

2. Cederholm J. // Uppsala J. med. Sci.— 1985.— Vol. 90.— P. 201—227.
3. Harris M. I., Hadden W. C., Knowler W. C., Bennett P. H. // Diabetes.— 1987.— Vol. 36.— P. 523—534.
4. Oholson L., Larsson B., Eriksson H. et al. // Diabetologia.— 1987.— Vol. 30.— P. 386—393.
5. Stern E., Blan J., Rusecki Y. et al. // Diabetes.— 1988.— Vol. 37.— P. 297—302.
6. Taylor R. J., Bennett P., Legonidec G. et al. // Diabet. Care.— 1983.— Vol. 6.— P. 334—340.
7. Turner R. C., Mann J. I., Holman R. R. et al. // Diabet. Med.— 1988.— Vol. 5.— P. 154—159.
8. Zimmet P. Z., King H. // Proc. Nutr. Soc. Aust.— 1982.— Vol. 7.— P. 69—75.
9. Zimmet P. Z. // Clin. Diabet.— 1983.— Vol. 5.— P. 11—14.

Поступила 17.02.93

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1993

УДК 616.379-008.64-07:616.154:577.175.722

М. М. Шагаева, И. А. Собенин, Л. С. Славина, А. Н. Орехов

АТЕРОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ I ТИПА

ЭНЦ (дир.— член-корр. РАМН И. И. Дедов) РАМН, КНЦ (дир.— акад. РАМН Е. И. Чазов) РАМН, Москва

Для сахарного диабета (СД) характерно преждевременное развитие атеросклеротических поражений сосудов, что обуславливает высокую степень инвалидизации и смертности больных [5]. Причина ускоренного развития атеросклероза при СД не установлена. Ряд авторов придерживаются так называемой «инсулиновой» гипотезы, считая, что гиперинсулинемия является основным фактором, способствующим развитию атеросклероза [12, 13]. В многочисленных эпидемиологических исследованиях продемонстрировано, что повышенный уровень эндогенного инсулина является независимым фактором риска атеросклероза [3]. Выявлено атерогеноподобное действие инсулина на артерии экспериментальных животных [11]. В то же время в других исследованиях атерогенного действия инсулина не обнаружено [6, 7]. Таким образом, роль инсулина в атерогенезе не выяснена окончательно. Особый интерес представляет изучение влияния экзогенного инсулина на развитие атеросклероза у больных СД I типа, постоянно получающих инъекции инсулина.

Основным проявлением ранних атеросклеротических изменений является накопление липидов в клетках сосудистой стенки. В 1985 г. А. Орехов и соавт. [9] предложили в качестве экспериментальной модели атеросклероза первичную культуру гладкомышечных клеток интимы аорты человека. На этой модели было показано, что сыворотка крови больных коронарным атеросклерозом в отличие от сыворотки крови здоровых лиц обладает атерогенностью, т. е. способностью вызывать накопление липидов в культивируемых клетках [2]. Позднее в исследовании на культуре мышечных перитонеальных макрофагов было установлено, что у больных СД I и II типа сыворотка крови также вызывает накопление внутриклеточных липидов, даже если отсутствует сопутствующий коронарный атеросклероз [10].

Цель данной работы — изучение влияния экзогенного инсулина на атерогенный потенциал сыворотки крови больных СД I типа. Исследо-

Yu. I. Suntsov, S. V. Kudryakova — TIME COURSE OF NONINSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS PREVALENCE: A TEN-YEAR PROSPECTIVE ANALYSIS

Carbohydrate metabolism was tested in 2468 subjects (male and female) aged 20 to 69 living in one of Moscow districts by means of standard oral glucose tolerance test. Primary screening was carried out in 1979, repeated in 1989. The results indicate an evident increase in the incidence of noninsulin-dependent diabetes mellitus both among men and women. The disease incidence in women was reliably higher than in age-matched men. Prevalence of the condition among women was characterized by a lower, in comparison with that among men, parameters of its time course.

