

На правах рукописи

**Дервянко Ольга Сергеевна**

**АУТОАНТИТЕЛА К НЕЭНДОКРИННЫМ ОРГАНАМ ПРИ  
САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 ТИПА: ДИАГНОСТИКА, ОЦЕНКА  
КЛИНИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ И ПРОГНОЗА**

14.01.02 – эндокринология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2014

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Эндокринологический научный центр» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

(директор – академик РАН Дедов И.И.)

**Научный руководитель:**

**Смирнова Ольга Михайловна**  
доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Романцова Татьяна Ивановна**  
доктор медицинских наук, профессор кафедры  
эндокринологии ГБОУ ВПО Первого МГМУ  
имени И.М. Сеченова Минздрава России

**Бирюкова Елена Валерьевна**  
доктор медицинских наук, профессор кафедры  
эндокринологии и диабетологии ГБОУ ВПО  
«Московский государственный медико-  
стоматологический университет имени А.И.  
Евдокимова» Минздрава России

**Ведущее учреждение:**

Государственное бюджетное образовательное  
учреждение дополнительного  
профессионального образования «Российская  
медицинская академия последипломного  
образования» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации

Защита состоится 19 ноября 2014 года в 14 часов на заседании Диссертационного Совета  
Д 208.126.01 при ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России по адресу:  
117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Эндокринологический научный  
центр» Минздрава России

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2014 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук

Суркова Елена Викторовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Сахарный диабет 1 типа (СД1) является иммунноопосредованным заболеванием, при котором, помимо антител (АТ), поражающих островки Лангерганса, часто наблюдается развитие других аутоиммунных заболеваний (АИЗ) как эндокринной системы, так и других органов и систем.

Наличие СД1 аутоиммунной природы является признаком наследственных нарушений механизмов аутоотолерантности. У пациентов с СД1 их родственников частота встречаемости сопутствующих аутоиммунных заболеваний в 3-5 раз выше в сравнении с общей популяцией и составляет от 0,5 до 10%. Само наличие СД 1 является маркером присутствия специфичных аллелей HLA, которые ассоциированы с различными аутоиммунными заболеваниями. Широкая распространенность аутоиммунных заболеваний среди пациентов с СД1, тяжелые последствия несвоевременной диагностики обуславливают необходимость информирования врачей и пациентов о возможности сочетания аутоиммунных поражений и проведения скрининга асимптомно протекающих заболеваний.

Панкреатиты и гепатиты аутоиммунной природы, наряду с аутоиммунным гастритом и, как его следствие, пернициозой анемией, представляют собой наименее изученные и прогностически неблагоприятные заболевания.

Аутоиммунные панкреатиты имеют осложненное течение, имитирующее опухоли поджелудочной железы (ПЖ), что почти в половине случаев приводит к необоснованному оперативному лечению. До 5% всех панкреатодуоденальных резекций выполняется у пациентов с аутоиммунным панкреатитом вместо предполагаемой опухоли ПЖ. Учитывая высокую летальность в панкреатобилиарной хирургии, риск ранних и поздних осложнений, последующую инвалидизацию больных, своевременно установленный диагноз значительно улучшает дальнейший прогноз, так как возможности современной фармакотерапии способны обеспечить обратное развитие патологических изменений в поджелудочной железе при аутоиммунном панкреатите без оперативного вмешательства. В ряде случаев

клиницисты сталкиваются со сложной ситуацией – у одного больного имеется несколько иммунообусловленных заболеваний, включая и аутоиммунный панкреатит. Информированность о возможности подобной ассоциации играет важную роль в установлении диагноза.

При аутоиммунном панкреатите описаны случаи вовлечения в аутоиммунный процесс различных органов – желудка, тонкой кишки, фатерова соска, лимфатических узлов, щитовидной железы, легких, суставов и мышечной системы (миастения *gravis*, ревматоидный артрит).

У 25 % больных аутоиммунный гепатит диагностируется уже на стадии цирроза печени, что указывает на его длительное бессимптомное течение.

Клиническая картина аутоиммунного гастрита не имеет патогномичных признаков и на поздних стадиях заболевания может проявляться в виде гематологических и онкологических осложнений. Эти данные обуславливают необходимость скрининга, периодического проведения гастроскопии и биопсии, ранней диагностики, профилактики и/или лечения. Своевременно назначенное лечение пациентов способно улучшить прогноз.

Несмотря на большое количество работ, посвященных проблеме сочетания аутоиммунных заболеваний, исследования состояния желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) у пациентов с СД1 немногочисленны.

Учитывая, что своевременно установленный диагноз аутоиммунного панкреатита значительно улучшает дальнейший прогноз, так как возможности современной фармакотерапии способны обеспечить обратное развитие патологических изменений в поджелудочной железе при аутоиммунном панкреатите без оперативного вмешательства, то, что у больных аутоиммунным гастритом риск развития рака желудка в 3 раза выше по сравнению со здоровыми лицами того же возраста и пола, и тот факт, что у 10% больных аутоиммунный гастрит может предрасполагать к развитию желудочных карциноидов или аденокарциномы, а аутоиммунные гепатиты могут манифестировать лишь на стадии уже развившегося цирроза печени, рекомендации по диагностике аутоиммунных поражений экзокринной части

поджелудочной железы, печени и желудка позволят своевременно диагностировать данные заболевания и как можно раньше проводить патогенетическое лечение. Таким образом, изучение особенностей ЖКТ у пациентов с СД1 представляется актуальным.

### **Цель исследования**

Изучить встречаемость иммунологических маркеров поражения экзокринной части поджелудочной железы, печени, желудка и клинические особенности течения аутоиммунных заболеваний ЖКТ у пациентов с СД1.

Оптимизировать комплексное ведение больных с СД1 на основе диагностики и своевременной коррекции аутоиммунных заболеваний ЖКТ.

### **Задачи исследования**

1. Изучить частоту выявления антител (АТ) к экзокринной части поджелудочной железы, печени, желудка у пациентов с СД1:

-АТ, патогомоничных для аутоиммунных гепатитов 1 и 2 типа: антигладкомышечных антител (АГМА), и антинуклеарных антител (АНА)

-АТ, патогомоничных для первичного биллиарно цирроза – антимиохондриальных АТ (АМА)

-АТ, патогомоничных для аутоиммунного гастрита: антител к париетальным клеткам желудка (АТ к ПКЖ), антител ко внутреннему фактору – маркера пернициозной анемии, возникшей в следствие аутоиммунного гастрита.

-АТ к лактоферрину, наиболее часто встречаемых при аутоиммунных панкреатитах, что может свидетельствовать о роли лактоферрина как антигена-мишени, вызывая клеточно-опосредованный иммунный ответ при этом заболевании.

2. Оценить влияние полиаутоиммунности на частоту выявления исследуемых АТ к органам ЖКТ.

3. Изучить взаимосвязь аутоиммунных поражений желудка, печени и экзокринной части поджелудочной железы с поражением  $\beta$ -клеток поджелудочной железы.

4. Изучить взаимосвязь аутоиммунных маркеров поражения органов ЖКТ с клиническими проявлениями аутоиммунных гастритов, гепатитов, панкреатитов и первичного билиарного цирроза
5. Разработать тактику ведения больных СД 1 с аутоиммунными заболеваниями ЖКТ

### **Научная новизна исследования**

1. Впервые проведена комплексная оценка уровня АТ к органам ЖКТ у пациентов с СД1, влияния полиаутоиммунности на частоту выявления этих АТ.
2. Изучена взаимосвязь АТ к органам ЖКТ и АТ к  $\beta$ -клеткам ПЖ.

