

УДК 616. 379 – 008.64+616.36 – 08 – 059:615.244

ІМУНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРІВ ТА ПРОБІОТИКІВ У КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2-ГО ТИПУ ТА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ

К. О. Кондратюк

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м.Київ, Україна

В статті представлено результати вивчення впливу гепатопротектора Глутаргін та мультипробіотика Симбітер на субпопуляції лімфоцитів, цитокиновий статус та рівні циркулюючих імунних комплексів хворих на ЦД 2 та НАЖХП. Застосування запропонованої методики сприяє зменшенню продукції прозапальних цитокинів, зниженню рівня комплексів антиген-плюс-антитіло і нормалізації показників вмісту імунокомпетентних клітин периферичної крові хворих ЦД 2 та НАЖХП.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, неалкогольна жирова хвороба печінки, імунологічний статус, лікування, пробіотики, гепатопротектори.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ И ПРОБИОТИКОВ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА И НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

Е. А. Кондратюк

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

В статье представлены результаты изучения влияния гепатопротектора Глутаргин и мультипробіотика Симбітер на субпопуляции лимфоцитов, цитокиновый статус и уровни циркулирующих иммунных комплексов больных СД 2 и НАЖХП. Применение предложенной методики способствует уменьшению продукции провоспалительных цитокинов, снижению уровня комплексов антиген-плюс-антитело и нормализации показателей содержания иммунокомпетентных клеток периферической крови больных СД 2 и НАЖХП.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, неалкогольная жировая болезнь печени, иммунологический статус, лечение, пробіотики, гепатопротекторы.

IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF APPLICATION OF HEPATOPROTECTORS AND PROBIOTICS IN COMBINED THERAPY OF PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS AND NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

K.O. Kondratiuk

National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine

The article presents study results of hepatoprotector Glutargin and multiprobiotic Symbiter influence on lymphocyte subpopulation, cytokine status and levels of circulating immune complexes in patients with type 2 diabetes and NAFLD. Application of the suggested method promotes reduction of pro-inflammatory cytokine production, antigen plus antibody complexes and normalization of content of immunocompetent cells in peripheral blood of patients with type 2 diabetes and NAFLD.

Key words: type 2 diabetes, non-alcoholic fatty liver disease, immune status, treatment, probiotics, hepatoprotectors.

Проблема цукрового діабету 2-го типу (ЦД 2) привертає значну увагу дослідників та практиків у зв'язку з його значною поширеністю. Вагоме місце серед ускладнень ЦД 2 займає неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), частота якої у даного контингенту хворих, за даними різних авторів, становить 10-75% [1].

У патогенезі НАЖХП вагоме значення відіграють інсулінорезистентність, гіперглікемія, гіперліпідемія, накопичення продуктів анаеробного гліколізу, дисбаланс в системі перекисного окислення ліпідів, тощо [2, 3].

Серед механізмів розвитку ЦД 2 та НАЖХП значна роль відводиться імунній дисфункції. Імунні порушення визначають характер маніфестації та перебігу ЦД 2, в тому числі, швидкість розвитку і вираженість його специфічних ускладнень. Відбувається індукція оксидативного стресу

зі значним утворенням вільних радикалів, гіперпродукція прозапальних цитокінів: фактор некрозу пухлини (ФНП- α), інтерлейкінів (ІЛ) 1 β , 6, 8, матриксних металопротеїназ), що призводить до ураження клітин печінки [4-7].

Певну роль у розвитку НАЖХП відводять порушенням складу мікрофлори кишечника, які розглядаються в якості індуктора запальної реакції. Присутність в кишечнику надлишку патогенних бактерій може обумовлювати наявність системного хронічного низькоградієнтного запалення, впливає на чутливість організму до інсуліну [8-10].

Дисбаланс мікробіотику кишечника призводить до розвитку бактеріальної ендотоксемії. Ендотоксини пошкоджують клітинні мембрани гепатоцитів, сприяють фрагментації нуклеїнових кислот, індукують утво-

рення продуктів вільно радикального окислення, індуюють апоптоз, підвищують синтез прозапальних цитокінів, активують запальний процес та некротичні зміни у клітинах печінки [11].

Враховуючи це, у хворих на ЦД 2 з НАЖХП є обґрунтованим доповнення базового лікування препаратами цитопротекторної дії та пробіотиками. В якості препарату цитопротекторної дії ми використали глютаргін та в якості пробіотичного препарату – мультипробіотик симбітер ацидофільний. Глютаргін забезпечує нейтралізацію і виведення з організму аміаку, знижує інтенсивність перекисного окислення ліпідів, виявляє антиоксидантні, антигіпоксичні та мембраностабілізуючі якості, позитивно впливає на процеси енергозабезпечення у гепатоцитах [12-14].

