

На этом симпозиуме были заслушаны и доклады научных сотрудников ЭНЦ РАМН — акад. РАМН И. И. Дедова, члена-корр. РАМН Р. К. Исламбекова, доктора мед. наук Г. Герасимова, а также ученых Института эндокринологии Узбекистана.

Доклады зарубежных ученых и ученых нашей страны вызвали большой интерес к данной проблеме и способствовали укреплению связей между эндокринологами разных стран мира по устранению йоддефицитных заболеваний.

В последние годы ЭНЦ РАМН регулярно организует международные, общероссийские и региональные конгрессы, съезды и симпозиумы, посвященные вопросам тиреоидологии, на которых широко обсуждаются проблемы йоддефицитных заболеваний.

С 2003 г. ЭНЦ РАМН издает научно-практический журнал "Клиническая тиреоидология" (главный редактор — член-корр. РАМН Г. А. Мельниченко).

Следует отметить, что в настоящее время ликвидация дефицита йода среди населения становится одной из приоритетных задач органов здравоохранения многих стран мира.

Введение обязательного йодирования пищевой поваренной соли и выполнение постановления Правительства Российской Федерации № 1119 от 05.10.91 "О мерах по профилактике заболеваний, связанных с дефицитом йода" будет, несомненно, способствовать уменьшению количества больных с йоддефицитными заболеваниями.

Учитывая большую медико-социальную значимость йоддефицитных заболеваний, нельзя ослаблять внимание органов здравоохранения и санитарного надзора к этой проблеме, а наоборот, следует усилить борьбу с этими заболеваниями, привлекая к ним внимание и общественности с помощью средств массовой информации — прессы, радио и телевидения.

Член-корр. РАМН, лауреат Ленинской премии
Р. К. Исламбеков

◆ КЛИНИЧЕСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2005

УДК 616.379-008.64-053.2-07:616.155.32

К. П. Зак, М. А. Грузов, В. В. Афанасьева, Т. Н. Малиновская, В. В. Попова, А. В. Куликовская, Т. А. Семионова, Т. Ф. Захарченко

УЛЬТРАСТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННЫМ НЕЛЕЧЕНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1-ГО ТИПА

Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины, Киев

Методом проточной цитометрии (FACS-анализ), световой и электронной микроскопии, а также проведения цитотоксического теста исследовали лейкоцитарный состав, содержание, ультраструктуру и функцию различных популяций лимфоцитов (CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺-, CD20⁺- и CD56⁺-клеток) в крови 90 детей с нелеченым впервые выявленным сахарным диабетом 1-го типа в возрасте 8–15 лет. Контрольная группа состояла из практически здоровых детей (n = 45). Установлено, что у больных детей отмечается небольшое, но статистически достоверное снижение в крови относительного и абсолютного содержания CD3⁺, CD4⁺, CD56⁺-клеток, индекса CD4/CD8 и особенно больших гранулосодержащих лимфоцитов (морфологического гомолога естественных клеток-киллеров). Ультраструктурно в CD4⁺-клетках (лимфоцитах, содержащих тельца Голла) выявляются признаки повышенной функциональной активности, в то время как в ЕК-клетках (больших гранулосодержащих лимфоцитах) — снижение, что подтверждается ослаблением цитотоксической активности этих клеток, определенных *in vitro*. Трехмесячная инсулинотерапия, приводящая к восстановлению содержания глюкозы и гликозилированного гемоглобина в крови, не вызывает нормализации выявленных изменений показателей Т- и ЕК-клеточного иммунитета.

Ключевые слова: лимфоциты, дети, впервые выявленный сахарный диабет 1-го типа.

Flow cytometry (FACS-analysis), light and electron microscopy, and cytotoxic test were used to study the leukocytic composition, content, ultrastructure, and function of different lymphocytic populations (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD20⁺, and CD56⁺ cells) in the blood of 90 children aged 8 to 15 years who had untreated new-onset type 1 diabetes mellitus. A control group consisted of 45 apparently healthy normoglycemic children. The sick children were observed to have a slight, but statistically significant reduction in the relative and absolute blood content of CD3⁺, CD4⁺, and CD56⁺ cells, CD4/CD8 index and particularly large granule-containing lymphocytes (the morphological homologue of natural killer (NK) cells). Ultrastructurally, CD20⁺ 4 cells (lymphocytes containing Goll's bodies) showed the signs of a high functional activity while NK cells (large granule-containing lymphocytes) exhibited a low one, which was confirmed by the decreased cytotoxic activity of these cells determined *in vitro*. Three-month insulin therapy leading to the restoration of the blood content of glucose and glycosylated hemoglobin fails to normalize the detected changes in the parameters of T- and NK-cell immunity.

