

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.379-008.64-053.3-07:616.379-008.6:577.175.722

И. В. Осокина, Л. Н. Щербачева, Н. Б. Лебедев, И. М. Беловалова, А. П. Князева,  
В. В. Яздовский, И. И. Дедов**ЭНДОГЕННАЯ СЕКРЕЦИЯ ИНСУЛИНА И ЕЕ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИМИ МАРКЕРАМИ У ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО ВОЗРАСТА, БОЛЬНЫХ ИНСУЛИН-ЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**Эндокринологический научный центр (дир.— акад. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Институт иммунологии (дир.— член-корр. РАМН Р. М. Хаитов) Минздравмедпрома РФ, Москва;  
Институт медицинских проблем Севера (дир.— проф. В. Т. Манчук) РАМН, Красноярск

Инсулинзависимый сахарный диабет (ИЗСД) у детей обладает вариабельностью в отношении клинической манифестации, длительности фазы ремиссии, возможности достижения метаболической компенсации и режимов инсулинотерапии. Маркером, определяющим клиническое течение болезни, является уровень С-пептида, характеризующий остаточную эндогенную секрецию инсулина. Известно, что у детей, больных ИЗСД, на фоне отсутствия функции  $\beta$ -клеток течение заболевания более лабильное, чаще встречаются диабетические осложнения, чем у пациентов с частично сохраненной функцией  $\beta$ -клеток, обеспечивающей лучший метаболический контроль [2, 3, 5, 8].

До настоящего времени окончательно не установлены факторы, влияющие на величину и продолжительность остаточной функции  $\beta$ -клеток у больных ИЗСД [9]. Установлено, что остаточная эндогенная секреция инсулина положительно коррелирует с возрастом больных в момент начала диабета и отрицательно — с давностью заболевания.  $\beta$ -клеточная активность выражена слабее и быстрее прекращается у детей с более ранним возрастом при постановке диагноза [3, 4, 6, 9, 10, 12]. Некоторые авторы рассматривают антитела к островковым клеткам как маркер для предсказания длительности остаточной функции  $\beta$ -клеток при ИЗСД, при наличии которых их функция сохраняется меньший период времени [4-6].

Вопрос о влиянии генетического профиля на уровень эндогенной секреции инсулина у больных ИЗСД до конца не решен. Рядом ученых был проведен анализ вариаций содержания С-пептида в зависимости от наличия HLA-антигенов высокого риска развития ИЗСД [4-6, 9]. Результаты оказались противоречивыми. Одни авторы [6] не обнаружили никакой взаимосвязи. Другие, наоборот, считают [4, 5], что на основании генетического профиля возможно прогнозирование возникновения периода ремиссии и состояния метаболизма у больных ИЗСД. Так, М. Клар и соавт. [5] отмечали у детей, имеющих сочетание HLA-DR3 и HLA-DR4, более быстрое снижение уровня С-пептида, более высокий уровень гликозилированного гемоглобина (Hb A<sub>1c</sub>), менее продолжительные периоды ремиссии.

Характер остаточной эндогенной секреции инсулина и взаимосвязь HLA-маркеров высокого риска развития ИЗСД и степени деструкции  $\beta$ -клеток у детей младшего возраста, больных ИЗСД, малоизучены [3, 11].

**Материалы и методы**

В детском диабетологическом отделении Эндокринологического научного центра РАМН обследовано 114 больных ИЗСД детей: 55 мальчиков и 59 девочек в возрасте от 8 мес до 6,5 лет. По возрасту манифестации диабета больные распределялись следующим образом: до 1 года — 12 человек, от 1 года до 3 лет — 64, старше 3 лет — 38.

Все дети обследовались по программе, которая предусматривала общепринятые клинические и лабораторные методы исследования. Кроме того, изучался характер распределения HLA-антигенов, исследовались базальный и постпрандиальный уровень С-пептида в крови, гликемический и глюкозурический профиль, уровень Hb A<sub>1c</sub>.

Содержание Hb A<sub>1c</sub> в эритроцитах определяли колориметрическим методом по реакции с тиобарбитуровой кислотой по Fluckiger и соавт. в модификации Л. А. Даниловой [1]. По данной методике уровень Hb A<sub>1c</sub> у здоровых лиц не превышает 8,2%.