Мультипробіотик симбітер ацидофільний містить біомасу живих клітин – 14 штамів пробіотичних бактерій, нормалізує мікрофлору кишечника та має імуномодулюючий ефект, забезпечує локальний захист та підвищує імунний бар'єр слизової оболонки кишечника [15].

Мета роботи – дослідити ефективність застосування глютаргину та симбітеру у хворих ЦД 2 та НАЖХП з урахуванням їх впливу на клітинну, гуморальну, імунну відповідь та цитокіновий профіль.

Матеріали та методи. Обстежено 64 хворих ЦД 2 та НАЖХП, які отримували пероральну цукрознижуючу терапію. Хворі були розподілені на дві групи: у 32 хворих застосовували гепа-

топротектор глютаргін (група А), в інших 32 хворих (група Б) – гепатопротектор глютаргін з мультипробіотиком симбітер. Контрольну групу склали 25 здорових обстежених. Гепатопротектор глютаргін застосовували по 0,75 г тричі на добу, мультипробіотик симбітер – по 10 г двічі на добу; тривалість лікування становила 30 днів.

Кількісний склад субпопуляцій лімфоцитів периферичної крові вивчали на проточному цитофлюориметрі «FC-500» («Beckman Coulter», США) за програмою Cytomics CXP Software з використанням подвійних комбінацій моноклональних антитіл, виробництва «Beckman Coulter», США і антитіл фірми «Сорбент», Росія. Оцінювали у відсотках показники Т-клітинної популяції: загальна кількість Т-лімфоцитів (CD-3 +), кількість Т-хелперів (CD-4 +), цитотоксичних Т-лімфоцитів (CD-8 +), природних клітин-кілерів (NK-клітин – (CD-16 +); у клітинній популяції (CD-19 +) лімфоцитів, а також відносний вміст лімфоцитів, які несуть маркери ранньої активації (CD-25 +) і маркерний антиген апоптозу (CD-95 +). Постановку реакції визначення субпопуляцій лімфоцитів за допомогою моноклональних антитіл проводили згідно інструкції виробників антитіл і медичних рекомендацій [16] з цілісною кров'ю та подальшим лізисом еритроцитів.

Концентрацію цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10, ІЛ-17, ІНФ- γ , ФНП- α) визначали в сироватці периферичної крові методом імуноферментного аналізу (ІФА) з ви-

користанням наборів «Вектор-Бест» (Росія) оснований на твердофазному «сендвіч»-варіанті згідно інструкції фірми виробника.

Визначення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) проводили за методом [17], що ґрунтується на селективній преципітації комплексів антиген-антитіло в 3,75% поліетиленгліколі з наступним фотометричним визначенням щільності преципітації.

Для аналізу результатів дослідження були використані відповідні методи біостатистики з використанням статистичних пакетів MedCalc 15.2.2 (MedCalc Software, 1993–2015) і MedStat [18, 19].

Результати та їх обговорення.

В сироватці крові хворих на ЦД 2 та НАЖХП встановлено наявність запальної реакції – підвищення рівнів ІЛ-1 β та ФНП- α ($p < 0,001$) (табл. 1). Поряд з цим, у даного контингенту хворих, порівняно з контрольними значеннями, встановлено 5-кратне збільшення прозапального цитокіну ІНФ- γ , що свідчить про значну активність Тх-1 ланки імунних реакцій. Відомо, що ІНФ- γ *in vitro* порушує сигналінг інсуліну в адипоцитах та опосередковано впливає на інсулінорезистентність. Також він є індуктором класичної активації макрофагів, зокрема стимулює макрофагальну продукцію таких прозапальних цитокінів як ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП- α , які, в свою чергу, активують протеолітичну активність в клітинах-мішенях. Незбалансоване збільшення інтенсивності протеолізу призводить до прогресуючої деструкції мембран гепатоцитів, прискоренню їх апопто-

тичної загибелі та розвитку некрозів, деградації ключових компонентів позаклітинного матрикса тканин печінки. Підвищення рівнів прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β , ФНП- α , ІНФ- γ) у хворих ЦД 2 та НАЖХП є відображенням каскаду імунопатологічних процесів, зокрема ІНФ- γ самостійно або спільно з ІЛ-1 β та/або ФНП- α має виражену локальну цитотоксичну дію на інсулін-продукуючі клітини острівців Лангенгарса [20-23].