Key words: lymphocytes, children, new-onset type 1 diabetes mellitus.

В настоящее время установлено, что сахарный диабет 1-го типа (СД1) является аутоиммунным заболеванием, при котором происходит селективная деструкция инсулинпродуцирующих β-клеток под-

желудочной железы [3, 4, 9]. В результате этого развивается гипoinsулинизм и нарушается гомеостаз глюкозы, т. е. возникает аутоиммунный инсулинзависимый сахарный диабет. Вместе с тем мно-

где иммунные механизмы этиопатогенеза СД1 остаются недостаточно изученными. Как известно, большую роль в механизмах разрушения островков Лангерганса играют различные иммунорегуляторные клетки [7, 11]. Имеется значительное количество работ, преимущественно экспериментального характера, в которых приводятся данные о содержании и функции различных субпопуляций лимфоцитов при СД1 [3, 7]. Однако что касается развития СД1 у человека, то по этому вопросу пока нет единого мнения. В определенной мере это объясняется тем, что разные авторы обследовали неидентичные группы больных. Например, к группе пациентов с впервые выявленным СД1 одни авторы относили пациентов, у которых иммунологические показатели определяли непосредственно после установления диагноза, другие — через 3—6 мес после выявления заболевания на фоне инсулинотерапии. При этом вид используемого препарата и курс лечения инсулином были также неодинаковыми. К сожалению, еще и сейчас публикуются работы, в которых иммунофенотип лимфоцитов при СД1 определяют с помощью розеткообразования. Работы, в которых изучали иммунофенотип и функцию лимфоцитов впервые выявленных больных детей до инсулинотерапии с помощью современных методов исследования, единичны и противоречивы [2, 3, 11]. Почти отсутствуют публикации, посвященные субмикроскопическому строению лимфоцитов при СД1, дающие информацию о функции их определенных видов.

В связи с вышеизложенным задачей настоящего исследования явилось изучение количества, ультраструктуры и функции различных популяций лимфоцитов у детей с впервые выявленным СД1, которые до первого взятия крови никогда не получали инсулин или какие-либо другие сахароснижающие средства. Подбор таких больных составлял определенную сложность, так как во многих случаях дети поступают в реанимацию уже в критическом состоянии, нередко даже в коме, и им немедленно вводят инсулин.

Материалы и методы

Обследовано 90 детей обоего пола (42 мальчика и 48 девочек) в возрасте от 8 до 15 лет. Диагноз СД1 у этих детей впервые был поставлен при профилактических осмотрах или при направлении на консультацию к врачам других специальностей согласно классификации и требованиям Комитета экспертов ВОЗ (1999). Все пациенты до определения иммунологических показателей не получали инсулин или другие сахароснижающие препараты. В группу обследуемых были включены только тщательно отобранные больные, у которых отсутствовали какие-либо воспалительные заболевания и не было выраженных сосудистых или других осложнений.

Контрольная группа состояла из 45 практически здоровых детей обоего пола и сопоставимого с больными детьми возраста, у которых уровень глюкозы натощак и после нагрузки был в пределах нормы.

Содержание глюкозы и гликозилированного гемоглобина (Hb A_{1c}) в крови определяли общепринятым методом, концентрацию С-пептида в сыворотке крови — радиоиммунологическим методом, используя стандартные наборы "Cis bio-International" (Франция).

Общее число лейкоцитов подсчитывали традиционным способом. Лейкоцитарную формулу определяли в мазках крови на 200 клеток, окрашенных по Паппенгейму, используя фосфатный буферный раствор (pH 6,85), выделяя в отдельную группу большие гранулосодержащие лимфоциты (БГЛ), являющиеся морфологическим гомологом естественных клеток-киллеров (ЕК-клеток).

