

© Мазур Л. П.

УДК 616. 379-008. 64]- 616-092. 19

Мазур Л. П.

## СТАН СИСТЕМИ $\alpha$ -ФАКТОРА НЕКРОЗУ ПУХЛИН ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ 1 ТА 2 ТИПІВ

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет

імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (м. Тернопіль)

Дана робота є фрагментом міжкафедральної НДР «Коморбідні стани в клініці внутрішніх хвороб: предиктори розвитку, рання діагностика, профілактика і лікування», № держ. реєстрації 0113U001244.

**Вступ.** В 2013 р. в світі було зареєстровано 382 млн осіб, хворих на цукровий діабет (ЦД), з них біля 10% становили хворі на ЦД 1 типу та біля 90% – на ЦД 2 типу [15]. Згідно зі звітом ВООЗ, в 2012 р. захворювання ЦД стало причиною смерті в 1,5 млн випадків, що підняло його на 8 місце серед усіх причин смертності. За даними МОЗ на сьогодні на ЦД в Україні хворіють 1 мільйон 300 тисяч осіб, тобто впродовж останніх 10 років їх кількість збільшилася майже вдвічі.

Згідно з даними ряду проведених досліджень,  $\alpha$ -ФНП володіє цитотоксичною дією стосовно бета-клітин острівців Лангерганса підшлункової залози [12, 13]. Також було виявлено високий рівень цього цитокіну в осіб з нещодавно діагностованим ЦД 1 типу [12]. Вміст  $\alpha$ -ФНП залишається високим також за повного зникнення функціональної активності бета-клітин, що дозволяє висловити гіпотезу щодо асоціації гіперглікемії з персистуючим хронічним запаленням [12].

При взаємодії  $\alpha$ -ФНП із клітинами він стимулює інгібіторне фосфорилювання серинових залишків субстратів інсулінових рецепторів 1, що є основним патогенетичним шляхом виникнення інсулінової резистентності [16]. Таким чином цитокін виступає зв'язуючою ланкою між системним запаленням, інсуліновою резистентністю та ожирінням [14], що відіграє важливу роль в розвитку ЦД 2 типу.

Вказують також на підвищений вміст розчинного рецептора до  $\alpha$ -ФНП типу 1 у хворих на ЦД [6]. В патогенезі ЦД важливу роль відіграють розлади в системі сигнального шляху  $\alpha$ -ФНП, що зумовлює порушення рівноваги між його ефектами, – спрямованими на виживання і проапоптотичними. Одним з проявів цього є продовження тривалості життя В-лімфоцитів та CD4<sup>+</sup> і CD8<sup>+</sup> підгруп Т-лімфоцитів [1, 2].

Встановлено, що стимульовані  $\alpha$ -ФНП процеси апоптозу знаходяться в основі розвитку таких хронічних мікровазкулярних ускладнень ЦД, як ретинопатія і нефропатія [8, 9]. При цьому  $\alpha$ -ФНП виступає головним прозапальним медіатором розвитку мікроангіопатії та макроангіопатії (атеросклерозу) [4]. Саме він запускає послідовність біологічних ефектів, наслідком яких є активація апоптозу ендотеліальних клітин [3].

Виявлена значна роль цитокіну та запального процесу в цілому в розвитку ЦД та його хронічних ускладнень зумовила на сучасному етапі виконання досліджень із можливості застосування в таких хворих препаратів – блокаторів  $\alpha$ -ФНП [11].

Проте недостатньо вивченою залишається проблема рівноваги та взаємозв'язку між компонентами системи  $\alpha$ -ФНП та її роль в розвитку власне ЦД 1 і 2 типів та їх хронічних ускладнень.

**Метою** даного дослідження було вивчити концентрацію  $\alpha$ -ФНП та в пацієнтів з цукровим діабетом та кількість клітин крові, що несуть мембранозв'язуючі рецептори  $\alpha$ -ФНП першого типу, і оцінити їх залежність від типу, ступеня важкості ЦД та ступеня компенсації глікемії.

**Об'єкт і методи дослідження.** Під нашим спостереженням знаходились 83 хворих на ЦД 1 типу та 89 – на ЦД 2 типу, які перебували на стаціонарному лікуванні в ендокринологічному відділенні КЗ ТОР «Тернопільська університетська лікарня». Контрольну групу становили 25 практично здорових осіб – донорів. Середній вік обстежуваних становив (52,3±3,4) роки, середня тривалість захворювання – (18,3±3,7) років.