У пацієнтів з ЦД 2 та НАЖХП до проведення терапії встановлено вірогідне збільшення рівнів інших цитокінів, зокрема, ІЛ-6 та ІЛ-8 ($p < 0,001$) (табл. 1). Рівень регуляторного цитокіну ІЛ-2 у даних пацієнтів до лікування в сироватці становив 1,7 (1,5-2,0) пг/мл при контролі 1,1 (1,0-1,2) пг/мл. Середній вміст в сироватці ІЛ-17 до лікування також статистично достовірно ($p < 0,001$) перевищував контрольні значення (табл. 1), що є свідченням наявності не тільки системної запальної реакції, а й може вносити вклад і в розвиток інсулінорезистентності. Відомо, що ІЛ-17 призводить до порушення опосередкованого інсуліном транспорту глюкози, пригнічує експресію генів, залучених в метаболізм ліпідів в адипоцитах [24].

Слід зазначити, що у хворих на ЦД 2 та НАЖХП виявлені різноспрямовані зміни вмісту сироваткових прозапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10. Так рівень ІЛ-4 у хворих ЦД 2 та НАЖХП був нижчим ніж контрольні значення в 2 рази і склав 0,4 (0,3-

Таблиця 1.

**Рівень цитокінів у сироватці крові хворих на ЦД 2 та НАЖХП
до початку лікування**

Показник	Me (Q _I – Q _{III}), пг/мл		Рівень значущості відмінності, p
	СД 2 + НАЖХП (n=64)	контроль (n=25)	
ФНО-а	4,15 (3,7-4,85)	0,6 (0,5-0,6)	<0,001*
ІЛ-6	4,9 (4,4-4,55)	2,0 (1,9-2,1)	<0,001*
ІЛ-8	4,5 (4,15-5,1)	1,9 (1,8-2,0)	<0,001*
ІЛ-1β	6,85 (6,6-7,2)	1,6 (1,5 – 1,7)	<0,001*
ІЛ-17	6,4 (6,3-6,8)	1,6 (1,5-1,72)	<0,001*
ІЛ-2	1,7 (1,5-2)	1,1 (1,0-1,2)	<0,001*
ІНФ-g	4,8 (4,5-5,1)	0,9 (0,8-1,0)	<0,001*
ІЛ-4	0,4 (0,3-0,5)	0,9 (0,7-0,9)	<0,001*
ІЛ-10	12,55 (11,5-13,75)	3,2 (3,1-3,3)	<0,001*

Примітка. * – Відмінність статистично значуща, p<0,05 (критерій W-Вілкоксона).

0,5) пг/мл. Вміст ІЛ-10 зростав у 3,8 разів порівняно з відповідними показниками контрольної групи (табл. 1). Збільшення рівнів ІЛ-10 та ІЛ-4 у сироватці крові в хворих на ЦД 2 та НАЖХП, свідчить про активацію фіброзу в тканинах печінки, що в науковій літературі трактується як своєрідна «захисна» реакція [25].

Вивчення субпопуляційного складу лімфоцитів хворих на ЦД 2 та НАЖХП також показало різноспрямовану динаміку змін вмісту основних субпопуляцій лімфоцитів. Так, у хворих відзначалося статистично вірогідне (p<0,001) зниження рівня CD-3 + лімфоцитів (Т клітини) і збільшення рівня CD-20 лімфоцитів (В клітини) на 30% вище норми. Рівень у крові Т-хелперних лімфоцитів (CD-4) статистично достовірно (p=0,005) змінювався і зменшувався вміст CD-8-цитотоксичних лімфоцитів, що відбувається на збільшенні імунорегуляторного індексу з 1,4 до 1,62. Отже,

незважаючи на відносний і абсолютний лімфоцитоз, визначається зниження в крові рівня цитотоксичних Т лімфоцитів і збільшення рівня В лімфоцитів. У хворих на ЦД 2 з НАЖХП встановлено статистично вірогідне зменшення відносної (p<0,001) і абсолютної (p = 0,008) кількості природних клітин – кілерів (табл. 2).

Важливим функціональним маркером стану імунітету є стан активуючих та апоптотичних процесів в клітинах імунної системи. Вивчення CD-25 + лімфоцитів, що відображають ранні процеси активації імунокомпетентних клітин через рецептори ІЛ-2, показало наявність певних відхилень їх рівня від контрольних значень у хворих ЦД 2 та НАЖХП. Апоптотична готовність за рівнем CD 95+ клітин, у даних хворих була збільшена в 1,5-1,8 рази.

