

Б.М. Маньковський, А.М. Урбанович

Вміст лептину крові та активність системної запальної відповіді у хворих на цукровий діабет 2-го типу із різною масою тіла та тривалістю процесу

Метою нашої роботи було встановити взаємозв'язок вмісту лептину крові та маркерів генералізованого неспецифічного запалення у пацієнтів із цукровим діабетом (ЦД) 2-го типу залежно від його тривалості, наявності надлишкової маси та ожиріння. Порівнювали вміст лептину та інтерлейкінів (ІЛ) ІЛ-2, ІЛ-6, туморнекротичного фактора α (TNF- α) у групах із різною тривалістю ЦД 2-го типу, із нормальною та надлишковою масою тіла та ожирінням. У пацієнтів із підвищеним вмістом лептину виявлено достовірно нижчий вміст TNF- α ($7,82 \pm 0,34$ нг/мл). Також спостерігалось позитивна кореляція останнього із індексом маси тіла ($r=0,48$, $P<0,0001$), ІЛ-6 ($r=0,13$, $P=0,019$), що спричиняється збільшенням пулом вісцеральної жирової тканини, яка продукує лептин та 10–35 % ІЛ-6. У пацієнтів із вперше виявленим ЦД 2-го типу достовірно нижчий вміст лептину ($19,35 \pm 1,39$ нг/мл) та TNF- α ($7,82 \pm 0,94$ нг/мл). Найвищий вміст лептину та цитокінів був у пацієнтів із тривалістю ЦД від 5 до 10 років, як правило, саме у цей період відбувається розвиток серцево-судинних ускладнень. Вміст лептину ($6,39 \pm 1,15$ нг/мл) достовірно найнижчий, а вміст TNF- α ($11,37 \pm 3,77$ нг/мл) та ІЛ-6 ($10,12 \pm 6,91$ нг/мл) найвищий у групі пацієнтів із нормальною масою. Ймовірно, саме підвищений вміст цих цитокінів дає змогу зберігати нормальну масу тіла таким пацієнтам. Відомо, що при тривалій глюкозотоксичності та ліпотоксичності виникає метаболічна імуносупресія, яка визначається змінами в Т-клітинній ланці імунітету, що також сприяє виникненню аутоімунності при ЦД 2-го типу.

Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу, лептин, інтерлейкін-2, інтерлейкін-6, туморнекротичний фактор α .

ВСТУП

Дослідження останніх років свідчать про залучення імунної системи у патогенез цукрового діабету (ЦД) 2-го типу та макросудинних ускладнень захворювання. Медіатори генералізованого неспецифічного запалення є предикторами розвитку цього захворювання. У пацієнтів із наявним ЦД 2-го типу виявляють підвищений вміст ліпоцитокінів [1–3].

Окрім цього, є відомості, що гормон жирової тканини – лептин відіграє істотну роль у регуляції імунологічної відповіді. Незважаючи на велику кількість досліджень, його роль у системному запаленні, патогенезі розвитку ЦД 2-го типу та розвитку серцево-судинних

ускладнень залишається незрозумілою і досі невивченою. Лептин модулює концентрацію про- та протизапальних цитокінів, оскільки активує такі запальні клітини, як макрофаги, нейтрофільні гранулоцити, Т-лімфоцити. Він впливає на синтез та активацію маркерів генералізованого неспецифічного запалення – туморнекротичного фактора α (TNF- α), інтерлейкінів (ІЛ) – ІЛ-6, ІЛ-12, ІЛ-10, С-реактивного білка (СРБ). Встановлений прямий кореляційний зв'язок між вмістом TNF- α , СРБ, ІЛ-6 і лептином у здорових осіб. Лептин, TNF- α , ІЛ-6, ІЛ-2 та інші цитокіни безпосередньо пов'язані між собою і регулюються тими самими механізмами – через PPAR- γ (від англ. peroxisome proliferator-activated receptor). Ві-

рогідно, що лептин прямо або опосередковано через імунну систему може змінювати активацію та синтез цитокінів, які роблять значний внесок у виникнення та прогресування ЦД 2-го типу та серцево-судинної патології [3–6].