У всіх хворих на ЦД 1 типу діагностовано важку форму захворювання. При ЦД 2 типу у 33 хворих (37,1%) виявлено середній, у 56 (62,9%) – важкий ступінь перебігу діабету. Ступінь компенсації захворювання оцінювали згідно з критеріями European Diabetes Policy Group (1998) відповідно до рівнів глікозильованого гемоглобіну, глікемії натще та постпрандіальної глікемії. В стані компенсації ЦД перебували 48 пацієнтів (27,9%), субкомпенсації – 68 (39,5%), декомпенсації – 56 осіб (32,6%).

Концентрацію  $\alpha$ -ФНП вивчали з допомогою реагентів виробництва ООО «Протеиновый контур», РФ. Застосовували твердофазний імуноферментний метод з пероксидазою хрому як індикаторним ферментом.

Кількість клітин крові, що несуть мембранозв'язуючі рецептори  $\alpha$ -ФНП першого типу (ФНП-Р1) оцінювали методом проточної лазерної цитометрії на цитометрі Epics XL (Beckman Coulter, США) з використанням мічених моноклональних антитіл CD120 $\alpha$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** У всіх групах пацієнтів з ЦД виявлено підвищення концентрації  $\alpha$ -ФНП в сироватці крові, яка була достовірно вищою від контрольної групи. Так, в загальному у групі обстежених із ЦД 1 типу вміст

цитокіну становив  $(79,16 \pm 1,94)$  пкг/мл, із ЦД 2 типу –  $(81,82 \pm 2,11)$  пкг/мл, тоді як в практично здорових осіб контролю –  $(38,23 \pm 1,31)$  пкг/мл.

При проведенні порівняння змін цитокіна залежно від стану компенсації виявлено, що при ЦД 1 і 2 типів рівні  $\alpha$ -ФНП корелювали з компенсацією діабету та виражено погіршувалися при незадовільній компенсації глікемії (рис. 1).

Аналізуючи представлені на рис. 1 дані, слід відмітити значно більш виражену активацію системного запалення і зростання вмісту  $\alpha$ -ФНП, як його ключового компонента, у хворих із ЦД 2 типу. Очевидно, дана особливість зумовлена поєднанням в патогенезі ЦД 2 типу різноманітних взаємообтяжуючих механізмів та метаболічних порушень. Так, часто ЦД 2 типу асоціюється з ожирінням, а сучасні вчені розглядають ожиріння як хронічне субклінічне запалення [5]. З іншого боку, встановлено, що адипоцити при ожирінні експресують підвищений рівень ФНП –  $\alpha$ , який стимулює синтез інших прозапальних цитокінів, що призводить до прогресування хронічного асептичного запалення [1].

При вивченні залежності збільшення концентрації  $\alpha$ -ФНП від ступеня важкості ЦД 2 типу нами було виявлене значне її зростання у пацієнтів з важкою формою захворювання (рис. 2).

Аналізуючи показник ФНП-Р1-клітин, у обстежених із ЦД 1 типу було відмічено їх зростання – до  $(69,72 \pm 6,18)\%$  в загальному в групі ( $p < 0,001$ ), що суттєво відрізнялося від контролю  $(9,78 \pm 0,92)\%$ . Було відмічено суттєве зростання кількості ФНП-Р1-клітин при погіршенні компенсації патології, з достовірністю ( $p < 0,05$ ).

В ході дослідження встановлено зростання ФНП-Р1-клітин у хворих із компенсованим ЦД 2 типу до  $(27,42 \pm 3,15)\%$  ( $p < 0,001$ ), при цьому отримані дані достовірно відрізнялися між собою залежно від ступеня компенсації захворювання ( $p < 0,05$ ) і досягали максимальних значень при декомпенсації гіперглікемії –  $(53,60 \pm 5,34)\%$  ( $p < 0,001$ ) (рис. 3).

Аналізуючи дані, наведені на рис. 3, можна вказати на різке зростання ФНП-Р1-клітин у хворих на ЦД 1 типу у стані декомпенсації порівняно з групами компенсованих та субкомпенсованих обстежених. Водночас, при ЦД 2 типу збільшення їх кількості було рівномірним та наростало зі збільшенням ступеня декомпенсації гіперглікемії.