Отже, ЦД 2 в поєднанні з НАЖХП супроводжується експресією на лімфоцитах CD-95 рецептора апоптозу, що ймовірно, є причиною дисбалансу

**Вміст субпопуляцій лімфоцитів у хворих на ЦД 2 та НАЖХП
до початку лікування**

Показник	$\bar{X} \ W \pm m$		Рівень значущості відмінності, p
	ЦД 2+ НАЖХП (n=64)	контроль (n=25)	
Лейкоцити *10 ⁹ /л	5,78±0,11	5,70±0,14	0,69
Лімфоцити (%)	36,14±0,44	33,76±0,50	<0,001*
Лімфоцити (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	2085±46	1921±49	0,02*
CD3, (%)	54,56±0,31	61,38±0,88	<0,001*
CD3, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	1139± 27	1179± 35	0,41
CD4, (%)	32,14±0,39	34,27±0,62	0,005*
CD4, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	671± 18	658± 20	0,64
CD8, (%)	19,72±0,28	24,43±0,48	<0,001*
CD8, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	413± 12	469± 14	0,03
Імунорегуляторний індекс	1,62± 0,15	1,40± 0,11	0,04
CD20, (%)	12,33±0,17	9,46±0,21	<0,001*
CD20, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	256± 6	182± 6	0,008*
CD16, (%)	11,76±0,27	16,62±0,38	<0,001*
CD16, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	247± 9	320± 12	<0,001*
CD25, (%)	7,94±0,09	8,46±0,18	0,02*
CD25, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	166± 4	163± 6	0,73
CD95,(%)	3,65±0,07	2,26±0,36	<0,001*
CD95, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	76± 2	43± 6	<0,001*

*Примітка: * - Відмінність статистично значуща, p<0,05 (критерій Стьюдента у випадку нормального закону розподілу, критерій W-Вілкоксона у випадку відмінності закону розподілу від нормального).*

у складі лімфоцитів, особливо, CD 8+ і CD 16+ клітин. Зниження вмісту НК клітин (CD 16+ клітини) може сприяти розвитку прозапального Th1 стану, який призводить до надлишкової продукції ФНП-α і ІНФ-γ, а збільшення прозапальних цитокінів потенціює окислювальний стрес, запальний процес та патологічні зміни у клітинах печінки (табл. 2). Нами не було встановлено значної активації лімфоцитів, що можна пов'язати з переважанням в цих процесах В-клітинно-гуморальної ланки – статистично вірогідне збільшення рівня В лімфоцитів. Непря-

мим підтвердженням розвитку гуморальної імунної реакції при ЦД 2 та НАЖХП було встановлене 2-кратне збільшення рівня імунних комплексів (рис. 1).

У хворих на ЦД 2 та НАЖХП виявлені зміни імунної відповіді, що відображають як наявність запальних процесів, так і спрямованість імунопатологічних реакцій в організмі, що необхідно враховувати при лікуванні.

Застосування гепатопротектора глутаргін або комбінації глутаргіну і мультипробіотику симбітер у терапії хворих ЦД 2 та НАЖХП вплинуло

на рівень про- та протизапальних цитокінів в сироватці крові. Так, при застосуванні глутаргіну (група А), рівень сироваткового ФНП- α зменшився в 1,5 рази, ІЛ-1 β в 1,4 рази, ІНФ- γ в 1,4 рази. У цій же групі визначалося статистично вірогідне ($p < 0,001$) пригнічення синтезу ІЛ-6 та ІЛ-8 по відношенню до відповідних показників до початку терапії, проте рівень даних цитокінів не досягав контрольних і склав 4,4 (3,8-4,6) пг/мл при контролі 2,0 (1,9 -2,1) пг/мл для ІЛ-6 та 3,4 (3,1-3,7) пг/мл при контролі 1,9 (1,8-2,0) пг/мл для ІЛ-8. Необхідно відзначити, що призначення глутаргіну у хворих на ЦД 2 та НАЖХП протягом 30 діб призводило до зменшення сироваткового рівня

ІЛ-17 в середньому на 37,0% та ІЛ-10 на 12,0% і підвищувало рівень проти-запального цитокіну ІЛ-4 на 28,0%, порівняно з відповідними показниками до початку терапії (табл. 3).

Застосування мультипробіотика симбітер в комплексі з глутаргіном (група В) знижувало рівень основних прозапальних цитокінів, в порівнянні з відповідними показниками до початку терапії та по відношенню до показників групи А (табл. 3). Виражене пригнічення синтезу прозапальних цитокінів при застосуванні мультипробіотика симбітер обумовлено його впливом на ріст та розмноження анаеробних грам-негативних бактерій, які здатні зменшувати рівень ендотоксимії та рівень

