

УРОВНИ СЫВОРОТОЧНЫХ АНТИТЕЛ К ЛИПОПОЛИСАХАРИДАМ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗИ С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ С-РЕАКТИВНОГО ПРОТЕИНА В КРОВИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

А. И. ГОРДИЕНКО

*Крымский государственный медицинский университет
им. С. И. Георгиевского, Симферополь;
e-mail: uu4jeu@csmu.strace.net*

Проведено лабораторное обследование больных сахарным диабетом 1-го (СД-1) и 2-го (СД-2) типа. У всех больных методом твердофазного иммуноэнзимного анализа определяли концентрацию С-реактивного протеина (СРП) в крови и уровни сывороточных антител к липополисахаридам энтеробактерий разных классов (анти-ЛПС-АТ). С помощью кластерного анализа установлено, что у 40,8% больных СД-1 повышенная концентрация СРП в крови ассоциирована с существенным снижением уровней сывороточных анти-ЛПС-АТ классов А, М и G. У 56,7% больных СД-2 с повышенной концентрацией СРП в крови уровни сывороточных анти-ЛПС-АТ классов А и М достоверно не отличались от нормы, а уровни анти-ЛПС-IgG были достоверно выше. Вместе с тем, активизация воспаления с дальнейшим возрастанием содержания СРП в крови у больных СД-2 сопровождается значительным увеличением уровней сывороточных анти-ЛПС-АТ классов А и G, а также тенденцией к снижению уровней анти-ЛПС-IgM. Полученные результаты свидетельствуют о наличии взаимосвязей между низкоинтенсивным воспалением и иммунным ответом на ЛПС энтеробактерий при сахарном диабете 1- и 2-го типа.

Ключевые слова: сахарный диабет, С-реактивный протеин, липополисахарид, антитела, иммуноглобулин.

Основной причиной инвалидизации и летальности при сахарном диабете (СД) являются сердечно-сосудистые осложнения (ССО), ведущие к ранней потере трудоспособности пациентов, существенному снижению качества жизни и сокращению ее продолжительности [1]. Дисфункцию эндотелия и быструю прогрессию атеросклеротических изменений сосудистого русла у больных СД в настоящее время рассматривают как результат низкоинтенсивных хронических воспалительных процессов (НВП), которые протекают в интима сосудов при участии целого ряда иммунных механизмов [2]. Известно, что у больных СД содержание С-реактивного протеина (СРП) в крови достоверно повышено по сравнению с базовой концентрацией СРП у здоровых людей [3]. Поскольку СРП является чувствительным лабораторным маркером, отражающим активность биологической реакции воспаления [4], это свидетельствует о наличии у таких больных НВП.

Одним из важных экзогенных факторов, потенциально способных поддерживать НВП при многих патологических процессах, может быть липополисахарид (ЛПС) или эндотоксин [5, 6]. ЛПС является полимерным гликолипидом, присутствующем в клеточной стенке всех грамотрицательных бактерий, включая условно-патогенные энтеробактерии, составляющие значительную часть микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). ЛПС обладает очень высокой биологической активностью и при попадании в организм инициирует продукцию широкого спектра медиаторов воспаления [16]. Вместе с тем, ЛПС энтеробактерий относится к числу облигатных компонентов нормального антигенного окружения человека [8], и в крови всегда регистрируется относительно стабильный базовый уровень специфичных к нему антител разных классов. Считается, что такие антитела играют существенную роль в нейтра-

лизации биологической активности и клиренсе ЛПС, попадающего в системный кровоток [9, 10].

По данным литературы, у значительной части (до 80%) больных СД диагностируется широкий спектр гастроэнтерологических расстройств [11], что составляет морфофункциональную основу нарушения целостности кишечного барьера и усиления бактериальной транслокации (БТ) – проникновения микрофлоры дистальных отделов ЖКТ и продуктов ее жизнедеятельности, включая ЛПС, из просвета кишечника в мезентеральные лимфатические узлы, внутренние органы и кровь [12]. Наряду с этим, при СД наблюдаются выраженные изменения иммунореактивности организма, что определяет предрасположенность к различным инфекционным осложнениям [13].

Ранее нами было показано, что у здоровых волонтеров повышение базовой концентрации СРП в крови до значения, которое расценивается как значимый предиктор кардиоваскулярного риска, сопряжено с достоверным снижением содержания сывороточных антител разных классов к липополисахаридам энтеробактерий (анти-ЛПС-АТ) [14]. В связи с этим можно предположить, что у больных СД ослабленный гуморальный иммунный ответ на ЛПС энтеробактерий также может быть одним из важных факторов, способствующих реализации провоспалительного потенциала ЛПС и поддержанию НВП. Целью данной работы являлась оценка содержания в крови анти-ЛПС-АТ разных классов у больных СД-1 и СД-2 с последующим кластерным анализом (КА) взаимосвязей между индивидуальными уровнями таких антител и концентрацией СРП в крови.

