

Влияние HBV- и HCV- инфекции на развитие аутоиммунного ответа и функцию β -клеток поджелудочной железы у больных сахарным диабетом типа 2

Л.Ю. Хамнуева, *И.А. Бондарь, И.В. Малов, Л.С. Андреева

*Иркутский государственный медицинский университет
(ректор – проф. И.В. Малов),
*Новосибирская государственная медицинская академия
(ректор – член-корр. РАМН, проф. А.В. Ефремов)*

В опубликованных работах в последние годы показана высокая распространенность СД у больных хроническими вирусными гепатитами [5,7,9,13,15]. Обсуждаются механизмы формирования инсулиновой недостаточности [6,12,14] и инсулинорезистентности [11,16,18] у больных СД, страдающих хроническими вирусными гепатитами и циррозами вирусной этиологии. Доказана возможность внепеченочной репликации HBV и HCV, в том числе и в поджелудочной железе, с развитием цитотоксических реакций, направленных как на антигены вируса, так и, возможно, на аутоантигены, образующиеся вследствие непосредственного повреждающего действия вируса на клеточном уровне [3,10,17,20].

Целью исследования было изучение воздействия гепатотропных вирусов (HBV и HCV) на развитие аутоиммунных процессов к β -клеткам поджелудочной железы и их секреторную функцию у больных СД типа 2.

Объем и методы исследования

Обследовали 173 больных с клиническим диагнозом СД типа 2, мужчин 41, женщин 132, средний возраст $57,5 \pm 0,8$ г., средняя длительность диабета $8,55 \pm 0,53$ г., средний ИМТ $29,96 \pm 0,42$ кг/м², проходившим лечение в отделении эндокринологии Иркутской областной клинической больницы (главный врач П.Е. Дудин). Все больные были разделены на группы в зависимости от обнаружения у них серологических маркеров HBV- и HCV-инфекции и репликативной активности вирусов: 1-я группа (n=7) – больные СД 2 типа, инфицированные HBV, фаза репликации (HbsAg + антиHbс, R+); 2-я группа (n=68) – инфицированные HBV, нерепликативная фаза (антиHbс, R-); 3-я группа (n=23) – инфицированные HCV, фаза репликации (анти-HCV, R +); 4-я группа (n=13) – инфицированные HCV, нерепликативная фаза (анти-HCV, R-); 5-я группа (n=62) – неинфицированные больные СД 2 типа.

Всего HBV- и HCV-инфицированных 111 больных (мужчин – 24, женщин – 87, средний возраст – $57,33$ г., средняя длительность диабета – 8,8 лет, средний ИМТ $29,27$ кг/м²). Всего неинфицированных 62 больных (17 мужчин, 45 женщин, средний возраст – $57,66$ г., средняя длительность диабета – 8,05 лет, средний

ИМТ $29,27$ кг/м²). Группы инфицированных и неинфицированных больных были однородными и достоверно не различались по возрасту, длительности СД и ИМТ ($p > 0,05$).

Исследование сыворотки крови на маркеры вирусных гепатитов В и С проводилось на иммуноферментных анализаторах с использованием моно- и поликлональных антител производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Определялись следующие маркеры вирусных гепатитов: HBs-антиген вируса гепатита В (HBsAg), иммуноглобулины класса G к core-антигену вируса гепатита В (анти-HBcIgG), суммарные антитела к вирусу гепатита С, подтверждение положительных результатов ИФА проводилось с помощью иммуноферментной тест-системы «РекомбиБест анти-ВГС подтверждающий тест».

У больных СД типа 2, имеющих серологические маркеры HBV- и HCV-инфекции, определялись полимеразной цепной реакцией (ПЦР) ДНК и РНК вирусов с помощью ПЦР-тест-системы «АмплиСенс HBV-470s/ВКО-770» и «АмплиСенс HCV-240/ВКО-440» производства научно-производственной лаборатории Федерального научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИД Центрального НИИ эпидемиологии МЗ РФ.

