

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

УЛЬВИЯ НИЗАМИ КЫЗЫ АЛЕКПЕРОВА

**ОСОБЕННОСТИ ИММУНОГО СТАТУСА
БОЛЬНЫХ АУТОИММУННЫМ
САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ТИП 1**

3205.01– Внутренние болезни
3244.01 – Аллергология-иммунология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
доктора философии по медицине

Баку – 2013

Работа выполнена на базе курса « Иммунология» при кафедре « Детские болезни II » Азербайджанского Медицинского Университета

Научные руководители:

Д.м.н.профессор

Заслуженный деятель науки

Д.м.н.профессор

Р.М. Маммедгасанов

Г.М. Насруллаева

Официальные оппоненты:

Д.м.н.профессор

К.м.н доцент.

В.М.Мирзазаде

С.Н Ахундов

ВЕДУЩЕЕ УЧРЕЖДЕНИЕ: Азербайджанский
Государственный Институт Усовершенствования врачей им.
А.Алиева, кафедра терапии и ЦНИЛ.

Защита состоится «28» марта 2013 г. В 14.00 час на заседании
Диссертационного Совета FD.03.012 при Азербайджанском
Медицинском Университете (Баку, AZ 1022, ул. Бакиханова,23)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке
Азербайджанского Медицинского Университета.

Автореферат разослан «__» _____ 2013 г.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета FD 03/012

Доктор медицинских наук, профессор,

Засл.деятель науки Азерб.Республики

Исаев И.И.

Актуальность проблемы. Сахарный диабет является одним из наиболее распространенных и тяжелых эндокринных заболеваний во всем мире. Эта патология представляет собой глобальную медико-социальную проблему современной медицины, чреватую разрушительными последствиями для человека, общества и экономики. По данным Всемирной организации Здравоохранения (ВОЗ), несмотря на значительные достижения современной медицины, в настоящее время сахарным диабетом страдает свыше 246 млн. человек. По данным ряда ученых (ДедовИ.И. 2006, Коваленко Е.А., Дианов О.А. 2008, Cristopher C. Patterson, Gisela G. Dahlquist 2009) в последние годы происходит увеличение популяции больных СД 1 типа в среднем на 3% в год, и в настоящее время их число составляет около 10% от всех случаев заболевания. Особенно важное значение имеет увеличение числа детей с сахарным диабетом 1 типа. Тем не менее, осведомленность о мировых масштабах угрозы сахарного диабета, причины и механизмы развития этого заболевания остаются недостаточно изученными.

В Азербайджанской Республике число больных также растет с каждым годом. В связи с этим Министерством Здравоохранения Азербайджана была специально разработана и принята Государственная программа по сахарному диабету на 2006-2010-гг. В рамках программы все больные обеспечиваются необходимыми средствами самоконтроля-глюкометрами. Недавно была принята вторая Государственная программа, связанная с мероприятиями по сахарному диабету на 2011-2015гг. Программы, принятые в разных странах по сахарному диабету, являются цепями единой системы ВОЗ, которая планирует улучшение профилактических мер, а также улучшение медицинской помощи больным СД (67,121,168,170). Учитывая все вышесказанное, необходимость дальнейших исследований по сахарному диабету является приоритетным направлением современной медицины.

Сахарный диабет 1 типа — мультифакториальное метаболическое заболевание, характеризующееся гипергликемией, нарушением углеводного и липидного обменов. Сахарный диабет 1-го типа (СД1) является неуклонно прогрессирующим хроническим аутоиммунным заболеванием, при котором происходит селективная органоспецифическая деструкция инсулинпродуцирующих бета-клеток островков Лангерганса (ОЛ) поджелудочной железы,

существенно не влияющая на другие виды клеток ОЛ (альфа, дельта и РР) (Jasinski J.M., Eisenbarth G.S 2005).

Несмотря на широкое изучение отдельных аспектов развития СД, до сих пор остается много невыясненных вопросов в патогенезе данного заболевания. Причины, вызывающие сахарный диабет 1 типа многочисленны, но особо важное значение имеет развитие нарушений в иммунной системе, способствующих развитию аутоиммунного воспаления в ткани поджелудочной железы. Взгляды ученых на роль иммунной системы при СД1 неоднозначны. По мнению Дедова И.И. и Шестаковой М.В. (2002, 2003, 2005 гг.), у больных СД 1 типа имеет место значительный дисбаланс в иммунной системе, сопровождающийся появлением аутоантител к бета-клеткам, к инсулину, к глутаматдекарбоксилазе и тирозин-фосфатазе. Противники данной теории придают главенствующую роль в развитии СД 1 типа иммунокомпетентным лимфоцитам, обладающим цитотоксическим воздействием на инсулин-продуцирующие клетки поджелудочной железы (Асфандиярова Н.С., Шатров В.В. 2006, Лаптев Д.Н. 2009). Таким образом, несмотря на большой интерес эндокринологов и иммунологов к данной патологии и многочисленные исследования в этом направлении, вопросы иммунопатогенеза СД 1 типа продолжают вызывать дискуссии и их нельзя считать окончательно решенными.