### **Практическая значимость исследования**

- Установлена необходимость определения исследуемых АТ у пациентов с СД1, при возникновении жалоб со стороны ЖКТ. Проведена оценка встречаемости маркеров аутоиммунных панкреатитов, гастритов, гепатитов, среди пациентов с СД1.
- Выявлена зависимость течения заболеваний ЖКТ аутоиммунного генеза и аутоагрессии к  $\beta$ -клеткам поджелудочной железы.
- На основе полученных данных разработаны рекомендации по обследованию и тактике ведения пациентов с СД1 в сочетании с заболеваниями ЖКТ.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. У пациентов с СД1 встречаемость антител к органам ЖКТ достоверно выше в сравнении с лицами без СД1.
2. Пациенты с наличием нескольких аутоиммунных заболеваний имеют более высокие риски развития гепатитов и панкреатитов аутоиммунного генеза.
3. Аутоиммунное поражение эндокринной части поджелудочной железы и других органов ЖКТ взаимосвязаны.
4. Антитела к органам ЖКТ могут выявляться до развития развернутой клинической картины и признаков повреждения по данным инструментальных методов диагностики.

5. Пациентам с СД1 при возникновении клинических проявлений заболеваний ЖКТ необходимо исключать их аутоиммунный генез.

### **Внедрение результатов работы и ее апробация**

Результаты работы внедрены в клиническую практику отделения программного обучения и лечения ФГБУ «Эндокринологический Научный Центр» Минздрава России.

Основные положения исследования были представлены на 48 сессии Европейской Ассоциации по изучению сахарного диабета (Берлин, 2012), II Всероссийском конгрессе «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, 2014). Представленная работа завоевала первое место на конкурсе молодых ученых в рамках VI Всероссийского диабетологического конгресса (Москва, 2013).

Апробация диссертации состоялась на межотделенческой научной конференции ФГБУ «Эндокринологический научный центр» 19 мая 2014 года.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ в отечественных и зарубежных научных изданиях, из них 7 в журналах, включенных в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для публикации основных научных результатов диссертаций.

### **Структура и объём диссертации**

Диссертация включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы и практические рекомендации. Список литературы включает 146 источника. Диссертация изложена на 127 страницах и содержит 14 таблиц и 21 рисунок.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Клиническая характеристика больных

В исследование были включены 84 пациента (39 мужчин, 45 женщин) с СД1 с различной длительностью заболевания (от 1 месяца до 40 лет), проходивших стационарное или амбулаторное лечение в институте диабета ФГБУ ЭНЦ Минздрава России (директор ФГБУ ЭНЦ Минздрава России- академик РАН, проф. Дедов И.И., директор института диабета - член-корреспондент РАМН, проф., д.м.н. Шестакова М.В.) в период с 2011 по 2013 год.

Больные были разделены на группы в зависимости от наличия дополнительно установленного аутоиммунного заболевания помимо СД1.

- 26 человек с СД1 в сочетании с другими аутоиммунными заболеваниями (аутоиммунный тиреоидит, ревматоидный артрит, целиакия, витилиго, надпочечниковая недостаточность)
- 58 человек, пациенты с СД 1, без дополнительно установленных аутоиммунных заболеваний

Диагноз СД1 был установлен по данным клинической картины и результатам лабораторных методов исследования в соответствии с критериями Всемирной Организации Здравоохранения (WHO,1999). Аутоиммунный тиреоидит был установлен по данным лабораторных исследований – повышение тиреотропного гормона (ТТГ) в сочетании с повышенным титром АТ к тиреопероксидазе и тиреоглобулину. Все пациенты на момент исследования получали терапию левотироксином и имели нормальные показатели ТТГ. Диагнозы ревматоидный артрит, целиакия, витилиго, надпочечниковая недостаточность были установлены по данным предоставленной медицинской документации. Пациенты с надпочечниковой недостаточностью получали лечение глюкокортикоидными и минералокортикоидными препаратами (преднизолон и флудрокортизон), больные с ревматоидным артритом- лечение метотрексатом.

Критериями исключения являлись: наличие гепатитов вирусной природы.



Контрольную группу (3 группу) составили 21 человек- практически здоровые лица, сопоставимые по возрасту и полу с пациентами исследуемых групп. Критериями включения в контрольную группу были: отсутствие нарушений углеводного обмена и установленных заболеваний аутоиммунного генеза.

### **Клинические, лабораторные и инструментальные методы исследования**

Клиническое обследование включало осмотр, анализ анамнестических данных, оценку жалоб.

При сборе анамнеза особое внимание уделялось наличию семейного анамнеза АИЗ и перенесенных детских инфекций.

30% больных предъявляли жалобы на диспепсию по данным анкетирования, где отмечались: боли и дискомфорт в области живота, правом подреберье; раннее насыщение, ощущение, что желудок переполняется сразу после начала еды, независимо от объёма принятой пищи; переполнение, неприятное ощущение задержки пищи в желудке, связанное или несвязанное с приёмом пищи; вздутие, чувство распираания в области живота, тошнота.

По данным осмотра желтушности кожных покровов, склер не было отмечено ни у одного пациента.

При перкуссии и пальпации увеличение границ печени было выявлено у 4 (5%) пациентов.

Биохимический анализ крови проводился с использованием анализатора Abbott Architect c4000. Повышение печеночных ферментов (АЛТ, АСТ) было выявлено у 6 (8%) обследуемых.

Все пациентам было проведено обследование для исключения гепатитов вирусной природы с использованием анализаторов Abbott Architect 2000. Всем пациентам был проведен общий анализ крови с определением уровня гемоглобина с целью выявления анемии. Анемия устанавливалась при снижении уровня гемоглобина ниже 120 г/л у женщин и 130 г/л у мужчин. У 17% пациентов отмечалось снижение гемоглобина. Взятие образцов крови на все исследования проводилось

из кубитальной вены строго натощак. За весь период проведения работы использовавшееся оборудование, методики и производители реагентов не менялись.

Всем пациентам было проведено комплексное лабораторное обследование на базе биохимической лаборатории ФГБУ ЭНЦ (зав.- д.м.н. Ильин А.В.), лаборатории гормонального анализа ФГБУ ЭНЦ (зав.- проф. Гончаров Н.П.), лаборатории генетики и клинической иммунологии ФГБУ ЭНЦ (зав.- к.б.н. Иванова О.Н.)

Иммунологическое исследование включало определение аутоантител к островковым клеткам (ICA), глутаматдекарбоксилазе (GADA), тирозинфосфотазе (IA-2). Количественное определение ICA, GADA, IA-2A в сыворотке крови осуществляли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов Biomerica и Medipan GMBH, Германия. Референсные значения ICA –до 10 Ед/мл, GADA до 1 Ед/мл, IA-2 до 10 Ед/мл.

Компенсация углеводного обмена оценивалась с помощью уровня гликированного гемоглобина (HbA1c), который определялся методом ионно- обменной хроматографии на автоматическом биохимическом анализаторе Bio-RAD D-10 (Франция) по стандартной методике производителя.

Специальное иммунологическое обследование включало выявление специфических АТ:

АТ к лактоферрину – наиболее часто выявляемых при аутоиммунных панкреатитах;

АТ к внутреннему фактору- маркеров пернициозной анемии;

АТ к ПКЖ - маркеров аутоиммунного гастрита;

АНА-маркеров аутоиммунного поражения экзокринной части поджелудочной железы и печени;

АГМА-маркеров аутоиммунного гепатита;

АМА-маркеров первичного билиарного цирроза

Для определения АТ к ПКЖ, АГМА, АНА, АМА использовался качественный анализ -метод непрямой иммунофлуоресценции с использованием коммерческих

наборов (IMMCO, ImmuGlo™ COMVI-II Kit) согласно регламенту, указанному производителем.