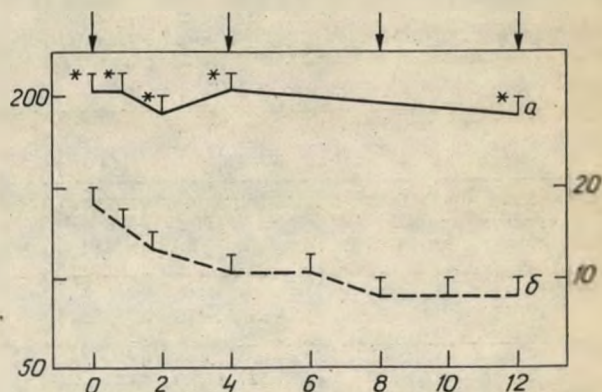
ваны зависимость атерогенного потенциала сыворотки крови больных СД I типа от суточной дозы инсулина и длительности его применения и влияние экзогенного инсулина на основные атеросклеротические проявления в тканевых культурах — содержание внутриклеточного холестерина (ХС) в культивируемых клетках и их пролиферативную активность.

Материалы и методы

Обследованы больные СД I типа. Диагноз был подтвержден данными анамнеза заболевания, клинического обследования, при необходимости результатами исследования базальной и стимулированной секреции С-пептида. Больные находились в состоянии удовлетворительной компенсации, о чем судили по содержанию гликозилированного гемоглобина HbA1c в крови.

Атерогенность сывороток крови в зависимости от дозы инсулина исследовали у 41 больного СД I типа в возрасте 16—50 лет (20 женского, 21 мужского пола) и у 34 детей с СД I типа в возрасте 5—15 лет (15 девочек, 19 мальчиков).

Длительность заболевания у взрослых больных в среднем составила 9.7 ± 1.2 года. Средний уровень HbA1c был равен



Содержание сахара в крови и атерогенность сыворотки крови больных с вновь выявленным СД I типа в первый день назначения инсулина.

По оси абсцисс — время, ч; по оси ординат — атерогенность сыворотки крови, % от контроля (a), справа — содержание сахара в крови, ммоль/л (b). Стрелки — введение инсулина. Звездочка — достоверное отличие показателя от контроля.

Таблица 1

Отсутствие влияния инсулина на содержание внутриклеточного ХС в перитонеальных макрофагах и гладкомышечных клетках аорты человека и на включение меченого тимидина в ДНК ядер гладкомышечных клеток

Концентрация инсулина в МПМ, мкд/мл	Содержание внутриклеточного ХС в МПМ, мкг/мг клеточного белка	Концентрация инсулина в ГК, мкд/мл	Содержание внутриклеточного ХС в ГК, мкг/мг клеточного белка	DPM/мкг клеточного белка
0	88±5	0	39±2	36±2
10	90±3	10 ³	40±1	40±2
10 ²	93±4	10 ⁴	40±2	38±1
10 ³	89±4	10 ⁵	40±1	34±1
10 ⁴	91±1	10 ⁶	38±2	39±3

Примечание. МПМ — мышинные перитонеальные макрофаги; ГК — гладкомышечные клетки.

7,0±0,5 % (норма 5,2±0,1 %), ХС — 4,6±0,2 ммоль/л (норма 4,4±0,2 ммоль/л), триглицеридов — 1,3±0,1 ммоль/л (норма 1,2±0,9 ммоль/л). В группе взрослых было 3 человека с впервые выявленным СД I типа (длительность диабета не более 2 мес).

Среди больных детей по длительности заболевания были выделены 2 группы: 1-я — заболевшие недавно (20 больных с длительностью заболевания 1,8±0,2 года); 2-я — длительно болеющие (14 детей с длительностью заболевания 7,5±0,6 года). Средний возраст составил в 1-й группе 9,9±0,6 года, во 2-й — 12±0,7 года. Средний уровень фруктозамина был равен в этих группах соответственно 21±0,7 и 18±0,4 ммоль/л (норма 17,2±0,5 ммоль/л).

При проведении экспериментальной части работы использовали кровь 16 больных СД I типа в возрасте 40—50 лет (8 мужчин, 8 женщин).

Для исследования влияния экзогенного инсулина на рост и пролиферацию клеток применили культуры перитонеальных макрофагов мышей и гладкомышечных клеток интимы аорты человека.

