

## КОНТРОЛЬ ГЛИКЕМИИ, ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ-ХЕЛПЕРОВ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА

Кологривова И. В., Кошельская О. А., Суслова Т. Е., Карпов Р. С.

**Цель.** Изучение функциональной активности субпопуляций Т-хелперных лимфоцитов (провоспалительных Т-хелперов-17 (Th17) и Т-хелперов-1 (Th1), иммуносупрессорных FoxP3+ Т-регуляторных лимфоцитов (Treg)) в сопоставлении с клиническими данными, характером гликемического контроля и степенью выраженности инсулинорезистентности у больных артериальной гипертензией (АГ), ассоциированной с сахарным диабетом (СД) 2-го типа.

**Материал и методы.** В исследование было включено 35 пациентов с АГ 1–2-й степени, ассоциированной с СД 2-го типа в возрасте 47–63 лет (17 мужчин/18 женщин). В качестве группы контроля было обследовано 24 практически здоровых лиц сопоставимого возраста и пола (здоровые добровольцы). Было проведено общеклиническое обследование и определение показателей углеводного и липидного обмена. Методом проточной цитометрии во фракции мононуклеаров периферической крови определяли содержание Treg, а также количество активированных Th1 и Th17. Функциональное состояние клеток оценивали по уровню секреции интерлейкина (IL) –1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-17, IL-10, фактора некроза опухолей (TNF) – $\alpha$ , интерферона (IFN) – $\gamma$ .

**Результаты.** В группе диабетических пациентов обнаружено увеличение количества активированных Th1-лимфоцитов и секреции IL-17, IL-6, TNF- $\alpha$  на фоне снижения секреции IL-10, содержания FoxP3+ Treg-лимфоцитов и соотношения Treg/Th17 по сравнению с группой здоровых добровольцев. У пациентов с содержанием HbA<sub>1c</sub> >7% более выраженное абдоминальное ожирение сочеталось со снижением количества Treg, соотношений Treg/Th17 и Treg/Th1 и увеличением секреции IL-17 по сравнению с пациентами с удовлетворительным контролем гликемии. Методом кластерного анализа среди пациентов с СД 2-го типа было выделено две подгруппы, отличающихся разной степенью инсулинорезистентности в соответствии с величиной индекса HOMA. В подгруппе пациентов с наиболее высокими значениями индекса HOMA более выраженная степень абдоминального ожирения и гипергликемии в сочетании с гиперинсулинемией сопровождалась увеличением количества Th1-лимфоцитов и усилением секреции провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-1 $\beta$ , IL-17) по сравнению с пациентами, у которых инсулинорезистентность была менее выражена.

**Заключение.** Полученные нами результаты указывают на тесную взаимосвязь между инсулинорезистентностью, неудовлетворительным контролем глике-

мии и функциональным дисбалансом субпопуляций Т-лимфоцитов-хелперов у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа.

**Российский кардиологический журнал 2014, 3 (107): 95–101**

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2-го типа, Т-хелперы, инсулинорезистентность, контроль гликемии.

ФГБУ — НИИ кардиологии СО РАМН, Томск, Россия.

Кологривова И. В.\* — н.с.отр. отделения функциональной и лабораторной диагностики, Кошельская О. А. — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отделения атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, Суслова Т. Е. — к.м.н., ведущий научный сотрудник отделения функциональной и лабораторной диагностики, Карпов Р. С. — д.м.н., академик РАМН, руководитель отделения атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, директор.

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):  
ikologrivova@gmail.com

EPIC — European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition, HbA<sub>1c</sub> — гликированный гемоглобин, HOMA — Homeostasis model assessment, IFN- $\gamma$  — интерферон гамма, IL — интерлейкин, Th1 — Т-хелперы 1-го типа, Th17 — Т-хелперы 17-го типа, TNF- $\alpha$  — фактор некроза опухолей альфа, Treg — Т-регуляторные лимфоциты, АГ — артериальная гипертензия, АД — артериальное давление, АПФ — ангиотензинпревращающий фермент, ОХС — общий холестерин, РААС — ренин-ангиотензин-альдостероновая система, СД — сахарный диабет, ТГ — триглицериды, ФМА — форбол 12-миристинат 13-ацетат, ХС-ЛПВП — холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС-ЛПНП — холестерин липопротеинов низкой плотности.

Рукопись получена 24.02.2014

Рецензия получена 26.02.2014

Принята к публикации 05.03.2014

## GLYCEMIA CONTROL, INSULIN RESISTANCE, AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF T-HELPER SUBPOPULATIONS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Kologrivova I. V., Koshelskaya O. A., Suslova T. E., Karpov R. S.