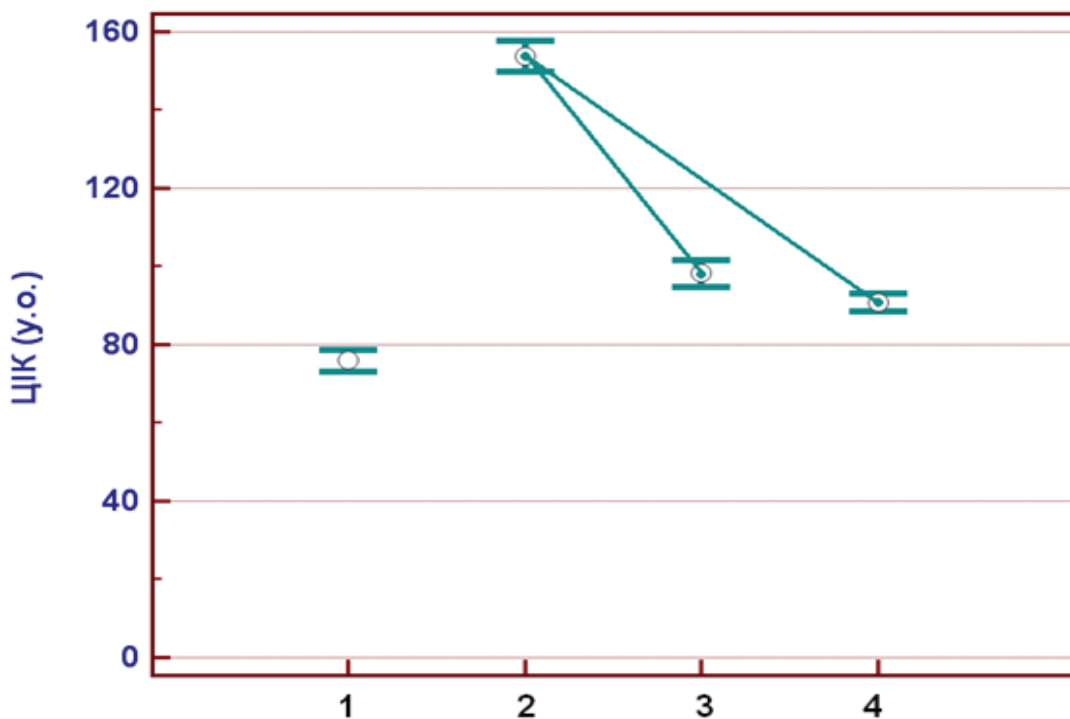


Рисунок 1. Показники циркулюючих імунних комплексів у динаміці лікування.

1 – контроль, 2 – до лікування, 3 – група А після лікування, 4 – група В після лікування (представлене середнє значення та 95% ВІ).

**Рівень цитокінів у сироватці крові хворих на ЦД 2 та НАЖХП
після лікування**

Група	Показник	Me ($Q_I - Q_{III}$), пг/мл		Рівень значущості відмінності (до/після), p
		До лікування (n=32)	Після лікування (n=32)	
А	ФНП-α	4,3 (3,7-4,9)	2,9 (2,3-3,1)	< 0,001
	ІЛ-6	5,2 (4,5-5,8)	4,4 (3,8-4,6)	< 0,001
	ІЛ-8	4,6 (4,2-5,1)	3,4 (3,1-3,7)	< 0,001
	ІЛ-1β	7 (6,8-7,4)	4,9 (4,7-5,2)	< 0,001
	ІЛ-17	6,5 (6,3-6,8)	4,1 (3,9-4,3)	< 0,001
	ІЛ-2	1,7 (1,5-2)	1,4 (1,3-1,7)	< 0,001
	ІЛ-4	0,35 (0,3-0,45)	0,45 (0,4-0,6)	< 0,001
	ІЛ-10	12,9 (11,8-13,4)	11,7 (10,8-12,1)	< 0,001
	ІНФ-γ	4,9 (4,6-5,2)	3,5(3,3-3,6)	< 0,001
В	ФНП-α	4,1 (3,7 -4,7)	2,3 (1,9-2,7)*	< 0,001
	ІЛ-6	4,9 (4,4-5,3)	3,1 (3-3,7)*	< 0,001
	ІЛ-8	4,5 (4,2-5,0)	2,9 (2,7-3,2)*	< 0,001
	ІЛ-1β	6,9 (6,8-7,3)	4 (3,9-4,4)*	< 0,001
	ІЛ-17	6,4 (6,2-6,6)	3,6 (3,5-3,8)*	< 0,001
	ІЛ-2	1,8 (1,6-2)	1,4 (1,2-1,6)	< 0,001
	ІЛ-4	0,4 (0,3-0,5)	0,6 (0,5-0,8)*	< 0,001
	ІЛ-10	12,3 (10,9-14,1)	10,4 (9,8-11,5)	< 0,001
	ІНФ-γ	4,8 (4,5-5,1)	2,7 (2,4-2,9)*	< 0,001

Примітка. * – Відмінність від групи А статистично значуща, $p < 0,05$ (критерій Стьюдента у випадку нормального закону розподілу, критерій W-Вілкоксона у випадку відмінності закону розподілу від нормального).

прозапальних цитокінів, що сприяє регресу клінічних та морфологічних проявів НАЖХП [26, 27].