АТ к лактоферрину определялись с помощью наборов - ORGENTEC Anti-Lactoferrin - для количественного определения IgG-антител к лактоферрину в образцах человеческой сыворотки или плазмы крови лактоферрину методом иммуноферментного анализа.

АТ к внутреннему фактору определялись при помощи наборов ORGENTEC Anti-Intrinsic Factor -для количественного определения IgG-антител к внутреннему фактору в образцах человеческой сыворотки или плазмы крови методом иммуноферментного анализа.

Определение базальной концентрации С-пептида в крови для оценки функционального состояния  $\beta$ -клеток проводили иммунохемилюминесцентным методом на аппарате «Elecsys 2010» («Roche»).

Всем пациентам на базе консультативно-диагностического отделения ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России была проведена эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) с использованием аппарата Olympus EXERA 160 серии (врач-гастроэнтеролог, эндоскопист Лейтес Ю.Г.)

Среди всей выборки пациентов с СД1 гастрит был выявлен у 18 из 84 обследованных, что составило 21%, 66 пациентов не имели признаков поражения слизистой оболочки желудка по данным ЭГДС. В группе контроля данных за гастрит получено не было.

Всем пациентам было проведено ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости в отделении функциональной диагностики ФГБУ ЭНЦ (руководитель – к.м.н. Солдатова Т.В.) с оценкой размеров и эхографических характеристик печени и ПЖ на аппаратах экспертного класса Aloka альфа 10, Toshiba Aplio XG 790. Изменения печени по данным УЗИ были выявлены у 16 из 84 пациентов с СД1 (19%), изменения ПЖ – у 26 пациентов (31%). В группе контроля эхографических признаков патологии печени и ПЖ выявлено не было.

Всеми пациентами было подписано информированное согласие на участие в исследовании.

### **Статистический анализ**

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с помощью пакета прикладных программ Statistica v 6.0 for Windows. Сравнение показателей выделенных групп пациентов проводилось по U-критерию Манна-Уитни. Описательные статистические данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха [Q25; Q75] и массовой доли (%). Корреляционный анализ проводился с использованием непараметрической корреляции Спирмена. Критический уровень значимости принимался равным 5%.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ**

### **Изучение иммунологических маркеров поражения ЖКТ при СД1.**

#### **Определение уровня антител к лактоферрину.**

АТ к лактоферрину, выявляемые при панкреатитах аутоиммунного генеза, были определены всем пациентам с СД1 (n=84). Установлены достоверно более высокие титры при сравнении с группой контроля (2,99 Ед/мл [2,3;3,97] и 1,87 Ед/мл [1,71;2,31], соответственно,  $p=0,0007$ ).

При делении пациентов на группы в зависимости от наличия АИЗ помимо СД1, в нашем исследовании было выявлено достоверное различие по уровню титра АТ к лактоферрину между исследуемыми группами и группой контроля ( $p<0.05$ ), тенденция к более высокому титру АТ к лактоферрину у пациентов с несколькими АИЗ ( $p=0,065$ ) (табл. 1). Титр АТ к лактоферрину составил 3,27 Ед/мл [2,82;5,14] в 1 группе; 2,52 Ед/мл [1,96;3,64] во 2 группе и 1,87 Ед/мл [1,7;2,31] в группе контроля (рис. 1).

Таблица 1. Сравнение исследуемых и контрольной групп по титру АТ к лактоферрину

Показатель	1 группа (n=26)	2 группа (n=58)	Контроль (n=21)	$p$ 1-2	$p$ 1-3	$p$ 2-3
АТ к лактоферрину, Ед/мл	3,27 [2,82;5,14]	2,52 [1,96;3,64]	1,87 [1,7;2,31]	0,065	0,0002	0,007

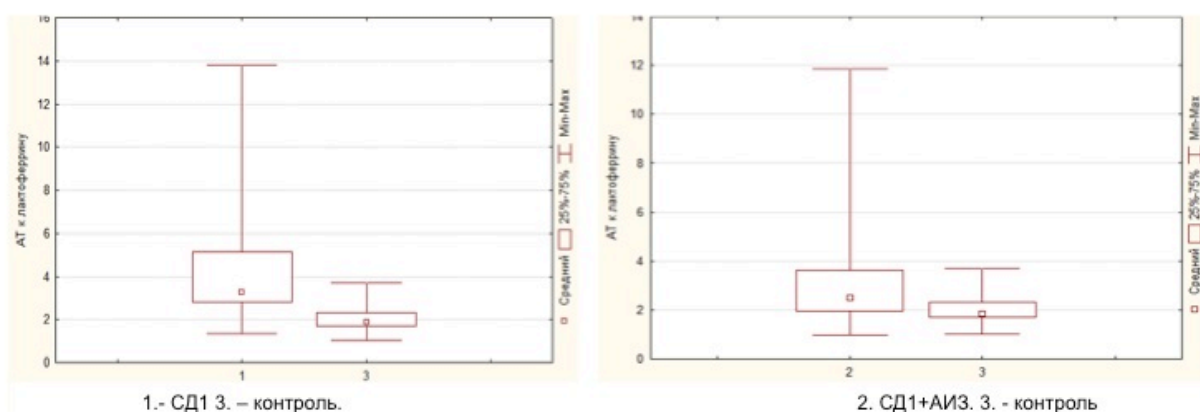


Рисунок 1. Титры АТ к лактоферрину в исследуемых группах в сравнении с группой контроля.

Нами была получена достоверная положительная корреляционная связь между титром АТ к лактоферрину и титром IA-2 ( $r=0,28$ ,  $p=0,03$ ) (рис. 2), также отмечена тенденция к более высокому уровню антител ICA ( $r=0,22$ ,  $p=0,09$ ) (рис. 3). Статистически значимой корреляционной связи между титром АТ к лактоферрину и GADA мы не получили.

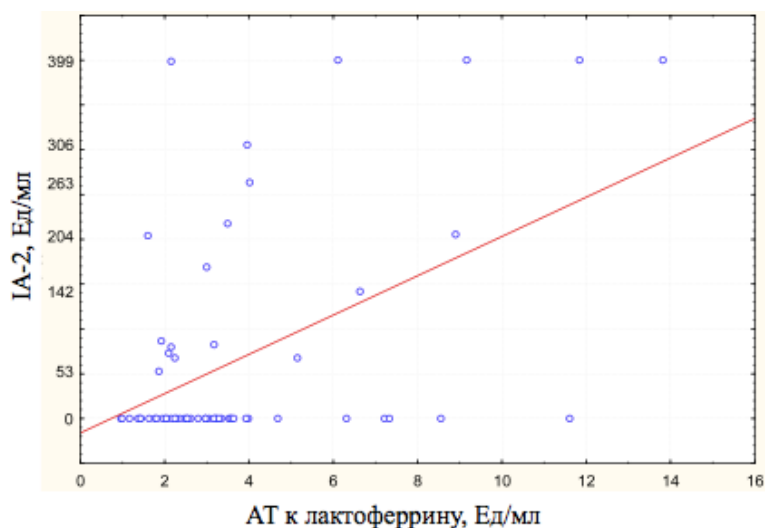


Рисунок 2. Взаимосвязь АТ к лактоферрину и IA-2 у пациентов с СД1.