Слід відмітити, що кількість ФНП-Р1-клітин залежала також і від важкості основного захворювання, при цьому найвищі показники спостерігалися в осіб з важкою формою патології, зростаючи в 7,3 рази порівняно з контролем та в 3,1 рази – порівняно з групою пацієнтів з середньою важкістю ЦД 2 типу ( $p < 0,001$ ).

Отримані нами дані щодо змін кількості клітин, що несуть мембранозв'язуючі рецептори  $\alpha$ -ФНП першого типу, не суперечать даним інших дослідників [2].

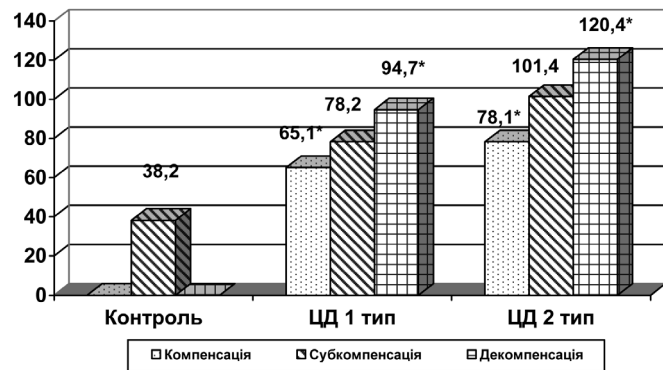


Рис. 1. Концентрація  $\alpha$ -ФНП при ЦД залежно від ступеня компенсації, пкг/мл.

Примітка: \* – різниця щодо показників хворих в стані субкомпенсації достовірна ( $p < 0,05$ ).

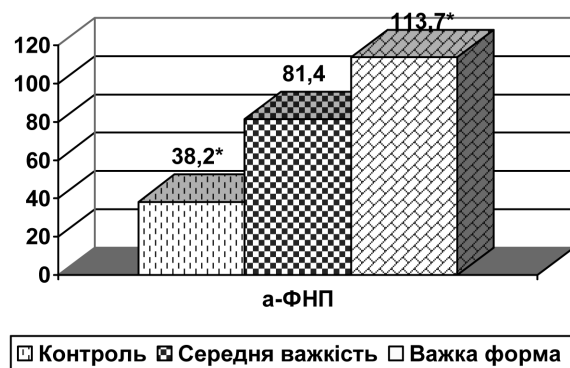


Рис. 2. Концентрація  $\alpha$ -ФНП при ЦД 2 типу залежно від важкості захворювання, пкг/мл.

Примітка: \* – різниця щодо показників хворих з середньою важкістю ЦД 2 типу достовірна ( $p < 0,05$ ).

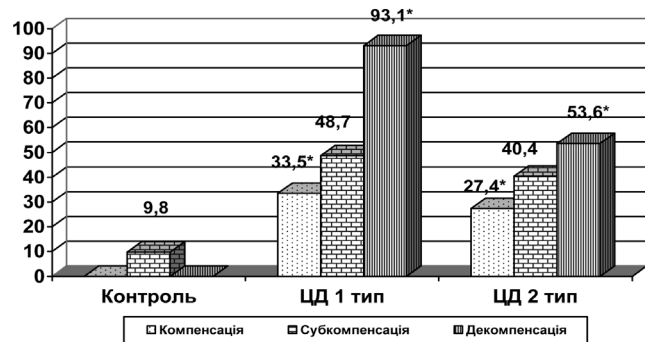


Рис. 3. Клітини крові, що несуть мембранозв'язуючі рецептори  $\alpha$ -ФНП першого типу, %.

Примітка: \* – різниця щодо показників хворих в стані субкомпенсації достовірна ( $p < 0,05$ ).

На сучасному етапі висловлена та активно вивчається гіпотеза, згідно з якою одним з ключових патогенетичних факторів розвитку ЦД 1 типу як одного з класичних представників аутоімунних захворювань виступає дисбаланс системи  $\alpha$ -ФНП. При цьому порушуються активність та взаємозв'язки між власне  $\alpha$ -ФНП, його розчинною та зв'язаною з клітинними мембранами фракціями ФНП-Р1. Ці порушення при ЦД 1 типу є генетично детермінованими і первинними. Водночас, при ЦД 2 типу порушення

компонентів системи цитокинів є вторинними і виникають внаслідок виражених метаболічних порушень – гіперглікемії та дисліпідемії. Виникнення «метаболічного імунодефіциту» зумовлює необхідність активації функціональної здатності мононуклеарів шляхом надмірної продукції  $\alpha$ -ФНП та нарощування кількості клітин, що несуть ФНП-Р1 [1, 2].