С целью выделения перитонеальных макрофагов использовали мышей линии BalB/C [1]. Перитонеальный смыв центрифугировали, клеточный осадок ресуспендировали в ростовой среде 199, содержащей 10 % бычьей фетальной сыворотки (БФС) и антибиотики. Клетки помещали в стерильную тест-систему в концентрации 200 000/см², затем инкубировали при 37 °С в течение 3 ч в CO₂-инкубаторе с влажностью 100 %. После смены среды к клеткам добавляли бычий кристаллический инсулин («Sigma», США) в концентрациях 10, 10², 10³ и 10⁴ мкд/мл и клетки инкубировали 4 ч. Атерогенность сывороток крови определяли по накоплению внутриклеточного ХС при инкубации перитонеальных макрофагов в среде 199, содержащей 10 % сыворотку и инсу-

Таблица 2

Отсутствие влияния инсулина на атерогенный эффект сыворотки в мышинных перитонеальных макрофагах ($M \pm m$)

№ сыворотки	Концентрация инсулина, мкд/мл среды				
	0	10	10 ²	10 ³	10 ⁴
содержание внутриклеточного ХС, % от контроля					
1	109±2	100±3	103±5	102±1	109±2
2	106±8	112±4	110±6	109±7	115±5
3	117±8	121±8	119±8	116±7	117±8
4	119±8	115±5	113±5	113±5	119±8
5	108±2	110±2	111±3	109±2	108±2
6	135±8	130±10	124±6	130±9	135±8
7	164±7*	150±8*	159±2*	162±8*	164±7*
8	165±5*	169±6*	170±5*	171±7*	165±5*
9	164±17*	170±12*	169±16*	165±13*	164±17*
10	149±9*	155±14*	158±13*	149±8*	145±8*
11	189±14*	199±18*	201±16*	203±18*	189±14*
12	235±19*	230±15*	239±12*	241±21*	235±19*

* Достоверное накопление внутриклеточного ХС ($p < 0,05$).

Таблица 3

Отсутствие влияния инсулина на атерогенный эффект сыворотки в гладкомышечных клетках аорты человека ($M \pm m$)

№ сыворотки	Концентрация инсулина, мкд/мл среды				
	0	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
Содержание внутриклеточного ХС, % от контроля					
1	100±9	105±4	108±9	103±5	110±6
2	102±8	105±5	109±4	110±5	108±9
3	160±9*	160±15*	164±16*	171±12*	172±11*
4	190±11*	189±12*	200±13*	199±12*	189±10*

* Достоверное отличие от контроля ($p < 0,05$).

лин в концентрациях 10, 10², 10³ и 10⁴ мкд/мл, в течение 4 ч. Контрольные клетки культивировали в среде 199 с 10 % БФС без инсулина.

Гладкомышечные клетки интимы аорты человека выделяли из не пораженной атеросклерозом аорты человека с помощью коллагеназы и культивировали в среде 199 с 10 % БФС. На 7-й день культивирования добавляли ³H-тимидин в концентрации 0,015 мкCi/мл и инсулин в концентрациях 10³, 10⁴, 10⁵ и 10⁶ мкд/мл. Атерогенный эффект сывороток определяли по накоплению внутриклеточного ХС при инкубации клеток в среде 199, содержащей 10 % сыворотку больных, ³H-тимидин и инсулин в указанных выше концентрациях. Контрольные клетки культивировали в среде 199 с 10 % БФС, ³H-тимидином без добавления инсулина.

Содержание внутриклеточного ХС определяли с помощью наборов «Boehringer Mannheim» (ФРГ) [4]. Клеточный белок исследовали по Lowry [8].

Достоверность различий средних величин определяли с помощью параметрического метода (двусторонний *t*-тест Стьюдента).

Результаты и их обсуждение

Средний уровень атерогенности у взрослых составлял 167±10 % от контроля ($p < 0,05$), средняя доза инсулина — 29,7±3,0 ед. в день, у детей — соответственно 160±11 % ($p < 0,05$) и 29,9±3,0 ед. в день. Не выявлено корреляции атерогенности сыворотки крови с дозой инсулина ($p > 0,1$) и с длительностью его применения ($p > 0,1$).