Определение содержания и распределения лимфоцитов различного иммунологического фенотипа проводили методом проточной цитометрии с использованием лазерного цитофлюориметра "FACS tag plus" фирмы "Becton Dickinson" (США). Мононуклеары выделяли методом дифференциального центрифугирования в градиенте плотности фиколла—урографаста и инкубировали в пластиковых чашах в CO₂-инкубаторе в течение 1 ч для устранения моноцитов. Поверхностные антигены лимфоцитов метили моноклональными антителами, маркированными флюоресцеина изотиоцианатом или фикоэритрином. Использовали моноклональные антитела фирм "Becton Dickinson" (США) и "Сорбент" (Россия) к поверхностным антигенам: CD3⁺ (все Т-лимфоциты), CD4⁺ (Т-индукторы/хелперы), CD8⁺ (Т-супрессоры/киллеры), CD20⁺ (В-лимфоциты) и CD56⁺ (ЕК-клетки).

Для электронно-микроскопического исследования выделенную лейкоцитарную пленку фиксировали 2,5% глутаральдегидом на 0,1 М какодилатном буфере фирмы "Fluka" (Германия) с 2% сахарозой, постфиксировали 1% тетраокисью осмия на том же буфере, проводили через спирты и безводный ацетон, заключали в аралдит фирмы "Fluka". Ультратонкие срезы готовили на микротоме LKB-8800 (Швеция) и исследовали под электронным микроскопом фирмы JEM-100С (Япония).

У части больных ($n = 7$) и здоровых детей ($n = 10$) определяли цитотоксическую активность ЕК-клеток с помощью разработанного нами 4-часового теста. Выделенные из периферической крови (ПК) лимфоциты, очищенные от моноцитов клетки-эффекторы смешивают с клетками-мишенями культуры K562, меченными FITC — йодидом пропидия. Количество лизированных клеток-мишеней определяли с помощью проточного цитофлюориметра "FACS tag plus" фирмы "Becton Dickinson" (США).

Результаты и их обсуждение

Как видно из табл. 1, у детей с впервые выявленным СД1 до назначения им лечения не было обнаружено достоверных изменений со стороны общего количества лейкоцитов, нейтрофилов (палочкоядерных и сегментоядерных) и базофилов в ПК по сравнению с детьми контрольной группы. Наблюдались умеренная лимфоцитопения, в основном за счет значительного снижения количеств

ва БГЛ. Относительное и абсолютное содержание эозинофилов и моноцитов в ПК было несколько повышено ($p < 0,05$).

Для обследуемой группы больных детей было характерно небольшое, но статистически достоверное снижение относительного и абсолютного содержания общего количества Т-лимфоцитов (CD3⁺-клеток) и одной из их важнейших регуляторных субпопуляций — CD4⁺-клеток. Как известно, популяция CD4⁺-клеток является функционально неоднородной. Она состоит из нескольких субклассов (Th1 и Th2; CD4⁺-, CD25⁺- и CD4⁺-, CD25⁺-клетки), соотношение которых может изменяться неоднозначно в зависимости от влияния

различных факторов. Можно предположить, что выявленное снижение количества CD25⁺-клеток обусловлено миграцией из циркуляции субпопуляций CD4⁺-клеток, экспрессирующих рецептор к ИЛ-2 (CD4⁺-, CD25⁺-клеток), что недавно было описано при первичном СД1 [7, 8].

Среднее относительное и абсолютное содержание другой субпопуляции Т-лимфоцитов — CD8⁺-клеток, как видно из табл. 1, почти не отличалось от такового у здоровых детей. Ввиду этого индекс CD4/CD8 у большинства пациентов был ниже контрольных величин. Процентное содержание В-лимфоцитов (CD20⁺-клеток) в ПК больных детей не было изменено, но абсолютное их количество было достоверно снижено.