Определение антител к декарбоксилазе глутаминовой кислоты (GADA) и антител к островковым клеткам (цитоплазматическим компонентам β -клеток) (ICA) в сыворотке крови проводилось иммуноферментным методом с помощью наборов реагентов «Isletest-GAD» и «Isletest-ICA», international version, BIOMERICA, INC USA.

Уровень С-пептида в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью наборов реагентов C-Peptide of Insulin (DSL-10-7000), Diagnostic System Laboratories.

Полученные результаты подвергались математической обработке с использованием пакета статистических программ «STATISTICA-6.0». Нормальность распределения проверялась с помощью критерия Шапиро-Уилка. В работе использовались непараметрические методы статистического анализа, анализ выживаемости проводился методом Каплана-Майера. При сравнении двух несвязанных групп использовался критерий Манна-Уитни. Качественные показатели сравнивались с помощью критерия χ^2 .

Результаты и обсуждение

Анализ клинического материала показал статистически значимо более высокую частоту выявления

Таблица 1

Выявляемость ICA и/или GADA у больных СД, инфицированных и неинфицированных HBV и HCV								
Группы	GADA		P	ICA		P	GADA и ICA	
	число	%		число	%		число	%
1-я (HbsAg + антиHBc, R+); n=7	4	57,1	P ₁₋₅ =0,0071	2	28,6	P ₁₋₅ =0,019	1	14,3
2-я (антиHBc, R-); n=68	25	36,7	P ₂₋₅ =0,003	20	29,4	P ₂₋₅ <0,001	9	13,2
3-я (анти-HCV, R+); n=23	8	34,8	P ₃₋₅ =0,003	4	17,4	P ₃₋₅ =0,026	3	13,0
4-я (анти-HCV, R-); n=13	7	53,9	P ₄₋₅ =0,01	2	15,4	P ₄₋₅ =0,15	2	15,4
5-я (неинфицированные); n=62	6	9,7		1	1,6		0	0

p – достоверность различия показателей в группах (критерий χ^2)

GADA у больных, инфицированных HBV и HCV (в группе 1-й – 57,1%; во 2-й – 36,7%; в 3-й – 34,8%; 4-й – 53,9% соответственно), в сравнении с больными СД 2 типа, неинфицированными HBV и HCV (в группе 5-й – 9,7%) (табл. 1). Частота выявления GADA у больных, инфицированных HBV (группы 1-я и 2-я), составила 38,7% и статистически значимо не отличалась от показателя в группе, инфицированной HCV (группы 3-я и 4-я) – 41% (p=0,99). Частота выявления GADA не зависела от фазы репликации вируса: в группе больных с репликативной фазой она была 40,0%, в нерепликативной фазе – 39,5% (p=0,86).

При проведении количественного анализа уровня GADA в сыворотке крови у больных СД типа 2, инфицированных и неинфицированных HBV и HCV, были получены аналогичные результаты. Так, уровень GADA в 5-й группе (неинфицированных) составил $0,65 \pm 0,03$ U/ml и был ниже, чем в группах инфицированных HBV и HCV: в 1-й группе – $1,25 \pm 0,35$ U/ml (p=0,05), во 2-й группе – $1,00 \pm 0,07$ U/ml (p<0,001), в 3-й группе – $0,91 \pm 0,53$ U/ml, в 4-й группе – $1,64 \pm 0,51$ U/ml (p=0,01). Количественный уровень GADA также не зависел от фазы репликации вируса. Так, в группе больных с репликативной фазой он составил $0,99 \pm 0,11$ U/ml, в нерепликативной фазе – $1,10 \pm 0,03$ U/ml соответственно (p=0,24).

В этих же группах была изучена выявляемость ICA в сыворотке крови у больных СД типа 2, инфицированных и неинфицированных HBV и HCV (см. табл. 1). Проведенный анализ показал высокую частоту выявления ICA у больных, инфицированных HBV и HCV (в группе 1-й – 28,6%; во 2-й – 29,4%; в 3-й – 17,4%), в сравнении с больными СД типа 2, неинфицированными HBV и HCV (в группе 5-й – 1,6%) (см. табл. 1). Частоты ICA в общей группе больных, инфицированных HCV (группа 3-я и 4-я), составила 16,7%, и достоверно превышала показатель в группе неинфицированных больных – 1,6% (p=0,017).