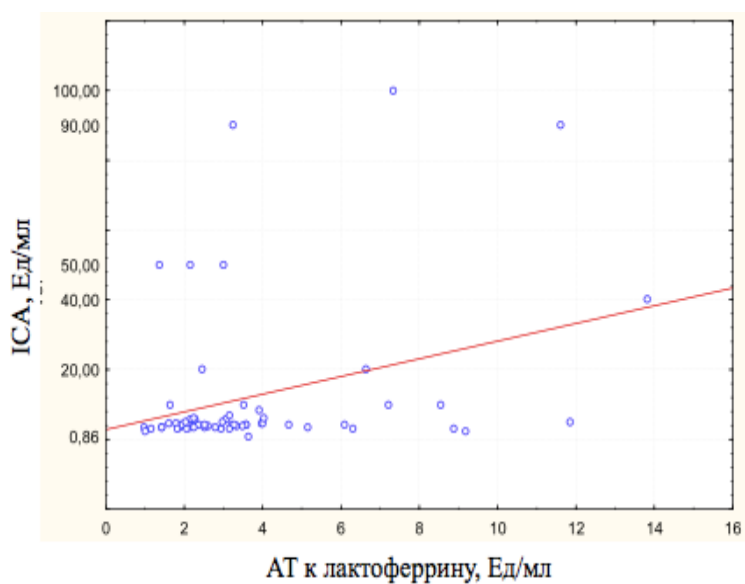


Рисунок 3. Взаимосвязь АТ к лактоферрину и ICA.

Полученные данные свидетельствуют о возможном наличии общих механизмов поражения экзокринной и эндокринной частей ПЖ, более высоком риске полиорганного поражения у пациентов с более высокими титрами АТ к  $\beta$ -клетке, то есть с более выраженной аутоиммунной агрессией.

### Определение антител к внутреннему фактору.

Всем пациентам было проведено исследование уровня АТ к внутреннему фактору-маркера пернициозной анемии. Среди всей выборки пациентов с СД1 титр составил 1,31 Ед/мл [0,66; 2,37], и был выше, чем в группе контроля - 0,61 Ед/мл [0,52;1,98], однако это различие не было статистически значимым ( $p=0,52$ ).

При делении пациентов на группы в зависимости от наличия дополнительно установленного АИЗ помимо СД1, у пациентов с несколькими АИЗ титр данных антител составил 1,4 Ед/мл [0,66;2,86] и был выше в сравнении с группой пациенты только с СД1- 1,27 Ед/мл [0,66;2,39], а также в обеих исследуемых группах выше в сравнении с группой контроля, однако это различие не было статистически значимым ( $p>0.05$ ).

При делении пациентов на группы в зависимости от наличия анемии, уровень АТ к внутреннему фактору был сопоставим у пациентов с анемией ( $n=15$ ) и без анемии ( $n=70$ ) и составил 1,27 Ед/мл [0,2;1,9] и 1,34 Ед/мл [0,66;2,86], соответственно ( $p=0,4$ ). Таким образом, в нашем исследовании взаимосвязь титра АТ к внутреннему фактору и наличием анемии не была выявлена.

Нами была выявлена достоверная положительная корреляционная связь титра АТ к внутреннему фактору и титра ICA ( $r=0,3$   $p=0,04$ ) (рис. 4), что, возможно, связано, с выраженностью активности аутоиммунитета.

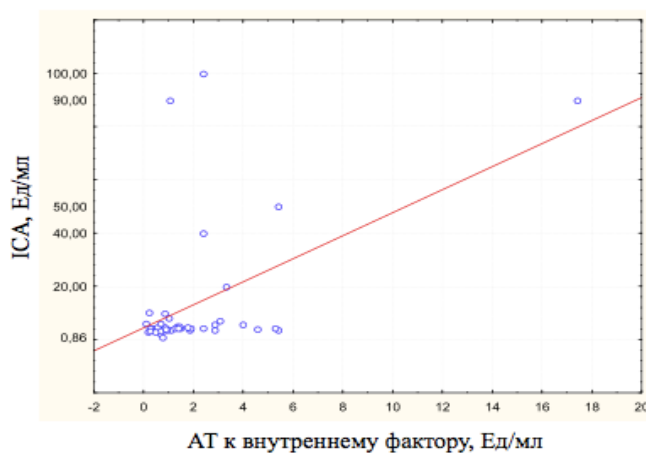


Рисунок 4. Корреляция между титром ICA и титром АТ к внутреннему фактору.

Выраженная аутоиммунная агрессия против  $\beta$ -клеток может сопровождаться активацией аутоиммунитета против других органов и систем.

### Исследование антинуклеарных антител

АНА, выявляемые при панкреатитах и гепатитах аутоиммунного генеза, были выявлены у 21 из 84 пациентов с СД1 (25%), у 62 пациентов данные АТ были отрицательными (рис.5). Положительный титр АНА определялся при свечении ядер на Нер-2 клетках (рис 6).

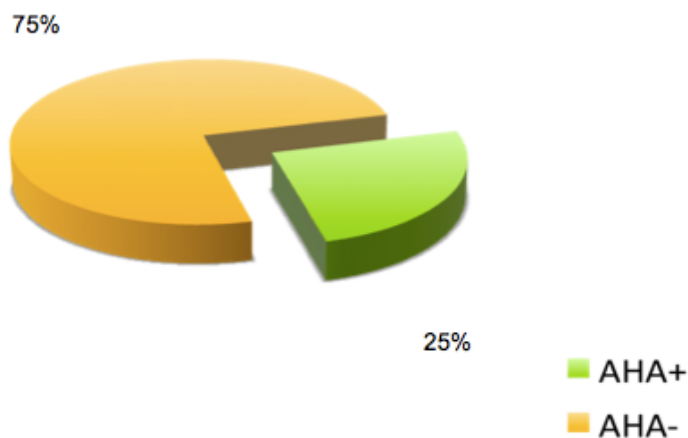


Рисунок 5. Встречаемость АНА среди пациентов с СД1.

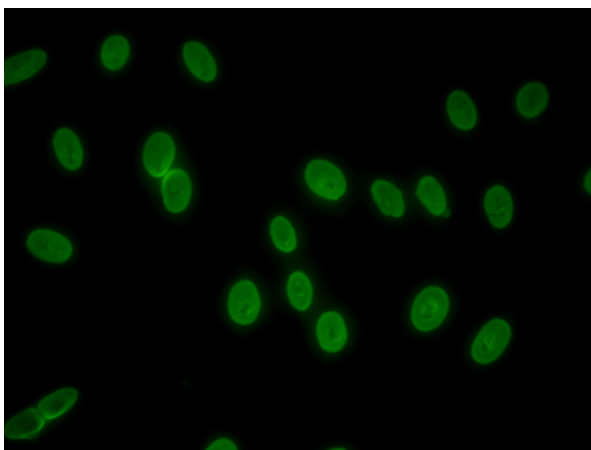


Рисунок 6. Положительный титр АНА - Свечение ядер на Нер-2 клетках. Больной В., фото с микроскопа.



При этом в группе пациентов с несколькими АИЗ АНА встречались достоверно чаще в сравнении с группой пациентов с СД1 без сопутствующей аутоиммунной патологии (в 46% случаев в сравнении с 16% ,  $p=0,007$ ) и в сравнении с группой контроля (5%  $p=0,005$ ). В группе контроля АНА были выявлены лишь у 1 пациента (рис. 7).