В нашей республике изучению сахарного диабета посвящены исследования проф. Мамедгасанова Р.М. (2001, 2006), проф. Мирзазаде В.М 2004 (68), и многих других ученых. Однако специальных научных изысканий, посвященных глубокому и всестороннему изучению иммунных механизмов развития аутоиммунного сахарного диабета с учетом современных возможностей иммунологии, у нас в республике не проводилось.

Цель работы. Определить особенности клинического течения и иммунного статуса у больных с СД 1 типа и провести оценку эффективности проведения иммулотропной терапии.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

1. Выявить характерные анамнестические, возрастные и клинической особенности у больных СД 1 типа.
2. Изучить состояние клеточного и гуморального иммунитета у больных СД 1 типа.

3. Изучить роль специфических аутоантител и цитокинового статуса в развитии аутоиммунного процесса и ранней диагностики СД 1 типа.
4. Определить эффективность применения иммуотропной терапии у больных сахарным диабетом 1 типа.

Научная новизна работы.

На основании проведенных исследований выявлены характерные возрастные, анамнестические и клинические особенности СД1 у детей и взрослых. Найдены наиболее достоверные показатели иммунологических нарушений у этих больных, выражающиеся в активации эффекторных механизмов иммунного ответа и увеличении Т-хелперной популяции. Установлена важная диагностическая роль специфических аутоантител ICA, GAD и IAA, влияющих на тяжесть и характер клинической симптоматики СД1 типа. Выявлено, что активность синтеза про- и противовоспалительных цитокинов является важным и достоверным диагностическим критерием активности аутоиммунного процесса, которая влияет на тяжесть течения заболевания. Изучена целесообразность иммуотропной терапии при лечении аутоиммунного СД 1 типа и определена эффективность такой тактики лечения.

Практическая ценность работы.

На основании репрезентативного количества обследованных больных доказана высокая диагностическая значимость выявления специфических аутоантител ICA, GAD и IAA. Наибольшую роль играет выявление антител к GAD и IAA, имеющих непосредственную связь с тяжестью течения заболевания. У больных СД 1 типа установлено значительное увеличение числа и функциональной активности Т-хелперной популяции иммунокомпетентных лимфоцитов. На активацию функции эффекторных Т-лимфоцитов указывает усиление синтеза провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6. На основании данных лабораторных показателей, а также с учетом клинических данных возможно с высокой степенью достоверности определить аутоиммунный генез СД 1 типа и провести дифференциацию СД 1 и СД2 типа. Установлена эффективность препарата Метотрексат, применение которого в низких дозах (7,5 мг/неделю) обладает иммуномодулирующим действием, в частности приводит к умеренной супрессии аутоиммунного процесса и улучшению клинического состояния больных.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Манифестация клинических проявлений СД1 типа происходит в основном в детском, юношеском и молодом возрасте, причем давность заболевания СД 1 типа на момент обследования у 70% больных составила 2-6 месяцев, у 30% больных – от 6 до 12 месяцев.
2. При СД 1 типа у больных имеет место увеличение численности Т-лимфоцитов (CD8+) и натуральных киллерных клеток (CD16/56+), обладающих прямым цитотоксическим действием, а также достоверное увеличение Т-хелперов (CD4+) и В-лимфоцитов (CD19+), которые вместе стимулируют синтез аутоиммунных специфических антител. Активация функции клеточного иммунитета выражается значительным повышением провоспалительных цитокинов TNF-а ($p \leq 0,001$), IL-6 ($p \leq 0,001$),
3. Установлен иммуномодулирующий эффект Метотрексата, включение которого в комплекс лечения больных СД 1 типа способствует снижению активности аутоиммунного процесса, что проявляется понижением уровней специфических аутоантител GAD, IAA и ICA ($p \leq 0,001$) и провоспалительных цитокинов TNF-а и IL-6.

Апробация работы.

Результаты исследования и основные положения диссертации включены в учебную программу кафедры внутренних болезней 2, кафедры детских болезней 2 и курса иммунологии Азербайджанского медицинского университета.

Публикации. По материалам работы опубликовано 12 печатных работ, включая 7 статей, а также тезисы на международных и республиканских конференциях.

Структура диссертации.

Диссертация состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, описание использованных материалов и методов, 2 главы с собственными результатами, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы.

Содержание работы

За период 2007-2011 годы в рамках данного исследования нами было проведено клиническое и лабораторно-инструментальное обследование больных с сахарным диабетом СД 1 и 2 типа с учетом типа заболевания, особенностей течения, наличия осложнений.

Обследовано 90 больных сахарным диабетом, находящихся как на стационарном лечении в отделении эндокринологии детской городской клинической больницы № 6, в отделении эндокринологии городской клинической больницы №4 им. Ф.Эфендиева, а также амбулаторных больных из городского и республиканского эндокринологического диспансеров. Контрольную группу составили 20 молодых практически здоровых людей обоего пола.

Все обследованные были выделены в 3 группы:

1 группа – 70 больных с сахарным диабетом 1 типа

2 группа – 20 больных с сахарным диабетом 2 типа

3 группа – 20 практически здоровых людей – контроль

Все обследованные были подвергнуты опросу по специально разработанной анкете. В процессе обследования всем проводились клиничко- лабораторное и, по необходимости, инструментальное обследование.

Из инструментальных исследований больным СД 1 типа проводилась ультразвуковая эхолокация (УЗИ) органов брюшной полости, в частности, поджелудочной железы и печени. Также проводилось биохимическое обследование данной категории больных: уровень глюкозы натощак, АЛТ и АСТ, уровень общего билирубина, свободный и связанный билирубин, уровень триглицеридов, уровень общего холестерина, а также холестерина высокой и низкой плотности. Для проверки компенсации сахарного диабета у больных изучали уровень гликозилированного гемоглобина (HbA1c) натощак методом иммунохроматографии на аппарате «HERA». Уровень С-пептида для выявления остаточной секреции поджелудочной железы определяли натощак на аппарате «IMMULITE».

Впервые нами проводилось расширенное иммунологическое обследование, включающее следующие показатели клеточного и гуморального иммунитета:

- уровни специфических антител в сыворотке крови – аутоантитела к бета-клеткам (ICAs), к глютаматдекарбоксилазе (GAD) и к инсулину (IAA) иммуноферментным методом (IFA) наборами XEMA на аппарате CHEMWELL;
- Клеточный состав периферической крови определялся на основании иммунофенотипирования лимфоцитов по маркерам

CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16/56+ методом проточной цитометрии на аппарате FAXscan (Becton Dickinson)

- Определение провоспалительных цитокинов IL-6, IL-12 и фактора некроза опухолей TNF- α , а также противовоспалительные цитокины IL-10, IL-13 иммуноферментным методом наборами компании BIOSOURCE;

Статистическая обработка полученных результатов исследования была проведена согласно программе MS EXCEL. Вычислялись средняя арифметическая цифра (M), ошибка средней цифры (m), также проводился непараметрический метод статистического анализа – Уилкоксона-Манна-Уитни при сравнении количественных показателей.

Результаты исследования и их обсуждение.

Обследование больных СД 1 типа начиналось с подробного изучения анамнеза жизни и данного заболевания на основании специально разработанной анкеты. При анкетировании особое внимание уделялось наследственной отягощенности пациентов в отношении эндокринных и аутоиммунных заболеваний, на наличие сопутствующих заболеваний, инфекционные заболевания, предшествующие началу диабета, поствакцинальные реакции и т.д.

Из всех обследованных в 1 группе более 30% (21 больной) имели наследственную отягощенность по сахарному диабету, тогда как во 2 группе этот показатель достигал 55%. Установлено, что наиболее часто у больных СД 1 типа имело место острое начало болезни с выраженной жаждой (88,6%) и учащением мочеиспускания (77,1%), а также наблюдались сухость слизистых оболочек, обложенность и сухость языка (83,3%). Симптомы обычно развивались быстро, в течение нескольких недель - у 23 б-х (38,3%), особенно у детей школьного возраста, и сопровождалась нарастанием общей слабости. Другим важным симптомом явилось необоснованное другими причинами снижение массы тела более 10% (у 35,7% больных). В первой группе больных значительно выявлялись эпизоды гипергликемии, а в группе с СД 2 типа только у 5 больных наблюдалась выраженная гипергликемия в первые дни болезни. Несмотря на широко распространенное мнение, что существует связь между перенесенным в детстве эпидемическим паротитом и развитием СД, в нашем исследовании только 1 пациент перенес

данную инфекцию в прошлом. У 11% больных этой группы имелись члены семьи с какой-либо аутоиммунной патологией (тиреоидит, ревматоидный артрит). У 15,2 % больных имелись хронические очаги инфекции в носоглотке в виде тонзиллита, фарингита, отита. У 7,5 % больных отмечались разные виды паразитарных инвазий (аскаридоз, энтеробиоз).

При изучении давности заболевания у больных в 1 и 2 исследуемых группах были получены следующие данные. В группе с СД 1 типа давность заболевания менее 6 месяцев отмечалась у 71% больных, от 6 до 12 месяцев – у 29% обследованных. У больных со 2 типом СД эти показатели составили соответственно 33% и 66%. Следует отметить, что первые проявления СД 1 типа у детей младшего школьного возраста проявляются раньше, чем у подростков и молодых людей и постановка диагноза болезни возможна уже в первые 2-3 месяца болезни.