У детей с первые выявленным СД1 отмечалось статистически значимое снижение относительного и абсолютного количества CD56⁺-клеток, т. е. экспрессирующих мембранный антиген, наиболее характерный для ЕК-клеток. Подтверждением того, что для многих больных детей с начальной формой СД1 характерно более низкое количество ЕК-клеток в ПК, является также тот факт, что у этих же пациентов отмечалось, как уже указывалось выше, и снижение содержания БГЛ в ПК. Однако снижение количества БГЛ было более выраженным, чем CD56⁺-клеток. Не у всех больных имелась коррекция между изменением числа БГЛ и CD56⁺-клеток, что, по-видимому, объясняется тем, что (как сейчас показано) не все БГЛ являются ЕК-клетками и, наоборот, не все CD56⁺-клетки содержат в цитоплазме азурофильные гранулы, которые являются одним из морфологических признаков БГЛ.

В предыдущих наших исследованиях [3] было показано, что у детей с впервые выявленным СД1 с особенно низким содержанием CD56⁺-клеток и БГЛ и у их родителей первой линии также наблюдалось значительное снижение количества ЕК-клеток в ПК. Полученные данные позволяют высказать предположение о том, что такие больные с постоянным низким уровнем ЕК-клеток в ПК принадлежат к особому подтипу больных СД1, в этиопатогенезе которого имеется генетически детерминированный дефект ЕК-клеток, возможно, дефект генов, участвующих в иммунорегуляции, существующий до проявления заболевания и являющийся фактором, способствующим возникновению СД1.

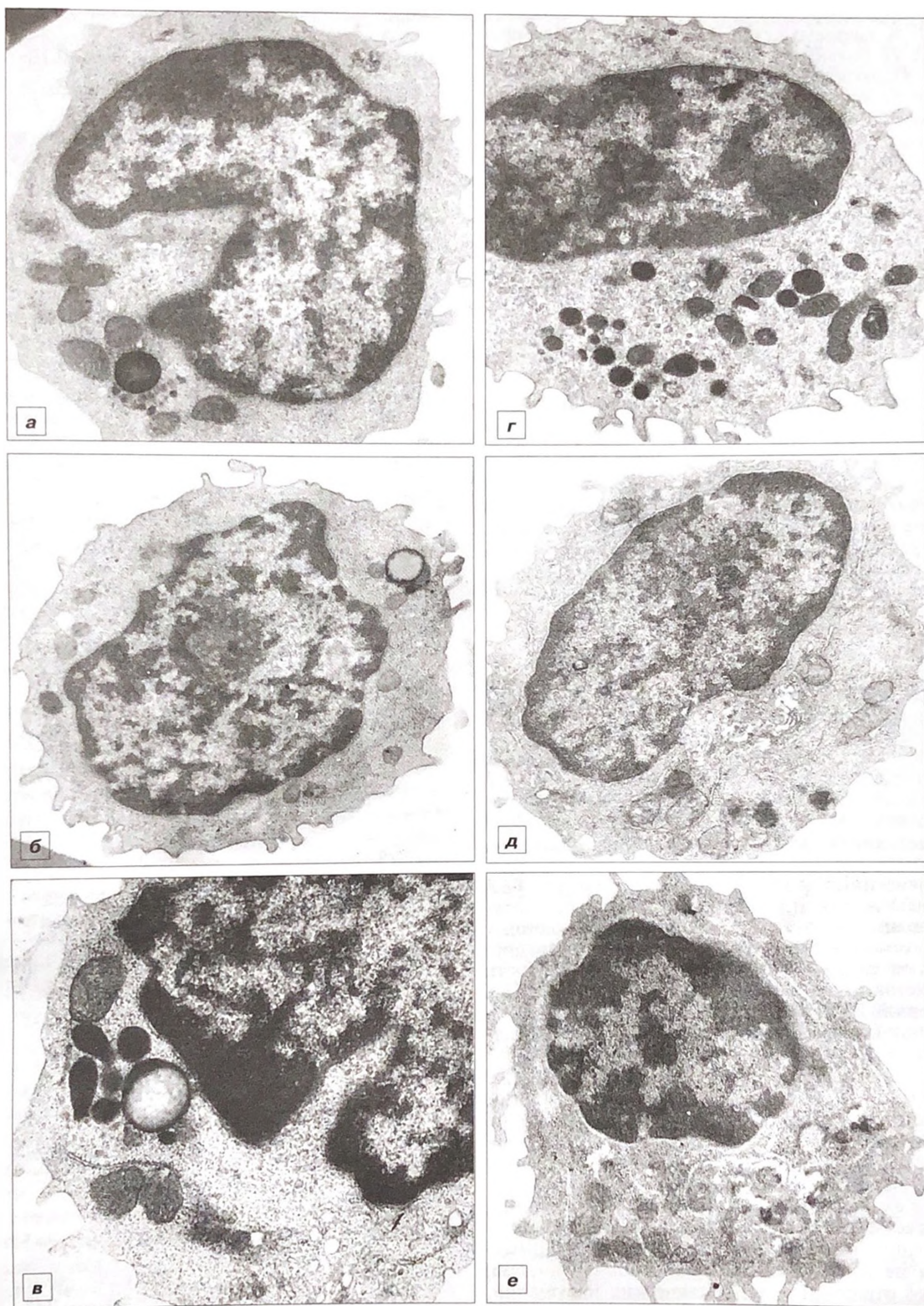
При электронно-микроскопическом исследовании лейкоцитов ПК у детей с впервые выявленным СД1 были обнаружены значительные изменения субмикроскопической организации лимфоцитов, содержащих в цитоплазме особые образования — тельца Голла (ТГ), которые считают морфологическим маркером CD4⁺-клеток или одной из их популяций [1]. ТГ представляют собой гранулоподобные образования округлой, эллипсоидной, гантелеподобной или неправильной формы с электронно-светлым центром и электронно-плотной периферией. Соотношение этих двух разных по электронной плотности частей варьирует. Возле ТГ нередко определяется кластер электронно-плотных гранул разного размера.