HLA-типирование проведено у 100 больных, средний возраст начала диабета в обследованной группе составил  $2,7 \pm 1,1$  года. Для определения HLA-антигенов использовались сыворотки из коллекции Санкт-Петербургского НИИ гематологии и переливания крови Минздравмедпрома РФ с включением коммерческих сывороток фирм "Boehring" и "Pel-Freez", а также сывороток из коллекции XI международного Воркшопа по гистосовместимости. В анализе учитывали 59 HLA-антигенов I и II классов локусов A, B, DR, DQ. HLA-фенотип устанавливался в стандартном микролимфоцитотоксическом тесте (антигены II класса — в удлинненном тесте). Контролем нормального распределения HLA-антигенов служили результаты типирования 150 здоровых доноров крови, не состоящих в кровном родстве.

Определение уровня С-пептида проводилось радиоиммунологическим методом с использованием стандартных коммерческих наборов фирмы "Novo Nordisk". У здоровых лиц содержание С-пептида в сыворотке натощак составляет от 0,5 до 1,2 нмоль/л (в среднем  $0,37 \pm 0,02$  нмоль/л), через 1 ч после пищевой нагрузки увеличивается в 3-4 раза (1,5-3,6 нмоль/л), через 2 ч возвращается к исходному уровню. Критерием наличия секреции инсулина у больных ИЗСД считают уровень С-пептида натощак не менее 0,18 нмоль/л.

**Результаты и их обсуждение**

Средние значения базального уровня С-пептида составили  $0,13 \pm 0,01$  нмоль/л. Остаточная секреция инсулина выявлена у 56,2% детей. Для обозначения группы больных с частично сохранен-

ной функцией  $\beta$ -клеток использовали термин "С-пептидположительные", для остальных пациентов — "С-пептидотрицательные".

Как следует из табл. 1, существует обратная связь между длительностью диабета у детей младшего возраста и наличием остаточной эндогенной секреции инсулина.

При анализе влияния остаточной  $\beta$ -клеточной функции на компенсацию углеводного обмена у обследованных пациентов установлено, что наличие остаточной эндогенной секреции инсулина способствует поддержанию лучшей компенсации углеводного обмена (табл. 2). Об этом свидетельствуют более низкие уровни среднесуточной гликемии и Hb A<sub>1c</sub> у "С-пептидположительных" больных. Кроме того, компенсация ИЗСД в этой группе детей достигается введением инсулина в меньшей суточной дозе в сравнении с "С-пептидотрицательными" больными.

Изучение распределения HLA-антигенов у детей младшего возраста, больных ИЗСД, позволило выявить маркеры предрасположенности и резистентности к развитию диабета в первые годы жизни. Высокая степень достоверности различий в частоте встречаемости HLA-антигенов у больных детей и в популяции, выдержавшая поправку на число исследованных антигенов (Pcor), установлена для антигенов B8 (Pcor =  $2,6 \cdot 10^{-3}$ ), DR3 (Pcor =  $6,3 \cdot 10^{-7}$ ), DR4 (Pcor =  $7,8 \cdot 10^{-12}$ ), DR3/4 (Pcor =  $1,6 \cdot 10^{-4}$ ), DQw3 (Pcor =  $3,4 \cdot 10^{-5}$ ). Эти антигены являются маркерами высокого риска развития ИЗСД в раннем детском возрасте, а DQw7 (Pcor =  $1,1 \cdot 10^{-8}$ ) — маркером резистентности.

Мы проанализировали влияние HLA-фенотипа, антигенов высокого риска DR3 и/или DR4 на продолжительность и сохранность остаточной эндогенной секреции инсулина (табл. 3).

При сравнении HLA-фенотипов "С-пептидположительных" и "С-пептидотрицательных" больных установлено, что при отсутствии  $\beta$ -клеточной функции достоверно чаще встречались антигены HLA DR3 и/или DR4. Наиболее отчетливо это проявилось в отношении гетерозигот DR3/4 (критерий преобладания 9,81;  $p = 0,004$ ), что может свидетельствовать об ассоциации DR3/4 с более выраженной деструкцией  $\beta$ -клеток и тяжелым течением заболевания.

Критерий преобладания показывает, во сколько раз чаще встречается данный антиген у больных с отсутствием эндогенной секреции инсулина в сравнении с "С-пептидположительными" пациентами. Коэффициент достоверности  $p$  был

Таблица 1

Наличие остаточной эндогенной секреции инсулина у больных ИЗСД первых лет жизни в зависимости от давности заболевания

Длительность ИЗСД, годы	"С-пептидположительные" больные (n = 28), %	"С-пептидотрицательные" больные (n = 24), %
До 1	79,6	20,4
1-2	46,2	53,8
2-3	43,7	56,3
3-4	20,0	80,0
Более 4	16,7	83,3

Таблица 2

Показатели углеводного обмена и суточная потребность в инсулине в зависимости от наличия остаточной эндогенной секреции инсулина у больных ИЗСД младшего возраста

Показатели углеводного обмена	"С-пептидположительные" больные	"С-пептидотрицательные" больные
Среднесуточная гликемия, ммоль/л	8,9 ± 0,5*	11,4 ± 0,6
Hb A <sub>1c</sub> , %	10,3 ± 0,3*	12,9 ± 0,4
Суточная доза инсулина, Ед/кг	0,66 ± 0,18	0,86 ± 0,14

\*  $p < 0,05$ .