При застосуванні комплексу глутаргін та симбітер у хворих на ЦД 2 та НАЖХП встановлено зменшення рівнів ІНФ-γ, ІЛ-6, ІЛ-8 в порівнянні з відповідними показниками до початку терапії ($p < 0,001$), та їх зменшення ($p < 0,05$), відповідно показників при застосуванні тільки гепатопротектора глутаргін. Проте рівень даних цитокінів після закінчення терапії не досягав контрольних значень, а залишався підвищеним.

Включення в схему лікування хворих на ЦД 2 та НАЖХП комбінації глутаргін та симбітер супроводжувалось різнонаправленими змінами ІЛ-10 та імунорегуляторних цитокінів ІЛ-2 та ІЛ-4. Рівень ІЛ-4 вірогідно ($p < 0,001$) підвищився і склав після закінчення терапії 0,6 (0,5-0,8) пг/мл, при контрольних показниках 0,9 (0,7-0,9) пг/мл. У порівнянні з відповідними показниками до лікування, рівні ІЛ-2 зменшились на 28,5%, а ІЛ-10 – на 18,2%, проте перевищували контрольні показники в 1,27 разів та в 3,25 рази відповідно (табл. 3).

Застосування комбінації гепатопротектора глутаргін та мультипробіотика симбітер у хворих ЦД 2 та НАЖХП сприяло зниженню рівнів прозапальних цитокінів – ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10, ІЛ-17, ІНФ- γ , ФНП- α та підвищенню рівня протизапального цитокіну ІЛ-4, що відіграє ключову роль у патогенезі прогресування даної патології. Встановлені зміни як прозапальних, так і протизапальних цитокінів у хворих ЦД 2 та НАЖХП, які є визначальними показниками при оцінці ступеня активності запального

процесу та ефективності проведеного лікування.

Дослідження вмісту основних субпопуляцій лімфоцитів показало, що на 30-ту добу від початку терапії в обох групах визначалось зменшення лімфоцитозу та вмісту CD3 лімфоцитів (табл. 4, 5).

У групі В після лікування рівень експресії CD4 значимо не відрізнявся від аналогічних показників контрольної групи. Показники супресорної субпопуляції Т-лімфоцитів (CD8) вірогідно збільшувались ($p < 0,05$) і на-

Таблиця 4.

Вміст субпопуляцій лімфоцитів хворих ЦД 2 та НАЖХП після лікування глутаргіном (група А)

Показник	$\bar{X} \pm m$		Рівень значущості відмінності, р
	до лікування (n=32)	після лікування (n=32)	
Лейкоцити *10 ⁹ /л	5,72 \pm 0,21	5,6 \pm 0,16	0,49
Лімфоцити (%)	25,97 \pm 0,68	34,22 \pm 0,49	0,005
Лімфоцити (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	2051 \pm 82	1906 \pm 50	0,07
CD3, (%)	54,96 \pm 0,46	57,28 \pm 0,44	<0,001
CD3, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	1129 \pm 47,3	1092 \pm 31	0,39
CD4, (%)	31,8 \pm 0,6	32,22 \pm 0,33	0,10
CD4, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	653,3 \pm 30,1	615,2 \pm 18,5	0,15
CD8, (%)	19,9 \pm 0,4	23,4 \pm 0,3	<0,001
CD8, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	410,3 \pm 20	447,7 \pm 15,9	0,03
Імунорегуляторний індекс	1,59 \pm 0,5	1,37 \pm 0,3	0,04
CD20, (%)	12,33 \pm 0,26	11,25 \pm 0,19	<0,001
CD20, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	251,2 \pm 10,3	214,1 \pm 6	<0,001
CD16, (%)	12,12 \pm 0,32	13,74 \pm 0,32	<0,001
CD16, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	251,1 \pm 13,9	263,9 \pm 11,1	0,20
CD25, (%)	7,91 \pm 0,12	13,74 \pm 0,32	0,002
CD25, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	162,3 \pm 7	153,1 \pm 5,0	0,15
CD95, (%)	3,46 \pm 0,13	3,23 \pm 0,1	<0,001
CD95, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	70,4 \pm 3,8	61,3 \pm 2,4	0,004

Примітка. * – Відмінність статистично значуща, $p < 0,05$ (критерій Ст'юдента у випадку нормального закону розподілу, критерій W-Вілкоксона у випадку відмінності закону розподілу від нормального).

