

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2006

УДК 616.379-008.64-092:578.831]-078.33

Н. С. Асфандиярова, В. В. Шатров, Г. К. Гарипов

СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ К АНТИГЕНАМ ВИРУСОВ СЕМЕЙСТВА PARAMYXOVIRIDAE ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Центральная районная больница, Сасово, Рязанская область

Целью настоящего исследования явилось изучение клеточного иммунитета к вирусам паротита и кори у больных сахарным диабетом (СД). Сенсибилизацию лимфоцитов к антигенам вирусов кори и паротита, а также к инсулину определяли с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов периферической крови (морфологический метод оценки реакции) у 10 больных корью, 18 больных эпидемическим паротитом, 52 больных СД (СД 1-го типа — 23, СД 2-го типа — 29) и 46 практически здоровых лиц.

В результате проведенных исследований сенсибилизация лимфоцитов к антигенам вирусов кори, паротита и к инсулину выявлена у большинства больных в острый период инфекции с последующим снижением интенсивности пролиферации вплоть до полного исчезновения в течение 12 мес. В отличие от лиц контрольной группы, в которой сенсибилизация лимфоцитов к вирусам семейства Paramyxoviridae выявлена у трех человек, пролонгированный противовирусный клеточный иммунитет обнаружен у 17 из 23 больных СД 1-го типа и у 25 из 29 больных СД 2-го типа.

Таким образом, пролонгированный клеточный иммунитет на вирусные антигены (корь и/или паротит) ассоциируется с СД. Конкордантность ответа лимфоцитов на вирусные антигены и инсулин свидетельствует о том, что вирусы семейства Paramyxoviridae у некоторых лиц инициируют каскад иммунных реакций, ведущих к развитию диабета, при этом тип диабета определяется характером реакции иммунной системы на вирусные антигены и инсулин.

Ключевые слова: сахарный диабет 1-го типа, сахарный диабет 2-го типа, клеточный иммунитет, патогенез, вирус паротита, вирус кори.

The purpose of this investigation was to study cellular immunity to parotiditis and measles viruses in patients with diabetes mellitus (DM). Lymphocytic sensitization to parotiditis and measles viral antigens and insulin was determined by peripheral blood lymphocytic blast-transformation reaction (a morphological method for reaction assessment) in 10 patients with measles, 18 patients with epidemic parotiditis, 52 patients with DM (23 and 29 patients types 1 and 2 DM, respectively), and 46 apparently healthy individuals.

The studies revealed lymphocytic sensitization to parotiditis and measles viral antigens and insulin in most patients in the acute phase of infection with a subsequent reduction in the intensity of proliferation until the point of complete cessation during 12 months. Unlike the controls in whom lymphocytic sensitization to the viruses of the family Paramyxoviridae was detected in 3 persons, prolonged antiviral cellular immunity was found in 17 of the 23 patients with type 1 DM and in 25 of the 29 patients with type 2 DM.

Thus, prolonged cellular immunity to viral antigens (measles and/or parotiditis) is associated with diabetes mellitus. The concordance of a lymphocytic response to viral antigens and insulin suggests that the viruses of the family Paramyxoviridae in some persons initiate a cascade of immune reactions leading to the development of diabetes, the latter's type is determined by the nature of an immune system response to viral antigens and insulin.

Key words: type 1 diabetes mellitus, type 2 diabetes mellitus, cellular immunity, pathogenesis, parotiditis virus, measles virus.

Сахарный диабет (СД) является полигенным и многофакторным заболеванием, обусловленным взаимоотношением генетических факторов и факторов окружающей среды [2, 4, 5]. Установлено, что механизм развития патологического процесса при СД 1-го и 2-го типов (СД1 и СД2) различный: при СД1 основная причина развития заболевания обусловлена гибелью клеток островкового аппарата, вызванной аутоиммунными реакциями, индуцированными вирусной инфекцией; при СД2 ведущими факторами в генезе заболевания являются изменение функции β -клеток, развитие инсулинорезистентности и нарушение продукции глюкозы печенью [2–6]. Несмотря на кажущуюся ясность генеза СД, остается ряд нерешенных вопросов, среди которых многочисленные дискуссии вызывают вопросы, касающиеся значения некоторых инфекций в инициации патологического процесса при СД1, причин и механизмов инсулинорезистентности при СД2. Роль вирусной инфекции в генезе СД2 практически не обсуждается, однако в последние годы появляются сообщения, свидетельствующие об ассоциации вирусной инфекции и СД2 [17, 20].