Механізми розвитку ЦД 2-го типу та його ускладнень нині вивчені не достатньо. Численні дослідження останніх років скеровані на в'яснення ролі гормонів, які продукуються жировою тканиною, серед яких одним із основних є лептин, та маркерів генералізованого неспецифічного запалення, зокрема TNF- α , ІЛ-2 та ІЛ-6, які частково теж продукуються жировою тканиною.

Мета нашої роботи – встановити взаємозв'язок вмісту лептину крові та маркерів генералізованого неспецифічного запалення у пацієнтів із ЦД 2-го типу залежно від його тривалості, наявності надлишкової маси та ожиріння.

МЕТОДИКА

Обстежено 154 жінки та 151 чоловік із ЦД 2-го типу. Для діагностики ожиріння та його ступеня застосовували класифікаційні критерії ВООЗ (1997) із встановленням індексу маси тіла (ІМТ): ІМТ від 19 до 24,99 кг/м² – нормальна маса; ІМТ від 25 до 29,99 кг/м² – надлишкова маса; ІМТ від 30 до 34,99 кг/м² – 1-й ступінь ожиріння; ІМТ від 35 до 39,99 кг/м² – 2-й ступінь ожиріння; ІМТ понад 40 кг/м² – 3-й ступінь ожиріння. Обстеження проводили на базі Львівського обласного ендокринологічного диспансеру.

Порівнювали вміст лептину та TNF- α , ІЛ-2, ІЛ-6 у групах із різною тривалістю ЦД, із нормальною і надлишковою масою тіла та ожирінням. Групи були зіставлені за

віком та компенсацією діабету.

Кров для аналізу забирали натщесерце. Вміст лептину в крові визначали імуноферментним методом («ELISA») за допомогою набору реактивів фірми «DRG» (Німеччина), TNF- α , ІЛ-2 та ІЛ-6 за допомогою наборів реактивів фірми «Diacolone» (Франція).

Під час клінічного дослідження дотримувалися передбачених у таких випадках заходів безпеки для здоров'я пацієнта, захисту його прав, людської гідності та морально-етичних норм відповідно до принципів Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини, відповідних законів України.

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою параметричних методів тесту Стьюдента та кореляційного аналізу з визначенням коефіцієнта Пірсона, а у разі невідповідності нормальному розподілу – за допомогою тесту Колмогорова-Смирнова та з визначенням коефіцієнта Спірмена. Результати представлені у вигляді середнього значення й стандартного відхилення та коефіцієнта кореляції r . Достовірними вважали значення при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Пацієнти були розділені на дві групи: 1-ша – із вмістом лептину в межах норми, 2-га – із підвищеним вмістом гормону (норми: чоловіки: 3,84 \pm 1,79 нг/мл, жінки: 7,36 \pm 3,73 нг/мл). У 1-й групі вміст лептину у жінок становив 3,9 \pm 0,68 нг/мл, у чоловіків 3,01 \pm 0,23 нг/мл; у 2-й групі вміст лептину у жінок був 39,7 \pm 2,24 нг/мл, у чоловіків 19,91 \pm 3,25 нг/мл. Результати аналізу вмісту цитокінів у цих групах представлені у табл. 1.

Таблиця 1. Вміст цитокінів (нг/мл) у групах із нормальним і підвищеним вмістом лептину в крові хворих на цукровий діабет 2-го типу

Показник	Група 1 (n=61)	Група 2 (n=244)
Туморнекротичний фактор α	9,0 \pm 1,62	7,82 \pm 0,34*; $P < 0,05$
Інтерлейкін-2	6,38 \pm 0,37	6,67 \pm 0,45
Інтерлейкін-6	2,71 \pm 0,48	2,55 \pm 0,21

* $P < 0,05$.

Виявлено нижчий вміст TNF- α ($7,82 \pm 0,34$ нг/мл, $P < 0,05$) у групі пацієнтів із підвищеним вмістом лептину. Достовірних змін у вмісті інтерлейкінів не виявлено.

Слід відмітити позитивну кореляцію вмісту лептину із ІМТ ($r=0,48$, $P < 0,0001$), ІЛ-6 ($r=0,13$, $P=0,019$), що спричиняється збільшеним пулом вісцеральної жирової тканини, яка продукує лептин та 10–35 % ІЛ-6 [8, 9]. Не виявлено кореляції між вмістом лептину та TNF- α , ІЛ-2 (рисунок).

Після розподілу пацієнтів на групи із різною тривалістю ЦД отримано результати, які представлені у табл. 2.