Материалы и методы

В группу больных СД-1 был включен 51 пациент с клиническим диагнозом СД-1 в тяжелой форме с лабильным течением, требующий введения инсулина для сохранения жизни. Диагноз СД-1 был поставлен в соответствии с критериями ВОЗ [15]. У больных отмечались следующие осложнения: непролиферативная диабетическая ретинопатия, диабетический артериоз нижних конечностей, хроническая артериальная недостаточность (0–1-я степень), диабетическая полинейропатия, диабетическая нефроангиопатия (микроальбуминурическая или протеинурическая стадия).

Группу больных СД-2 составили 60 пациентов с клиническим диагнозом, который также был поставлен в соответствии с критериями ВОЗ [15]. Все обследованные женщины находились в состоянии менопаузы. У больных отмечались следующие осложнения: непролиферативная диабетическая ретинопатия, диабетический артериоз нижних конечностей, хроническая артериальная недостаточность (0–1-я степень), диабетическая полинейропатия, диабетическая нефроангиопатия (микроальбуминурическая или протеинурическая стадия), дисметаболическая кардиомиопатия, симптоматическая артериальная гипертензия, сердечная недостаточность 1-й степени. Больные указанных групп (СД-1 и СД-2) находились на стационарном лечении в эндокринологическом отделении КРУ «КБ им. Н. А. Семашко» (г. Симферополь).

В контрольную группу вошло 49 здоровых людей, у которых в анамнезе не было каких-либо хронических заболеваний, а на момент проведения обследования отсутствовали клинические проявления острой инфекционной патологии. По полу и возрасту контрольная группа здоровых людей соответствовала группам обследованных больных СД-1 и СД-2.

Сыворотку периферической крови получали общепринятым способом и хранили при $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Уровни сывороточных анти-ЛПС-АТ классов А, М и G определяли методом твердофазного иммуоэнзимного анализа (тИЭА) [16] с использованием в качестве антигена липополисахарида (ЛПС) *Escherichia coli* K235 (Sigma Chem. Co., USA). Концентрацию СРП в крови определяли методом тИЭА (hsCRP ELISA, DRG International Inc., USA); содержание в крови общих иммуноглобулинов разных классов оценивали микротурбидиметрическим методом [17].

Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью программного пакета STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., USA). При проведении КА применяли агломеративно-иерархический алгоритм Варда (Ward's method) и метрику City-block (Manhattan) в качестве матрицы расстояний, а также итерационный метод k-средних Мак-Кина [18, 19].

Результаты и обсуждение

Установлено, что у больных группы СД-1 в целом на фоне практически нормального содержания сывороточного анти-ЛПС-IgA уровни

Таблиця 1. Средние уровни сывороточных анти-ЛПС-АТ разных классов у больных СД и здоровых людей ($M \pm m$)

Группа	Антилипополисахаридные антитела, усл. ед.		
	Анти-ЛПС-IgA	Анти-ЛПС-IgM	Анти-ЛПС-IgG
Больные сахарным диабетом 1-го типа ($n = 51$)	$0,225 \pm 0,018$ $P_0 > 0,05$ $P_1 < 0,001$	$0,152 \pm 0,014$ $P_0 < 0,001$ $P_1 < 0,01$	$0,356 \pm 0,025$ $P_0 < 0,01$ $P_1 < 0,01$
Больные сахарным диабетом 2-го типа ($n = 60$)	$0,531 \pm 0,033$ $P_0 < 0,001$	$0,240 \pm 0,019$ $P_0 > 0,05$	$0,707 \pm 0,035$ $P_0 < 0,001$
Здоровые люди ($n = 49$)	$0,279 \pm 0,032$	$0,264 \pm 0,026$	$0,486 \pm 0,048$

Здесь и в табл. 2 достоверность различий обозначена: P_0 – по сравнению с группой здоровых людей; P_1 – между группами больных СД-1 и СД-2.

сывороточных анти-ЛПС-IgM и анти-ЛПС-IgG были достоверно ниже (в среднем соответственно на 42,4 и 26,8%), чем у здоровых людей (табл. 1). Вместе с тем концентрация общего IgA и общего IgM в крови больных СД-1 была достоверно выше (в среднем на 18,2 и 16,7%), чем у здоровых людей, тогда как концентрация общего IgG в среднем достоверно не отличалась от нормального значения этого показателя (табл. 2).

