической симптоматики, признаков поражения по данным инструментальных методов диагностики.

Наиболее часто АНА выявлялись у пациентов с наличием нескольких аутоиммунных заболеваний, что может свидетельствовать о более выраженной и менее специфичной аутоиммунной агрессии у этой категории боль-

ных. Полученные данные указывают на необходимость скрининга бессимптомно протекающих заболеваний.

Авторы декларируют отсутствие конфликта (двойственности) интересов в связи с данной статьей.

Список литературы

1. Triolo TM, Armstrong TK, McFann K, Yu L, Rewers MJ, Klingensmith GJ, et al. Additional Autoimmune Disease Found in 33% of Patients at Type 1 Diabetes Onset. *Diabetes Care* 2011;34(5):1211–1213. doi: <http://dx.doi.org/10.2337/dc10-1756>
2. Wagner AM, Santana A, Herandez M, Wiebe JC, Nova J, Mauricio D. Predictors of associated autoimmune diseases in families with type 1 diabetes: results from the Type 1 Diabetes Genetics Consortium. *Diabetes Metab. Res. Rev* 2011;27(5):493–498. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/dmrr.1189>
3. Barker JM. Type 1 Diabetes-Associated Autoimmunity: Natural History, Genetic Associations, and Screening. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006;91(4):1210–1217. doi: <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2005-1679>
4. Лейшнер У. Аутоиммунный гепатит. Под ред. Шептулин А, Ситкин С. Университет Франкфурт-на-Майне; 2008. 40 с. [Leishner W. Autoimmunnyi hepatitis. Ed. by Sheptulin A, Sitkin S. University Frankfurt Mane; 2008. 40 p.]
5. Couto CA, Bittencourt PL, Porta G, Abrantes-Lemos CP, Carrilho FJ, Guardia BD, et al. Anti-smooth muscle and antiactin antibodies are indirect markers of histological and biochemical activity of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2013;59(2):592–600. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/hep.26666>
6. Liu FPM, de Miranda DM, Fagundes ED, Ferreira AR, Simoes e Silva AC. Autoimmune hepatitis in childhood: The role of genetic and immune factors. *World J Gastroenterol* 2013;19(28):4455–4463. doi: <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v19.i28.4455>
7. Czaja A. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2002;36(2):479–497. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/jhep.2002.34944>
8. Gabir MM, Hanson RL, Dabelea D, Imperatore G, Romain J, Bennett PH, et al. The 1997 American Diabetes Association and 1999 World Health Organization criteria for hyperglycemia in the diagnosis and prediction of diabetes. *Diabetes Care* 2000;23(8):1108–1112. doi: <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.23.8.1108>
9. Kessler WR, Cummings OW, Eckert G, Chalasani N, Lumeng L, Kwo PY. Fulminant hepatic failure as the initial presentation of acute autoimmune hepatitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2004;2(7):625–631. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1542-3565\(04\)00246-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1542-3565(04)00246-0)
10. Ивашкина ВТ. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей. 2-е изд., испр. и доп. Москва: Издательский Дом «М-Вести»; 2005. [Ivashkina VT. Bolezni pecheni i zhelcheyvodyashchikh putey: Rukovodstvo dlya vrachey. 2nd ed. Moscow: M-Vesti; 2005.]
11. Abdo A, Meddings J, Swain M. Liver abnormalities in celiac disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2004;2(2):107–112. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1542-3565\(03\)00313-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1542-3565(03)00313-6)
12. Obermayer–Straub P, Perheentupa J, Braun S, Kayser A, Barut A, Loges S, et al. Hepatic autoantigens in patients with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. *Gastroenterology* 2001;121(3):668–677. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/gast.2001.27103>
13. Czaja AJ. Challenges in the diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Can J Gastroenterol* 2013;27(9):531–539.

Деревянко Ольга Сергеевна

аспирант, ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва
E-mail: shapovalyants@yahoo.com

Далантаева Надежда Сергеевна
Иванова Ольга Николаевна

аспирант, ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва
к.б.н., в.н.с., зав. лабораторией генетики и клинической иммунологии,
ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва

Гончаров Николай Петрович

д.м.н., проф., руководитель лаборатории гормонального анализа,
ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва

Никонова Татьяна Васильевна

д.м.н., в.н.с. отделения программного обучения и лечения, ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва

Смирнова Ольга Михайловна

д.м.н., проф., гл.н.с. отделения программного обучения и лечения,
ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва