

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1998

УДК 616.379-008.64-092:616.98-022.6]:612.118.221.2:612.112]-078.33

Б. Л. Расовский, Т. И. Северина, Н. Я. Венедиктова, Л. Г. Ахмедьянова

ДИАБЕТОГЕННЫЕ ВИРУСЫ И СИСТЕМА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ ПРИ ИНСУЛИНЗАВИСИМОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Курс эндокринологии (зав. — доц. В. М. Васьков) кафедры внутренних болезней № 1 (зав. — акад. П. А. Сарапульцев) Уральской государственной медицинской академии, Екатеринбург

Обследовано 46 больных (25 мужчин и 21 женщина) с впервые диагностированным инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД) в возрасте $27,2 \pm 2,7$ года. Исследовали фенотип системы HLA и титр антител к вирусам эпидемического паротита и Коксаки В. У больных ИЗСД была достоверно повышена встречаемость антигенов HLA, DR3, DR4, DQ2 и DQ3. Не получено убедительных данных о связи манифестации ИЗСД с паротитной инфекцией. Достоверно чаще, чем у здоровых, выявлялись диагностически значимые титры антител к вирусам Коксаки В. Установлена тесная ассоциация высоких титров антител к вирусам Коксаки В и носительством достоверно учащенных специфичностей системы HLA. Для первичной профилактики ИЗСД предлагается вакцинация носителей иммуногенетических маркеров заболевания.

Forty-six patients (25 men and 21 women) with newly diagnosed insulin-dependent diabetes (IDDM) aged 27.2 ± 2.7 years were examined. HLA phenotype and titers of antibodies to epidemic parotitis and Coxsackie viruses were assessed. The incidence of HLA DR3, DR4, DQ2, and DQ3 was significantly increased in IDDM patients. No persuasive data on relationship between IDDM manifestation and parotitis were obtained. Diagnostically significant titers of antibodies to Coxsackie viruses were detected in diabetics more often in normal subjects. A close association between high titers of anti-Coxsackie antibodies and specific HLA antigens carriership was revealed. Vaccination of immunological marker carriers is proposed for primary prevention of IDDM.

Проблема этиологии и патогенеза инсулинзависимого сахарного диабета (ИЗСД) еще далека от разрешения, однако общая концепция гетерогенности заболевания единодушно разделяется всеми ведущими диабетологами. У части больных инициатором заболевания признается вирусная инфекция, которую могут вызывать вирусы Коксаки (серогруппа В) или эпидемического паротита. Согласно современным представлениям, развитие ИЗСД может быть спровоцировано вирусной инфекцией у лиц с генетической предрасположенностью к заболеванию. Ключевым моментом патогенеза ИЗСД является воздействие диabetогенного вируса на иммуногенетически детерминированную В к низкому иммунному ответу β -клетку островковой ткани поджелудочной железы. Предполагают, что отдельные эпитопы вирусной молекулы гомологичны сабсетам некоторых антигенов системы HLA, маркеров ИЗСД, которые экспрессируются иммунокомпетентными клетками, индюсерами аутоиммунного инсулита. Именно это обстоятельство, по-видимому, препятствует распознаванию вируса как чужеродного агента у лиц, предрасположенных к ИЗСД [5, 7, 8, 12].

Вопрос о связи вирусной инфекции с антигенами гистосовместимости при ИЗСД в литературе освещен недостаточно и противоречиво. По данным некоторых исследователей [4], при манифестном ИЗСД выявлена тесная ассоциация между носительством отдельных специфичностей (особенно DR3 и DR4) системы HLA и титром антител к вирусам Коксаки. В свою очередь в других работах [10, 11, 14] установлено, что, хотя у больных с впервые выявленным ИЗСД встречаются антитела к вирусам Коксаки В₁₋₅ с высоким тит-

ром, однако не найдено связи между наличием и титром этих антител и HLA-фенотипом.

Целью настоящей работы было сопоставление титров антител к некоторым диabetогенным вирусам и носительства отдельных антигенов системы HLA при ИЗСД в период манифестации заболевания.

Материалы и методы

Обследовано 48 больных с впервые диагностированным заболеванием (25 мужчин и 21 женщина). Средний возраст больных составил $27,2 \pm 2,7$ года.