Вміст субпопуляцій лімфоцитів хворих на ЦД 2 та НАЖХП після лікування комплексом глутаргін + симбітер (група В)

Показник	$\bar{X} \pm m$		Рівень значущості відмінності, р
	до лікування (n=32)	після лікування (n=32)	
Лейкоцити *10 ⁹ /л	5,82± 0,07	5,65± 0,07	0,15
Лімфоцити (%)	36,31± 0,56	32,78± 0,49	<0,001
Лімфоцити (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	2113± 43	1856± 40	<0,001
CD3, (%)	54,15± 0,42	59,23± 0,33	<0,001
CD3, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	1145± 25,5	1100 ±25,6	0,17
CD4, (%)	32,47± 0,5	33,32± 0,26	0,01
CD4, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	686,5± 17,8	618,1± 13,7	0,005
CD8, (%)	19,6± 0,4	25,3± 0,30	<0,001
CD8, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	413,4± 12,3	468,7± 11,4	<0,001
Імунорегуляторний індекс	1,65± 0,40	1,31± 0,25	0,05
CD20, (%)	13,34± 0,23	9,99± 0,10	<0,001
CD20, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	260,6± 7,10	228,7± 6,20	<0,001
CD16, (%)	11,68± 0,30	15,81± 0,19	<0,001
CD16, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	247,3± 8,5	293,5± 7,0	<0,001
CD25, (%)	7,98± 0,13	8,34± 0,13	<0,001
CD25, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	168,9± 4,70	155,4± 5,10	0,010
CD95, (%)	3,84± 0,07	2,73± 0,04	<0,001
CD95, (абс. к-сть *10 ⁹ /л)	81,3± 2,40	51,0 ± 1,60	<0,001

Примітка. Відмінність статистично значуща, $p < 0,05$ (критерій Стьюдента у випадку нормального закону розподілу, критерій W-Вілкоксона у випадку відмінності закону розподілу від нормального).

ближувались до показників контрольної групи як серед пацієнтів групи А (23,4±0,3%), так і серед пацієнтів групи В (25,3±0,3%) при контролі (24,43±0,48%). Застосування комплексу гепатопротектор і мультипробіотик (група В) призвело до статистично вірогідного ($p < 0,001$) збільшення НК клітин та нормалізації вмісту В клітин (табл. 5), що супроводжувалось зменшенням рівня циркулюючих імунних комплексів в 1,6 раз (рис.1).

При вивченні впливу різних методів лікування на показники апоптозу імунокомпетентних клітин (CD 95+ клітин) встановлено, що у хворих гру-

пи В спостерігалось виражене зменшення експресії CD95 із наближенням до показників контролю. Застосування комплексу глутаргін та симбітер сприяло відновленню імунологічного гомеостазу та зменшенню проявів вторинного імунодефіцитного стану у хворих ЦД 2 та НАЖХП.

ВИСНОВКИ

1. У хворих ЦД 2 та НАЖХП діагностовано активацію імунних реакцій запалення, дисбаланс субпопуляцій лімфоцитів, підвищення кількості циркулюючих імунних комплексів та апоптотичної готовності лімфоцитів.

2. Застосування комбінації гепатопротектор глутаргін та мультипробіотик симбітер є патогенетично обґрунтованими у пацієнтів ЦД 2 в поєднанні з НАЖХП, оскільки призводить до

зменшення продукції прозапальних цитокінів, зниження рівня комплексів антиген-плюс-антитіло та нормалізації показників вмісту імунокомпетентних клітин периферичної крові.