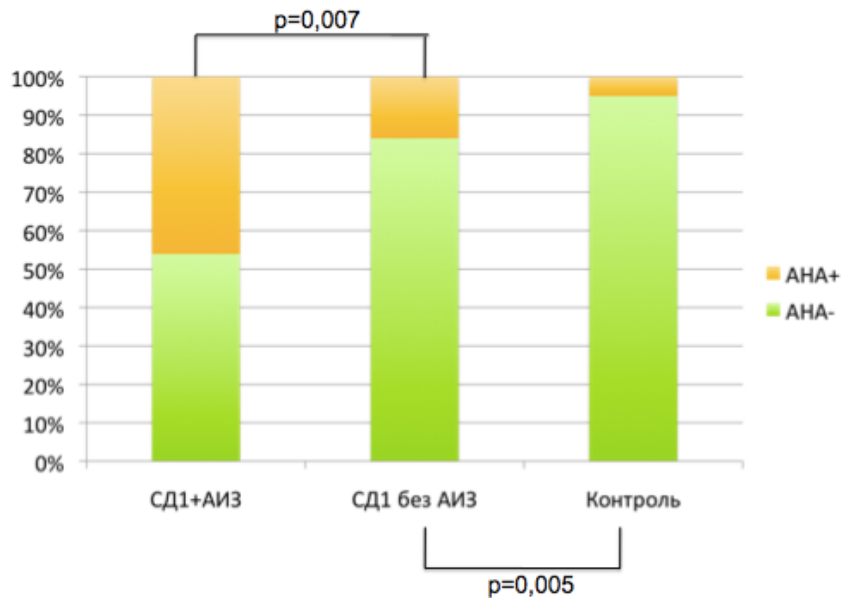


Рисунок 7. Встречаемость АНА у пациентов с несколькими АИЗ и пациентов с СД1 без сопутствующей аутоиммунной патологии в сравнении с группой контроля.

Эти данные позволяют предполагать более высокие риски развития аутоиммунного поражения экзокринной части ПЖ и печени среди пациентов с СД1 с наличием других АИЗ, а также в составе аутоиммунного полигландулярного синдрома. При этом пациенты с положительным титром АНА имели изменения печени и ПЖ по данным УЗИ сопоставимо часто с пациентами без АНА.

Отсутствие клинических проявлений и изменений по данным УЗИ у пациентов с положительным титром АТ может быть обусловлено возможностью циркуляции АТ в сыворотке крови за несколько лет до клинической манифестации заболевания.

### Исследование антимитохондриальных антител

84 пациентам с СД1 было проведено определение АМА, патогномоничных для первичного билиарного цирроза. 16 человек имели положительный титр, 68 имели отрицательный результат (рис.8). Положительный титр АМА определяется по свечению канальцев почек на препаратах (рис. 9 а, б).

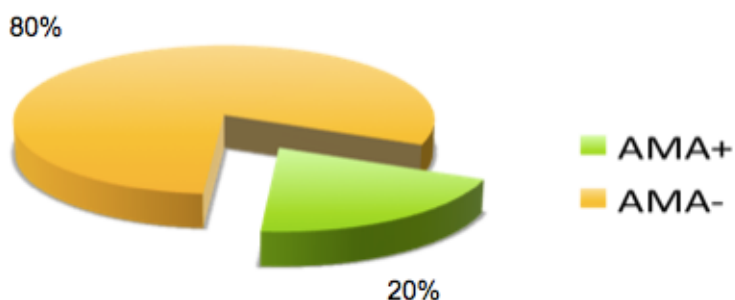


Рисунок 8. Встречаемость АМА среди всех пациентов с СД1 независимо от сопутствующих АИЗ.

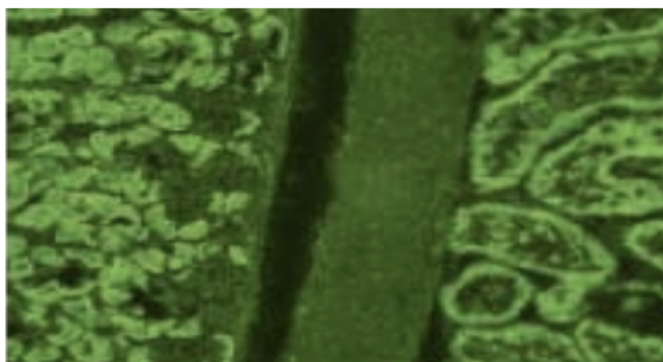


Рисунок 9. Положительный титр АМА - свечение канальцев почек. Больной Г., фото с микроскопа.

При делении пациентов на группы в зависимости от наличия сопутствующей аутоиммунной патологии установлено, что АМА выявлялись с одинаковой частотой в группе пациентов с несколькими АИЗ и в группе пациентов СД1 без сопутствующих АИЗ (в 19% и 20% соответственно). В группе контроля АМА были выявлены лишь у 1 пациентки – 5% (рис.10).

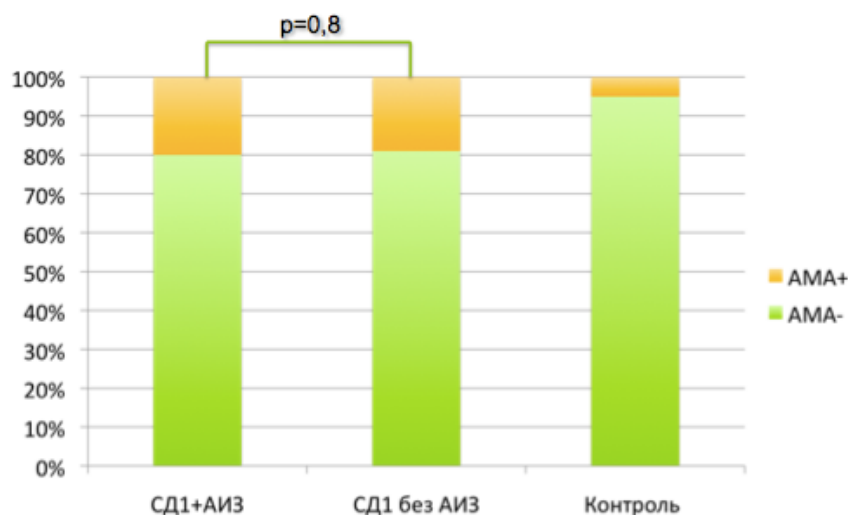


Рисунок 10. Встречаемость АМА у пациентов с СД1 в сочетании с другим АИЗ в сравнении с пациентами с СД1 без сопутствующей аутоиммунной патологии и группой контроля.

Учитывая диагностическую значимость АМА для первичного билиарного цирроза, всем пациентам было проведено УЗИ органов брюшной полости с оценкой эхографических характеристик печени. Пациенты с изменениями в печени имели положительный титр АМА в 21% случаев, пациенты с нормальными эхографическими характеристиками печени имели положительный титр АМА в 19% случаев. При этом у всех пациентов с АМА уровни билирубина, АЛТ, АСТ были в пределах референсных значений.

Пациенты с положительным титром АМА имели положительный титр АНА - в 38% случаев в сравнении с 23% среди пациентов без АМА, однако это различие не было статистически значимым ( $p=0,37$ ).

### Исследование антигладкомышечных аутоантител

Всем пациентам с СД1 ( $n=84$ ) были определены АТ к гладкомышечной мускулатуре (АГМА), диагностическая значимость которых подтверждена для аутоиммунного гепатита. 28 пациентов имели положительный титр этих АТ (34%) (рис. 11), что было достоверно чаще в сравнении с группой контроля, где АГМА были выявлены лишь у 1 пациентки – в 5% случаев ( $p=0,016$ ) (рис. 12).