**Aim.** To study the functional activity of T-helper subpopulations (pro-inflammatory T-helpers-17 (Th17) and T-helpers-1 (Th1) and immune-suppressing FoxP3+ T-regulators (Treg)) and its association with clinical parameters, glycemic control levels, and insulin resistance severity among patients with arterial hypertension (AH) and Type 2 diabetes mellitus (DM-2).

**Material and methods.** The study included 35 patients (17 men and 18 women) with Stage 1–2 AH and DM-2, aged 47–63 years. The control group included 24 healthy volunteers, comparable by age and gender. All participants underwent standard clinical examination and assessment of carbohydrate and lipid metabolism parameters. Flow cytometry method was used for the assessment of Treg levels and activated Th1 and Th17 numbers in the peripheral blood mononuclear cell fraction. Functional status of blood cells was assessed by the secretion levels of interleukin (IL) 1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-17, IL-10, tumor necrosis factor (TFN)  $\alpha$ , and interferon (IFN)  $\gamma$ .

**Results.** In diabetic patients, there was an increase in activated Th1 numbers and IL-17, IL-6, and TNF- $\alpha$  secretion, combined with a decrease in IL-10 secretion, FoxP3+ Treg numbers, and Treg/Th17 ratio, compared to the control group. In patients with HbA<sub>1c</sub> >7%, more pronounced abdominal obesity was associated with reduced Treg numbers and Treg/Th17 and Treg/Th1 ratios, as well as with

elevated IL-17 secretion, compared to patients with adequate glycemia control. According to the cluster analysis results, DM-2 patients could be divided into two subgroups by the severity of insulin resistance and HOMA index levels. Among patients with higher HOMA levels, more pronounced abdominal obesity, hyperglycemia, and hyperinsulinemia were associated with increased Th1 numbers and pro-inflammatory cytokine (IL-2, IL-1 $\beta$ , and IL-17) secretion, compared to their peers with less severe insulin resistance.

**Conclusion.** Our results suggest an important association between insulin resistance, inadequate glycemia control, and functional dysbalance of T-helper subpopulations in patients with DM-2.

**Russ J Cardiol 2014, 3 (107): 95–101**

**Key words:** Type 2 diabetes mellitus, T-helpers, insulin resistance, glycemia control.

Research Institute of Cardiology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, Russia.

Как хорошо известно, процессам субклинического воспаления принадлежит важная роль как в реализации нарушений углеводного обмена и развитии сахарного диабета, так и в атерогенезе. В проспективном популяционном исследовании EPIC-Потсдам (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) было показано, что у пациентов с повышенным уровнем интерлейкина (IL) –6 и IL-1 $\beta$  в течение последующих двух лет развивался сахарный диабет (СД) 2-го типа [1]. Документировано, что при нестабильной стенокардии, ассоциированной с СД 2-го типа, концентрация hsC-реактивного белка в сыворотке выше, чем у пациентов, не имеющих нарушений углеводного обмена, а неблагоприятный прогноз заболевания ассоциируется с увеличением содержания IL-6 и IL-8 в крови [2]. Однако, несмотря на большое число исследований, посвященных данной проблеме, механизмы развития воспаления при СД 2-го типа изучены недостаточно.

Ряд экспериментальных данных указывает на наличие при СД 2-го типа количественного и функционального дисбаланса Т-лимфоцитов-хелперов (Th), контролирующих развитие и течение воспалительных процессов посредством продукции определенных спектров цитокинов [3, 4]. Вместе с тем, имеется лишь незначительное количество работ, посвященных исследованию функционирования провоспалительных Th17, Th1 и иммуносупрессорных FoxP3+ Т-регуляторных лимфоцитов (FoxP3+ Treg) у пациентов с СД 2-го типа [5, 6], в которых взаимосвязь между метаболическими и иммунологическими параметрами не изучалась.

Целью исследования стало изучение функциональной активности отдельных субпопуляций Т-хелперных лимфоцитов (Th17, Th1, FoxP3+ Treg) в сопоставлении с клиническими данными, характером гликемического контроля и степенью выраженности инсулинорезистентности у больных артериальной гипертензией (АГ), ассоциированной с СД 2-го типа.

### Материал и методы

Исследование было выполнено в НИИ кардиологии СО РАМН на базе отделения атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца. В результате скрининга было отобрано 35 пациентов с медикаментозно контролируемой АГ 1–2-й степени, ассоциированной с СД типа 2 в возрасте 47–63 лет (17 мужчин / 18 женщин). В качестве группы контроля было обследовано 24 практически здоровых лиц сопоставимого возраста и пола (здоровые добровольцы).