При изучении состояния клеточного иммунитета у больных СД 1 и 2 типа, установлено, что у больных с СД 1 типа увеличено общее содержание лейкоцитов в 1 мкл периферической крови по сравнению с СД 2 типа и контрольной группой. Следует отметить, что хотя относительное содержание лимфоцитов у больных с сахарным диабетом 1 и 2 типа практически одинаково с показателями контрольной группы, важное значение имеют абсолютные значения данных показателей. При изучении абсолютного содержания лимфоцитов выявляется достоверное увеличение их количества у больных с сахарным диабетом 1 типа ($3960 \pm 143/\text{мл}$), как по отношению к 2 группе больных ($2120 \pm 89/\text{мл}$), так и к контролю ($1200 \pm 75/\text{мл}$). Такая же тенденция наблюдалась и в отношении Т-лимфоцитов (соответственно $2003,9 \pm 13$, $1771,8 \pm 15$ и $1230 \pm 1,3$ в 1 мл), а что указывает на непосредственную роль клеточного иммунитета в процессе развития СД.

У больных с сахарным диабетом 1 типа выявляется статистически значимое увеличение процентного и абсолютного содержания цитотоксических популяции Т-лимфоцитов по сравнению с контролем. Однако, содержание цитотоксических лимфоцитов в 1 и 2 исследуемых группах достоверно не различимы (в 1 группе - $545 \pm 6,4/\text{мл}$, во 2 группе - $532 \pm 26,5/\text{мл}$ и $260 \pm 42/\text{мл}$ в контроле).

Нами было выявлено, что именно у больных СД 1 типа имеет место достоверное увеличение клеток В-лимфоцитарной популяции

(CD19+), которые стимулируют антителогенез, в частности синтез аутоиммунных специфических антител. С другой стороны, только в группе больных с СД 1 типа достоверно увеличено число цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+) и натуральных киллерных клеток (CD16/56+), активирующих аутоиммунную агрессию ткани поджелудочной железы.

У больных с сахарным диабетом 2 типа относительное и абсолютное содержание как лимфоцитов, обладающих хелперным свойствами, так и цитотоксических Т-лимфоцитов достоверных различий по отношению к контролю не имело.

С целью выявления аутоиммунного генеза СД 1 типа нами было проведено изучение специфических аутоантител во всех трех обследуемых группах. Появление и нарастание уровней аутоантител является патогномичным признаком аутоиммунной агрессии в организме.

Установлено, что у 23% больных I группы имело место одновременное появление специфических аутоантител всех трех изучаемых классов - ICA, GAD и IAA. Причем уровень аутоантител у больных нарастал неодинаково. Особого внимания заслуживает тот факт, что у 14% больных с выявленным сахарным диабетом 1 типа выявлялся лишь один тип аутоантител. В частности, в этой группе больных частота выявления только одного типа антител составляет: ICA -30%, антитела к GAD-70%, IAA-20%. У остальных 67 % больных СД1 типа выявлялись только 2 вида специфических аутоантител.

Таблица 1. Показатели концентрации специфических аутоантител у больных с сахарным диабетом 1 типа и 2 типа.

Показатели	Контроль n=20	СД 1 типа N=70	P1	СД 2 типа n=20	P2
IAA ед/мл	0,54±0,02	1,35±0,11	≤0,001	0,52±0,07	≤0,001
GAD ед/мл	0,61±0,03	1,26±0,03	≤0,001	0,65±0,06	≤0,001
ICA ед/мл	0,59±0,02	1,039±0,03	≤0,001	0,74±0,04	≤0,001

P1 - достоверность сахарного диабета 1 типа по отношению контролю

P2 - достоверность сахарного диабета 2 типа по отношению к I группе

Характерно, что наибольший рост концентрации аутоантител был выявлен в отношении IAA (в 3 раза выше контрольных) и для GAD (в 2 раза выше контрольных значений).

Установлено, что как у больных с СД 2 типа, так и в контрольной группе не обнаруживались положительные результаты в отношении аутоантител к поджелудочной железе ($\leq 0,001$).

В группе больных с СД 1 типа 10 пациентов (20 %) никогда ранее не получали инсулин и забор крови для анализа у них проводился до назначения инсулина. Обследованные больные не имели осложнений, связанных с развитием СД. У данной категории больных, наиболее часто имело место достоверное повышение антител GAD, IAA и в меньшей степени - антител типа ICA. Этот факт, несомненно, имеет важное диагностическое значение при идентификации СД 1 типа.

Была определена возрастная зависимость появления различных видов антител у больных СД тип 1. Нами впервые выявлено, что у детей до 10 лет (14 больных) в 85% случаев отмечается положительный тест на GAD, в 48 % - на ICA и в 29% - на антитела IAA. У больных в возрасте от 10-до 20 лет в 84% случаев отмечается положительный тест на GAD, у 68% - на IAA, антитела ICA выявлялось в 48 % случаев. У больных старше 20 лет в 72% случаев отмечается положительный тест на GAD, в 72 % случаев - на ICA и у 64% больных – на антитела IAA. Таким образом, была установлена несомненная диагностическая роль отдельных типов специфических аутоантител, в первую очередь GAD и IAA.

Процесс аутоиммунной деструкции β -клеток приводит к уменьшению популяции этих клеток в ткани поджелудочной железы, а со временем и к развитию инсулиновой недостаточности. К дополнительным показателям, которые наряду с аутоантителами GAD, IAA и ICA указывают на аутоиммунную реакцию против ткани поджелудочной железы, относится также С-пептид.