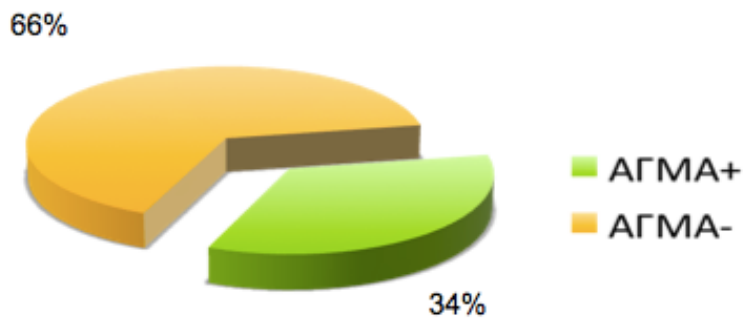


Рисунок 11. Частота встречаемости АГМА среди всех пациентов с СД1 независимо от сопутствующей аутоиммунной патологии.

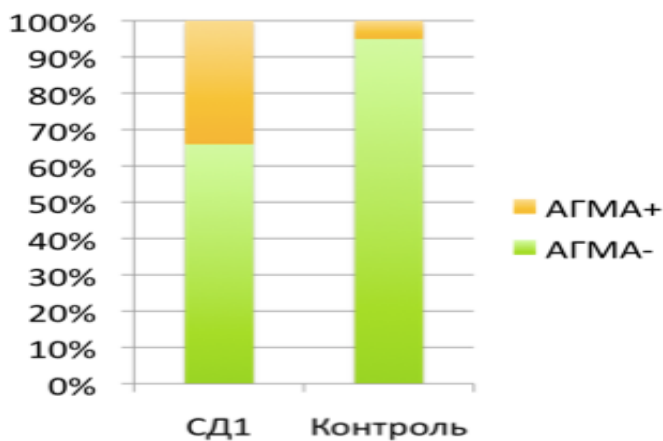


Рисунок 12. Встречаемость АГМА в группе пациентов с СД1 и в группе контроля.

Положительный титр АГМА определяется при наличии свечения стенки кровеносных сосудов на препарате (рис.13).

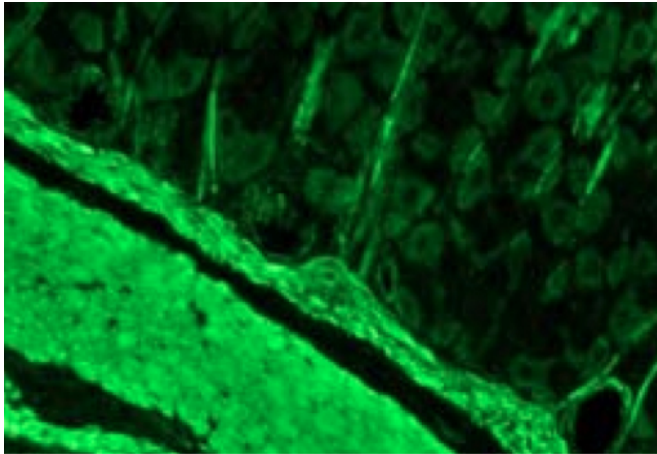


Рисунок 13. Свечение стенки кровеносных сосудов почки при положительном титре АГМА. Больной С., фото с микроскопа.

При делении пациентов с СД1 на группы в зависимости от наличия дополнительно установленного АИЗ, в нашем исследовании была выявлена достоверно большая частота встречаемости АГМА у пациентов с несколькими АИЗ (у 10 из 26 пациентов - 38%) в сравнении с группой контроля (5%) –  $p=0,018$ , а также у пациентов с СД1 без сопутствующих заболеваний (у 18 из 58 - 32%) в сравнении с группой контроля (5%) –  $p=0,029$ . В группе контроля АГМА были выявлены лишь у 1 пациентки из 21, что составило 5% (рис.14).

При этом между собой исследуемые группы были сопоставимы по данному параметру ( $p=0,75$ ).

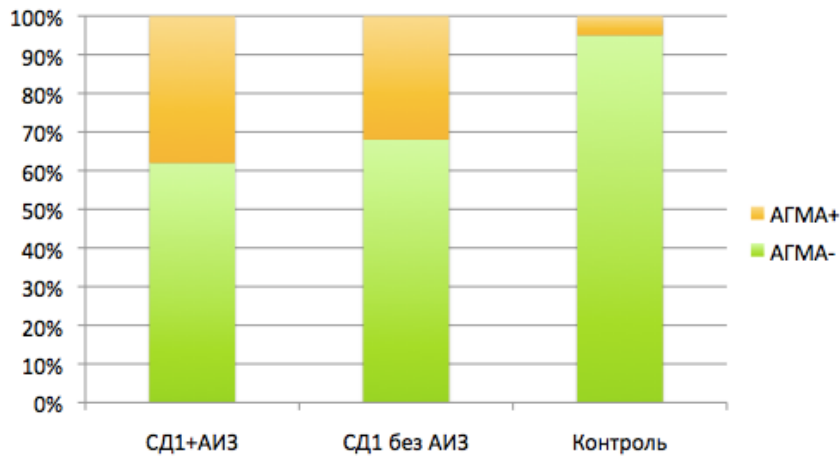


Рисунок 14. Встречаемость АГМА в исследуемых группах и группе контроля.

Далее все пациенты были разделены на группы в зависимости от наличия АГМА. 28 пациентов с положительным титром вошли в первую группу, 58 пациентов без АГМА – во вторую группу. Длительность СД1 в группе с АТ была достоверно меньше (11,0 лет [2,0;20,0]), чем у пациентов без АГМА-16,0 лет[10,0;24,0] ( $p < 0,04$ ) (рис. 15), что может быть обусловлено более выраженной аутоиммунной агрессией в этот период заболевания, направленной против нескольких органов.

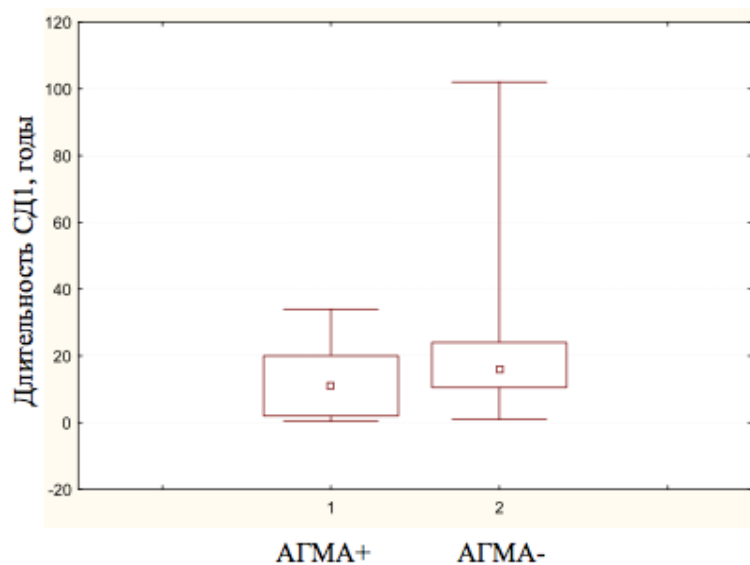


Рисунок 15. Длительность СД1 у пациентов с АГМА и без АГМА.

В нашем исследовании также была обнаружена достоверно большая встречаемость АНА у пациентов, положительных по АГМА в сравнении с пациентами с отрицательным титром АГМА (50% в сравнении с 13%,  $p=0,0007$ ), что свидетельствует о риске развития сочетанного аутоиммунного поражения ЖКТ у пациентов с СД1.