Література

1. Ефимов А. С., Орленко В. Л., Соколова Л. К. Сахарный диабет и его осложнения. // Журнал практического врача – 2003 – №2 – С. 34-40.
2. Абрагамович О. О. Захворювання печінки змішаної етіології: сучасні принципи діагностики та комплексного лікування. / О.О. Абрагамович, О.Е. Макеева, К.Б. Долатказіна, Л.М. Пронів, М.Т. Панасюк, М.О. Абрагамович, У.О. Абрагамович // Світ медицини та біології. – 2007. – № 4. – С. 89-97.
3. Хворостінка В.М., Лавриненко О.В., Журавльов С.В. Патогенетичні аспекти жирової дистрофії печінки при цукровому діабеті 2 типу // Сучасна гастроентерологія – 2009. – №3. – С. 91-97.
4. Сульская Ю. В., Белоголов В. А. Клеточное звено иммунитета у больных сахарным диабетом 2-го типа // Иммунология та алергологія – 2009. – №4. – С. 55-61.
5. Трушина Э.Н., Мустафина О.К., Сото С.Х. и соавт. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови больных сахарным диабетом типа 2 и ожирением. // Вопросы питания – 2012. – Т. 81, – №5. – С. 60-65.
6. Литвиненко Е.А., Боднар П.Н., Лисяный Н.И., Бельская Л.Н. Цитокиновый статус у больных сахарным диабетом 2 типа с неалкогольной жировой болезнью печени // Иммунология та алергологія: наука і практика – 2013. – №3. – С.65-68.
7. Маммаев С.Н., Багомедова Н.В., Богомоллов П.О. Цитокиновая система при неалкогольном стеатогепатите. // РЖГГН – 2007. – №4. – С. 35-39.
8. Гриневич В.Б., Сас Е.И., Ефимов О.И. и соавт. Коррекция дисбиоза кишечника – фактор преодоления инсулинорезистентности. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2009. – №19 (33). С. – 90-94.
9. Possemiers S. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2 driven improvement of gut permeability// Gut. – 2009 – Vol. 58: – P. 1091-1093.
10. Vyalov S.S. Bacterial overgrowth syndrome effect on the course of nonalcoholic steatohepatitis. //Liver and inflammation (GASL Annual Scientific Meeting, Germany, 2011) – P. 1123.
11. Силиверстов П.В., Радченко В.Г., Сафроненкова И.Г., Ситкин С.И. Взаимоотношения печени и кишечника на фоне дисбаланса микрофлоры толстой кишки. // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга – 2010. – № 2-3. – С. 15-18
12. Глутаргін: применение нового украинского препарата в клинической практике / О.Я. Бабак, В.М. Фролов, Н.В. Харченко и соавт. – К.; Харьков; Луганск: ООО «Элтон-2», 2003. – 200 с.
13. Меркулова Ю.В. Фармакологические исследования препарата глутаргін / Ю.В. Меркулова, О.Н. Гомон, Л.А. Чайка // Глутаргін – нові принципи фармакотерапії захворювань печінки: Науково-практична конференція: Мат. конф. – Харків, 2003. – С. 7-10.
14. Бабак О. Применение нового отечественного препарата глутаргін в гастроэнтерологии. / О.Я. Бабак // Сучасна гастроентерологія. – 2003. – № 2 (12). – С. 85-89.
15. Лечение микроэкологии кишечника у больных сахарным диабетом 2 типа и неалкогольной жировой болезнью печени Е.А. Кондратюк, П.Н. Боднар, Д.С. Янковский, Т.А. Лысяная, И.Г. Пономарёва. // Гепатологія – 2015. – №1. – С. 42-51.

16. Пинегин Б.В., Ярилин А.А., Симонова А.В., Климова С.В., Мазуров Д.В., Дамбаева С.В., Бахус Г.О. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека. /Пособие для врачей-лаборантов // Гос. научный центр РФ. – Институт иммунологии мин. здравоохранения РФ. – М. -2001. – 53с.
17. Гашкова В. Чехословацкая медицина. // Гашкова В., Мате Н. – 1978. – №2. – С.117.
18. Петри А., Сэбин К. Наглядная статистика в медицине. /Пер. с англ. В.П. Леонова. – М.: ГЭОТАР-МЕД. 2003. – 144 с.
19. Лях Ю.Е., Гурьянов В.Г. Хоменко В.Н. и др. Основы компьютерной биостатистики. Анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом MedStat. – Д.: Папакица Е.К., 2006. – 214 с.
20. Корнійчук І.Ю. Особливості цитокинової регуляції та кооперації при неалкогольній жировій хворобі печінки на фоні ожиріння. //Буковинський медичний вісник – 2011. – Т.15, – №2. – С. 214-217.
21. Mc. Gillicuddy F. C. Interferon gamma attenuates insulin signaling, lipid storage, and differentiation in human adipocytes via activation of the JAK/STAT pathway. / F. C. Mc. Gillicuddy, E. H. Chiquoine, C. C. Hinkle et al. // J. Biol. Chem. – 2009. – Vol. 284 (46). – P. 3136-3144.
22. Кетлинский С.А., Калинина Н.М. Цитокины мононуклеарных фагоцитов в регуляции воспаления и иммунитета. // Иммунология – 1995. – №3. – С. 30-44.
23. Сивкова А.А. Роль цитокинов и белков теплового шока в формировании различных клинических форм неалкогольной жировой болезни печени / Сивкова А.А., Ларева Н. В., Лузина Е. В., Томина Е. А. // Забайкальский медицинский вестник – 2011. – №2. – С. 79-85.
24. Zuniga L. A. IL-17 regulates adipogenesis, glucose homeostasis, and obesity /L.A. Zuniga, W.-J. Shen, B. Joyce-Shaikh et al. // J. Immunol. – 2010 – Vol. 185 (11) – P. 6947 – 6959.
25. Ендокринологія: підручник /П.М. Боднар, Г.П. Михальчишин, Ю.І. Комісаренко та ін. / за ред. проф. П.М. Боднара – Вінниця: Нова Книга, 2013 – 480 с.
26. Fran J. G., Xu Z. J., Wang G. L. Effect of lactulose on establishment of rat nonalcoholic steatohepatitis model. // World J. Gastroenterol – 2005 – Vol.11 – P. 5053-5056.
27. Solga S., Diehl A. Non-alcoholic fatty liver disease: lumen-liver interaction and possible role for probiotics. // J. Hepatol. – 2003 – Vol. 38 – P. 681-687.