У больных группы СД-2 в целом (табл. 1) при практически нормальном содержании сывороточных анти-ЛПС-IgM средние уровни сывороточных анти-ЛПС-IgA и анти-ЛПС-IgG были достоверно выше, чем у здоровых людей (в среднем соответственно на 98,9 и 45,5%). Концентрация общего IgA в крови больных СД-2 в среднем не отличалась от величины этого показателя у здоровых людей, тогда как содержание общего IgM и общего IgG в крови у больных СД-2 по сравнению с нормальными значениями было достоверно снижено в среднем соответственно на 16,7 и 7,6% (табл. 2). Вместе с тем концентрация

СРП в крови у больных СД-1 и СД-2 по группам в целом была достоверно повышена по сравнению с нормальным значением этого показателя в среднем соответственно на 45,7 и 75,0% (табл. 2).

КА показал, что обследованная выборка больных СД-1 сформирована тремя кластерами, которые были условно обозначены как СД-1.1 (20 больных – 40,8%), СД-1.2 (9 больных – 18,4%) и СД-1.3 (20 больных – 40,8%). В пределах каждого из выделенных кластеров прослеживаются различные соотношения между концентрацией СРП в крови и средними уровнями сывороточных анти-ЛПС-АТ разных классов (рис. 1, табл. 3). У больных СД-1.1 и больных СД-1.2 концентрация СРП в крови достоверно превышала нормальное значение для этого показателя в среднем соответственно на 41,7 и 50,8%, тогда как у больных СД-1.3 содержание СРП в крови в среднем достоверно не отличалось от величины этого показателя у здоровых людей. При этом у больных СД-1.1 уровни анти-ЛПС-IgA, анти-ЛПС-IgM и анти-ЛПС-IgG были достоверно

Таблиця 2. Концентрация С-реактивного протеина и содержание общих иммуноглобулинов разных классов в крови больных СД и здоровых людей ($M \pm m$)

Группа	Общие иммуноглобулины, г/л			С-реактивный протеин, мг/л
	IgA	IgM	IgG	
Больные сахарным диабетом 1-го типа ($n = 51$)	$2,63 \pm 0,11$ $P_0 < 0,01$ $P_1 > 0,05$	$2,11 \pm 0,13$ $P_0 < 0,05$ $P_1 < 0,01$	$11,20 \pm 0,31$ $P_0 > 0,05$ $P_1 < 0,05$	$2,21 \pm 0,18$ $P_0 < 0,001$ $P_1 < 0,05$
Больные сахарным диабетом 2-го типа ($n = 60$)	$2,42 \pm 0,09$ $P_0 > 0,05$	$1,44 \pm 0,12$ $P_0 < 0,05$	$9,74 \pm 0,3$ $P_0 < 0,05$	$2,66 \pm 0,13$ $P_0 < 0,05$
Здоровые люди ($n = 49$)	$2,21 \pm 0,10$	$1,81 \pm 0,10$	$10,66 \pm 0,13$	$1,52 \pm 0,13$

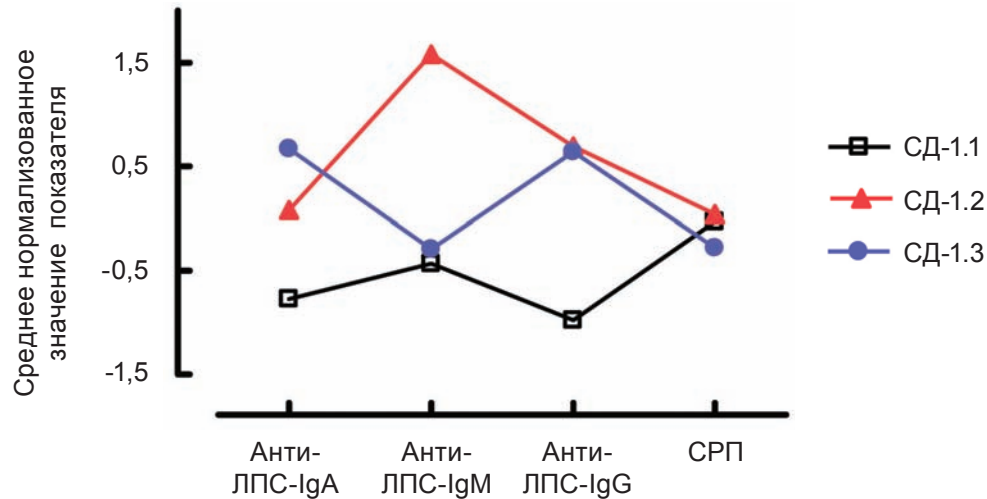


Рис. 1. Взаимосвязи между концентрацией СРП в крови и уровнями сывороточных анти-ЛПС-АТ разных классов у больных СД-1, отнесенных к разным кластерам (итерационный метод *k*-средних Мак-Кина)

Таблица 3. Средние уровни сывороточных анти-ЛПС-АТ разных классов и концентрация СРП в крови больных СД-1, отнесенных к разным кластерам ($M \pm m$)