Таблица 1

Лейкоцитарный состав и иммунофенотип лимфоцитов крови у здоровых детей ($n = 55$) и детей с впервые выявленным неселективным СД1 ($n = 90$) ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые дети	Больные дети
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	5,73 $\pm$ 0,17	6,03 $\pm$ 0,17
Палочкоядерные нейтрофилы:		
%	2,03 $\pm$ 0,17	2,28 $\pm$ 0,16
$\cdot 10^9/\text{л}$	0,11 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01
Сегментоядерные нейтрофилы:		
%	51,76 $\pm$ 1,18	51,40 $\pm$ 1,26
$\cdot 10^9/\text{л}$	2,98 $\pm$ 0,12	3,11 $\pm$ 0,13
Базофилы:		
%	0,30 $\pm$ 0,07	0,53 $\pm$ 0,09
$\cdot 10^9/\text{л}$	0,018 $\pm$ 0,004	0,03 $\pm$ 0,006
Эозинофилы:		
%	2,90 $\pm$ 0,22	3,71 $\pm$ 0,34
$\cdot 10^9/\text{л}$	0,16 $\pm$ 0,01	0,22 $\pm$ 0,02
Моноциты:		
%	5,63 $\pm$ 0,24	7,21 $\pm$ 0,34*
$\cdot 10^9/\text{л}$	0,32 $\pm$ 0,02	0,43 $\pm$ 0,02*
Лимфоциты:		
%	34,81 $\pm$ 1,11	33,40 $\pm$ 1,25
$\cdot 10^9/\text{л}$	1,98 $\pm$ 0,08	2,00 $\pm$ 0,09
БГЛ:		
%	2,74 $\pm$ 0,18	1,47 $\pm$ 0,19*
$\cdot 10^9/\text{л}$	0,16 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01*
Лимфоциты + БГЛ:		
%	37,50 $\pm$ 1,10	34,87 $\pm$ 1,09*
$\cdot 10^9/\text{л}$	2,12 $\pm$ 0,08	2,09 $\pm$ 0,09
CD3 ⁺ -клетки:		
%	65,57 $\pm$ 1,72	56,33 $\pm$ 1,47*
$\cdot 10^9/\text{л}$	1,39 $\pm$ 0,09	1,07 $\pm$ 0,06*
CD4 ⁺ -клетки:		
%	42,13 $\pm$ 1,30	37,03 $\pm$ 1,04*
$\cdot 10^9/\text{л}$	0,98 $\pm$ 0,04	0,70 $\pm$ 0,04*
CD8 ⁺ -клетки:		
%	22,03 $\pm$ 1,00	21,23 $\pm$ 0,90
$\cdot 10^9/\text{л}$	0,48 $\pm$ 0,04	0,41 $\pm$ 0,03
CD20 ⁺ -клетки:		
%	10,06 $\pm$ 0,65	9,65 $\pm$ 0,62
$\cdot 10^9/\text{л}$	0,25 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,01*
CD56 ⁺ -клетки:		
%	14,03 $\pm$ 0,88	9,92 $\pm$ 0,68*
$\cdot 10^9/\text{л}$	0,29 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,02*
Индекс CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,98 $\pm$ 0,10	1,70 $\pm$ 0,06*