Кроме того, исследовали влияние впервые назначенной инсулинотерапии на атерогенные свойства сыворотки крови у 3 больных с вновь выявленным СД I типа. Инсулинотерапия была интенсивной. Первое введение инсулина (6—8 ед.

Таблица 4

Влияние сыворотки крови и экзогенного инсулина на включение меченого тимидина ядрами гладкомышечных клеток аорты человека

№ сыворотки	Концентрация инсулина, мкд/мл				
	0	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
DPM/мкг клеточного белка					
1	16±3	12±4	16±5	18±9	20±2
2	18±3	15±2	16±1	13±1	14±2
3	12±2	15±2	15±4	17±2	18±5
4	26±5*	28±3*	35±4*	34±2*	30±4*
Контроль	16±3				

* Достоверное повышение включения меченого тимидина ядрами клеток ($p < 0,05$).

astrapid НМ, Дания) было внутривенным капельным. Последующие подкожные инъекции инсулина короткого действия (8—12 ед.) проводили под контролем уровня сахара в крови каждые 3—4 ч (вторая инъекция была сделана через 10 мин после внутривенного введения инсулина). На следующий день больные были переведены на 4-разовый режим инсулинотерапии с введением инсулина короткого действия перед завтраком, обедом, ужином и инсулина пролонгированного действия (Humulin N, США) на ночь. Уровни атерогенности сыворотки крови определяли в первый день инсулинотерапии через 5, 30 мин, 2, 6 и 12 ч после назначения инсулина, а также на 2, 7 и 21-й дни инсулинотерапии. У всех 3 больных до начала инсулинотерапии имелся выраженный атерогенный потенциал, что проявлялось в 1,6—2,2-кратном накоплении ХС в культивируемых макрофагах. В течение первых 12 ч инсулинотерапии (средняя доза 44 ± 3 ед. в день) атерогенность сыворотки крови не изменялась, уровень сахара в крови снизился с $20,0 \pm 0,2$ до $10,5 \pm 0,1$ ммоль/л (см. рисунок). В последующие 3 нед инсулинотерапии (средняя доза 32 ± 3 ед. в день) атерогенность сыворотки крови не изменялась.

Таким образом, атерогенность сыворотки крови больных СД I типа как у взрослых, так и у детей не коррелирует с дозой инсулина и длительностью его применения. Назначение инсулина больным с вновь выявленным СД I типа не влияет на атерогенный потенциал сыворотки крови.

Данные, полученные в клинике, были подтверждены в эксперименте. На этом этапе работы исследовали влияние инсулина на рост и пролиферацию клеток в тканевых культурах. Изучали также влияние экзогенного инсулина на атерогенный потенциал сыворотки крови больных СД I типа.

Добавление инсулина в культуральную среду в концентрациях, указанных в табл. 1, не влияло на содержание общего ХС в перитонеальных макрофагах и гладкомышечных клетках интимы аорты человека. Не отмечено и влияния на включение меченого тимидина в ДНК ядер клеток (см. табл. 1).

Было исследовано влияние сыворотки крови 12 больных СД I типа на содержание внутриклеточного ХС в перитонеальных макрофагах. 6 сывороток влияли на содержание внутриклеточного ХС, т. е. увеличивали на 50—80 % содержание общего ХС в клетках, остальные оказались неатерогенными. Добавление в культуральную среду одновременно с исследуемыми сыворотками экзогенного инсулина (бычий кристаллический, «Сигма», США) ни в одном случае не влияло на атерогенный эффект сыворотки (табл. 2).

Было исследовано влияние 4 сывороток крови больных СД I типа на содержание ХС в гладкомышечных клетках аорты человека и на включение ^3H -тимидина клетками. 2 сыворотки не влияли на содержание внутриклеточного ХС, 2 другие повышали на 50—80 % общий ХС в клетках, т. е. оказались атерогенными. Добавление инсулина одновременно с исследуемыми сыворотками ни в одном случае не влияло на атерогенный эффект (табл. 3). Неатерогенные сыво-

ротки не увеличивали включение меченого тимидина в гладкомышечные клетки. Из 2 атерогенных сывороток одна вызвала увеличение включения ^3H -тимидина (ДРМ/мкг клеточного белка), другая не вызвала (табл. 4). Добавление инсулина не влияло на включение ^3H -тимидина.