рассчитан с помощью двустороннего теста Фишера.

Проведенный анализ подтверждает влияние маркеров высокого риска развития ИЗСД, HLA-антигенов DR3 и DR4 на степень нарушения инсулинсекреторной функции поджелудочной железы и указывает на их патогенетическую роль в развитии ИЗСД в младшем детском возрасте.

## Выводы

1. Инсулинсекреторная функция поджелудочной железы у детей младшего возраста, больных ИЗСД, значительно снижена.
2. Уровень эндогенной секреции инсулина определяет характер клинического течения диабета.
3. Риск развития ИЗСД у детей в возрасте до 6 лет ассоциирован с HLA-антигенами DQw3, DR3/4, DR4, DR3, B8.
4. На величину и продолжительность функции  $\beta$ -клеток оказывают влияние наличие в HLA-фенотипе маркеров высокого риска развития диабета DR3 и DR4, особенно их сочетания, а также возраст начала и длительность ИЗСД.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Данилова Л. А., Лопатина Н. И. // Лаб. дело. - 1986. - № 5. - С. 281-283.
2. Кравец Е. В. // Педиатрия. - 1983. - № 3. - С. 42-44.

Таблица 3

Наличие остаточной эндогенной секреции инсулина и частота антигенов DR3 и/или DR4 у детей младшего возраста, больных ИЗСД

HLA-антиген	"С-пептидположительные" больные (n = 23)		"С-пептидотрицательные" больные (n = 20)		Критерий преобладания	p
	абс.	%	абс.	%		
DR3	17	74	7	35	5,26	0,0149
He DR3	6	26	13	65		
DR4	17	74	8	40	4,25	0,0333
He DR4	6	26	12	60		
DR3/4	12	52	2	10	9,81	0,0040
He DR3/4	11	48	18	90		
DR3 <sup>+</sup> DR4 <sup>+</sup>	12	52	2	10	42,02	0,0015
DR3 <sup>-</sup> DR4 <sup>-</sup>	1	0,04	7	35		

3. Gandullia E., Bonioli E., Montewerde R. et al. // *Pediat. Med. Chir.* — 1986. — Vol. 8, N 5. — P. 687-689.
4. Giordano C., Galluzzo A., Panto F. et al. // *Acta diabetol. lat.* — 1987. — Vol. 24, N 4. — P. 317-323.
5. Knip M., Ilonen J., Mustonen A., Akerblom H. K. // *Diabetologia.* — 1986. — Vol. 29. — P. 347-351.
6. Kolb H., Dannehl K., Grunekle D. et al. // *Ibid.* — 1988. — Vol. 31, N 4. — P. 189-194.
7. Kusayanagi T. // *Nippon Ikadagaku Zasshi.* — 1989. — Vol. 56, N 2. — P. 103-122.
8. Madsbad S., Lauritzen E., Faber O. K., Binder C. // *Diabet. Med.* — 1986. — Vol. 3, N 1. — P. 42-45.
9. Rjasanowski I., Michaelis D., Keilacker H. et al. // *Exp. clin. Endocr.* — 1987. — Vol. 89, N 2. — P. 216-224.
10. Sochett E. B., Daneman D., Clarson C., Ehrlich R. M. // *Diabetologia.* — 1987. — Vol. 30. — P. 453-459.
11. Ternaud C., Go V. L. W., Gerich J. E. et al. // *J. Pediat.* — 1982. — Vol. 101, N 1. — P. 36-39.
12. Wallensteen M., Dahlquist G., Persson B. et al. // *Diabetologia.* — 1988. — Vol. 31, N 9. — P. 664-669.

Поступила 08.06.94

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.379-008.64-07:616.155.25-008.1

М. И. Балаболкин, А. А. Кубатиев, И. А. Рудько, Е. Н. Голега, Г. Н. Сушкевич

## ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ИНСУЛИНЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Кафедра общей патологии и патофизиологии (зав. — проф. А. А. Кубатиев) Медицинской академии последипломного образования Минздравмедпрома РФ; кафедра эндокринологии (зав. — проф. М. И. Балаболкин) ММА им. И. М. Сеченова

Известно, что сахарный диабет (СД) довольно часто сопровождается сосудистыми осложнениями, которые приводят к утрате трудоспособности больных и представляют угрозу для их жизни. Развитию микро- и макроангиопатий способствует как поражение эндотелия сосудов, так и нарушение функции тромбоцитов. Многочисленные исследования [4, 6] свидетельствуют о том, что у больных СД I типа увеличен объем тромбоцитов, укорочена продолжительность их жизни, повышены адгезия, агрегация кровяных пластинок, наряду с усиленным тромбоцитарным синтезом продуктов арахидонового каскада, обладающих тромбогенной активностью.