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми детьми



Ультраструктура лимфоцитов крови, содержащих ТГ (а—в) и БГЛ (г—е).

а, г — здоровые дети; б, в, д, е — больные дети. а — ув. 10 000; б — ув. 8500; в — ув. 12 000; г — ув. 8000; д — ув. 9000; е — ув. 9000.

По сравнению с лимфоцитами, содержащими ТГ, в ПК здоровых детей (см. рисунок, а), лимфоциты с ТГ больных детей (см. рисунок, б, в) имели более высокое ядерно-цитоплазматическое отношение, более диспергированный хроматин в ядре и большое ядрышко с хорошо выраженным фибриллярным центром и обширной ячеистой периферией, что характерно для клеток с повышенной активностью. Кластер гранул вокруг ТГ в цитоплазме таких клеток состоял из значительно большего количества гранул, которые были гетерогенны как по размеру, так и по электронной плотности. Полученные нами данные согласуются с результатами работы [10], в которой показано, что у больных с начальной формой СД1 наряду со снижением количества CD4⁺-клеток отмечается значительное повышение количества активированных форм этой субпопуляции (CD4⁺ HLA-DR).

Значительные изменения ультраструктуры были выявлены также в ЕК-клетках ПК больных. Как уже указывалось, морфологически большинство ЕК-клеток выглядит как БГЛ, т. е. являются клетками, содержащими в обильной цитоплазме азурофильные гранулы (см. рисунок, г). На ультраструктурном уровне в цитоплазме этих клеток выявляются также специфические субмикроскопические образования, получившие название параллельно-трубчатых структур (ПТС), которые в световом микроскопе не видны. У нелеченых больных с только что диагностированным СД1 (см. рисунок, д, е) снижены количество и размер ПТС и азурофильных гранул. Последние являются основной органеллой БГЛ, секретирующих перфорин, цитолизин, цитокины, разрыхление их электронно-плотного в норме матрикса, а также значительное расширение каналов гранулярного эндоплазматического ретикулума, структурных компонентов комплекса Гольджи и набухание митохондрий, что можно считать достоверными признаками ослабления цитолитической и секреторной функций ЕК-клеток [3].

Выявленные изменения ультраструктуры БГЛ подтверждаются проведенными нами исследованиями цитотоксической активности ЕК-клеток у обследуемых больных, у них было обнаружено достоверное снижение цитолитической способности ЕК-клеток к клеткам-мишеням культуры К-562 в пропорции 20:1 ($28,67 \pm 5,8\%$ против $47,50 \pm 6,4\%$, $p < 0,05$). При этом наблюдалась хорошая корреляция между снижением числа БГЛ и процентом цитотоксичности. Полученные данные согласуются с работами других авторов [5], в которых у впервые выявленных больных СД1 также было обнаружено ослабление цитолитической активности ЕК-клеток при их определении с помощью цитотоксического теста с радиоактивным хромом.

При анализе полученных данных, естественно, возникает вопрос, не являются ли обнаруженные изменения показателей Т- и ЕК-клеточного иммунитета не столько следствием гипoinsулинизма, сколько отражением метаболических нарушений, возникающих в результате недостатка инсулина или каких-либо других причин. В связи с этим у части пациентов (37 человек), у которых через 3 мес после адекватной интенсивной терапии высо-

кокачественными препаратами человеческого инсулина (фирм "Novo Nordisk или "Eli Lilly") отмечалась нормализация уровня глюкозы и Hb A_{1c}, определенных натошак (табл. 2), были повторно определены все исследуемые показатели. При контроле качества лечения мы придерживались основных показателей, предложенных Европейской установочной группой по СД1 [16].