Сказанное выше послужило основанием для проведения комплекса исследований для выяснения роли вирусной инфекции в генезе СД и механизма ее участия в развитии патологического процесса.

Материалы и методы

Обследовано 10 больных корью (5 мужчин и 5 женщин в возрасте от 14 до 24 лет), 18 больных эпидемическим паротитом (14 мужчин и 4 женщины в возрасте от 14 до 22 лет), 52 больных СД (СД1 — 23 пациента: уровень гликемии $7,8 \pm 2,6$ ммоль/л, $Hb A_{1c}$ 7,1%, ИМТ 29 ± 3 кг/м², суточная доза инсулина — 36 ± 4 ЕД; СД2 — 29 пациентов: уровень гликемии $8,7 \pm 3,8$ ммоль/л, $Hb A_{1c}$ 8,0%, ИМТ 32 ± 5 кг/м², инсулин получали 10 из 29 пациентов, суточная доза инсулина составила 24 ± 6 ЕД). Среди больных СД2 было 18 мужчин и 11 женщин в возрасте от 21 года до 75 лет; из них корь и паротит в анамнезе имели 34,6 и 40,4% соответственно, вакцинацию — 57,7 и 1,9%. Контрольную группу составили 46 практически здоровых лиц без СД среди родственников первой степени родства (16 мужчин и 30 женщин в возрасте от 20 до 72 лет, корь и паротит в анамнезе были у 28,3 и 39,1% соответственно, вакцинация — 69,6 и 4,3%). Пациентов с острой вирусной инфекцией обследовали в течение заболевания и через год после выздоровления.

Сенсибилизацию лимфоцитов к антигенам исследовали с помощью реакции бласттрансформации лимфоцитов периферической крови (морфологический метод оценки реакции). Клетки инку-

бирова́ли с инсулином (0,8 ЕД/мл; Humulin regular, Lilly, France S. A.), вирусами кори и паротита (в качестве антигена использовали вакцины Vaccinum parotidis vivum siccum 100 ТЦД₅₀/мл, Vaccinum morbillorum vivum siccum 5 ТЦД₅₀/мл), в качестве контроля использовали физиологический раствор, HBsAg (поверхностный антиген вируса гепатита В) и вирус полиомиелита в разведении 1:100 и 1:200. Все антигены добавляли в культуру в объеме 0,1 мл вместе с индометацином (0,025 мг/мл) или без него. Индометацин использовали для ингибции функциональной активности простагландинсинтезирующих клеток (ПГСК), обладающих супрессорной активностью [10]. Одновременное добавление к культуре клеток индометацина и антигенов позволяло выявить сенсibilизацию лимфоцитов к антигенам, супрессированную ПГСК.

Антитела к островковым клеткам (Islet cell autoantibodies — ICA) определяли в сыворотке крови методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием Islet Cell Antibody System (IMMSO diagnostics, Inc., США).

Полученные результаты обработаны методами вариационной статистики.

Результаты

Корь. В острой фазе заболевания из 10 пациентов с корью у 8 и 6 больных выявлена сенсibilизация лимфоцитов к антигенам вируса кори и инсулину соответственно. Через 12 мес активность лимфоцитов на вирусные антигены и инсулин не выявлялась.

Паротит. В острой фазе заболевания из 18 пациентов с паротитом у 10 и 9 больных выявлена сенсibilизация лимфоцитов к антигенам вируса паротита и инсулину соответственно. Через 12 мес аутоиммунные и противовирусные реакции отсутствовали.