Всем пациентам проводили комплексное клинико-инструментальное и лабораторное обследование для верификации диагноза, исключения вторичных форм АГ, определения сочетания метаболических факторов риска и уточнения состояния органов-мишеней. Диагноз АГ и стратификация

риска больных устанавливались на основе действующих национальных рекомендаций по управлению АГ (2010).

Характеристика пациентов и здоровых добровольцев представлена в таблице 1.

Большинство пациентов, отобранных в исследование, по крайней мере в течение 10–14 дней терапии статинами не получали; 7 пациентов находились на неинтенсивных режимах лечения статинами: аторвастатином и розувастатином в средних дозах 15 мг и 7,5 мг, соответственно. Все обследованные пациенты получали регулярную антигипертензивную терапию, включающую комбинацию блокаторов РААС (ингибиторов АПФ или сартанов), индапамида ретарда и блокаторов медленных кальциевых каналов либо бета-блокаторов. Проводимая антигипертензивная терапия позволила достичь значений АД <140/85 мм рт. ст. у большинства пациентов, включенных в исследование. У 85,7% больных проводилась сахароснижающая терапия бигуанидами и производными сульфонилмочевины, трое пациентов находились на инсулинотерапии. На момент обследования у пациентов основной группы и здоровых добровольцев отсутствовали клинические и лабораторные признаки острого воспаления.

Материалом для исследования являлась венозная кровь, взятая утром натощак. Относительное содержание Th17 и Th1 оценивали в мононуклеарной фракции крови по способности лимфоцитов к спонтанной и стимулированной форбол 12-мирикат 13-ацетатом (ФМА) в сочетании с иономицином внутриклеточной продукции IL-17 и IFN- $\gamma$ , соответственно. Для идентификации Treg определяли внутриклеточную экспрессию транскрипционного фактора FoxP3 (все реагенты для фенотипирования клеток — Becton Dickinson, США). Пробы анализировали на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Результаты учитывали по проценту клеток от CD4+ -лимфоцитов.

С помощью наборов “Цитокин-Стимул-Бест” (“Вектор-БЕСТ”, Россия) в культуре клеток крови определяли спонтанную и митоген-активированную секрецию цитокинов ранней фазы воспаления (IL-6, IL-1 $\beta$ , фактора некроза опухолей (TNF) - $\alpha$ ), цитокинов, продуцируемых Th1 (IL-2, интерферона (IFN) - $\gamma$ ), Th17 (IL-17) и FoxP3+ Treg-лимфоцитами (IL-10). Концентрацию IL-2, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  оценивали методом мультиплексного анализа (Becton Dickinson, США); концентрацию IL-1 $\beta$  определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) (“Протеиновый контур”, Россия).

В сыворотке крови методом ИФА определяли содержание инсулина (AccuBind, США). Концентрацию глюкозы определяли глюкозооксидазным методом. Определяли степень инсулинорезистентности путем расчета индекса HOMA (Homeostasis model

assessment). Исследовали липидный спектр крови (содержание общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), соотношение ХС-ЛПНП/ХС-ЛПВП). Иммунотурбидиметрическим методом определяли процентное содержание гликозилированного гемоглобина ( $HbA_{1c}$ ) в крови (DiaSys, Германия).

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ SPSS 11.5 for Windows. Для определения характера распределения параметров в выборках использовали критерий Шапиро-Уилкса. Результаты представляли в виде медианы и интерквартильного размаха —  $Me (Q_1 - Q_3)$ . Для формирования групп наблюдений при помощи предварительно заданных переменных использовали кластерный анализ. Оценку достоверности различий между выборками проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводили по методу Спирмена. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

В группе пациентов с диабетом сниженное содержание FoxP3+ Treg-лимфоцитов сочеталось с увеличением количества IFN- $\gamma$  Th1-лимфоцитов по сравнению с группой здоровых добровольцев (табл. 2). Кроме того, мы выявили снижение соотношения между содержанием иммуносупрессорных FoxP3+ Treg-лимфоцитов и провоспалительными Th17 при СД 2-го типа по сравнению со здоровыми добровольцами (табл. 2). Данный феномен можно рассматривать как отклонение оси дифференцировки в сторону провоспалительных субпопуляций Т-лимфоцитов.