До настоящего времени не решен вопрос, является ли изменение функции тромбоцитов следствием или причиной сосудистых осложнений при СД. При активации тромбоцитов наблюдается высвобождение вазоактивных веществ из их гранул, которые способны вызвать повреждение эндотелия.

Нарушение функции тромбоцитов у больных СД связывают с влиянием метаболических факторов [6, 14]. Показано, что нормализация уровня глюкозы в крови способствует восстановлению функциональной активности тромбоцитов [5, 7].

В настоящей работе мы решили изучить агрегационную способность тромбоцитов и реакцию выделения тромбоцитарных гранул у больных СД I типа в зависимости от наличия сосу-

I. V. Osokina, L. N. Scherbacheva, N. V. Lebedev, I. M. Belovalova, A. P. Knyazeva, V. V. Yezdovsky, I. I. Dedov — ENDOGENOUS SECRETION OF INSULIN AND ITS RELATIONSHIP WITH IMMUNOGENETIC MARKERS IN INFANTS WITH INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS

**Summary.** The level of C-peptide is a marker determining the clinical course of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). The factors influencing the volume of residual exogenous secretion of insulin in IDDM patients are not yet well known. In order to elucidate the effect of HLA-phenotype on the residual function of pancreatic beta-cells and the course of diabetes, 114 children, 55 boys and 59 girls aged 8 months to 6.5 years, suffering from IDDM, were examined. HLA phenotype was detected by the standard microlymphocytotoxic test. Fifty-nine HLA antigens of classes I and II, locuses A, B, DR, DQ were taken into consideration. Basal and radial C-peptide was assessed by radioimmunoassay. The pancreatic insulin-secretory function was found reduced in young patients with IDDM. The mean values of C-peptide were  $0.13 \pm 0.01$  nmol/liter. Residual secretion of insulin was revealed in 56.2% of children. HLA markers of high risk of IDDM development in the first years of life were revealed: DQw3, DR3/4, DR4, DR3, B8 antigens. The markers of high risk of diabetes DR3 and DR4, and moreover, DR3/4, as well as the age by the disease onset and duration of IDDM were found to influence the size and duration of functioning of beta-cells.

дистых осложнений и в процессе лечения их препаратами инсулина человека.

## Материалы и методы

Обследовано 17 больных СД I типа в возрасте от 20 до 43 лет с длительностью основного заболевания до 1 года (3 больных), от 5 до 10 лет (5 больных), более 10 лет (9 больных). У 10 больных наблюдали развитие микро- и макроангиопатий, в том числе ретинопатии у 9, нефропатии у 4, ангиопатии нижних конечностей у 4. К моменту начала исследования 16 больных находились в состоянии субкомпенсации (уровень глюкозы в крови колебался от 8,3 до 11,1 ммоль/л), а 1 больной — в состоянии компенсации, вследствие лечения инсулинами короткого и пролонгированного действия (инсуларпом, актрапидом в комбинации с ИЦС, инсулонгом ленте).

12 больных были переведены на одновременное введение инсулинов короткого действия — Humuline S — и пролонгированного — Humuline I — фирмы “ЭЛИ ЛИЛЛИ” (США), а 5 человек — комбинированного инсулина — Humuline, профиль М3 той же фирмы.

Кровь для исследования брали из вены больных в 3,8% цитрате Na до перевода на новые инсулины, через 2, 6 и 12 нед терапии указанными инсулинами.

Агрегацию тромбоцитов и освобождение АТФ изучали методом G. Vogt в модификации O'Brien с графической регистрацией на люми-агрегометре PICA (Chrono-Log, Naverthown, P. A., USA). В качестве индукторов агрегации использовали АДФ в конечной концентрации 5 и 1 мкМ (“Sigma”), адреналина гидрохлорид в конечной концентрации 1 мкМ (“Sigma”), коллаген в конечной концентрации 4 и 2 мкг/мл (“Chrono-Log”).

В процессе коагелен- и АДФ-индуцированной агрегации регистрировали выделение тромбоцитами АТФ на люминесцентном канале агрегометра при помощи люциферин-люциферазы (Chrono-Lume-reagent, Chrono-Log) и стандарта АТФ