Сахарный диабет. У большинства больных СД1 выявлена реакция лимфоцитов на инсулин, одновременное добавление к культуре клеток индометацина не изменило числа трансформированных клеток в культуре (см. таблицу). Среди пациентов с СД2 лишь у одного выявлена явная реакция лимфоцитов на инсулин, у этого же пациента обнаружены ICA, что не исключает наличия у данного больного аутоиммунного диабета с поздней клинической манифестацией заболевания. У большинства больных СД2 реакция лимфоцитов на инсулин выявлялась лишь при ингибции функциональной активности ПГСК (см. таблицу). Ни инсулин, ни

индометацин, добавленные в культуру отдельно, лимфоциты не активировали. ICA в сыворотке крови у этих пациентов не обнаружены. Примерно 3/4 (74%) больных СД1 и 86% больных СД2 имели клеточный иммунитет к антигенам вирусов паротита и/или кори. Явная реакция лимфоцитов на антигены вирусов семейства Paramyxoviridae выявлялась чаще при СД1, чем при СД2 (у 18 из 23 против 13 из 29; $p < 0,05$), а скрытая, выявляемая при ингибции ПГСК, преобладала у больных СД2 по сравнению с больными СД1 (у 22 из 29 против 8 из 23; $p < 0,01$). Сенсibilизация лимфоцитов к HBsAg выявлена у 1 из 19 больных СД (у 1 из 10 с СД1 и ни у одного из 9 с СД2), реакции клеток на вирус полиомиелита не обнаружено ни у одного из 20 обследованных с СД.

Практически здоровые лица. В контрольной группе ни у одного из обследованных реакции на инсулин или аутоантитела не выявлены. Сенсibilизация лимфоцитов к антигенам вируса паротита и полиомиелита отсутствовала у всех обследованных, а сенсibilизация лимфоцитов к антигенам вируса кори выявлена у 3 и к HBsAg — у 2 практически здоровых лиц.

Выявлена прямая корреляция между реакцией лимфоцитов на антигены вирусов семейства Paramyxoviridae и реакцией на инсулин ($p < 0,05$). Различий в частоте развития противовирусного иммунитета у больных СД в зависимости от наличия вакцинации или острого заболевания в анамнезе не отмечено. Прием инсулина также не оказывал влияния на частоту выявления сенсibilизации лимфоцитов к вирусным антигенам и инсулину ($p > 0,05$).

Обсуждение

Многочисленными исследованиями доказана роль вирусной инфекции в патогенезе СД1 [12, 18]. Предполагается, что триггером патологического процесса могут быть аденовирусы, энтеровирусы, цитомегаловирус и даже вирус гепатита С. Вместе с тем большое количество кандидатов на роль этиологического фактора СД1 свидетельствует об отсутствии ясности в изучаемом вопросе. Нет и четкого представления о механизме действия вирусной инфекции: ряд исследователей обсуждают возможность непосредственного цитопатического эффекта, другие предполагают индуцирующее воздействие вирусов на развитие аутоиммунных реакций с последующей деструкцией β -клеток. Роль вирусной инфекции как триггера патологического процесса при СД2 практически не обсуждается, однако данные отдельных сообщений об ассоциации вирусной инфекции с СД2, ожирением [7, 17, 20], а также результаты настоящего исследования, свидетельствующие о связи пролонгированного клеточного противовирусного иммунитета и СД2, не исключают возможности участия вирусов в инициации патологического процесса у этой категории пациентов.

Ранее нами установлена ярко выраженная ассоциация между наличием аутоиммунной реакции лимфоцитов на инсулин и развитием СД, при этом тип диабета определялся характером реакции кле-

Сенсibilизация лимфоцитов к вирусным антигенам и инсулину при сахарном диабете

Группа	Инсулин	Инсулин + индометацин	Паротит	Корь
СД1	17 из 22*	0 из 22	9 из 18*	16 из 23*
СД2	1 из 29	23 из 29*	17 из 28*	16 из 29*
Контроль	0 из 46	0 из 46	0 из 46	3 из 46

Примечание. * — $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой.