Показатель	Кластеры больных сахарным диабетом 1-го типа			Здоровые люди
	СД-1.1	СД-1.2	СД-1.3	
Анти-ЛПС-IgA, усл. ед.	0,126 ± 0,014 $P_0 < 0,01$ $P_2 < 0,01$ $P_3 < 0,001$	0,235 ± 0,033 $P_0 > 0,05$ $P_1 < 0,01$ $P_3 > 0,05$	0,311 ± 0,029 $P_0 < 0,05$ $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$	0,279 ± 0,032
Анти-ЛПС-IgM, усл. ед.	0,110 ± 0,013 $P_0 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	0,305 ± 0,038 $P_0 > 0,05$ $P_1 < 0,001$ $P_3 < 0,001$	0,123 ± 0,010 $P_0 < 0,01$ $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,001$	0,264 ± 0,026
Анти-ЛПС-IgG, усл. ед.	0,225 ± 0,019 $P_0 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,001$	0,449 ± 0,031 $P_0 > 0,05$ $P_1 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	0,441 ± 0,016 $P_0 > 0,05$ $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$	0,486 ± 0,048
С-реактивный протеин, мг/л	2,15 ± 0,29 $P_0 < 0,05$ $P_2 > 0,05$ $P_3 > 0,05$	2,29 ± 0,23 $P_0 < 0,05$ $P_2 > 0,05$ $P_3 < 0,05$	1,68 ± 0,18 $P_0 > 0,05$ $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$	1,52 ± 0,14

Достоверность различий обозначена: P_0 – по сравнению с группой здоровых людей, P_1 – по сравнению с кластером СД-1.1, P_2 – по сравнению с кластером СД-1.2, P_3 – по сравнению с кластером СД-1.3.

ниже значений этих показателей для здоровых людей в среднем соответственно на 55,0; 58,4 и 53,7%. У больных СД-1.2 уровни анти-ЛПС-АТ всех трех классов достоверно не отличались от своих нормальных значений, а у больных СД-1.3

на фоне практически нормального содержания анти-ЛПС-IgA и анти-ЛПС-IgG уровни анти-ЛПС-IgM были достоверно снижены в среднем на 53,4% по сравнению с величиной этого показателя у здоровых людей.

С помощью КА установлено, что обследованная выборка больных СД-2 также неоднородна и состоит из трех кластеров, которые условно были обозначены как СД-2.1 (34 больных – 56,7%), СД-2.2 (15 больных – 25,0%) и СД-2.3 (11 больных – 18,3%). Также, как и для больных СД-1, у больных СД-2 в пределах каждого из выделенных кластеров прослеживаются различные соотношения между концентрацией СРП в крови и средними уровнями сывороточных анти-ЛПС-АТ разных классов (рис. 2, табл. 4).

У больных СД-2.1, СД-2.2 и СД-2.3 концентрация СРП в крови была повышена почти в 2 раза по сравнению с его содержанием в крови здоровых людей, что свидетельствует о НВП, протекающих на фоне основного заболевания. Вместе с тем вариации между средней концентрацией СРП в крови больных СД-2.1, СД-2.2 и СД-2.3 не превышали 30%. Наиболее высокая концентрация СРП в крови была обнаружена у больных СД-2.2, где данный показатель был в среднем в 2,16 раза выше своего нормального значения и на 26,7% превышал среднее содержание СРП в крови больных СД-2.1, тогда как по сравнению с больными СД-2.3 различия в концентрации СРП были недостоверными. При этом у больных СД-2.2 при практически нормальном содержании анти-ЛПС-IgM уровни сывороточных анти-ЛПС-IgA достоверно превышали нормальное значение для этого показателя в 3,96 раза, а анти-ЛПС-IgG – на 89,4%.

Больные СД-2.1 и СД-2.3 по средней концентрации СРП в крови между собой достоверно не отличались. В тоже время у больных СД-2.1 на фоне практически нормальных уровней сывороточных анти-ЛПС-IgA и анти-ЛПС-IgM уровень анти-ЛПС-IgG был достоверно повышен на 26,7%. У больных СД-2.3 отклонение от нормы показателей, характеризующих гуморальное звено иммунитета к ЛПС энтеробактерий, затрагивало сывороточные анти-ЛПС-АТ всех трех классов: у этих пациентов уровни анти-ЛПС-IgA, анти-ЛПС-IgM и анти-ЛПС-IgG были достоверно выше нормальных значений в среднем соответственно в 2,86 раза, на 69,7 и на 37,0%.