### **Исследование антител к париетальным клеткам желудка**

У 84 пациентов с СД1 были определены АТ к ПКЖ, патогномоничные для аутоиммунных гастритов. Установлена их достоверно большая частота встречаемости у пациентов с СД1 в сравнении с группой контроля (у 34 человек, что составило 41% (рис. 16), в группе контроля эти АТ не встречались ( $p=0,008$ ). Положительный титр АТ к ПКЖ определялся при наличии свечения клеток желудка при иммунофлуоресцентной микроскопии (рис. 17).

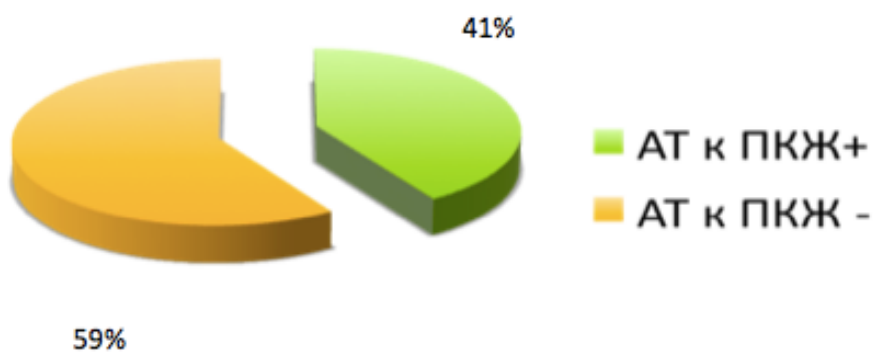


Рисунок 16. Встречаемость АТ к ПКЖ у пациентов с СД1.

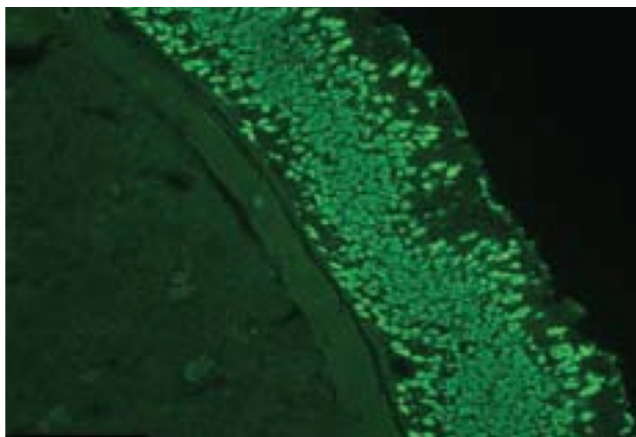


Рисунок 17. Свечение АТ к ПКЖ. Больной К., фото с микроскопа.

Все пациенты были разделены на группы в зависимости от наличия дополнительно установленного АИЗ. Установлено, что в группе пациентов с несколькими АИЗ АТ к ПКЖ встречались в 42% случаев - у 11 из 26 пациентов (достоверно чаще в сравнении с группой контроля  $p=0,002$ ), в группе пациентов с СД1 без сопутствующих АИЗ – в 41% случаев - у 23 из 58 (достоверно чаще в сравнении с группой контроля  $p=0,001$ ), в группе контроля АТ к ПКЖ не встречались (рис. 18).

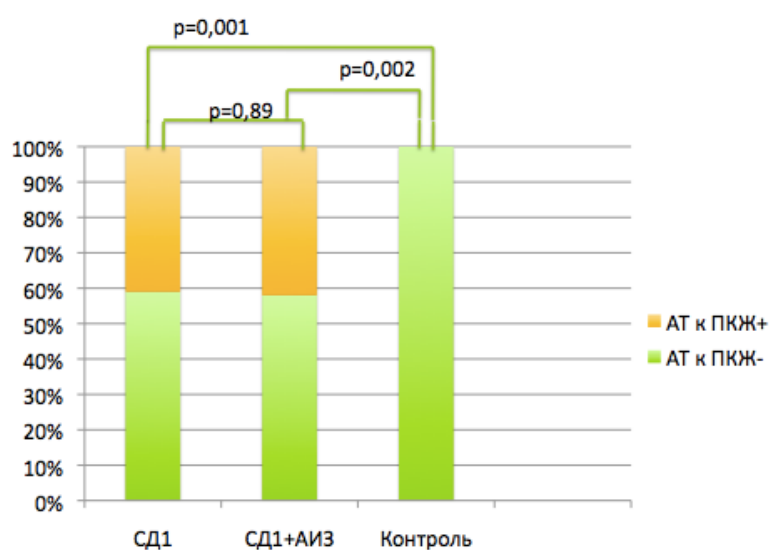


Рисунок 18. Встречаемость АТ к ПКЖ в исследуемых группах и группе контроля.



Гастрит по данным ЭГДС (рис. 19) у пациентов с СД1 был выявлен достоверно чаще в сравнении с группой контроля (у 18 из 84, что составило 21% в сравнении с 0%,  $p=0,04$ ).



Рисунок 19. Картина атрофического гастрита (Больной Л., снимок ЭГДС).

При этом среди пациентов с несколькими АИЗ гастрит был выявлен у 15% пациентов (4 из 26), а в группе пациентов с СД1 без сопутствующих АИЗ – в 24% случаев (у 14 из 58). Между собой исследуемые группы статистически значимо не различались ( $p=0,53$ ), в сравнении с группой контроля  $p$  составило 0,17 и 0,03 соответственно.

У пациентов с измененной слизистой желудка АТ к ПКЖ были выявлены в половине случаев - у 50%, при этом у пациентов без признаков гастрита по данным ЭГДС АТ к ПКЖ были выявлены в 39% случаев (рис. 20).

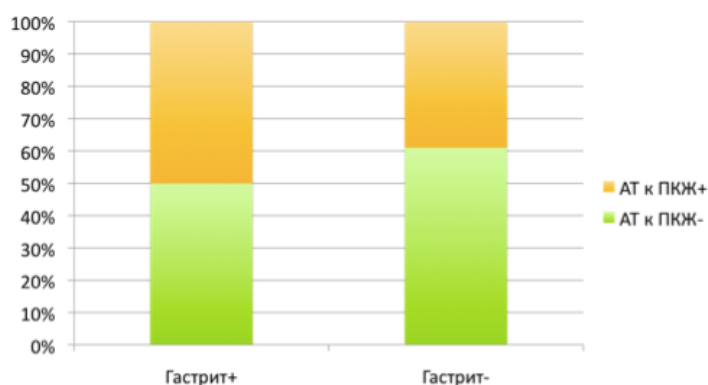


Рисунок 20. АТ к ПКЖ у пациентов с гастритом и без гастрита.

Таким образом, по результатам нашего исследования можно предположить наличие более высокого риска развития АИЗ ЖКТ у пациентов с несколькими АИЗ с положительным титром АНА. Кроме того, диагностическая значимость АНА помимо аутоиммунного гепатита установлена и для аутоиммунного панкреатита. В нашем исследовании не было получено данных о взаимосвязи полиаутоиммунности с частотой выявления АГМА, при этом АГМА является наиболее специфичным маркером аутоиммунного гепатита. Более высокая встречаемость АНА у пациентов с несколькими АИЗ может быть обусловлена меньшей специфичностью этих АТ, их действие может быть направлено против нескольких органов. Важно, что статистически значимо чаще АТ к ПКЖ встречались среди пациентов с АГМА ( $p=0,0000$ ), что может свидетельствовать в пользу риска развития аутоиммунного гастрита у пациентов с наличием антител, специфичных для поражения печени аутоиммунного генеза.