Частота выявления ICA, как и GADA, также не зависела от фазы репликации вируса. Так, в группе

больных с репликативной фазой она составила 20%, в нерепликативной фазе – 21,5% (p=0,59).

У 15 HBV- и HCV-инфицированных больных в сыворотке крови определялись оба вида антител, что составило 13,5% от всех инфицированных HBV и HCV. Частота одновременного обнаружения GADA и ICA была практически равной (от 13% до 15,4%) в исследуемых группах, т.е. не зависела ни от видовой принадлежности вируса, ни от его репликативной активности. У неинфицированных больных не определялись одновременно ICA и GADA.

Таким образом, GADA выявлялась у 39,6%, ICA – у 25% HBV- и HCV-инфицированных больных СД типа 2 и у неинфицированных – в 9,7% и в 1,6% случаев соответственно. GADA выявлялись достоверно чаще, чем ICA, в группе больных СД, инфицированных HBV и HCV (p=0,032).

GADA и ICA являются высокоспецифичными маркерами аутоиммунных процессов в β -клетках. Ряд крупных исследований подтверждают их прогностиче-

Таблица 2

Частота снижения базального уровня С-пептида у GADA- и ICA-негативных и позитивных больных СД типа 2, инфицированных и неинфицированных HBV и HCV			
Группа	С-пептид в норме	С-пептид снижен	p
1-я. Неинфицированные HBV и HCV (GADA- и ICA-негативные) n=55	28 (47,3%)	27 (52,7%)	P ₁₋₃ =0,023 P ₁₋₄ =0,037
2-я. Неинфицированные HBV и HCV (GADA- и ICA-позитивные) n=7	3 (43%)	4 (57%)	P ₂₋₃ =0,702 P ₂₋₄ =0,787
3-я. Инфицированные HBV и HCV (GADA- и ICA-негативные) n=54	15 (27,8%)	39 (72,2%)	P ₃₋₄ =0,977
4-я. Инфицированные HBV и HCV (GADA- и ICA-позитивные) n=57	17 (29,8%)	40 (70,2%)	

p – достоверность различия показателей в группах (критерий χ^2)