У пацієнтів із вперше виявленим ЦД 2-го типу спостерігалися достовірно нижчий вміст лептину ($19,35 \pm 1,39$ нг/мл) та TNF- α ($7,82 \pm 0,94$). Найвищий вміст лептину та цитокінів був у групі пацієнтів із тривалістю захворювання від 5 до 10 років, як правило, саме у цей період відбувається розвиток серцево-судинних ускладнень. Доведено, що TNF- α спричиняє підвищення генерації вільних радикалів, що може призводити до інтенсифікації процесів апоптозу та інактивації оксиду азоту в ендотелії [10].

Багатьма авторами лептин та цитокіни вважаються маркерами серцево-судинних захворювань [11, 12]. У групі із тривалістю ЦД від 5 до 10 років виявлено позитивну

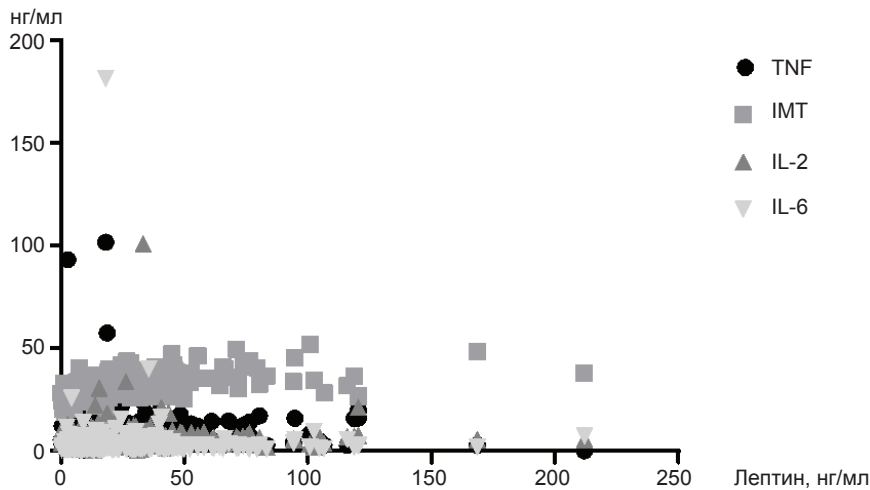
кореляцію між вмістом лептину та ІЛ-6 ($r=0,246$, $P=0,012$).

Лептин має імуномодулювальну функцію, але з огляду на його про- та протизапальну дію важко передбачити остаточний цього гормону на виникнення запального процесу в організмі. Можна припустити, що при розвитку хронічного неспецифічного запалення, яке формується зі збільшенням тривалості ЦД збільшується концентрація прозапальних цитокінів. Це призводить до зростання вмісту лептину, що ми і бачимо у нашому дослідженні. Разом із цим причинно-наслідковий зв'язок потребує подальшого вивчення.

При розподілі пацієнтів із ЦД 2-го типу на групи залежно від наявності ожиріння, надлишкової та нормальної маси тіла, отримано результати, представлені у табл. 3.

Вміст лептину достовірно найнижчий у групі пацієнтів із нормальною масою тіла, що підтверджено багатьма дослідниками. Водночас вміст TNF- α та ІЛ-6 є найвищими у цій самій групі пацієнтів. Ще у 1993 р. були вперше опубліковані відомості, про те, що TNF- α продукується жировими клітинами, бере участь в енергетичному обміні та знижує масу тіла [13].

Також доведено, що ІЛ-6 стимулює оксидацию жирних кислот як у адипоцитах, так і в м'язових клітинах [14]. Ці дані дають



Кореляція між вмістом лептину, цитокінами та індексом маси тіла

Таблиця 2. Вміст (нг/мл) лептину, цитокинів в крові у групах хворих на цукровий діабет (ЦД) 2-го типу із різною тривалістю захворювання

Групи пацієнтів	Лептин	Туморнекротичний фактор α	Інтерлейкін-2	Інтерлейкін-6
Пацієнти із вперше виявленим ЦД (група 1; n=112)	19,35±1,39 $P_1 < 0,005$	7,82±0,94	6,94±0,94	2,86±0,41
Пацієнти із тривалістю ЦД до 5 років (група 2; n=113)	28,34±2,70	8,29±2,63 $P_4 < 0,05$	6,37±0,28	2,32±0,22
Пацієнти із тривалістю ЦД від 5 до 10 років (група 3; n=46)	33,85±5,58 $P_2 < 0,001$	11,83±2,17 $P_2 < 0,05$	7,51±0,79	6,25±3,90
Пацієнти із тривалістю ЦД понад 10 років (група 4; n=34)	30,10±6,12 $P_3 < 0,05$	8,24±0,83	6,15±0,41	3,03±0,78

змогу припустити, що він є ліполітичним фактором та має здатність знижувати вміст жиру в організмі.