По данным литературы, вследствие БТ концентрация ЛПС в крови портальной вены в физиологических условиях колеблется в пределах от 0,01 до 1 нг/мл, причем после приема пищи регистрируется ее существенное транзитное повышение. Хотя основная часть попадающего в портальный кровоток ЛПС элиминируется резидентными макрофагами печени без развития воспалительной реакции, за счет наличия портокавальных анастомозов около 6% портальной крови минует печеночный барьер и сбрасывается непосредственно в системный кровоток [20, 21]. Вследствие постоянной антигенной стимуляции в крови здоровых людей всегда присутствуют анти-ЛПС-АТ разных классов, причем их индивидуальные уровни в физиологических

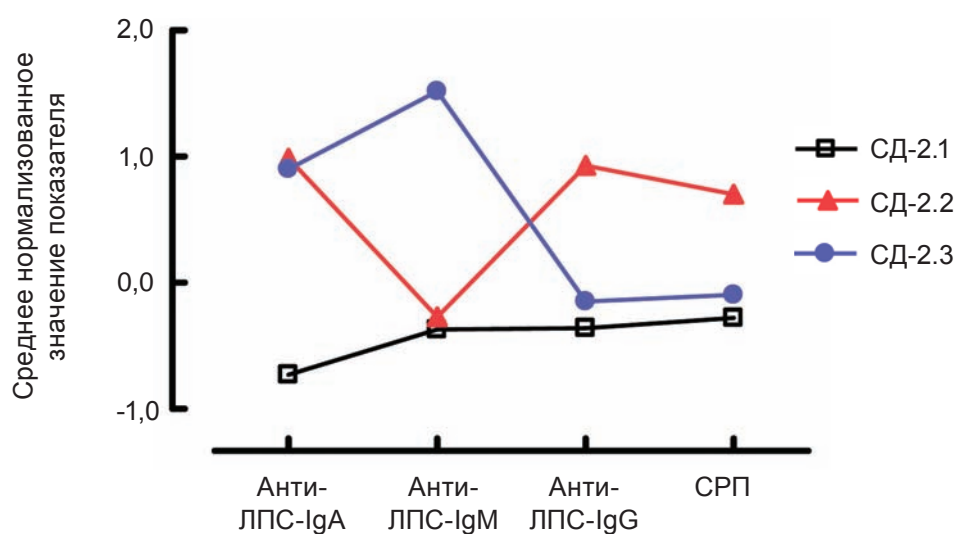


Рис. 2. Взаимосвязи между концентрацией СРП в крови и уровнями сывороточных анти-ЛПС-АТ разных классов у больных СД-2, отнесенных к разным кластерам (итерационный метод k-средних Мак-Кина)

Таблица 4. Средние уровни сывороточных анти-ЛПС-АТ разных классов и концентрация СРП в крови больных СД-2, отнесенных к разным кластерам ($M \pm m$)

Показатель	Кластеры больных сахарным диабетом 2-го типа			Здоровые люди
	СД-2.1	СД-2.2	СД-2.3	
Анти-ЛПС-IgA, усл. ед.	0,307 ± 0,025 $P_0 > 0,05$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,001$	0,825 ± 0,048 $P_0 < 0,001$ $P_1 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	0,798 ± 0,063 $P_0 < 0,001$ $P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$	0,279 ± 0,032
Анти-ЛПС-IgM, усл. ед.	0,192 ± 0,014 $P_0 > 0,05$ $P_2 > 0,05$ $P_3 < 0,001$	0,206 ± 0,022 $P_0 > 0,05$ $P_1 > 0,05$ $P_3 < 0,001$	0,448 ± 0,040 $P_0 < 0,01$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	0,264 ± 0,026
Анти-ЛПС-IgG, усл. ед.	0,616 ± 0,035 $P_0 < 0,01$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$	0,921 ± 0,045 $P_0 < 0,001$ $P_1 < 0,001$ $P_3 < 0,01$	0,666 ± 0,068 $P_0 < 0,05$ $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,01$	0,486 ± 0,048
С-реактивный протеин, мг/л	2,40 ± 0,10 $P_0 < 0,001$ $P_2 < 0,05$ $P_3 > 0,05$	3,28 ± 0,34 $P_0 < 0,001$ $P_1 < 0,05$ $P_3 > 0,05$	2,56 ± 0,18 $P_0 < 0,01$ $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$	1,52 ± 0,14

Достоверность различий обозначена: P_0 – по сравнению с группой здоровых людей, P_1 – по сравнению с кластером СД-2.1, P_2 – по сравнению с кластером СД-2.2, P_3 – по сравнению с кластером СД-2.3.

условиях относительно стабильны и определяются адаптивным иммунным ответом на данный облигатный антиген [10].