С-пептид - это неактивный фрагмент молекулы проинсулина, в результате метаболизма которого образуется активный инсулин. В нашем исследовании у больных мы определяли С-пептид у 38 больных СД 1 типа и у 10 больных с СД 2 типа. Было установлено, что средние показатели С-пептида у больных из первой группы обследованных ниже, чем в контрольной группе ($0,52 \pm 0,1$ нг/мл). В норме содержание С-пептида в крови натощак колеблется от 0,78 до 1,89 нг/мл (СИ: 0,26-0,63 ммоль/л)

В отличие от этих больных в исследуемой группе с СД 2 типа, определялся уровень С-пептида в 3 раза выше, чем у здоровых и в 5 раз выше относительно показателей больных 1 группы. Такое

различие в содержании С-пептида у больных 1 и 2 исследуемых групп позволяет считать, что уровень С-пептида является достоверным диагностическим критерием дифференциации СД 1 типа.

Таким образом, наряду с показателями специфических аутоантител, уровень С-пептида является информативным маркером остаточной секреции у больных с сахарным диабетом 1 типа.

При изучении цитокинового статуса установлено, что у больных аутоиммунным СД происходит активация синтеза как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов. Особенно высокие значения были выявлены в показателях ИЛ-13 и TNF- α , которые у некоторых больных превышали контрольные значения в 12-20 раз.

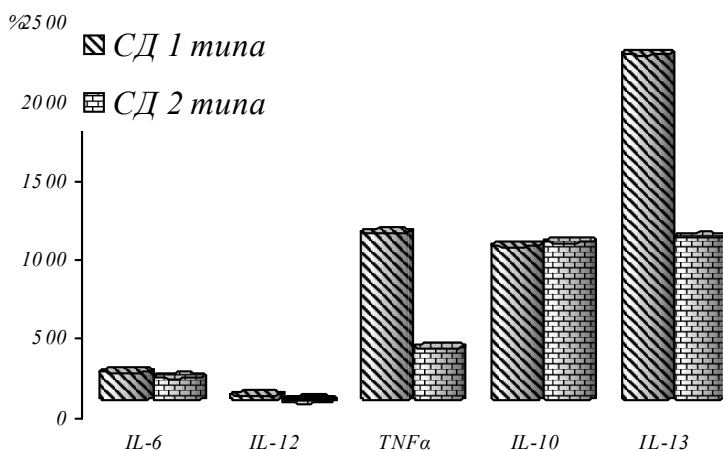


Рис.2. Показатели уровни цитокинов у больных СД 1 и 2 типа.

Особо надо отметить, что при СД происходит не только усиление синтеза провоспалительных цитокинов, но и ИЛ-10 и ИЛ-13 относящихся к противовоспалительной группе. Активность синтеза ИЛ-10 у больных СД 1 типа в 10 раз превышает норму, что, по-видимому, играет определенную роль в регуляции иммунного ответа и сдерживании эффекторной функции Т-хелперов. При СД 2 типа хотя и отмечено достоверное повышение концентрации ИЛ-10, ИЛ-13 и TNF- α по сравнению с контрольной группой, эти показатели были

значительно ниже, чем в первой группе. Показатели IL-6 и IL-12 незначительно отличались у больных 1 и 2 групп.

Поскольку большую часть больных СД 1 типа составили подростки и молодые люди (59 больных), мы проследили зависимость содержания отдельных показателей иммунной системы в зависимости от возраста. Больные СД 1 типа были выделены в 3 группы: < 10 лет (12 больных), 10-20 лет (29 больных) и >20 лет (26 больных).

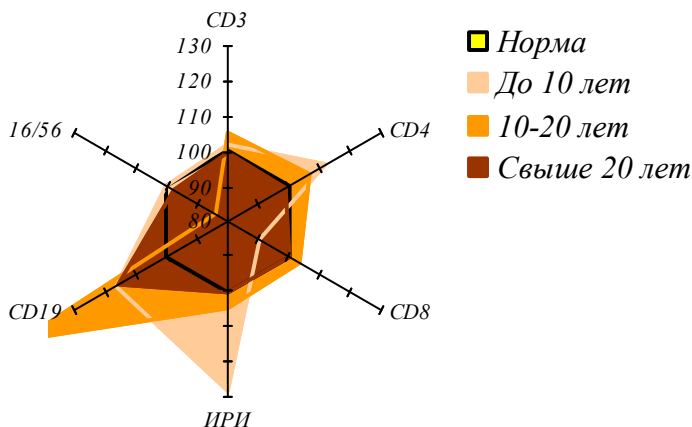


Рис 3.4.1. Особенности показателей клеточного иммунитета в зависимости от возраста больного

У больных детей в возрасте до 10 лет отмечалось значительное увеличение числа Т-хелперных (CD4+) клеток, которое сопровождалось одновременным уменьшением числа Т-супрессоров (CD8+). В подростковый период выраженность увеличения числа CD4+ и CD8+ клеток была практически на одинаковом уровне, но в этой возрастной группе наблюдалось значительное повышение числа В- лимфоцитов. Чем старше возраст больных, тем участие Т-лимфоцитов в процессе развития болезни несколько снижалось, а синтез аутоантител все усиливался. Так, в группе больных старше 20 лет уровень цитотоксических CD 4+, CD8+ клеток практически не отличался от контрольной группы, а повышение уровня В-лимфоцитов было умеренно выражено.