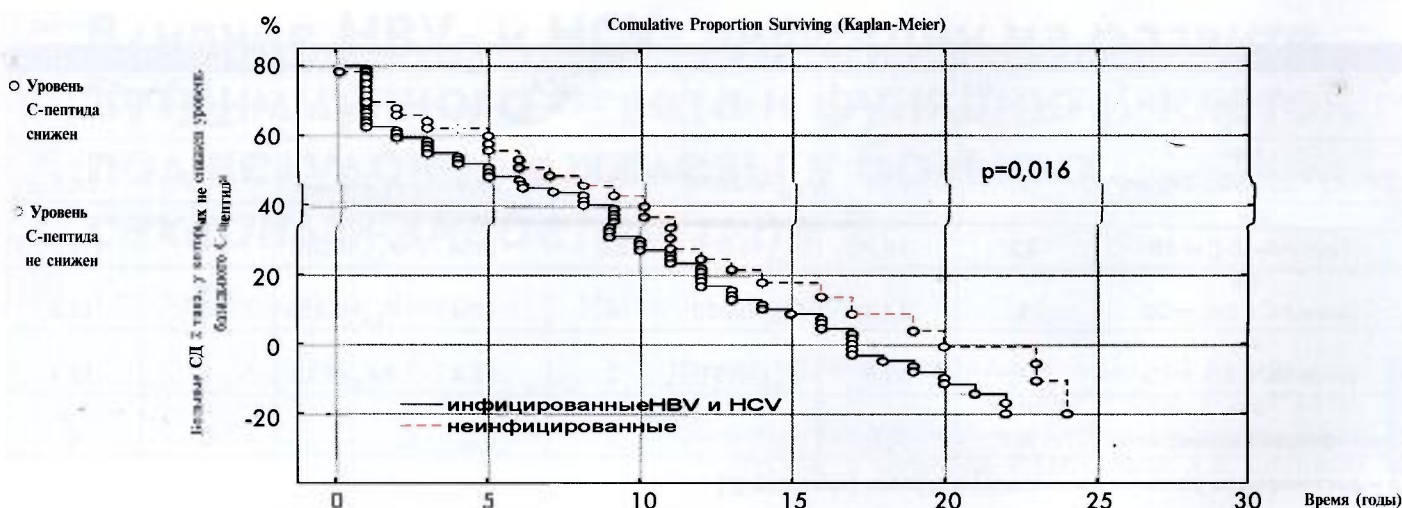


Рис. 1. Характеристика снижения базального уровня С-пептида в сыворотке крови у больных СД 2 типа, инфицированных и неинфицированных HBV и HCV, в зависимости от длительности диабета.

ское значение в плане развития секреторной недостаточности β -клеток [4,8,19,21]. Для оценки секреции инсулина была проанализирована частота случаев снижения уровня С-пептида в группах в зависимости от присутствия антител к β -клеткам и серологических маркеров HBV и HCV (табл. 2). Достоверно чаще наблюдалось снижение базального С-пептида в группе GADA- и ICA-позитивных HBV- и HCV-инфицированных больных в сравнении с группой GADA- и ICA-негативных инфицированных больных.

Известно, что при абсолютной инсулиновой недостаточности происходит исчезновение аутоантител к β -клеткам [1,2,4]. Не исключалось, что данное явление могло быть и у части наблюдаемых нами больных со значительно сниженной секрецией инсулина. Поэтому для выяснения роли воздействия GADA и ICA на состояние секреторной способности β -клеток у больных СД, инфицированных HBV и HCV, была выбрана группа, из которой исключили больных с «нулевым» уровнем базального С-пептида. Ее составили 18 GADA- и/или ICA-позитивных и 10 GADA и/или ICA-негативных больных СД типа 2, инфицированных HBV и HCV.

При проведении сравнительного анализа установлено, что в подгруппе GADA- и/или ICA-позитивных больных ($n=18$) медиана С-пептида была существенно ниже — 0,84 пмоль/л, чем в группе GADA- и/или ICA-негативных — 1,49 пмоль/л ($n=10$) ($p=0,027$; критерий Манна-Уитни). Таким образом, обнаружение в сыворотке крови GADA и ICA у больных СД типа 2, инфицированных HBV и HCV, может свидетельствовать о наличии аутоиммунной агрессии к β -клеткам, ведущей к инсулиновой недостаточности.

Далее был проведен анализ времени до наступления исхода (снижения уровня С-пептида) (метод Каплана-Майера с использованием критерия Кокса) в зависимости от длительности диабета в 2 группах больных СД: HBV- и HCV-инфицированных ($n=104$) и неинфицированных ($n=58$). Отмечалось снижение уровня С-пептида к 3-му году течения СД у инфицированных и неинфицированных больных, которое прогрессировало с увеличением длительности СД. На всех этапах наблюдения в группе HBV- и HCV-инфицированных больных СД 2 типа доля лиц (%), не имевших снижения уровня С-пептида, была меньше, чем у неинфицированных, разность

Таблица 3

Клиническая характеристика больных СД типа 2, инфицированных HBV и HCV (GADA- и ICA-позитивных) и неинфицированных (GADA- и ICA-негативных)

Группа	Средний возраст при обследовании, лет	Средний возраст при установлении диагноза, лет	Длительность СД, лет	ИМТ, кг/м ²
1-я. Инфицированные HBV и HCV (GADA- и ICA- позитивные) $n=57$	58,5±1,43	49,4±1,47	8,63±0,9	29,1±0,73
2-я. Неинфицированные HBV и HCV (GADA- и ICA-негативные) $n=55$	57,9±1,42	50,1±1,43	7,8±0,89	31,4±0,84
p	$p_{1-2}=0,81$	$p_{1-2}=0,75$	$p_{1-2}=0,53$	$p_{1-2}=0,025$

p – достоверность различия показателей в группах (критерий Манна -Уитни).