У больных СД-1 и СД-2 нами выявлены достоверные отклонения от нормы уровней сывороточных анти-ЛПС-АТ определенных классов (табл. 1), которые не совпадают с направленностью изменений концентрации общих иммуноглобулинов такого же класса (табл. 2). Возможно, что это связано с существенными изменениями качественного и количественного состава микрофлоры дистальных отделов ЖКТ, которые ведут к нарушению барьерной функции кишечника и увеличению количества ЛПС, попадающего из просвета кишечника в системный кровоток [22]. Действительно, в ряде исследований показано, что у людей с избыточной массой тела, а также у больных СД концентрация ЛПС в крови существенно выше, чем у лиц, не страдающих ожирением и СД [23, 24]. Вместе с тем попадание в организм избытка ЛПС сопровождается развитием гуморального адаптивного иммунного ответа, направленного на элиминацию этого бактериального антигена из системной циркуляции.

Увеличение концентрации СРП в диапазоне от 2 до 10 мг/л свидетельствует о наличии НВП и рассматривается как независимый предиктор повышенного кардиоваскулярного риска [4]. Образование СРП происходит преимущественно в гепатоцитах и инициируется рядом цитокинов, к которым, в первую очередь, относятся IL-6 и IL-1. При этом одним из мощных активаторов синтеза указанных цитокинов является ЛПС [25]. Экспериментально показано, что через 24 часа после внутривенного введения здоровым волонтерам небольших количеств ЛПС (2 нг/кг массы тела) концентрация СРП в крови возрастает более чем в 50 раз по отношению к исходному базовому уровню [26].

Проведенные исследования показали, что у обследованных больных СД-1 и СД-2 концентрация СРП в крови была достоверно выше, чем у здоровых людей из контрольной группы, что вполне согласуется с данными литературы [3]. Ранее нами было показано, что у практически здоровых людей с повышенной базовой концентрацией СРП в крови (среднее значение $2,24 \pm 0,26$ мг/л) наблюдается достоверное уменьшение уровней сывороточных анти-ЛПС-

АТ классов А, М и G [14]. Поскольку анти-ЛПС-АТ принимают активное участие в нейтрализации биологической активности и клиренсе ЛПС [9, 10], сниженный адаптивный иммунный ответ на ЛПС энтеробактерий может рассматриваться как один из факторов, способствующих реализации провоспалительного потенциала ЛПС.

Для более детального анализа взаимосвязей между изучаемыми показателями нами был применен КА. В соответствии с формальным определением под КА подразумевается способ группировки многомерных объектов, основанный на представлении результатов отдельных наблюдений точками подходящего геометрического пространства с последующим выделением групп как «сгустков» (кластеров) этих точек. КА является очень эффективным методом выделения однородных совокупностей по количественным признакам и находит широкое применение в медико-биологических исследованиях [18, 19].

С помощью КА установлено, что примерно у половины больных СД-1 (40,8%) повышенная концентрация СРП в крови также ассоциирована с существенным снижением уровней сывороточных анти-ЛПС-АТ всех трех классов, тогда как у меньшей части больных СД-1 (18,4%) НВП не сопровождаются достоверными изменениями указанных показателей. В то же время у тех больных СД-1, у которых концентрация СРП в крови не отличалась от нормы, уровень сывороточных анти-ЛПС-IgM был достоверно ниже, чем у здоровых людей, тогда как содержание анти-ЛПС-IgA и анти-ЛПС-IgG не отличалось от нормальных значений.

Необходимо особо подчеркнуть, что иммунный ответ на ЛПС энтеробактерий как у здоровых лиц, так и пациентов, страдающих теми или иными заболеваниями, нельзя рассматривать в рамках классических представлений о фазах иммунного ответа, наблюдаемых при первичном контакте иммунной системы с новым для нее антигеном. Выше уже отмечалось, что ЛПС является облигатным антигеном нормального антигенного окружения человека, постоянно попадающим в системную циркуляцию. По-видимому, индивидуальные уровни анти-ЛПС-АТ разных классов отражают динамическое равновесие между двумя одновременно протекающими процессами: поступлением ЛПС во внутреннюю среду организма и адаптивным иммунным ответом на этот антиген. С учетом

этого можно предположить, что снижение уровня анти-ЛПС-IgM в указанной выше подгруппе больных СД-1 может быть обусловлено их активным потреблением в реакциях образования иммунных комплексов с ЛПС, что и предотвращает развитие НВП, инициируемых ЛПС.

У значительной части (56,7%) больных СД-2 с повышенной концентрацией СРП в крови уровни сывороточных анти-ЛПС-АТ классов А и М достоверно не отличались от нормальных значений для этих показателей, в то время как уровни анти-ЛПС-IgG у них были достоверно повышены. Уже отмечалось, что при попадании в организм ЛПС инициирует образование широкого спектра анти-ЛПС-АТ [9, 10]. Исходя из этого, можно предположить, что повышение уровней сывороточных анти-ЛПС-IgG у больных СД-2 из указанной подгруппы отражает активную компенсаторную реакцию адаптивной иммунной системы на избыточное поступление ЛПС в системный кровоток, однако по какой-то, пока невыясненной причине, это не обеспечивает полного блокирования провоспалительного потенциала ЛПС. Вместе с тем дальнейшая активизация НВП, которую отражает рост содержания СРП в крови, у больных СД-2 сопровождается значительным возрастанием уровней сывороточных анти-ЛПС-АТ классов А и G, а также тенденцией к снижению уровней анти-ЛПС-IgM.