**Висновки.** Стан системи  $\alpha$ -ФНП та його зв'язаної з клітинними мембранами фракції ФНП-Р1 динамічно змінюється при цукровому діабеті, виступаючи

важливим первинним компонентом аутоімунності при ЦД 1 типу та, в певній мірі, компенсаторним механізмом «метаболічного імунодефіциту» при ЦД 2 типу.

**Перспективи подальших досліджень.** В світлі сучасних даних необхідним виглядає подальше вивчення та деталізація порушень системного запалення та аналіз їх ролі в розвитку власне ЦД та його хронічних ускладнень.

### Література

1. Амбросова Т. М. Роль фактора некрозу пухлин- $\alpha$  при коморбідності артеріальної гіпертензії та ожиріння / Т. М. Амбросова // Світ медицини та біології. – 2013. – № 4. – С. 121-125.
2. Прохоренко Т. С. Система фактора некрозу опухолей  $\alpha$  в патогенезі аутоімунного сахарного діабета / Т. С. Прохоренко, Саприн Т. В., Лазаренко Ф. Э. [и др.] // Бюллетень сибірської медицини. – 2011. – № 1. – С. 64-70.
3. Brodie G. M. B-cells promote intra-islet CD8<sup>+</sup> cytotoxic T-cell survival to enhance type 1 diabetes / G. M. Brodie, M. Wallberg, P. Santamaria, F. S. Wong, E. A. Green // Diabetes. – 2008. – Vol. 57 (4). – P. 909-917.
4. Dandona P. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes / P. Dandona, A. Aljada, A. Bandyopadhyay // Trends Immunol. – 2004. – Vol. 25. – P. 4-7.
5. Festa A. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) / A. Festa, R. Jr. D'Agostino, G. Howard [et al.] // Circulation. – 2000. – Vol. 102. – P. 42-47.
6. Gargna-Compebn D. I. Plasma cytokine levels imbalance in cirrhotic patients with impaired glucose tolerance and diabetes mellitus. A prospective study / D. I. Gargna-Compebn, J. O. Jbquez-Quintana, F. J. Lavalle-Gonzblez [et al.] // Ann. Hepatol. 2014. – Vol. 13 (4). – P. 403-410.
7. Jousen A. M. TNF- $\alpha$  mediated apoptosis plays an important role in the development of early diabetic retinopathy and long-term histopathological alterations / A. M. Jousen, S. Doehmen, M. L. Le [et al.] // Molecular Vision. – 2009. – Vol. 15. – P. 1418-1428.
8. Jung D. -S. Apoptosis occurs differentially according to glomerular size in diabetic kidney disease / D. -S. Jung, S. H. Lee, S. -J. Kwak [et al.] // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2012. – Vol. 27 (1). – P. 259-266.
9. Kьhtreiber W. M. Central role of defective apoptosis in autoimmunity / W. M. Kьhtreiber, T. Hayashi, E. A. Dale, D. L. Faustman // Journal of Molecular Endocrinology. – 2003. – Vol. 31 (3). P. -373-399.
10. Leijon K. Non-obese diabetic (NOD) mice display enhanced immune responses and prolonged survival of lymphoid cells / K. Leijon, B. Hammarstrom, D. Holmberg // International Immunology. – 1994. – Vol. 6 (2). P. 339-345.
11. Luo X. Immunotherapy of type 1 diabetes: where are we and where should we be going? / X. Luo, K. C. Herold, S. D. Miller // Immunity. – 2010. – Vol. 39 (4). – P. 488-499.
12. Mastrandrea L. Etanercept treatment in children with new-onset type 1 diabetes: pilot randomized, placebo-controlled, double-blind study / L. Mastrandrea, J. Yu, T. Behrens [et al.] // Diabetes Care. – 2009. – Vol. 39 (7). – P. 1244-1249.
13. Peters M. J. Etanercept treatment in children with new-onset type 1 diabetes: pilot randomized, placebo-controlled, double-blind study: response to / M. J. Peters [et al.] // Diabetes Care. – 2009. – Vol. 39 (12). – P. e153.
14. Phillips C. M. Does inflammation determine metabolic health status in obese and nonobese adults? / C. M. Phillips, I. J. Perry // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2013. – Vol. 98. – P. E1610-E1619.
15. Shi Y. The global implications of diabetes and cancer / Y. Shi, F. B. Hu // The Lancet. – 383 (9933). – P. 1947-1948.
16. Wellen K. E. Inflammation, stress and diabetes / K. E. Wellen, G. S. Hotamisligil // J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P. 1111-1119.