составляла от 8 до 13% ($F(158,66)=1,59, p=0,016$) (см. рисунок 1). Таким образом, у больных СД типа 2, инфицированных HBV и HCV, снижение секреции инсулина развивалось значительно быстрее.

При анализе клинического течения СД в группе GADA- и/или ICA-положительных больных, инфицированных HBV и HCV, установлено, что начальные клинические признаки соответствовали СД типа 2, на момент установления диагноза не наблюдалось резкого снижения массы тела, выраженных симптомов острой инсулиновой недостаточности, склонности к кетоацидозу. При анализе некоторых клинических данных (начало заболевания, средний возраст, длительность СД) не выявлено различий между группой GADA- и ICA-положительных HBV- и HCV-инфицированных больных и группой GADA- и ICA-негативных неинфицированных больных СД типа 2. Наблюдались отличия по ИМТ, показатель которого был ниже в группе GADA и ICA-положительных HBV- и HCV-инфицированных больных СД типа 2 (табл. 3).

Таким образом, на основании изучения антител к β -клеткам, уровня С-пептида выявлено, что в 49% случаев у больных СД типа 2 инфицирование HBV и HCV не оказало влияния на возникновение антител

к β -клеткам. В 51% случаев HBV- и HCV-инфекция вызвала аутоиммунные реакции к β -клеткам, в том числе у 15% больных СД 2 типа, имелись только маркеры аутоиммунных реакций, направленных к β -клеткам, при сохранной секреции инсулина и у 36% сочеталось со сниженной секрецией С-пептида, что может быть следствием аутоиммунного процесса.

Выводы

1. У HBV- и HCV-инфицированных больных СД типа 2 наблюдается высокая частота обнаружения антител к β -клеткам: GADA в 39,6% и ICA в 25% случаев.

2. У больных СД типа 2, инфицированных HBV и HCV, с увеличением длительности заболевания быстрее прогрессирует снижение секреции инсулина, чем у неинфицированных больных. Одним из патогенетических механизмов снижения секреции инсулина может являться аутоиммунная агрессия, направленная к β -клеткам, инициированная HBV- и HCV-инфекцией.

3. У 36% HBV- и HCV-инфицированных больных СД типа 2 обнаружены как антитела к β -клеткам, так и низкая секреция инсулина, что свидетельствует о развитии у них аутоиммунного сахарного диабета.