Таким образом, у больных СД 1- и 2-го типа содержание анти-ЛПС-АТ некоторых классов в крови существенно отличается от значений нормы, что, по всей видимости, обусловлено адаптивным иммунным ответом на избыточное поступление ЛПС во внутреннюю среду организма. В то же время характер выявленных взаимосвязей между отклонениями указанных показателей и повышенной концентрацией СРП в крови косвенно указывает на существенную роль адаптивного иммунного ответа на ЛПС энтеробактерий в предотвращении хронического низкоинтенсивного воспаления при СД 1- и 2-го типа. На основании полученных результатов можно предположить, что подавление избыточного роста грамотрицательной кишечной микрофлоры и/или селективная деконтаминация кишечника у больных СД будут способствовать снижению воспалительной реакции, нормализации метаболических нарушений и уменьшению риска развития сердечно-сосудистых осложнений.

**РІВНІ СИРОВАТКОВИХ АНТИТІЛ
ДО ЛІПОПОЛІСАХАРИДІВ
ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ ТА
ЇХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ІЗ
КОНЦЕНТРАЦІЄЮ С-РЕАКТИВНОГО
ПРОТЕЇНУ В КРОВІ ХВОРИХ НА
ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ**

A. I. Gordienko

Кримський державний медичний університет
ім. С. І. Георгієвського, Сімферополь;
e-mail: uu4jey@csmu.strace.net

Проведено лабораторне обстеження хворих на цукровий діабет 1-го (ЦД-1) і 2-го (ЦД-2) типу. У всіх хворих методом твердофазного імуноензимного аналізу визначали концентрацію С-реактивного протеїну (СРП) в крові і рівні сироваткових антитіл до ліпополісахаридів ентеробактерій різних класів (анти-ЛПС-АТ). За допомогою кластерного аналізу встановлено, що у 40,8% хворих на ЦД-1 підвищена концентрація СРП в крові асоційована з істотним зниженням рівнів сироваткових анти-ЛПС-АТ класів А, М і G. У 56,7% хворих на ЦД-2 з підвищеною концентрацією СРП в крові рівні сироваткових анти-ЛПС-АТ класів А і М вірогідно не відрізнялися від норми, а рівні анти-ЛПС-IgG були вірогідно вищі. Разом з тим, активізація запалення з подальшим зростанням вмісту СРП в крові у хворих на ЦД-2 супроводжується значним збільшенням рівнів сироваткових анти-ЛПС-АТ класів А і G, а також тенденцією до зниження рівнів анти-ЛПС-IgM. Одержані результати свідчать про наявність взаємозв'язків між низькоінтенсивним запаленням й імунною відповіддю на ЛПС ентеробактерій за цукрового діабету 1- і 2-го типу.

Ключові слова: цукровий діабет, С-реактивний протеїн, ліпополісахарид, антитіла, імуноглобулін.

**LEVELS OF SERUM ANTIBODIES
TO ENTEROBACTERIAL
LIPOPOLYSACCHARIDES AND
THEIR RELATIONSHIP WITH
CONCENTRATION OF C-REACTIVE
PROTEIN IN DIABETES MELLITUS
PATIENTS**

A. I. Gordienko

S. I. Georgievsky Crimea State Medical
University, Simferopol;
e-mail: uu4jey@csmu.strace.net

We examined patients with type 1 (DM 1) and type 2 (DM 2) diabetes mellitus. The concentration of C-reactive protein (CRP) in the blood and levels of serum antibodies to different classes of enterobacterial lipopolysaccharides (LPS) were determined by ELISA. Using cluster analysis it was shown that in 40.8% DM-1 patients the increased concentration of CRP is associated with a decrease in the levels of serum anti-LPS-IgA, anti-LPS-IgM and anti-LPS-IgG. In 56.7% of DM-2 patients with increased concentration of CRP levels of serum anti-LPS-IgA and anti-LPS-IgM were not significantly different from the normal values, but the levels of serum anti-LPS-IgG were significantly increased. Activation of inflammation and increase of concentration of the CRP in the blood of DM-2 patients is accompanied by a significant increase in the levels of serum anti-LPS-A and anti-LPS-G, as well as the tendency to reduce the levels of anti-LPS-IgM. The results of this study suggest an association between low intensity inflammation and immune response to enterobacterial LPS in type 1 and 2 diabetes mellitus.

Key words: diabetes mellitus, C-reactive protein, lipopolysaccharide, antibody, immunoglobulin.