Таким образом, инсулин не влиял на содержание внутриклеточного ХС в культивируемых клетках и их пролиферативную активность (на включение меченого тимидина в ДНК ядер клеток). Половина сывороток вызвала накопление ХС в перитонеальных макрофагах мышей и гладкомышечных клетках непораженной интимы аорты человека. Добавление экзогенного инсулина как в физиологических, так и в значительно более высоких концентрациях не влияло на атерогенный эффект сывороток.

Итак, было установлено, что инсулин не влияет на основные атеросклеротические проявления на клеточном уровне — содержание внутриклеточного ХС в культивируемых клетках и их пролиферативную активность. Не влияет он и на атерогенный потенциал сыворотки крови больных СД I типа.

Ранее были проведены экспериментальные исследования на животных по изучению влияния инсулина на развитие атерогеноподобных изменений сосудов. В ряде работ отмечается стимулирующее действие инсулина на рост и пролиферацию культивируемых клеток [11—13]. В то же время мы нашли 2 работы, в которых не выявлено атерогенного действия инсулина [6, 7].

R. Stout [11—13] показал ростстимулирующее действие инсулина на культивируемые гладкомышечные клетки аорты обезьян. T. Ledet [7] объяснил этот эффект нефизиологическими дозами инсулина (10^4 , 10^3 , 10^4 мкед/мл). В других экспериментах R. Stout и соавт. исследовали действие инсулина на рост клеток в культуре содержащей 1 % сыворотку крови больного диабетом. Можно предположить, что инсулин был эффективен в этом случае потому, что до добавления его клетки культивировались в среде с очень низким содержанием сыворотки. T. Ledet, используя более близкие к физиологическим дозы инсулина (2,5—100 мU/мл), не обнаружил усиления роста клеток из меди артерий. G. King и соавт. [6] отметили минимальное стимулирующее влияние инсулина на рост культивируемых эндотелиальных и гладкомышечных клеток аорты и незначительное включение ^3H -тимидина в ДНК ядер эндотелиальных и гладкомышечных клеток аорты, но при этом потребовалась весьма высокая доза инсулина.

Результаты настоящего исследования позволяют заключить, что инсулин не оказывает непосредственного атерогенного действия на уровне артериальных клеток, т. е. не влияет на содержание внутриклеточных липидов, а также на включение ^3H -тимидина в ДНК ядер клеток. Полученные данные не подтверждают прямую роль экзогенного инсулина в ускоренном формировании атеросклеротических поражений при СД.

По клиническим и экспериментальным данным, экзогенный инсулин не влияет на атерогенность

сыворотки крови больных СД I типа. Вопрос о роли эндогенного инсулина в атерогенезе остается открытым.

Выводы

1. Атерогенность сыворотки крови больных сахарным диабетом (СД) I типа не связана с дозой экзогенного инсулина и длительностью его применения. Назначение инсулина больным с вновь выявленным СД I типа не влияет на атерогенный потенциал сыворотки крови.

2. Инсулин не влияет на рост и пролиферацию клеток в тканевых культурах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Berger S. L. // Meth. Enzymol.— 1979.— Vol. 5.— P. 486—494.
2. Chazov E. I., Tertov V. V., Orekhov A. N. // Lancet.— 1988.— Vol. 2.— P. 595.
3. Ducimetiere P., Eschwege E., Papoz L. et al. // Diabetologia.— 1980.— Vol. 19.— P. 205—210.
4. Hara A., Radin N. S. // Analyt. Biochem.— 1978.— Vol. 90.— P. 420.
5. Kannell W. B., McGee D. L. // Diabet. Care.— 1979.— Vol. 2.— P. 920—926.
6. King G. L., Buzney S. M., Kahn R. C. et al. // J. clin. Invest.— 1983.— Vol. 71.— P. 974—979.
7. Ledet T. // Diabetes.— 1976.— Vol. 25.— P. 1011—1018.
8. Lowry G. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. // J. biol. Chem.— 1951.— Vol. 193.— P. 265—275.