При этом в группе пациентов с СД 2-го типа наблюдалось увеличение спонтанной секреции IL-17, IL-6 и митоген-активированной секреции TNF- $\alpha$  на фоне сниженной спонтанной секреции IL-10 (рис. 1). IL-17 является основным цитокином, продуцируемым Th17-лимфоцитами, в то время как IL-10 может продуцироваться FoxP3+ Treg и ограничивает силу иммунного ответа. Показано, что IL-6 является одним из индукторов, необходимых для дифференцировки Th17. При этом повышенное содержание TNF- $\alpha$  может являться как дополнительным стимулом к дифференцировке Th17, так и результатом стимуляции моноцитов и нейтрофилов под влиянием IL-17 [7].

Наши результаты согласуются с данными, полученными Jagannathan-Bogdan M. et al. и Zeng C. et al., которые также показали увеличение функциональной активности Th1- и Th17-лимфоцитов при

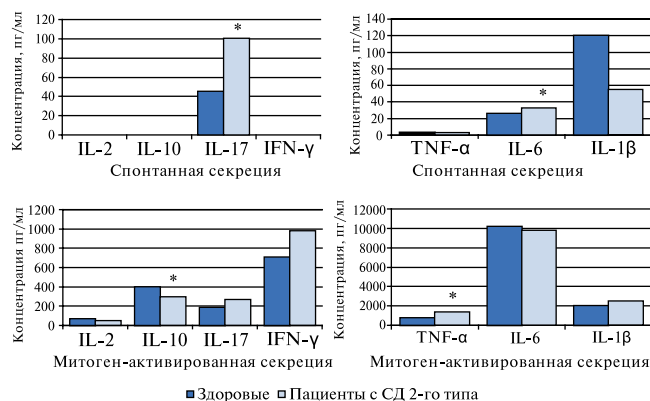


Рис. 1. Секретция цитокинов в культуре клеток крови у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и здоровых добровольцев.

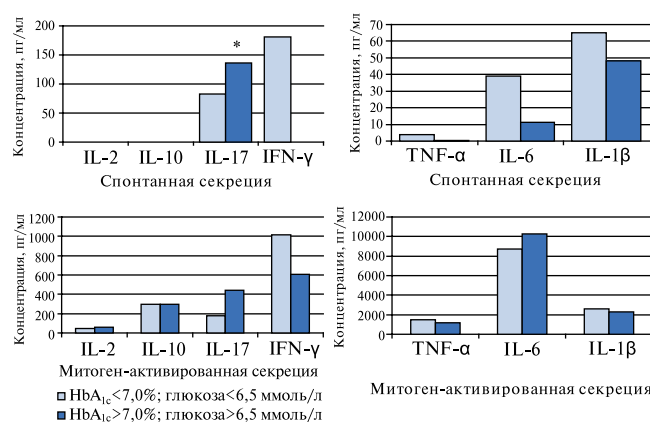


Рис. 2. Секретция цитокинов в культуре клеток крови пациентов с сахарным диабетом 2-го типа с различной степенью контроля гликемии.

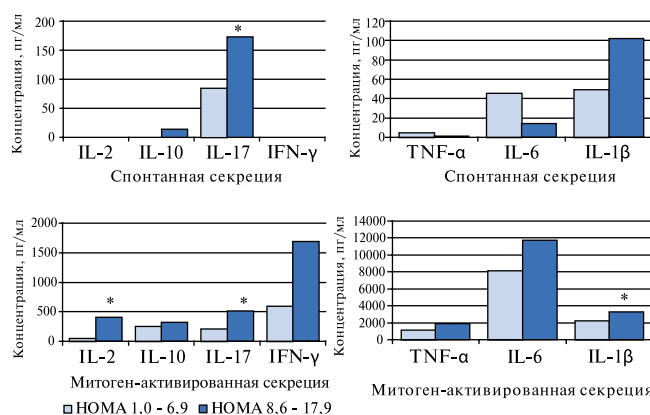


Рис. 3. Секретция цитокинов в культуре клеток крови у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа в зависимости от степени инсулинорезистентности.

дефиците FoxP3+ Treg-клеток у пациентов с СД 2-го типа с использованием других методических подходов [5, 6].