Как видно из табл. 2, у больных СД1 детей с хорошо контролируемым уровнем углеводного обмена не произошло ожидаемого полного достоверного восстановления показателей иммунитета, не-

Таблица 2

Содержание глюкозы, Hb A_{1c}, С-пептида, лейкоцитарный состав и иммунофенотип лимфоцитов в ПК детей с впервые выявленным СД1 натошак до и после инсулинотерапии в течение 3 мес

Показатель	До инсулинотерапии	После инсулинотерапии
Глюкоза, ммоль/л	$12,8 \pm 0,32$	$5,9 \pm 0,19^*$
Hb A _{1c} , %	$9,31 \pm 0,33$	$6,27 \pm 0,14^*$
С-пептид, нг/л	$0,36 \pm 0,03$	$0,32 \pm 0,03$
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	$5,55 \pm 0,28$	$5,0 \pm 0,23$
Палочкоядерные нейтрофилы:		
%	$2,6 \pm 0,45$	$1,80 \pm 0,3$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$0,15 \pm 0,002$	$0,09 \pm 0,02$
Сегментоядерные нейтрофилы:		
%	$50,2 \pm 1,8$	$48,3 \pm 3,0$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$2,82 \pm 0,18$	$2,37 \pm 0,19$
Базофилы:		
%	$0,50 \pm 0,12$	$0,60 \pm 0,2$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$0,02 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$
Эозинофилы:		
%	$3,62 \pm 0,32$	$5,50 \pm 0,8$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$0,25 \pm 0,05$	$0,31 \pm 0,04$
Моноциты:		
%	$6,70 \pm 0,36$	$6,20 \pm 0,5$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$0,40 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,03$
Лимфоциты:		
%	$33,85 \pm 1,38$	$35,20 \pm 2,5$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$1,58 \pm 1,70$	$1,76 \pm 0,15$
БГЛ:		
%	$1,55 \pm 0,21$	$2,70 \pm 0,5$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$0,07 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,03$
CD3 ⁺ -клетки:		
%	$57,29 \pm 1,7$	$52,86 \pm 2,41$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$1,11 \pm 0,08$	$1,94 \pm 0,09$
CD4 ⁺ -клетки:		
%	$34,02 \pm 1,66$	$34,35 \pm 1,81$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$0,61 \pm 0,04$	$0,66 \pm 0,06$
CD8 ⁺ -клетки:		
%	$21,11 \pm 1,16$	$18,58 \pm 0,86^*$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$0,41 \pm 0,04$	$0,37 \pm 0,03$
CD20 ⁺ -клетки:		
%	$8,76 \pm 0,86$	$8,06 \pm 0,24$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$0,18 \pm 0,03$	$0,13 \pm 0,02$
CD56 ⁺ -клетки:		
%	$9,26 \pm 0,65$	$10,51 \pm 0,71$
$\cdot 10^9/\text{л}$	$0,18 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,02$
Индекс CD4 ⁺ /CD8 ⁺	$1,64 \pm 0,14$	$1,80 \pm 0,08$

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с показателями до инсулинотерапии.

смотря на лечение, а относительное содержание CD8⁺-клеток еще больше снизилось.

Для больных детей до лечения было также характерно низкое содержание С-пептида в ПК ($0,36 \pm 0,02$ нг/л против $0,98 \pm 0,02$ нг/л в норме; $p < 0,05$). После инсулинотерапии, как видно из табл. 2, не отмечено достоверного изменения среднего содержания С-пептида, так как у части больных его уровень оставался прежним, в то время как у другой, меньшей части он даже повышался. Это согласуется с известными данными [3], указывающими на то, что на самых начальных этапах заболевания после инсулинотерапии возможно повышение образования С-пептида в ПК вследствие устранения тормозящего влияния гипергликемии на еще оставшиеся, способные к функционированию островки Лангерганса.

При электронно-микроскопическом исследовании лимфоцитов ПК у детей, находившихся на заместительной терапии в течение 3 мес, сохранялись те же изменения ультраструктуры лимфоцитов, что и до лечения. Следует также отметить, что, как показали наши предыдущие наблюдения, у детей, болеющих СД1 более длительный срок (2–5 лет), отмечаются подобные, но еще более выраженные изменения Т- и ЕК-клеточного иммунитета [3].