Подтверждением этого положения явилась динамика уровней аутоантител в различные возрастные периоды. В группе СД 1 типа у больных до 10 лет повышение уровней всех специфических

аутоантител было приблизительно на одинаковом уровне. Однако в подростковом возрасте наибольшая концентрация установлена для IAA –антител. А у больных старше 20 лет значительное повышение касалось, в основном, антител класса GAD, тогда как уровни IAA, ISA повышались приблизительно одинаково.

При изучении цитокинов в разные возрастные периоды было установлено, что наиболее высокие уровни IL-13, TNF- α и IL-10 отмечались у больных СД1 типа в пубертатном возрасте. Возможно, это связано с тесными взаимоотношениями иммунной и эндокринной систем, активация которой происходит в пубертатном возрасте. В отличие от этого высокие показатели IL-12 имели более ранний старт, в основном в возрасте до 10 лет ($p \leq 0,001$). Однако, надо отметить, что цитокины имеют менее высокие значения, если аутоиммунный диабет развивается в возрасте старше 20 лет. Только цитокин IL-6 не имел достоверных возрастных различий.

На основании показателей иммунной системы нами было проведено определение эффективности применения иммунной терапии у больных сахарным диабетом 1 типа. В качестве иммуносупрессивного препарата использован метотрексат, так как его назначение в малых дозах при различных аутоиммунных состояниях способствует достижению клинической и лабораторной ремиссии и не имеет токсических побочных воздействий.

Схема назначения метотрексата у наших больных была следующая: препарат назначался в дозе 2,5 мг трижды в день один раз в неделю на протяжении 6 недель. В первую группу вошли 10 больных с выявленными специфическими аутоантителами, получившие традиционную терапию СД без иммунотерапии. Вторую группу составили 10 больных, получающие инсулинотерапию + метотрексат. Всем больным проводилась иммунограмма до лечения и через 6 месяцев после лечения.

Проведенный сравнительный анализ уровней аутоантител и цитокинов в 2-х группах больных СД 1 типа, получавших различные схемы лечения, позволил доказать целесообразность включения иммуносупрессивной терапии. У больных, которые получали только базисную инсулинотерапию без метотрексата, уровень специфических аутоантител увеличился или остался на том же уровне через 6 месяцев. У больных второй группы уровни всех трех типов антител после лечения метотрексатом снижались и только у 10% больных эти показатели остались на прежнем уровне. Это, несомненно,

свидетельствует о снижении аутоиммунной агрессии в β -клетках поджелудочной железы.

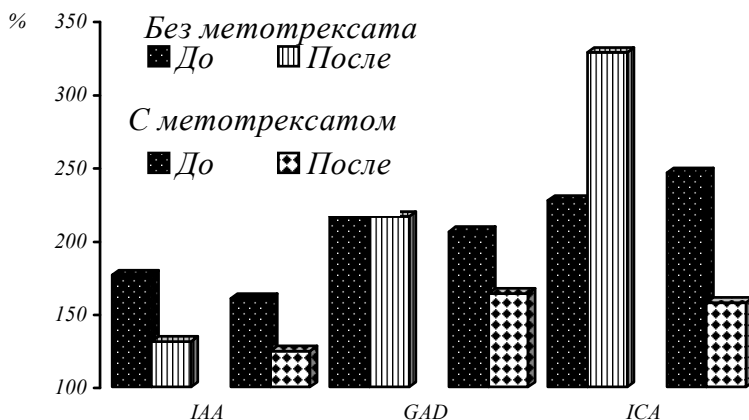


Рис. 4.1. Показатели специфических аутоантител больных СД 1 типа, получавших традиционную и комбинированную терапию.

Значительные изменения наблюдались также в цитокиновом статусе. Так у больных, которые принимали комбинированную терапию инсулином и метотрексатом, уровни всех изучаемых цитокинов достоверно снизился, причем содержание IL-12 и TNF- α снизилось почти в 3 раза. Наименьшее изменение претерпело содержание IL-6. Такая динамика содержания провоспалительных цитокинов у больных СД 1 типа при использовании метотрексата подтверждает его иммуносупрессивное действие на развитие местной воспалительной реакции и аутоиммунный механизм повреждения поджелудочной железы.