Результаты корреляционного анализа показали, что в группе пациентов с СД 2-го типа содержание  $HbA_{1c}$  положительно коррелировало с уровнем митоген-активированной секреции IL-17 ( $R=0,624$ ;

Таблица 1

## Клинико-метаболическая характеристика пациентов с СД 2-го типа и здоровых добровольцев

Параметры	Пациенты с сахарным диабетом (n=35)	Здоровые добровольцы (n=24)	p
Мужчины/женщины	17/18	10/14	
Возраст (лет)	56,5 (45–61)	52 (40–59)	
Индекс массы тела (кг/м <sup>2</sup> )	33,3 (25,3–40,6)	22,8 (18,4–30,5)	0,018
Окружность талии (см)	муж	105,0 (100,5–114,8)	82,1 (78,3–85,5)
	жен	108,0 (103,0–116,0)	75,0 (72,0–84,0)
Продолжительность диабета (годы)	8 (1,75–12)	–	
Продолжительность АГ (годы)	11 (4–14,75)	–	
Глюкоза натощак (ммоль/л)	9,2 (6,4–10,1)	4,9 (4,5–5,1)	0,038
HbA <sub>1c</sub> (%)	7,79 (6,41–9,21)	4,76 (3,71–5,37)	<0,001
Инсулин (мкМЕ/мл)	13,65 (10,00–24,00)	8,71 (7,18–12,57)	<0,001
Индекс НОМА	4,72 (3,37–8,66)	1,88 (1,84–1,91)	<0,001
ОХС (ммоль/л)	5,9 (4,65–6,66)	4,88 (4,29–5,56)	
ТГ (ммоль/л)	2,25 (1,68–2,94)	0,82 (0,68–1,11)	<0,001
ХС-ЛПНП (ммоль/л)	3,42 (2,73–4,31)	2,86 (2,47–3,54)	
ХС-ЛПВП (ммоль/л)	1,05 (0,86–1,32)	1,52 (1,29–1,70)	0,002
ХС-ЛПНП/ХС-ЛПВП	3,26 (2,37–4,76)	1,93 (1,64–2,41)	0,021

Таблица 2

## Содержание различных субпопуляций Т-лимфоцитов у пациентов с СД 2-го типа и здоровых добровольцев

Параметр	Пациенты с СД 2-го типа (n=35)	Здоровые добровольцы (n=24)	p
FoxP3+ Treg, %	3,32 (2,64–4,23)	4,73 (3,68–5,88)	<0,001
Нестимулированная культура клеток	Th17, %	0,15 (0,10–0,18)	<0,001
	Treg/Th17	15,1 (11,3–21,7)	21,1 (14,3–37,8)
	Th1, %	0,14 (0,09–0,22)	0,06 (0,04–0,11)
	Treg/Th1	19,6 (14,6–28,2)	33,1 (16,0–212)
Стимуляция ФМА+иономицин	Th17, %	0,78 (0,66–1,04)	0,74 (0,37–1,05)
	Treg/Th17	3,7 (2,7–4,8)	6,1 (4,2–8,5)
	Th1, %	18,20 (11,87–22,19)	10,18 (7,01–12,67)
	Treg/Th1	0,2 (0,1–0,3)	0,4 (0,3–0,5)

$p=0,003$ ) и количеством IFN- $\gamma$  Th1 в нестимулированной культуре клеток ( $R=0,387$ ;  $p=0,028$ ) при наличии отрицательных корреляционных связей с числом FoxP3+ Treg-лимфоцитов ( $R=-0,408$ ;  $p=0,011$ ). В группе здоровых добровольцев корреляционные взаимосвязи между уровнем HbA<sub>1c</sub> и параметрами, отражающими функциональное состояние различных субпопуляций Т-лимфоцитов-хелперов, отсутствовали.

Чтобы установить закономерности регуляции функциональной активности субпопуляций Т-лимфоцитов в зависимости от степени гликемического контроля, мы разделили группу диабетических пациентов на две подгруппы. В первую подгруппу вошли пациенты с содержанием гликированного гемоглобина (HbA<sub>1c</sub>) менее 7%; вторую подгруппу составили пациенты с СД 2-го типа, у которых контроль гликемии был недостаточно строгим. Были проанализированы клинические данные пациентов в обеих под-

группах. Как видно, в подгруппе пациентов с недостаточным контролем гликемии значения индекса массы тела и окружности талии превышали таковые у пациентов с удовлетворительной компенсацией нарушений углеводного обмена (табл. 3). При этом различий по таким параметрам как длительность СД, возраст пациентов, концентрация инсулина выявлено не было.

Как представлено в таблице 4, у пациентов с HbA<sub>1c</sub> >7% документировано достоверно меньшее количество FoxP3+ Treg-лимфоцитов в циркуляции, и отмечена тенденция к увеличению содержания Th17- и Th1-лимфоцитов. При этом соотношение FoxP3+Treg/Th17 и FoxP3+Treg/Th1 было существенно снижено по сравнению с пациентами с удовлетворительным контролем гликемии.