ток на инсулин: сенсibilизация лимфоцитов к инсулину, выявляемая при добавлении последнего к культуре клеток, ассоциировалась с СД1, а сенсibilизация лимфоцитов к инсулину, выявляемая лишь после блокирования супрессорных клеток, ассоциировалась с СД2 [1]. Изучение иммунологической реактивности лимфоцитов на различные вирусы у больных СД выявило наличие пролонгированного клеточного иммунитета к антигенам вирусов кори и паротита, при этом отмечалась конкордантность ответа лимфоцитов на инсулин и вирусные антигены, что позволило сделать предположение о значимости вирусов в индукции аутоиммунных реакций. Последующее исследование больных с острой инфекцией подтвердило наше предположение: у части из них наряду с развитием противовирусного иммунитета отмечалось развитие аутоиммунных реакций на инсулин, исчезающих по мере выздоровления.

Вирусы, индуцирующие развитие кори и паротита, принадлежат к семейству Paramyxoviridae [18]. И клеточный, и гуморальный иммунитет играет важную роль в противовирусной защите [8, 9, 13—16]. Антитела длительное время персистируют в организме и обуславливают защиту от повторной инфекции, клеточный иммунитет со временем угасает, не исчезая полностью, часто его трудно выявить при использовании ряда методов исследования, что, возможно, обусловлено как иммунодепрессивным эффектом самого вируса, так и низкой чувствительностью используемых методов [11, 19]. Результаты наших исследований подтверждают мнение ряда исследователей о снижении активности реакций клеточного иммунитета по мере отдаления от эпизода острой инфекции или вакцинации. Вместе с тем весьма интригующим является факт наличия активности реакции лимфоцитов на антигены вирусов паротита и кори у пациентов с СД. Остается неясной причина столь длительной персистенции противовирусного иммунитета против кори и паротита у больных СД, и это находится в разительном контрасте с аналогичной реакцией у практически здоровых лиц. Возможно, что низкие дозы используемых антигенов не являются достаточными для активации клеток памяти практически здоровых лиц, но вполне приемлемы для клеток больных диабетом. Либо у больных СД идет постоянная реинфекция, либо вирусные антигены дают перекрестную реакцию с одним из антигенов организма, что соответственно и позволяет поддерживать иммунологическую реактивность на определенном уровне. Конкордантность ответа лимфоцитов на инсулин и вирусные антигены (корь, паротит) и характер этого ответа (прямой, явный или скрытый) позволили сделать предположение о важной роли вирусов семейства Paramyxoviridae в индукции аутоиммунных реакций против инсулина и их участии в развитии диабета у ряда пациентов.

Таким образом, механизм развития СД представляется следующим образом: вирусная инфекция (корь, паротит, любая другая вирусная инфекция, индуцированная вирусами из семейства Paramyxoviridae) приводит в конечном итоге к форми-

рованию противовирусного иммунитета. Идентичность антигенных детерминант вирусов и инсулина (или наличие перекрестно реагирующих антигенов) способствует развитию аутоиммунной реакции на инсулин. У большинства больных система иммунитета справляется с нежелательной реакцией, возможно, удаляется аутоагрессивный клон или клеточная реакция подавляется, при этом супрессируется и противовирусный клеточный (но не гуморальный) иммунитет, что мы и наблюдаем у лиц в динамике острой инфекции и впоследствии у лиц контрольной группы. У небольшой части пациентов (при наличии генетической предрасположенности) действие агрессивного клона клеток не блокируется, что приводит к деструкции β -клеток поджелудочной железы, появлению различных аутоантител (маркеры деструкции, возможно участники последующей деструкции) в связи с попаданием в кровотоки массы аутоантигенов и постепенному развитию СД1. Безусловно, СД1 может быть и следствием цитопатического действия ряда других вирусов на островковые клетки и аналогичен СД, обусловленному токсическим воздействием ряда средств на β -клетки или хирургическим удалением части поджелудочной железы. Этот механизм, с нашей точки зрения, не является определяющим для большинства больных СД1 и встречается примерно у 20—30% больных. Следует отметить, что любая инфекция, психологическая травма и т. д. могут привести к клинической манифестации заболевания.