Фенотипирование антигенов HLA проводили в лаборатории иммунологического типирования тканей Свердловской областной станции переливания крови с помощью стандартного микролимфоцитотоксического теста [13] с использованием анти-HLA-сывороток Санкт-Петербургского института гематологии и переливания крови. Фенотипирование каждого больного осуществлялось не менее 2 раз и позволяло открывать 40 антигенов I класса и 14 антигенов II класса системы HLA. Для удобства статистического анализа антигеносплиты были отнесены к более широкой специфичности. Иммуногенетическим контролем служили 500 доноров крови. Все обследованные были русские, коренные жители среднеуральского региона, не состоящие в кровном родстве. Группы больных и здоровых оказались достаточно репрезентативными, поскольку по полу, возрасту, национальной и региональной принадлежности относились к одной генеральной совокупности.

Серологические исследования с вирусами эпидемического паротита и Коксаки В выполняли в лаборатории энтеральных вирусных инфекций

Таблица 1

Иммуногенетическая характеристика некоторых (достоверно встречающихся) антигенов системы HLA у больных ИЗСД

Антиген HLA	Частота встречаемости антигена в популяции, % (n = 500)	Частота встречаемости антигена у больных ИЗСД, % (n = 46)	Частота встречаемости гена (p)	Относительный риск (RR)	Атрибутивный риск (δ)	χ^2 (больные/здоровые)
A3	33,40	50,00	0,2929	1,99	0,249	5,12
B8	14,60	26,09	0,1402	2,20	0,143	5,03
Cw6	24,20	2,17	0,0109	0,16	—	11,78
DR2	35,40	15,21	0,0792	0,33	—	7,68
DR3	26,20	54,35	0,3244	3,26	0,381	16,35
DR4	19,20	56,52	0,3406	5,48	0,482	33,82
DR5	25,60	8,70	0,0445	0,28	—	6,41
DQ1	52,40	26,09	1,1403	0,32	—	11,67
DQ2	37,20	58,70	0,3573	2,50	0,342	8,18
DQ3	44,20	67,39	0,4289	2,59	0,416	9,12
DQ7	48,40	17,39	0,0911	0,22	—	16,32

Примечание. $\chi^2_{0,05} = 3,84$; $\chi^2_{0,01} = 6,63$; $\chi^2_{0,001} = 10,82$; $\chi^2_{0,0001} = 16,41$.

Екатеринбургского института вирусных инфекций. Серологическую диагностику эпидемического паротита проводили в реакции торможения гемагглютинации [1] с использованием паротитного антигена Санкт-Петербургского института эпидемиологии и микробиологии им. Л. Пастера. Антитела к вирусам Коксаки В определяли в реакции непрямой гемагглютинации [2] с групповым эритроцитарным диагностикумом Екатеринбургского института вирусных инфекций. Парные сыворотки брали с интервалом в 2—3 нед. Положительными считали сыворотки, дававшие задержку гемагглютинации в разведении 1:10 и выше. Титры антител выражали с помощью отрицательных логарифмов этих чисел с основанием 2 ($-\log_2$). Серологическим контролем служили 20 практически здоровых лиц. Статистическую обработку результатов исследования проводили по общепринятым методикам.

Результаты и их обсуждение

При HLA-типировании больных ИЗСД (табл. 1) отмечено статистически высокодостоверное учащение носительства HLA-антигенов DR3, DR4, DQ2 и DQ3 по сравнению со здоровыми, в то время как антигены Cw6 и DQ7 встречались существенно реже. Наиболее высокий относительный риск (RR) развития ИЗСД выявили специфичности HLA DR4 ($RR = 5,48$) и DR3 ($RR = 3,26$), а показатель атрибутивного риска (δ) оказался самым высоким для антигенов DR4 ($\delta = 0,482$) и DQ3 ($\delta = 0,416$).

Серологическое обследование пациентов (табл. 2) выявило низкие титры антител к вирусу эпидемического паротита (не более 1:40 у 77% больных ИЗСД) без прироста в повторных исследованиях. Средняя геометрическая титра антител к паротитному антигену составила 5,00, что достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем в группе здоровых (6,40). Это обстоятельство с большой вероятностью исключает вирус эпидемического паротита как возможный этиологический фактор развития ИЗСД в

исследуемой группе больных среднеуральского региона. Ранее мы показали [3], что вирус эпидемического паротита значительно чаще вызывает поражение экзокринной части поджелудочной железы, чем эндокринной. У больных ИЗСД чаще, чем в контрольной группе, выявлялись диагностически значимые титры антител к вирусам Коксаки В (средние геометрические соответственно 5,80 и 3,81), что указывает на определенную причинную связь заболевания с этими вирусами.

При сопоставлении титров антител к эпидемическому паротиту в подгруппах больных — носителей HLA-антигенов DR3, DR4, DQ2 и DQ3 (см. табл. 2) достоверного различия между подгруппами и общей группой больных не выявлено ($p > 0,1$). В противоположность этому средние геометрические титров антител к вирусам Коксаки В у больных — носителей достоверно чаще встречающихся антигенов HLA (соответственно 7,61, 7,88, 7,15, 7,18) оказались существенно выше ($p < 0,05$), чем в общей группе больных (5,80), и значительно выше ($p < 0,01$), чем у здоровых (3,81). Таким образом, в обследованной группе отмечена надежная сопряженность между носительством антигенов системы HLA, маркеров ИЗСД и иммунным ответом на энтеровирусную атаку.

В литературе неоднократно обсуждался вопрос о возможности и целесообразности специфической вакцинации как средства первичной профилактики ИЗСД. Однако создание поливалентной вакцины и массовая вакцинация населения (преимущественно детей и подростков) даже по самым скромным подсчетам — весьма дорогостоящее мероприятие [6]. Более перспективным и экономичным может стать предварительный скрининг носителей иммуногенетических маркеров ИЗСД с последующей вакцинопрофилактикой, которую следует проводить с обязательным учетом региональной эпидемической обстановки.

Выводы

1. У больных ИЗСД достоверно повышена встречаемость антигенов HLA, DR3, DR4, DQ2 и DQ3.
2. Не получено убедительных данных о связи манифестации ИЗСД с паротитной инфекцией.

Таблица 2

Титры антител к вирусам эпидемического паротита и Коксаки В у больных ИЗСД — носителей некоторых (достоверно чаще встречающихся) антигенов HLA ($-\log_2$)

Вирус	Здоровые (n = 20)	Больные ИЗСД				
		общая группа (n = 46)	носители HLA-DR3 (n = 25)	носители HLA-DR4 (n = 26)	носители HLA-DQ2 (n = 27)	носители HLA-DQ3 (n = 31)
Эпидемический паротит	6,40	5,00	5,17	5,23	4,98	5,08
p_1		< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
p_2			> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Коксаки В	3,81	5,80	7,61	7,88	7,15	7,18
p_1		< 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
p_2			< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05

Примечание. p_1 — достоверность различий с группой здоровых; p_2 — достоверность различий с общей группой больных.

3. Достоверно чаще, чем в контрольной группе, выявлены диагностически значимые титры антител к вирусу Коксаки (серологическая группа В).

4. Установлена тесная ассоциация высоких титров антител к вирусу Коксаки В и носительства достоверно чаще встречающихся специфичностей системы HLA.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева Г. А., Зотин В. В. // Острые вирусные инфекции у детей. — Л., 1981. — С. 119—123.
2. Венедиктова Н. Я., Сергеев А. Г. и др. Использование РНГА в диагностике энтеровирусных инфекций: Метод. рекомендации / Закирова С. Ф. — Свердловск, 1986.
3. Северина Т. И., Колпакова В. Е., Венедиктова Н. Я. и др. // Пробл. эндокринологии. — 1993. — № 5. — С. 14—16.
4. Banatvala J. E., Scherthner G., Schober E. et al. // Lancet. — 1985. — Vol. 1, N 8483. — P. 1409—1412.

5. Botazzo G. F., Bosi E., Bonifacio E. et al. // Brit. med. Bull. — 1989. — Vol. 45, N 1. — P. 37—57.
6. Colman P. G., Elsenbarth G. S. // The Diabetes Annual / Eds K. Alberti, L. Krall. — New York. — P. 17—45.
7. Flier J. S., Underhill L. H., Eisenbarth G. S. et al. // N. Engl. J. Med. — 1986. — Vol. 314, N 12. — P. 1360—1368.
8. Harrison L. C., Campbell I. L., Allison J., Miller J. F. // Diabetes. — 1989. — Vol. 38, N 7. — P. 815—818.
9. Kawara A., Hirose Y., Hasegawa S. et al. // J. Jap. Diabet. Soc. — 1984. — Vol. 27, N 5. — P. 637—637.
10. Platz P., Jacobsen B. K., Sveigaard A. et al. // Diabetologia. — 1982. — Vol. 23, N 1. — P. 16—18.
11. Sakurami T., Nabeja N., Nagaoka K. et al. // Ibid. — 1982. — Vol. 22, N 5. — P. 333—337.
12. Scherthner G., Mayr W. R. // Exp. clin. Endocrinol. — 1984. — Vol. 83, N 2. — P. 184—191.
13. Terasaki P. P., Mc Clelland J. // Nature. — 1964. — Vol. 204, N 4960. — P. 998—1000.
14. West R., Colle E., Belmonte M. M. et al. // Diabetologia. — 1981. — Vol. 30, N 7. — P. 584—589.

Поступила 11.11.97

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1998

УДК 616.379-008.64-07:616.153.915-39+616.151.5

А. А. Нелаева, А. Ш. Бышевский, И. А. Трошина, Т. Д. Журавлева

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ГЕМОСТАЗ У БОЛЬНЫХ ИНСУЛИНЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Кафедра госпитальной терапии с курсом эндокринологии (зав. — проф. И. В. Медведева) Государственной медицинской академии, Тюмень

У 358 пациентов (186 мужчин и 172 женщины) в возрасте $29,1 \pm 1,3$ года с инсулинзависимым сахарным диабетом изучали структурно-функциональное состояние тромбоцитарных мембран. Контрольную группу составили 53 здоровых человека такого же возраста. В клеточных мембранах тромбоцитов исследовали фосфолипидные фракции, уровень холестерина, используя метод тонкослойной хроматографии. Исследовали уровень первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов, супероксиддисмутазы, каталазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, а также активность ферментов трансмембранного транспорта Na^+ , K^+ , Mg^{2+} и Ca^{2+} -АТФазы. АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов определяли фотометрическим методом. Установлено, что у больных инсулинзависимым сахарным диабетом имеют место структурно-функциональная дестабилизация тромбоцитарной мембраны, активация процессов перекисного окисления липидов и снижение антирадикальной защиты в зависимости от клинических особенностей инсулинзависимого сахарного диабета, длительности заболевания и компенсации. Дисбаланс в системе проантиоксиданты — антиоксиданты в сторону интенсификации перекисного окисления липидов в тромбоцитах больных ИЗСД приводит к изменению агрегационной способности тромбоцитов, что играет важную роль в формировании ДВС-синдрома, последнее определяет появление и прогрессирование ангиопатий.

Structure and function of platelet membranes was studied in 358 patients (186 males and 172 females) aged 29.1 ± 1.3 years with insulin-dependent diabetes. Control group consisted of 53 age-matched normal subjects. Phospholipid fractions and cholesterol level of platelet membranes were studied by thin-layer chromatography. Primary and secondary LPO products, superoxide dismutase, catalase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, and activities of Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , and Ca^{2+} transmembrane transport ATPase were measured. ATP-induced platelet aggregation was assessed by photometry.

Structural and functional destabilization of platelet membrane, activation of lipid peroxidation, and decreased anti-radical protection in patients with insulin-dependent diabetes mellitus depend on clinical features, duration, and compensation of disease. Imbalance of the prooxidant-antioxidant system towards LPO intensification in the platelets modify platelet aggregation, thus leading to development of the DIC syndrome which determines the progress of angiopathies.

В последние годы получены данные, свидетельствующие о возможной роли мембранных нарушений в патогенезе инсулинзависимого сахарного диабета (ИЗСД) [1, 2, 7, 19, 20]. Вместе с тем системных исследований, посвященных установлению связи между интенсивностью перекисного окисления липидов (ПОЛ) и клиническими проявлениями заболевания, не проводили, хотя имеются сведения о состоянии мембран при ИЗСД,

позволившие допустить роль гипероксидации в утяжелении ИЗСД [1, 10, 14, 19].

Известно, что ИЗСД часто сопровождается нарушениями гемостаза, сопряженными с патологическими изменениями сосудистой стенки [6, 15, 17]. В свою очередь показано, что состояние гемостаза тесно связано с уровнем ПОЛ [4, 11, 12], что изменение одного из этих процессов сопровождается изменением второго [5, 13, 16], что возможно взаимоусиление этих процессов [4]. Уста-