Кроме того, в группе пациентов с неудовлетворительным контролем гликемии мы обнаружили увеличение спонтанной секреции IL-17 — основного цито-

Таблица 3

## Клиническая характеристика пациентов с СД 2-го типа в зависимости от контроля гликемии

Параметр	HbA <sub>1c</sub> <7,0% (n=15)	HbA <sub>1c</sub> >7,0% (n=20)	p
Возраст (лет)	59,0 (55,2–64,0)	57,0 (56,0–62,0)	
Продолжительность диабета (годы)	9,0 (1,0–10,0)	6,0 (2,0–12,0)	
Индекс массы тела (кг/м <sup>2</sup> )	30,14 (27,66–31,91)	34,12 (31,17–35,52)	<0,001
Окружность талии (см)	105,0 (96,0–108,0)	110,0 (103,0–117,0)	0,052
Инсулин (мкМЕ/мл)	13,91 (10,22–21,96)	13,36 (9,17–27,45)	
Индекс НОМА	3,51 (2,31–6,46)	5,17 (3,65–9,42)	0,003

Таблица 4

## Содержание различных субпопуляций Т-лимфоцитов в подгруппах с СД 2-го типа в зависимости от контроля гликемии

Параметр	HbA <sub>1c</sub> <7,0% (n=15)	HbA <sub>1c</sub> >7,0% (n=20)	p
FoxP3+ Treg, %	4,31 (2,96–4,52)	3,19 (2,51–3,72)	0,001
Нестимулированная культура клеток	Th17, %	0,15 (0,12–0,17)	
	Treg/Th17	12,8 (11,0–15,3)	0,001
	Th1, %	0,17 (0,10–0,25)	0,054
	Treg/Th1	16,6 (11,6–25,4)	0,002
Стимуляция ФМА+иономицин	Th17, %	0,94 (0,66–1,06)	0,057
	Treg/Th17	3,0 (2,5–4,5)	0,001
	Th1, %	18,9 (11,9–21,5)	
	Treg/Th1	0,2 (0,1–0,2)	0,033

кина, продуцируемого Th17-лимфоцитами ( $p=0,036$ ), и тенденцию к увеличению его митоген-активированной секреции ( $p=0,069$ ) (рис. 2).

Как известно, механизмы регуляции метаболизма глюкозы тесно переплетаются с механизмами поддержания сбалансированного иммунного ответа на различных уровнях [8, 9]. Показано, что Th17 являются особо чувствительной субпопуляцией эффекторных Т-лимфоцитов — в отсутствии глюкозы в среде культивирования дифференцировка в направлении Th17 оказалась невозможной, при этом Treg характеризуются низкой экспрессией как поверхностного белка-транспортера глюкозы Glut1, так и его внутриклеточной формы, и в качестве основного источника энергии используют не глюкозу, а липиды [9].

Одним из механизмов, опосредующим связь неудовлетворительного контроля гликемии с иммунорегуляторным дисбалансом, согласно нашим данным, является абдоминальное ожирение. Так, пациенты с уровнем гликированного гемоглобина >7% демонстрировали более высокие значения окружности талии и, соответственно, более выраженную степень абдоминального ожирения, чем пациенты с удовлетворительным контролем гликемии. Действительно, висцеральная жировая ткань обладает способностью вырабатывать провоспалительные цитокины и адипокины [10, 11], которые могли повлиять на функциональную активность Т-лимфоцитов.

Таким образом, обнаруженные нами нарушения механизмов иммунорегуляции у пациентов с СД 2-го типа соответствуют существующим представлениям о важной роли жировой ткани в модуляции воспаления и демонстрируют, что неудовлетворительный контроль гликемии у пациентов с сахарным диабетом и абдоминальным ожирением может оказывать непосредственное влияние на формирование дисбаланса субпопуляций Т-хелперов и способствовать активации провоспалительных Th1- и Th17-лимфоцитов.

Как известно, инсулинорезистентность является центральным звеном, связывающим ожирение с метаболическими нарушениями при СД 2-го типа [12]. Имеются данные, что гиперинсулинемия, наблюдаемая при снижении чувствительности тканей к инсулину, является не только компенсаторным механизмом, но также способствует поддержанию, усугублению и, в некоторых случаях, инициации инсулинорезистентности [12]. В то же время, показано, что инсулин обладает иммунорегуляторными свойствами [13]. В подгруппах пациентов с различным состоянием контроля гликемии мы не обнаружили различий по уровню гиперинсулинемии, хотя индекс инсулинорезистентности НОМА был выше у пациентов с декомпенсацией углеводного обмена (табл. 3).