Таким образом, проведенные исследования показали, что у детей с впервые выявленным СД1 после 3-месячной заместительной инсулинотерапии, приводящей к существенной нормализации углеводного обмена, сохраняются низкие показатели Т- и ЕК-клеточного иммунитета, подобные таковым до лечения. Очевидно, что при компенсации недостаточного экзогенного инсулина удается устранить нарушения метаболизма и сохранить жизнь больных на многие годы, но не нормализовать иммунные нарушения. В связи с этим можно высказать несколько предположений. Во-первых, экзогенный человеческий инсулин все же не совсем идентичен эндогенному, так как при инсулинотерапии не удается полностью моделировать естественные циркадные колебания концентрации гормона в организме. Во-вторых, возможно также, что после разрушения β -клеток прекращается образование не только инсулина, но и каких-то других биологически активных соединений, которые совместно с инсулином или самостоятельно принимают участие в регуляции иммунитета, в частности пептида амилина, который также секретируется β -клетками и оказывает действие, синергичное с инсулином. Недостаточна информация и об участии в аутоиммунных процессах контринсулярных факторов — глюкагона и лептина. Не исключено, что у больных СД1 могут быть и нарушения внепанкреатических факторов, имеющих отношение к имму-

нитету, в частности со стороны генов, контролирующих Т- и ЕК-клеточный иммунитет, что может предшествовать развитию этого заболевания. Можно предположить, что у детей с ослаблением системы Т- и особенно ЕК-клеток, т. е. главной естественной противовирусной системы защиты, различные вирусные заболевания протекают острее, поражая многие жизненно важные органы, в том числе островки Лангерганса поджелудочной железы.

Заключение

У детей с впервые выявленным нелеченым СД1 отмечается небольшое, но статистически достоверное снижение в ПК относительного и абсолютного количества CD3⁺-, CD4⁺-, CD56⁺-клеток, индекса CD4/CD8 и особенно БГЛ (морфологического гомолога ЕК-клеток). Ультраструктурно в CD4⁺-клетках (лимфоцитах, содержащих ТГ) выявляются признаки повышенной функциональной активности, в то время как в ЕК-клетках (БГЛ) — ее снижение. Трехмесячная инсулинотерапия, приводящая к восстановлению содержания глюкозы и Hb A_{1c} в ПК, не вызывает нормализации выявленных изменений показателей Т- и ЕК-клеточного иммунитета. Это дает повод предположить, что либо введение экзогенного инсулина не полностью идентично эндогенно секретируемому инсулину с его циркадными колебаниями, либо обнаруженные изменения обусловлены не только гипoinsулинизмом, но и другими факторами, связанными с нарушениями иммунного статуса, в частности генетическими и вирусными, которые могут предшествовать развитию заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьева В. В., Зак К. П., Бутенко А. К. // Цитология и генетика. — 2003. — Т. 37, № 1. — С. 56–60.
2. Дедов И. И., Шестакова М. В. Сахарный диабет. — М., 2003.
3. Зак К. П., Малиновская Т. Н., Тронько Н. Д. Иммуитет у детей, больных сахарным диабетом. — Киев, 2002.
4. Atkinson M. A., Eisenbarth G. S. // Lancet. — 2001. — Vol. 358. — P. 221–229.
5. Baxter A. G., Smyth M. J. // Autoimmunity. — 2002. — Vol. 35, N 1. — P. 1–14.
6. European IDDM Policy Group // Cell. Immunol. — 2000. — Vol. 199. — P. 15–24.
7. Kukreja A., Cost G., Marker J. et al. // J. Clin. Invest. — 2002. — Vol. 109, N 1. — P. 131–140.
8. Lee P. T., Putnam A., Benlagha K. et al. // J. Clin. Invest. — 2002. — Vol. 110, N 6. — P. 793–800.
9. Lernmark A. // N. Engl. J. Med. — 2000. — Vol. 342, N 5. — P. 344–345.
10. Peakman M., Warnock T., Vats A. et al. // Diabetologia. — 1994. — Vol. 37, N 2. — P. 155–165.
11. Roep B. E. // Diabetologia. — 2003. — Vol. 46, N 3. — P. 305–321.