Наряду с несомненным иммуносупрессивным действием метотрексата при лечении СД типа 1 была отмечена также положительная динамика основных клинических симптомов и снижение дозы инсулина.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что манифестация клинических симптомов СД 1 типа (острое начало в виде выраженной гипергликемии, полиурии, полидипсии, неврологических нарушений и т.д.) происходит в начальной стадии болезни и затрагивает детский и юношеский возраст. Давность заболевания менее 6 месяцев в группе СД1 типа наблюдалась у 73% больных, от 6 до 12 месяцев – у 34% обследованных. У больных со 2 типом СД эти показатели составили соответственно 33% и 66%.
2. Выявлено, что у больных СД1 типа достоверно увеличено число Т-цитотоксических клеток ($p \leq 0,001$) и натуральных киллерных клеток (CD16/56+), активирующих аутоиммунную агрессию ткани поджелудочной железы, а также имеет место увеличение Т-хелперной (CD4+) и В-лимфоцитарной популяции (CD19+), которые вместе стимулируют антителогенез, в частности, синтез специфических аутоиммунных антител.
3. Доказана высокая значимость выявления специфических аутоантител ICA, GAD и IAA для ранней диагностики аутоиммунного СД 1 типа. Первостепенная роль принадлежит выявлению антител GAD и IAA, имеющих непосредственную зависимость с тяжестью течения заболевания.
4. Наиболее выраженные изменения при СД 1 типа наблюдаются в содержании макрофагальных цитокинов, которые обладают выраженным локальным провоспалительным действием. Значительное повышение отмечалось в содержании TNF-а ($p \leq 0,001$), IL-6 ($p \leq 0,001$).
5. Применение Метотрексата в низких дозах при лечении больных СД 1 типа способствует достижению умеренного иммуносупрессивного эффекта и достижению ремиссии аутоиммунного процесса. Это проявляется в снижении содержания специфических аутоантител GAD, IAA и ICA ($p \leq 0,001$) и синтеза провоспалительных цитокинов TNF-а и IL-6, а также положительной динамике клинической картины болезни.

Практические рекомендации

1. При диагностике сахарного диабета 1 типа наряду с клиническими проявлениями необходимо учитывать показатели иммунной системы, указывающие на аутоиммунную природу заболевания (число Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-цитотоксических лимфоцитов, В-лимфоцитов, уровни специфических аутоантител GAD, IAA и ICA в сыворотке крови).
2. При достоверном подтверждении аутоиммунного характера сахарного диабета и высоких показателях специфических аутоантител GAD, IAA и ICA в сыворотке крови целесообразно включение Метотрексата в комплекс лечения в дозе 2,5мг 3 раза в день 1 раз в неделю в течении 6 недель с ежемесячным контролем уровней антител.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Диагностическое значение специфических аутоантител при сахарном диабете 1 типа. // *Azerbaijan Tibb Jurnalı*, 2009, №3 səh. 73-75. (соавт. Маммедгасанов Р.М.)
2. Роль провоспалительного цитокина IL-12 в развитии сахарного диабета. // *Saglamliq jurnalı*, 2009, №7, səh 72-75. (соавт. Насруллаева Г.М., Искендерова С.Г.).
3. Клинико-иммунологические особенности диагностики детей с Diabetes mellitus. // *Аллергология и иммунология в педиатрии*, 2010, №2 (21) июнь, с.36-42. (соавт. Насруллаева Г.М)
4. Диагностическое значение специфических аутоантител при сахарном диабете 1 типа. // *Аллергология и иммунология*, том 10, 2009, №2, с. 269. (соавт. Искендерова С.Г.).
5. The role of specific antibodies in diagnostics of organ specific autoimmune diseases. // 10-th International symposium on Sjogren's syndrome. Brest, France, 2009, October 1-3, # 61 (D.K. Akhundova).
6. Immunological criteria for diagnosing autoimmune diseases. //The 3-rd Eurasia congress of infection diseases. Baku, Azerbaijan, 2009, October 1-4, # 222. (D.K. Akhundova, S.G. Iskenderova).
7. Эффективность Метотрексата при лечении аутоиммунного диабета у детей. // *Материалы 3-го Всероссийского конгресса по детской аллергологии и иммунологии*, Москва, 2009, с 44-45.

8. Сравнительный анализ цитокинового статуса у больных сахарным диабетом 1 и 2-го типа. // Azərbaycan Tibb jurnalı, 2010, №3, səh 92-95.
9. Основные иммунные механизмы развития сахарного диабета 1 типа. // Sağlamlıq jurnalı, 2010, №8, səh 181-183.
10. Применение иммуносупрессивной терапии при лечении сахарного диабета 1 типа. // Azərbaycan Əczaçılıq və Farmakoterapiya Jurnalı, 2010, №2, səh.42-45.
11. Влияние метотрексата на цитокиновый статус больных с аутоиммунным сахарным диабетом. // Медицинские новости, 2011, №7, с. 86-88. (соавт.Маммедгасанов Р.М. Насруллаева Г.М).
12. Современная лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний. // IV Национальный конгресс Азербайджана по аллергологии, Иммунологии и Иммунореабилитации, 2012,19-20 октября, с. 193-195 (соавт.Насруллаева Г.М.,Искендерова С.Г., Ахундов Д.К.)