Методом кластерного анализа среди пациентов с СД 2-го типа мы выделили две подгруппы с разной



Таблица 5

**Клиническая характеристика пациентов с СД 2-го типа в зависимости  
от степени выраженности инсулинорезистентности**

Параметр	Индекс НОМА 1,0–6,9 (n=21)	Индекс НОМА 8,6–17,9 (n=14)	p
Возраст (лет)	57,0 (56,0–61,5)	60,0 (56,0–63,0)	
Продолжительность диабета (годы)	9,0 (2,5–12,0)	4,5 (0,88–10,25)	
Индекс массы тела (кг/м <sup>2</sup> )	31,61 (29,40–32,82)	35,33 (34,08–40,30)	0,001
Окружность талии (см)	106,0 (96,0–109,0)	114,0 (108,5–121,0)	0,008
Инсулин (мкМЕ/мл)	10,39 (9,14–15,09)	29,64 (25,53–36,03)	<0,001
Глюкоза натощак (ммоль/л)	6,8 (5,8–9,0)	8,6 (7,0–11,1)	0,020
HbA <sub>1c</sub> (%)	6,90 (5,78–8,98)	8,94 (7,39–12,60)	0,039
Индекс НОМА	3,63 (2,79–4,76)	10,45 (9,19–13,12)	<0,001
ТГ (ммоль/л)	2,25 (1,65–2,81)	2,24 (1,91–3,01)	
ХС-ЛПНП (ммоль/л)	3,39 (2,58–4,36)	3,46 (2,78–4,19)	

Таблица 6

**Содержание различных субпопуляций Т-лимфоцитов в подгруппах пациентов  
с СД 2-го типа с различной выраженностью инсулинорезистентности**

Параметр	Индекс НОМА 1,0–6,9 (n=21)	Индекс НОМА 8,6–17,9 (n=14)	p
FoxP3+ Treg, %	2,96 (2,62–4,24)	3,50 (2,57–4,04)	
Нестимулированная культура клеток	Th17, %	0,14 (0,10–0,17)	0,16 (0,09–0,25)
	Th1, %	0,13 (0,02–0,20)	0,16 (0,12–0,24)
Стимуляция ФМА+иономицин	Th17, %	0,83 (0,62–1,04)	0,77 (0,63–1,01)
	Th1, %	14,15 (9,46–19,19)	21,41 (16,88–28,52)

степенью инсулинорезистентности в соответствии с величиной индекса НОМА: в первой подгруппе индекс НОМА варьировал от 1,0 до 6,9, во второй подгруппе — от 8,6 до 17,9. Как оказалось, у пациентов второй подгруппы имели место не только более выраженная степень абдоминального ожирения и гипергликемии, но и достоверно более высокий уровень гиперинсулинемии (табл. 5).

Мы оценили особенности функционирования субпопуляций Т-лимфоцитов в зависимости от степени повышения индекса НОМА и, соответственно, выраженности гиперинсулинемии. Так, подгруппа пациентов с наиболее высокими значениями индекса НОМА и гиперинсулинемией характеризовалась увеличением количества IFN- $\gamma$ + Th1-лимфоцитов после стимуляции ФМА, увеличением спонтанной и митоген-активированной секреции IL-17 наряду с возрастанием митоген-активированной секреции IL-2 и IL-1 $\beta$  (табл. 6; рис. 3), которые являются ключевыми цитокинами в процессе дифференцировки Th1 и Th17 соответственно [14].

Согласно данным Viardot A. et al., наличие ожирения ассоциируется со снижением чувствительности клеток иммунной системы к регуляторному влиянию инсулина [13], что может приводить к увеличению числа активированных Th1-лимфоцитов и способствовать развитию системного воспаления. Резуль-

таты, полученные в нашей работе, указывают на то, что у пациентов с выраженной гиперинсулинемией абдоминальное ожирение и гипергликемия ассоциируются не только с активацией Th1, но и с увеличением секреторной активности Th17-лимфоцитов.

Следует заметить, что проведенное нами исследование не позволяет установить, является ли нарушение иммунорегуляции первичным или возникает как следствие декомпенсации механизмов, контролирующих нормальный метаболизм глюкозы в организме. Кроме того, число обследованных пациентов было небольшим, и все они получали общепринятую антигипертензивную и сахароснижающую терапию, также способную оказывать иммуномодулирующее воздействие. Несмотря на эти ограничения, результаты нашей работы констатируют несомненную взаимосвязь между функциональным дисбалансом субпопуляций Т-лимфоцитов-хелперов и нарушениями углеводного обмена.