УДК 616.379-008.64]-616-092.19

### СТАН СИСТЕМИ $\alpha$ -ФАКТОРА НЕКРОЗУ ПУХЛИН ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ 1 ТА 2 ТИПІВ

Мазур Л. П.

**Резюме.** Метою дослідження було вивчити концентрацію  $\alpha$ -ФНП та в пацієнтів з цукровим діабетом та кількість клітин крові, що несуть мембранозв'язуючі рецептори  $\alpha$ -ФНП першого типу, і оцінити їх залежність від типу, ступеня важкості ЦД та ступеня компенсації глікемії.

Було обстежено 83 хворих на ЦД 1 типу та 89 – на ЦД 2 типу. Концентрацію  $\alpha$ -ФНП вивчали з допомогою твердофазного імуноферментного методу. Кількість клітин крові, що несуть мембранозв'язуючі рецептори  $\alpha$ -ФНП першого типу, оцінювали методом проточної лазерної цитометрії.

У всіх групах пацієнтів з цукровим діабетом виявлено підвищення концентрації  $\alpha$ -ФНП в сироватці крові. При ЦД 1 типу вміст цитокину становив  $(79,16 \pm 1,94)$  пкг/мл, при ЦД 2 типу –  $(81,82 \pm 2,11)$  пкг/мл. Концентрація  $\alpha$ -ФНП значно зростала у пацієнтів з важкою формою ЦД 2 типу. Кількість ФНП-Р1-клітин у обстежених із ЦД 1 типу зростала до  $(69,72 \pm 6,18)$  % та із ЦД 2 типу – до  $(27,42 \pm 3,15)$  % при компенсації та до  $(53,60 \pm 5,34)$  % при декомпенсації. Рівні  $\alpha$ -ФНП та кількість ФНП-Р1-клітин корелювали з компенсацією діабету та виражено зростали при незадовільній компенсації глікемії.

Стан системи  $\alpha$ -ФНП та його зв'язаної з клітинними мембранами фракції ФНП-Р1 динамічно змінюється при цукровому діабеті, виступаючи важливим первинним компонентом аутоімунності при ЦД 1 типу та, в певній мірі, компенсаторним механізмом «метаболічного імунодефіциту» при ЦД 2 типу.

**Ключові слова:** цукровий діабет,  $\alpha$ -ФНП, рецептори  $\alpha$ -ФНП першого типу.

УДК 616.379-008.64]-616-092.19

**СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ  $\alpha$ -ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 И 2 ТИПОВ**  
**Мазур Л. П.**

**Резюме.** Целью исследования было изучить концентрацию  $\alpha$ -ФНО у пациентов с сахарным диабетом и количество клеток крови, несущих мембраносвязанные рецепторы  $\alpha$ -ФНО первого типа, и оценить их зависимость от типа, степени тяжести СД и степени компенсации гликемии.

Было обследовано 83 больных с СД 1 типа и 89 – с СД 2 типа. Концентрацию  $\alpha$ -ФНО изучали с помощью твердофазного иммуноферментного метода. Количество клеток крови, несущих мембраносвязанные рецепторы  $\alpha$ -ФНО первого типа, оценивали методом проточной лазерной цитометрии.

Во всех группах пациентов с сахарным диабетом выявлено повышение концентрации  $\alpha$ -ФНО в сыворотке крови. При СД 1 типа содержание цитокина составило  $(79,16 \pm 1,94)$  пг/мл, при СД 2 типа –  $(81,82 \pm 2,11)$  пг/мл. Концентрация  $\alpha$ -ФНО значительно возрастала у пациентов с тяжелой формой СД 2 типа. Количество ФНО-Р1-клеток у обследованных с СД 1 типа возрастала до  $(69,72 \pm 6,18)\%$  и с СД 2 типа – до  $(27,42 \pm 3,15)\%$  при компенсации и до  $(53,60 \pm 5,34)\%$  при декомпенсации. Уровни  $\alpha$ -ФНО и количество ФНО-Р1-клеток коррелировали с компенсацией диабета и выражено увеличивались при неудовлетворительной компенсации гликемии.