Ряд больных (также генетически предрасположенных) в период острого эпизода не могут полноценно подавить действие аутоагрессивного клона клеток, и у них в действие вступает альтернативный механизм подавления аутоиммунной реакции, а именно активизируются ПГСК или клетки с рецепторами к гистамину, блокирующие аутоиммунные реакции на инсулин. Однако инсулиновые рецепторы расположены не только на поверхности иммунокомпетентных клеток, в большом количестве они встречаются и на поверхности клеток инсулинчувствительных тканей (печень, мышцы, жировая ткань). Повышение активности специфических супрессорных клеток приводит к блокированию инсулиновых рецепторов не только на лимфоцитах, но и на клетках других органов, что и обуславливает развитие инсулинорезистентности. Для организма развитие данной компенсаторно-приспособительной реакции не столь эффективно в защите от аутоагрессии, однако это спасает индивидуума от гибели, которая неизбежно наступила бы в условиях отсутствия цивилизации. Длительное время организм справляется с инсулинорезистентностью, однако дополнительные факторы, такие как малоподвижный образ жизни, излишняя масса тела, высококалорийная диета, способствуют декомпенсации процесса и развитию СД2. Однако и без развития СД инсулинорезистентность сама по себе ассоциируется с развитием ряда заболеваний, таких как атеросклероз, артериальная гипертензия, приводящих в итоге к развитию инсульта, ишемической болезни сердца и пр.

Выводы

1. Использование ряда вирусных антигенов (HsAg, полиомиелита, паротита, кори) позволило выявить наличие пролонгированного клеточного иммунитета к антигенам вирусов паротита и кори у большинства больных СД, при этом у больных СД2 сенсibilизация лимфоцитов к вирусным антигенам выявлялась после ингибиции функциональной активности ПГСК.

2. Выявлена конкордантность характера ответа лимфоцитов на антигены вирусов семейства Paramyxoviridae и инсулин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асфандиярова Н. С., Колчева Н. Г., Шатрова И. В. // Тер. арх. — 1999. — № 12. — С. 49–52.
2. Балаболкин М. И. Сахарный диабет. — М., 1994.
3. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М. // Сахарный диабет. — 2001. — № 1. — С. 78–86.
4. Дедов И. И. // Сахарный диабет. — 1998. — № 1. — С. 7–18.
5. Дедов И. И., Фадеев В. В. Введение в диабетологию: Руководство для врачей. — М., 1998.
6. Демидова Т. Ю., Аметов А. С. // Рус. мед. журн. — 1998. — № 12. — С. 757–758.

7. Dhurandhar N. V., Atkinson R. L. // Curr. Opin. Endocrinol. Diabet. — 2000. — Vol. 7. — P. 247–251.
8. Gans H., Yasukawa L., Rinki M. et al. // J. Infect. Dis. — 2001. — Vol. 184. — P. 817–826.
9. Geme J. W. Jr., Yamauchi T., Eisenklam E. J. et al. // Am. J. Epidemiol. — 1975. — Vol. 101. — P. 253–263.
10. Goodwin G. S., Bankhurst A. D., Messner R. P. // J. Exp. Med. — 1977. — Vol. 146. — P. 1719–1734.
11. Griffin D. E., Ward B. J., Esolen L. M. // J. Infect. Dis. — 1994. — Vol. 170. — Suppl. 1. — P. S24.
12. Hyoty H., Taylor K. W. // Diabetologia. — 2002. — Vol. 45. — P. 1353–1361.
13. Ilonen J., Salmi A., Penttinen K., Herva E. // Acta Pathol. Microbiol. Scand. — 1981. — Vol. 89. — P. 303–309.
14. Markowitz L. E., Preblud S. R., Fine P. E. M., Orenstein W. A. // Pediatr. Infect. Dis. — 1990. — Vol. 9. — P. 101–110.
15. Nanan R., Rauch A., Kampgen E. et al. // J. Gen. Virol. — 2000. — Vol. 81. — P. 1313–1319.
16. Ovsyannikova I. G., Dhiman N., Jacobson R. M. et al. // Clin. Diagn. Lab. Immunol. — 2003. — Vol. 10. — P. 411–416.
17. Roberts B. W., Cech I. // South. Med. J. — 2005. — Vol. 98. — P. 686–692.
18. Strauss J. H., Strauss E. G. Viruses and Human Disease. — London, 2002.
19. Ward B. J., Boulianne N., Ratnam S. et al. // J. Infect. Dis. — 1995. — Vol. 172. — P. 1591.
20. Yuhua Sun, Weidong Pei, Yongjian Wu, Yuejin Yang. // Diabetes Care. — 2005. — Vol. 28. — P. 435–436.