### Заключение

Таким образом, в ходе нашего исследования установлено, что наличие неудовлетворительного контроля гликемии у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа ассоциируется со снижением содержания иммуносупрессорных FoxP3+ Т-регуляторных лимфоцитов и увеличением функциональной активно-

сти провоспалительных Th17-лимфоцитов. Также выяснено, что у диабетических пациентов с наиболее значительной степенью инсулинорезистентности и гиперинсулинемии имеет место активация Th1-лимфоцитов, а также усиление секреции ряда провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-1 $\beta$ , IL-17). Полученные нами результаты не только подтверждают тесную взаимосвязь хронического воспаления с нарушениями углеводного обмена, но и обосновывают возможность более эффективной коррекции иммуновоспалительных нарушений с помощью воздействий, направленных на повышение периферической инсулино-чувствительности. Нам представляется важным дальнейшее изучение

молекулярных механизмов, лежащих в основе иммунорегуляторного дисбаланса при нарушениях углеводного метаболизма, что может быть весьма перспективным и в отношении профилактики сердечно-сосудистых поражений у пациентов с сахарным диабетом.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального агентства по науке и инновациям в рамках Федеральной целевой научно-технической программы “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007–2012 годы” (Государственный контракт № 02.527.11.0007 от 30 апреля 2009 года).

### Литература

1. Spranger J, Kroke A, Mohlig M, et al. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52:812–7.
2. Barbarash OL, Avramenko OE, Osokina AV, et al. Prognostic significance of proinflammatory factors in patients with progressive angina pectoris and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes mellitus* 2012; 4:39–45. Russian (Барбараш О.Л., Авраменко О.Е., Осокина А.В. и др. Роль провоспалительных факторов в оценке прогноза больных прогрессирующей стенокардией в сочетании с сахарным диабетом 2 типа. *Сахарный диабет* 2012; 4:39–45).
3. Feuerer M, Herrero L, Cipoletta D, et al. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nature Med* 2009; 15:930–9.
4. Winer S, Paltser G, Chan Y, et al. Obesity predisposes to Th17 bias. *Eur. J. Immunol.* 2009; 39:2629–35.
5. Jagannathan-Bogdan M, McDonnell M.E, Shin H, et al. Elevated proinflammatory cytokine production by a skewed T cell compartment requires monocytes and promotes inflammation in type 2 diabetes. *J. Immunol.* 2011; 186:1162–72.
6. Zeng C, Shi X, Zhang B, et al. The imbalance of Th17/Th1/Tregs in patients with type 2 diabetes: relationship with metabolic factors and complications. *J. Mol. Med. (Berl.)*. 2012; 90 (2):175–186.
7. Kologrivova IV, Suslova TE, Koshelskaya OA, et al. The functioning of the effector and regulatory T lymphocytes in patients with glucose intolerance and diabetes mellitus type 2, associated with hypertension. *Cytokines and Inflammation* 2012; 11 (2):38–43. Russian (Кологривова И.В., Суслова Т.Е., Кошельская О.А. и др. Функционирование эффекторных и регуляторных Т-лимфоцитов при нарушении толерантности к углеводам и сахарном диабете 2-го типа, ассоциированных с артериальной гипертензией. *Цитокины и воспаление* 2012; 11 (2):38–43).
8. Jacobs SR, Herman CE, MacIver NJ, et al. Glucose uptake is limiting in T cell activation and requires CD28-mediated Akt-dependent and independent pathways. *J. Immunol.* 2008; 180:4476–86.
9. Michalek RD, Gerriets VA, Jacobs SR, et al. Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4+ T cell subsets. *The Journal of Immunology* 2011; 186:3299–303.
10. Després JP. Abdominal obesity and cardiovascular disease: is inflammation the missing link? *Can. J. Cardiol.* 2012; 28 (6):642–52.
11. Chumakova GA, Veselovskaya NG, Gritsenko OV, et al. Epicardial obesity as a possible marker of metabolic syndrome. *Cardiosomatika* 2012; 4:38–43. Russian (Чумакова Г.А., Веселовская Н.Г., Гриценко О.В. и др. Эпикардальное ожирение как возможный маркер метаболического синдрома. *Кардиосоматика* 2012; 4:38–43).
12. Shanik MH, Xu Y, Skrha J, et al. Insulin resistance and hyperinsulinemia: is hyperinsulinemia the cart or the horse? *Diabetes Care* 2008; 31 (Suppl 2): S262–S8.
13. Viardot A, Heilbronn LK, Samocha-Bonet D, et al. Obesity is associated with activated and insulin resistant immune cells. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2012; 28 (5):447–54.
14. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, et al. Interleukins 1 beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol.* 2007; 8:942–49.