Frankhauser S. із співавт. [15] у моделі на мишах довели, що при тривало підвищеному вмісті ІЛ-6 знижується вміст лептину. Ймовірно це відбувається через зменшення маси жиру. Ці дані підтверджують і отримані нами результати.

Позитивну кореляцію вмісту лептину виявлено у 1-й групі із TNF- α ($r=0,412$, $P=0,036$), у 2-й групі із ІЛ-2 ($r=0,266$, $P=0,016$).

Відомо, що при тривалій глікозотоксичності та ліпотоксичності виникає метаболічна імуносупресія, яка визначається змінами в Т-клітинній ланці імунітету, що також сприяє виникненню ауто імунності при збільшенні тривалості ЦД 2-го типу [16].

Відповідно, можна припустити, що TNF- α , ІЛ-2 та ІЛ-6 на рівні із лептином сприяють

розвитку гіперглікемії, а надалі ускладненням ЦД 2-го типу [17].

ВИСНОВКИ

1. Найвищий вміст TNF- α , ІЛ-2 та ІЛ-6 спостерігається при тривалості ЦД 2-го типу від 5 до 10 років, що може відігравати свою роль у патогенезі розвитку серцево-судинних ускладнень, які активно прогресують саме у цей період.

2. При ЦД 2-го типу формується новий рівень регуляторних взаємозв'язків, де важливе значення мають зміни у синтезі цитокинів. Розвиток і прогресування цього захворювання тісно пов'язані з порушенням неспецифічної ланки імунітету, що дає підстави розробляти комплексну терапію, спрямовану на пригнічення запалення та синтезу прозапальних цитокинів.

Таблиця 3. Вміст (нг/мл) лептину, цитокинів в крові у групах хворих на цукровий діабет 2-го типу із нормальною надлишковою масою тіла та ожирінням

Групи пацієнтів з різним індексом маси тіла (ІМТ)	Лептин,	Туморнекротичний фактор α	Інтерлейкін-2	Інтерлейкін-6
Пацієнти із ІМТ до 24,9 кг/м ² (група 1; n=43)	6,39±1,15 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,0001$	11,37±3,77 $P_2 < 0,05$	6,82±0,84	10,12±6,91 $P_2 < 0,01$
Пацієнти із ІМТ до 29,9 кг/м ² (група 2; n=88)	19,35±2,61 $P_3 < 0,0005$	8,81±0,71	6,69±0,38	2,46±0,29
Пацієнти із ІМТ понад 30 кг/м ² (група 3; n=174)	33,25±2,26	7,68±0,45	6,10±0,30	2,67±0,27

Б.Н. Маньковский, А.М. Урбанович

СОДЕРЖАНИЕ ЛЕПТИНА КРОВИ И АКТИВНОСТЬ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА С РАЗНОЙ МАССОЙ ТЕЛА И ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ПРОЦЕССА

Основные исследования последних годов направлены на изучение роли гормонов жировой ткани, среди которых одним из основных является лептин, и маркеров генерализованного неспецифического воспаления интерлейкинов (ИЛ) ИЛ-2, ИЛ-6 и туморнекротического фактора α (TNF- α), в патогенезе развития сахарного диабета (СД) и его осложнений. Установлено, что при длительности этого заболевания от 5 до 10 лет наблюдается самое высокое содержание лептина и цитокинов, а именно в этот период происходит формирование сердечно-сосудистых осложнений. Следует отметить, что содержание лептина достоверно ниже у пациентов с нормальной массой тела, в то время, как содержания ИЛ-6 и TNF- α самые высокие у этой группы больных. Очевидно, именно повышенное содержание этих цитокинов позволяет сохранить нормальную массу тела таким пациентам. Несмотря на тот факт, что СД 2-го типа считается не аутоиммунным заболеванием, известно, что при длительной глюкозотоксичности и липотоксичности возникает метаболическая иммуносупрессия, которая ведет к изменениям в Т-клеточном звене иммунитета, что приводит к развитию аутоиммунитета. Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типу, лептин, интерлейкин-2, интерлейкин-6, туморнекротический фактор α .