Поступила 18.01.06

© А. П. Аверьянов, 2006

УДК 616-056.52-053.2-092:612.8]-07

А. П. Аверьянов

ВЕГЕТАТИВНЫЙ ГОМЕОСТАЗ И ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ У ДЕТЕЙ С ОЖИРЕНИЕМ

Кафедра пропедевтики детских болезней (зав. — проф. Н. В. Болотова) Саратовского государственного медицинского университета

Изучали состояние вегетативной нервной системы и адаптационных механизмов, связанных с нейровегетативной регуляцией сердечного ритма, у детей с ожирением. В исследовании участвовали 187 детей 6–16 лет с экзогенно-конституциональным (68 детей), дисцефальным (20 детей) ожирением и гипоталамическим пубертатным синдромом (99 детей), не получавших терапии. Исследование проводили с помощью автоматизированного анализа (статистического, спектрального) вариабельности сердечного ритма. Для оценки степени напряжения адаптационных механизмов рассчитывали показатель активности регуляторных систем. Результаты сопоставляли с данными 107 практически здоровых детей, подобранных по полу и возрасту. У 38,7% детей с ожирением в пубертате отмечено усиление активности подкорковых нервных центров с преобладанием симпатических влияний. Состояние процессов адаптации у 31,1% детей 6–10 лет и 29,5% детей 11–16 лет с ожирением расценивалось как выраженное функциональное напряжение, перенапряжение и истощение регуляторных систем.

Ключевые слова: дети, ожирение, вариабельность сердечного ритма, вегетативный гомеостаз, адаптация.

The autonomic nervous system and the adaptive mechanisms associated with neuroautonomic cardiac rhythm regulation were studied in obese children. The study covered 187 untreated children aged 6–16 years who had exogenous constitutional ($n = 68$), diencephalic ($n = 20$) obesity and hypothalamic puberty syndrome ($n = 99$). The study was conducted by computer-aided (statistic, spectral) analysis of cardiac rhythm variability. The regulatory system activity index was calculated to assess the tension of adaptive mechanisms. The results were compared with those obtained in 107 apparently healthy children matched by gender and age. The enhanced activity of subcortical nerve centers with a predominance of sympathetic effects was observed in 38.7% of children with puberty obesity. The state of adaptive processes was regarded as a pronounced functional strain, overstrain, and exhaustion of regulatory systems in 31.1% of 6–10-year-old children and 29.5% of 11–16-year-old ones with obesity.

Key words: children, obesity, cardiac rhythm variability, autonomic homeostasis, adaptation.

Концепция гомеостаза в настоящее время играет важную роль при анализе жизненных процессов на разных уровнях биологических систем [3, 5, 10]. Гомеостатические свойства целостного организма являются результатом одновременного действия многих сложно организованных регуляторных механизмов, среди которых одно из важных мест занимает вегетативная регуляция, обеспечивающая

постоянство уровней обмена веществ и энергии в организме, отдельных органах и тканях [2].

Ведущая роль в развитии ожирения и нарушений углеводного и липидного обмена принадлежит нарушениям взаимосвязей в системе регуляции энергетического гомеостаза [6, 14], где центральным интегрирующим органом являются гипоталамус и подкорковые центры, а одним из основных