Состояние системы  $\alpha$ -ФНО и его связанной с клеточными мембранами фракции ФНО-Р1 динамически изменяется при сахарном диабете, выступая важным первичным компонентом аутоиммунитета при СД 1 типа и, в определенной степени, компенсаторным механизмом «метаболического иммунодефицита» при СД 2 типа.

**Ключевые слова:** сахарный диабет,  $\alpha$ -ФНО, рецепторы  $\alpha$ -ФНО первого типа.

UDC 616.379-008.64]-616-092.19

**Condition Of The  $\alpha$ -Tumor Necrosis Factor System in Diabetes Mellitus Type 1 and 2**  
**Mazur L. P.**

**Abstract.** According to a number of studies,  $\alpha$ -TNF has cytotoxic effect regarding beta-cells of Langerhans islets of the pancreas. Also high levels of this cytokine in patients with newly diagnosed type 1 diabetes was found. The content of  $\alpha$ -TNF still high for the complete disappearance of the functional activity of the beta cells, allowing hypothesize about the association of hyperglycemia with persistent chronic inflammation.

However, it remains understudied problem of balance and relationship between components of  $\alpha$ -TNF and its role in the development of the diabetes types 1 and 2 and its chronic complications.

*The aim* of the study was to evaluate the concentration of  $\alpha$ -TNF in patients with diabetes and the number of blood cells, which carry the  $\alpha$ -TNF first type membrane-bound receptor, and to assess their dependence on the type, severity of diabetes and degree of glycaemia compensation.

*Materials and methods.* Were examined 83 patients with type 1 and 89 – with type 2 diabetes mellitus. The  $\alpha$ -TNF concentration was performed using solid-phase immunoenzymatic method. The number of blood cells, which carry the  $\alpha$ -TNF first type membrane-bound receptor was evaluated by laser flow cytometry.

*Results and discussion.* Analyzing the received data pronounced activation of systemic inflammation and increased content of  $\alpha$ -TNF, as key component in patients with type 2 diabetes was found. Obviously, this feature is caused by a combination in the pathogenesis of type 2 diabetes of various mutually aggravating mechanisms and metabolic disorders. In all groups of patients with diabetes was founded increased concentration of  $\alpha$ -TNF in serum. In DM type 1 cytokine levels were  $(79,16 \pm 1,94)$  pg/ml, with type 2 diabetes –  $(81,82 \pm 2,11)$  pg/ml. In studying the dependence of increasing concentrations of  $\alpha$ -TNF on the severity of type 2 diabetes it was found its substantial increase in patients with severe disease. The concentration of  $\alpha$ -TNF significantly increased in patients with severe type 2 diabetes. Number of TNF-R1 cells in patients with type 1 diabetes increased to  $(69,72 \pm 6,18)\%$ , and to  $(27,42 \pm 3,15)\%$  – with compensation, and to  $(53,60 \pm 5,34)\%$  – with decompensation of type 2 DM. Levels of  $\alpha$ -TNF and TNF-number P1 cells correlated with compensation of diabetes mellitus and significantly increased in the case of unsatisfactory glycaemia compensation.

It should be noted that the number of TNF-R1 cells is also dependent on the severity of the underlying disease, the highest rates were observed in patients with severe disease, increasing 7,3 times compared with the control and 3,1 times – compared with a group of patients with an average severity of type 2 diabetes ( $p < 0.001$ ).

*Conclusions.* The condition of the system of  $\alpha$ -TNF and cells, which carry membrane-bound fraction of TNF-R1, dynamically changes, as an important primary component of the autoimmunity, in type 1 diabetes mellitus, and to some extent, as a compensatory mechanism for «metabolic immunodeficiency», in type 2 DM.

**Keywords:** diabetes mellitus,  $\alpha$ -TNF,  $\alpha$ -TNF receptor type one.

*Рецензент – проф. Старченко І. І.*

*Стаття надійшла 19. 06. 2014 р.*