References

1. Mangiapane H. Cardiovascular disease and diabetes. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012;771:219-228.

2. Rosenfeld M. E. Inflammation and atherosclerosis: direct versus indirect mechanisms. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2013;13(2):154-160.
3. Pfutzner A., Forst T. High-sensitivity C-reactive protein as cardiovascular risk marker in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Technol. Ther.* 2006;8(1):28-36.
4. Titov V. N. Diagnostic value of increasing the level of C-reactive protein in clinical and subclinical intervals. *Klin. Lab. Diagnostica.* 2004;(6):3-10. (In Russian).
5. Konev Yu. V., Lazebnik L. V. Endotoxin (LPS) in the pathogenesis of atherosclerosis. *Exp. Clin. Gastroenterol.* 2011;(11):15-26. (In Russian).
6. Stoll L. L., Denning G. M., Weintraub N. L. Potential role of endotoxin as a proinflammatory mediator of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004;2(12):2227-2236.
7. Heine H., Rietschel E. T., Ulmer A. J. The biology of endotoxin. *Mol. Biotechnol.* 2001;19(3):279-296.
8. Liebers V., Raulf-Heimsoth M., Bruning T. Health effects due to endotoxin inhalation. *Arch. Toxicol.* 2008;82(4):203-210.
9. Cross A. S. Anti-endotoxin vaccines: back to the future. *Virulence.* 2014;5(1):219-225.
10. Müller-Loennies S., Brade L., Brade H. Neutralizing and cross-reactive antibodies against enterobacterial lipopolysaccharide. *Int. J. Med. Microbiol.* 2007;297(5):321-340.
11. Demicheva T. P. Gastroenterological aspects of diabetes. *Rus. Med. J.* 2012;(5):51-53. (In Russian).
12. Balzan S., de Almeida Quadros C., de Cleva R., Zilberstein B., Ceconello I. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2007;22(4):464-471.
13. Rajagopalan S. Serious infections in elderly patients with diabetes mellitus. *Clin. Infect. Dis.* 2005;40(7):990-996.
14. Gordienko A. I. Correlation between basal concentration of C-reactive protein in the blood, levels of serum antiendotoxin antibodies and endotoxin-binding capacity of monocytes and granulocytes in healthy people. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2013;85(4):61-66 (In Russian).
15. Dedov I. I., Balabolkin M. I., Klebanova E. M., Kreminskaya V. M., Chazova T. E. Diabetes: pathogenesis, classification, diagnosis and treatment: a Manual for physicians. M., 2003; 170 p. (In Russian).
16. Gordienko A. I. New approach to an increase of specificity in determination of antibodies to lipopolysaccharides of Gram-negative bacteria by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2004;76(6):130-135. (In Russian).
17. Gordienko An. I., Beloglazov V. A., Gordienko Al. I. Microturbidimetry method for the determination of human IgG, IgM, IgA. *Immunol. Allergol.* 2000;(1):12-15. (In Russian).
18. Zhizhin K. C. Medical statistics. Rostov n/D: Phoenix, 2007; 160 p. (In Russian).
19. Rebrova O. Yu. Statistical analysis of medical data. Application of package STATISTICA. M.: MediaSphera, 2002; 312 p. (In Russian).
20. Neves A. L., Coelho J., Couto L., Leite-Moreira A., Roncon-Albuquerque R. Metabolic endotoxemia: a molecular link between obesity and cardiovascular risk. *Mol. Endocrinol.* 2013;51(2):51-64.
21. Wolter J., Liehr H., Grun M. Hepatic clearance of endotoxins: differences in arterial and portal venous infusion. *J. Reticuloendothel. Soc.* 1978;23(2):145-152.
22. Everard A., Cani P.D. Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2013;27(1):73-83.
23. Okorokov P. L., Anikhovskaya I. A., Volkov I. Ed., Yakovlev M. Yu. Intestinal Endotoxin Like a Trigger of Type 1 Diabetes. *Fiziologiya Cheloveka.* 2011;37(2):138-141.
24. Al-Attas O. S., Al-Daghri N. M., Al-Rubeaan K. Changes in endotoxin levels in T2DM subjects on anti-diabetic therapies. *Cardiovasc. Diabetol.* 2009;8(20):1-10.
25. Black S., Kushner I., Samols D. C-reactive Protein. *J. Biol. Chem.* 2004;279(47):48487-48490.
26. Noveck R., Stroes E. S., Flaim J. D., Baker B. F., Hughes S., Graham M. J., Crooke R. M., Ridker P. M. Effects of an antisense oligonucleotide inhibitor of C-reactive protein synthesis on the endotoxin challenge response in healthy human male volunteers. *J. Am. Heart. Assoc.* 2014;10(3(4)):1-11.

Получено 03.10.2014