TİP 1 AUTOİMMUN ŞƏKƏRLİ DIABETLİ XƏSTƏLƏRİN İMMUN STATUSUNUN XÜSUSİYYƏTLƏRİ

Xülasə

Şəkərli diabet dünyada ən çox yayılmış və ağır endokrin xəstəliklərdən biridir. Bu patologiya özündə müasir tibbin qlobal sosial problemini əks etdirməklə yanaşı cəmiyyətə və iqtisadiyyata dağıdıcı təsir göstərir. Tədqiqatın məqsədi tip 1 şəkərli diabetli (tip1Ş.D.) xəstələrdə immun sistemin vəziyyətini, kliniki gedişin xüsusiyyətlərini və aparılan immun terapiyanın effektivini qiymətləndirməkdir. Bunun üçün 90 Ş.D. xəstə müayinə olmuşdur. Xəstələr 2 əsas qrupa bölünmüşdür. 1-ci qrupu tip 1 Ş.D. xəstələr, 2-ci qrupu tip 2 Ş.D.-lı xəstələr təşkil etmişdir. Kontrol qrup hər iki cinsdən olan 20 cavan şəxsdən ibarətdir. Müayinə olunan xəstələrə standart müayinələrlə paralel ilk dəfə olaraq geniş immunoloji müayinə aparılmışdır. Bu müayinələrə aşağıdakılar aiddir: beta hüceyrələrə qarşı (ICAs), qlütamatdekarboksilazaya qarşı (GAD) və insulina qarşı autoəksicislər; limfositlərin immunofenotipləşməsi əsasında periferik qanın hüceyrə tərkibinin təyini, iltihab sitokinləri IL-6, IL-12, şiş nekroz faktorunun və iltihabəleyhinə sitokinlərin IL-10, IL-13-ün təyini.

Aparılmış tədqiqatlar nəticəsində tip 1 Ş.D.-lı uşaq və böyüklərdə kliniki mənzərənin xarakter xüsusiyyətləri aşkar olunmuşdur. Bununla bərabər immun cavabın effektor mexanizmlərinin Th populyasiyasının artması hesabına immun göstəricilərin əhəmiyyətli dərəcədə dəyişməsi müşahidə olunmuşdur. Tip 1 Ş.D.-nın ağırlıq dərəcəsinə və gedişinin xarakterinə təsir edən İCA, GAD və İAA spesifik autoəksicislərinin səviyyəsinin diaqnostik əhəmiyyəti müəyyən olunmuşdur. İltihab sitokinlərinin sintezinin aktivliyi xəstəliyin ağırlıq dərəcəsinə və gedişində əsas diaqnostik kriteri olduğu aşkar olunmuşdur. Tip 1 autoimmun Ş.D.-nın müalicəsində immunmoduləedici terapiyanın məqsədyönlü tətbiqi zamanı bu müalicə taktikasının effekti müəyyən olunmuşdur.

**FEATURES OF THE IMMUNE STATUS PATIENTS OF
AUTOIMMUN DIABETES MELLITUS TYPE 1**

Summary

Diabetes is one of the world's most common and serious diseases. The aim of investigation is to estimate the condition of immune system? Clinical characteristics and the feature of clinical leading and the effect of immune modulation therapy. For that 90 Diabetes Mellitus patients has been examined. The patients have been divided into 2 groups. First group- 70 diabetes mellitus type 1 , 2-nd group- 20 patients diabetes mellitus type 2.

The control group- consisted of 20 young people of both sex. During the examination typical methodics have been used. Immunological examinations are these: determination of autoantibodies against β -cell, glutamatdecarboxylase and insulin, content of periferic blood cells, based on immunefenotipation., inflammatory sitokins against inflammatory sitokins? Tumor necrosis factor. Result of this investigation we found out the characteristic features of clinical appereances of diabetes mellitus type 1 at children and adults.

Besides that we observed the noticable change of immune indicates related to activation of effector mechanisms of Th population. We also found out the diaqnostics significant of ICA, GAD, and IAA at patients with DM type 1. We also defined that the activity of synthesis of inflammation cytokins is the main diagnostic cryteria at the clinical leading/ Results showed the effect of immunomodulating treatment at the patients with diabetes type 1 .

Azərbaycan Tibb Universitetinin
mətbəəsində çap edilmişdir.

Ofset çap üsulu.
Kağız formatı 60x84 ¹/₁₆.
Tiraj 100

**AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASININ
SƏHIYYƏ NAZİRLİYİ**

AZƏRBAYCAN TİBB UNİVERSİTETİ

Əlyazması hüququnda

ÜLVİYYƏ NİZAMİ QIZI ƏLƏKBƏROVA

**TİP 1 AUTOİMMUN ŞƏKƏRLİ DİABETLİ
XƏSTƏLƏRİN İMMUN STATUSUNUN
XÜSUSİYYƏTLƏRİ**

3205.01 – Daxili xəstəliklər

3244.01 – Allergologiya-immunologiya

Tibb üzrə fəlsəfə doktoru alimlik dərəcəsi almaq üçün
təqdim edilmiş dissertasiyanın

A V T O R E F E R A T I

Bakı – 2013