Литература

1. Балаболкин М.И. *Диabetология*. - М.: Медицина, 2000. - С. 175-200
2. Дедов И.И., Кураева Т.Л., Петеркова В.А., Щербачева Л.Н. *Сахарный диабет у детей и подростков*. - М.: Универсум публишинг, 2002. - С. 31-60.
3. *Хронический вирусный гепатит*. / Под ред. В.В. Серова и З.Г. Апросиной. - М.: Медицина, 2002. - с. 47-81
4. Borg H. A 12-Year Prospective Study of the Relationship Between Islet Antibodies and β -Cell Function At and After the Diagnosis in Patients With Adult-Onset Diabetes. / Borg H., Gottsater A., Fernlund P., Sundkvist G. // *Diabetes*. - 2002. - Vol. 51. - P. 1754-1762.
5. Caronia S. Strong association between HCV and non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM). / Caronia S., Taylor K., Pagliaro L., et al. // *J. of Hepatology*. - 1996. - Vol. 25, N 1. - P. 95.
6. Custro N. Glycemic homeostasis in chronic viral hepatitis and liver cirrhosis. / A. Carroccio, A. Ganci, V. Scafidi, P. Campagna et al. // *Diabetes and metabolism*. - 2001. - 27, N4, Pt 1. - P. 476-481.
7. El-Zayadi A.R. Association of chronic hepatitis C infection and diabetes mellitus. / A.R. el-Zayadi, O.E. Selim, H. Hamdy et al. // *Trop. Gastroenterol.* - 1998. - Vol. 19, N 4. - P. 141-144.
8. Gottsater A. Islet cell antibodies are associated with beta-cell failure also in obese adult onset diabetic patients. / Gottsater A., Landin-Olsson M., Lernmark A., Fernlund P. et al. // *Acta Diabetol.* - 1994. - Vol. 31. - P. 226-231.
9. Knobler H. Increased risk of type 2 diabetes in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C virus infection. / H. Knobler, R. Schihmanter, A. Zifroni. // *Mayo Clin. Proc.* - 2000. - Vol. 75, N 4. - P. 335-359.
10. Laskus T. Uneven Distribution of Hepatitis C Virus Quasispecies in Tissues from Subjects with End-Stage Liver Disease: Confounding Effect of Viral Adsorption and Mounting Evidence for the Presence of Low-Level Extrahepatic Replication. / M. Radkowsk, L.-Fu Wang, M. Nowicki et al. // *J. Virol.* - 2000. - Vol 74, N2. - 1014-1017.
11. Lonardo A. Is insulin resistance a pathogenic co-factor in hepatitis C virus-related disease and hepatocellular carcinoma? / A. Lonardo, P. Loria // *Digestive and liver Disease*. - 2002. - Vol. 34, N2. - P. 151.
12. Mahesis E.K. Abnormal glucose tolerance in chronic hepatitis B and C in Greece: Prevalence and risk factors. / K. Manesis, A. Mavrogiannaki, E. Siakavellas, B. Karamanos et al. // *Hepatology*, 2001, - Vol. 34, N4, Pt. 2. - pp. 573A.
13. Mason A.L. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. / A.L. Mason, J. Y. Lau, N. Hoang et al. // *Hepatology*. - 1999. - Vol. 29, N 2. - P. 328-333.
14. Paraschiv C. The pathological mechanisms of glycoregulation disturbances in chronic hepatitis B and C. / C. Paraschiv, M. Graur, G. Butnariu, B. Mihai et al. // *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. - 2002. - Vol. 107, N2. - P. 294-297.
15. Simo R. High prevalence of hepatitis C virus infection in diabetic patients. / R. Simo, C. Hernandez, J. Genesca et al. // *Diabetes Care*. - 1996. - Vol. 19, N 9. - P. 998-1000.
16. Sougleri M. Chronic hepatitis C virus infection without cirrhosis induces insulin resistance in patients with alpha-thalassaemia major. / M. Sougleri, C. Labropoulou-Karatzia; P. Paraskevopoulou; H. Fragonanagou et al. // *European J. of gastroenterology and hepatology*. - 2001. - Vol. 13, N10. - P. 1195-1199.
17. Shi DR. Relationship between glucose metabolic disorders and expression of insulin receptor in posthepatic cirrhosis hepatocyte and HBV DNA in pancreatic cells. / DR Shi, CL Dong, L. Lu, WT Cong et al. // *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi*. - 2003. - Vol. 17, N4. - P. 372-374.
18. Shintani Y. Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. / Y. Shintani, H. Fujie, H. Miyoshi, T. Tsutsumi et al. // *Gastroenterology*. - 2004. - 126, N3. - P. 840-848.
19. Willis J.A. Islet cell antibodies and antibodies against glutamic acid decarboxylase in newly diagnosed adult-onset diabetes mellitus. / R. Scott, L. Brown, L. Forbes et al. // *Diabetes Res. Clin. Pract.* - 1996. - Vol. 33, N2. - P. 89-97.
20. Yan F. Study of expression of hepatitis C virus antigens and viral replication in extrahepatic tissues. / F. Hao, L. Zhao. // *Chung. Hua. Kan. Tsang. Ping. Tsai. Chin.* - 2000. - Vol. 8. - P. 40-42.
21. Zimmet P.Z. Latent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA): the role of antibodies to glutamic acid decarboxylase in diagnosis and prediction of insulin dependency. / T. Tuomi, I. Mackay, M.J. Rowley et al. // *Diabet Med.* - 1994. - Vol. 11, N3. - P. 299-303.