В. Mankovsky, A. Urbanovych

THE BLOOD LEPTIN CONTENT AND THE ACTIVITY OF THE ZONAL SYSTEM RESPONSE IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2 WITH DIFFERENT BODY WEIGHT AND DISEASE DURATION

Recent studies focused on the adipose tissue hormones role, especially leptin as one of the basic and generalized nonspecific inflammation markers among them. Some of the major markers are IL-2, IL -6 and TNF- α , in the pathogenesis of diabetes (DM) and its complications. It is established that patients with type 2 diabetes lasting from 5 to 10 years represent the highest leptin and cytokines levels, and during this period cardiovascular complications of type 2 diabetes are formed. Also it is found that the leptin level was significantly lower in patients with normal body weight, while the levels of IL-6 and TNF- α are the highest in these patients. Obviously, the increased level of these cytokines helps to maintain a normal body weight in these patients. Despite the fact that type 2 diabetes is considered a non-autoimmune disease, it is known that for a long glucose toxicity and lipotoxicity metabolic immunosuppression occurs, which causes changes in T-cell immunity, and consequently to autoimmunity.

Львів. мед. ун-т
E-mail: alinaur@dr.com

Key words: diabetes mellitus, leptin, interleicin.

Lviv Medical University.

REFERENCES

1. Donath MY., Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2011;11(2):98-07.
2. Herder C, Haastert B, Muller-Scholze S. Association of systemic chemokine concentrations with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes: results from the Cooperative Health Research in the Region of Augsburg Survey S4 (KORA S4). *Diabet.* 2005;54(2):11-7.
3. Su SC, Pei D, Hsieh CH. Circulating proinflammatory cytokines and adiponectin in young men with type 2 diabetes. *Acta Diabetol.* 2011;48(2):113-19.
4. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2006; 116: 1793-01.
5. Tilg H, Moschen AR. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med.* 2008; 14 (3-4): 222-31.
6. Fantuzzi G, Mazzone T. Adipose tissue and atherosclerosis: Exploring the connection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27: 996-03.
7. Maruyama I., Nakata M., Yamaji K. Effect of leptin in platelet and endothelial cells. *Obesity and arterial thrombosis. Ann.NY Acad. Sci.* 2000; 902: 315-9.
8. Coppack S. W. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc. Nutr. Soc.* 2001; 60:349-56.
9. Sopasaki VR, Sandqvist M, Gustafson B. High local concentrations and effects on differentiation implicate interleukin-6 as a paracrine regulator. *Obes. Res.* 2004;12:454-60.
10. Kopitsa NP. TNF- α : impact on the incidence of recurrent myocardial infarction and sudden cardiac death. *Zaporozh Med J.* 2004; 3(24):14-6. [Russian].
11. Volkov VI, Strona VI. Diseases of the cardiovascular system in women. Kyiv: Chetverta hvylya; 2011. [Russian].
12. Arhipova SV, Zorin NA, Yankin MY. The levels of cytokines and acute phase reactants of inflammation in myocardial infarction in men. *Clinicheskaya Medicina.* 2009;12:20-7. [Russian].
13. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor: direct role in obesity - linked insulin resistance. *Science.* 1993; 259:87 - 91.
14. Petersen EW, Carey AL, Sacchetti M. Acute IL-6 treatment increases fatty acid turnover in elderly humans in vivo and in tissue culture in vitro. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2005; 288:155-62.
15. Frankhauser S, Elias I, Sopakis VR. Overexpression of Il-6 leads to hyperinsulinemia, liver inflammation and reduced body weight in mice. *Diabetol.* 2008; 51:1306-16.
16. Sugano M, Koga T, Yamada K. Lipids and immunology. *Asia Pacific J Clin Nutr.* 2000; 9: 146-52.
17. Baumann H, Morella K K, White D W et al. The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. *Proc Natl Acad Sci.* 1996; 93:8374-8.

Матеріал надійшов до редакції 25.11.2013