В нашем исследовании установлена высокая частота встречаемости АТ к органам ЖКТ в отсутствие клинических, лабораторных и инструментальных признаков поражения. Понимание современных данных об аутоиммунном панкреатите, гепатите, гастрите, является ключом к развитию новых терапевтических стратегий, варьирующих от восстановления толерантности к замедлению прогрессирования аутоиммунных процессов, что поможет разработать рациональную тактику лечения.

## **ВЫВОДЫ**

1. При комплексном клиническом, биохимическом и иммунологическом обследовании лиц с сахарным диабетом 1 типа как с наличием других аутоиммунных заболеваний, так и без них было установлено, что выявление аутоантител к органам желудочно-кишечного тракта было достоверно выше по сравнению с группой контроля: аутоантитела к париетальным клеткам желудка обнаружены у 43% против 0% , антигладкомышечные антитела – у 34% против 5%, антинуклеарные антитела - у 25% против 5%,

антимитохондриальные антитела – у 20% против 5%, титр АТ антител к лактоферрину - 2,99 Ед/мл [2,1;3,97] против 1,87 Ед/мл [1,7;2,31] ( $p<0,005$ ).

2. Установлено повышение частоты выявления антинуклеарных аутоантител к органам желудочно-кишечного тракта в группе пациентов с сахарным диабетом 1 типа с другими аутоиммунными заболеваниями по сравнению с пациентами без них: у 46% против 16% ( $p=0,007$ ).

Учитывая подтвержденную диагностическую значимость этих антител при панкреатитах и гепатитах аутоиммунной природы, эти данные могут свидетельствовать о роли данных антител в возникновении низкоспецифичной аутоиммунной агрессии против нескольких органов.

3. Установлена положительная корреляционная связь между титрами антител к лактоферрину и антител к тирозинфосфатазе (IA-2A), а также тенденция к более высоким титрам других антител к  $\beta$ -клетке у лиц с положительными антимитохондриальными, антигладкомышечными, антинуклеарными и антителами к париетальным клеткам желудка, что является подтверждением взаимосвязи аутоиммунного поражения экзо- и эндокринной частей поджелудочной железы и других органов.
4. Установлено, что клиника гастрита имела у 18% больных сахарным диабетом 1 типа, изменения в печени – у 19%, в поджелудочной железе – у 31% по сравнению с группой контроля. При этом частота диагностики этих заболеваний не отличалась как при выявлении антител, так и при их отсутствии, что могло быть связано с более поздними сроками появления развернутой клинической картины.
5. Наиболее высокие титры АТ к лактоферрину в нашем исследовании встречались у пациентов молодого возраста, что может быть обусловлено более агрессивным течением аутоиммунных заболеваний у молодых лиц.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с наличием, помимо СД1, дополнительно установленных аутоиммунных заболеваний, при выявлении заболеваний печени и экзокринной части поджелудочной железы рекомендовано исключение их аутоиммунного генеза, путем определения специфических аутоантител.
2. Всем пациентам СД1 с подозрением на рак поджелудочной железы необходимо исключать аутоиммунный панкреатит, проводя дополнительное иммунологическое исследование.
3. При выявлении атрофии слизистой желудка (атрофический гастрит) рекомендовано исследование антител к париетальным клеткам желудка, уровня пепсиногена с целью верификации диагноза аутоиммунного гастрита.

## Публикации по теме диссертации

1. Харлашина Е.А. , **Шаповальянц О.С.** , Пекарева Е.В. , Никонова Т.В. . Дебют сахарного диабета 1 типа на фоне инфекционного мононуклеоза. // Сахарный диабет. - 2010. - № 1. - С. 126-128.
2. Никонова Т. , **Шаповальянц О.** , Пекарева Е. Роль вирусной инфекции в патогенезе сахарного диабета // Врач - 2010. - № 2. - С. 35-37.
3. **О.С. Шаповальянц**, Т.В. Никонова Диагностическая и прогностическая значимость аутоантител при сахарном диабете. Новый маркер аутоиммунного процесса – антитела к ZnT8. // Сахарный диабет. - 2011. - №2. - С. 18-22.
4. Ларина А. А., **Шаповальянц О. С.**, Мазурина Н. В., Трошина Е. А. Диагностика и лечение аутоиммунного полигландулярного синдрома у взрослых // Клиническая медицина. – 2012. - №90(8). - С. 64-66.
5. **Деревянко О.С.**, Никонова Т.В., Смирнова О.М. Поражение желудка при сахарном диабете // Врач. - 2012. - №8. - С. 7-8.

6. Т.Никонова, **О.Деревянко**. Конгресс EASD 2012г. в Берлине – обзор основных тем // Журнал Эффективная Фармакотерапия (эндокринология). – 2012. - №6. – С. 2-6.
7. **Деревянко О.С.**, Далантаева Н.С., Пекарева Е.В., Иванова О.Н., Гончаров Н.П., Никонова Т.В., Смирнова О.М. Аутоиммунные маркеры заболеваний желудочно-кишечного тракта у пациентов с сахарным диабетом 1 типа// VI Всероссийский диабетологический конгресс, сборник тезисов. - 2013. - С. 383.
8. **Деревянко О.С.**, Далантаева Н.С., Пекарева Е.В., Иванова О.Н., Гончаров Н.П., Никонова Т.В., Смирнова О.М. Аутоиммунные маркеры заболеваний желудочно-кишечного тракта у пациентов с сахарным диабетом 1 типа // Сахарный диабет. - 2013. - №4. – С. 28-32.
9. **Деревянко О.С.**, Далантаева Н.С., Иванова О.Н., Гончаров Н.П., Никонова Т.В., Смирнова О.М. Маркеры аутоиммунного поражения печени у пациентов с сахарным диабетом 1 типа // Сахарный диабет. – 2014. - №1. - С. 29–33.
10. **Деревянко О.С.**, Далантаева Н.С., ПекареваЕ.В., Никонова Т.В., Смирнова О.М. Маркеры аутоиммунного поражения печени у пациентов с сахарным диабетом 1 типа // II Всероссийский конгресс Инновационные Технологии в эндокринологии, сборник тезисов. – 2014. - С. 116.
11. T.V. Nikonova, E.V. Pekareva, V.A. Gorelysheva, P.V. Apanovich, **O.S. Shapovalyants**, S.A. Prokofyev, I.I. Dedov Immune and metabolic parameters in high-risk type 1 diabetes subjects / // Journal of Diabetes. – 2011. – Vol. 3 (Suppl. 1). – P. 274.
12. **O.Derevynko**, T.Nikonova, E. Pekareva, A. Ilyin, O.Smirnova Significance of lactoferrin autoantibodies in patients with type 1 diabetes// Diabetologia. – 2012. – 55. - S196.

**Список сокращений, использованных в работе:**

GADA - аутоантитела к глутаматдекарбоксилазе (autoantibodies to glutamic acid decarboxylase)

HbA1c - гликированный гемоглобин

ICA - антитела к цитоплазматическим компонентам  $\beta$ -клетки (islet cell antibodies)

IA-2A - аутоантитела к тирозинфосфатаза-подобному белку (protein tyrosine phosphatase-like islet antigen 2)

АГМА - антигладкомышечные антитела

АИЗ - аутоиммунное заболевание

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АМА - антимитохондриальные антитела

АНА - антинуклеарные антитела

АСТ - аспартатаминотрансфераза

АТ - антитело

АТ к ПКЖ - антитела к париетальным клеткам желудка

ЖКТ - желудочно-кишечный тракт

ПЖ - поджелудочная железа

СД1 - сахарный диабет 1 типа

ЭГДС - эзофагогастродуоденоскопия