9. Orekhov A. N., Tertov V. V., Novikov I. D. et al. // Exp. molec. Path.— 1985.— Vol. 41.— P. 117—137.
10. Slavina I. S., Madanat A. V., Pankov Y. A. et al. // New Engl. J. Med.— 1987.— Vol. 317.— P. 836.
11. Stout R. W., Bierman E. L., Ross R. // Circulat. Res.— 1975.— Vol. 36.— P. 319.
12. Stout R. W. // Diabetologia.— 1979.— Vol. 16.— P. 141—150.
13. Stout R. W. // Lancet.— 1987.— Vol. 1.— P. 1077—1079.

Поступила 02.12.92

M. M. Shagayeva, I. A. Sobenin, L. S. Slavina, A. N. Orekhov —
ATHEROGENIC POTENTIAL OF THE BLOOD SERUM
IN PATIENTS WITH TYPE I DIABETES MELLITUS

The task of this research was to study exogenous insulin effect on blood serum atherogenic potential in patients with type I diabetes mellitus. Under study were relationship between blood serum atherogenic potential in diabetics and daily insulin dose and duration of therapy, as well as exogenous insulin effect on the major atherosclerotic manifestations in tissue cultures, such as intracellular cholesterol content in cultured cells and labeled thymidine incorporation in cellular nuclei DNA. Blood serum atherogenicity did not correlate with insulin dose and duration of insulin therapy both in adult patients and children. Insulin prescription to newly detected patients with type I condition did not influence blood serum atherogenic potential. Exogenous insulin did not influence the major atherosclerotic manifestations at the cellular level, namely, on intracellular cholesterol content in cultured cells and these cells proliferative activity; it had no influence on blood serum atherogenic potential of the patients with type I condition.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1993

УДК 616.379-008.64-06:618.3]-67:[618.33+616-053.31]-037

В. А. Петрухин, М. В. Федорова, Ю. А. Князев, И. П. Ларичева, С. А. Витушко,
Ю. Б. Котов, В. Л. Гришин

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЕЙ ГОРМОНОВ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО КОМПЛЕКСА С ЦЕЛЬЮ ПРОГНОЗА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ПЛОДА И НОВОРОЖДЕННОГО ПРИ ИНСУЛИНЗАВИСИМОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Московский областной НИИ акушерства и гинекологии (дир. — проф. В. И. Краснопольский)

Диспансерное наблюдение за больными сахарным диабетом (СД) и современные методы инсулинотерапии привели к некоторому улучшению компенсации данного заболевания в популяции, вследствие чего стало возможным вынашивание беременности у женщин с более тяжелыми формами СД. Однако частота осложнений СД и беременности остается высокой, они трудно поддаются коррекции и требуют индивидуального ведения беременной.

С первых дней гестации СД оказывает отрицательное влияние на плод и приводит к выраженным нарушениям его внутриутробного развития (диабетическая фетопатия, внутриутробная инфекция, пороки развития и др.), высокой постнатальной заболеваемости и смертности [1, 3, 8, 10]. Достижение нормогликемии в процессе беременности не исключает полностью развития данных осложнений [2, 6] в связи с изменениями структуры и функции плаценты.

Для предупреждения развития акушерских осложнений и осложнений СД необходимы прогноз и ранняя диагностика нарушения фетоплацентарного комплекса (ФПК), своевременное начало лечения.

В акушерской практике проводится поиск адек-

ватных методов прогнозирования течения и исхода беременности. Эти попытки предпринимались и в отношении больных СД [4, 5, 9, 11]. Однако в большинстве случаев используются критерии прогноза, которые включают в себя либо анамнестические данные без учета характера течения данной беременности, либо результаты обследования беременной и плода, относящиеся к III триместру, что не позволяет скорректировать влияние на плод и улучшить исход беременности. Эффективность прогнозирования и лечебных мероприятий при этом оказывается невысокой.

Целью настоящего исследования явилась разработка индивидуальных прогностических критериев жизнеспособности плода и новорожденного у беременных с инсулинзависимым СД (ИЗСД) на основе изучения уровней гормонов ФПК.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 79 беременных, страдающих ИЗСД. С учетом цели исследования все пациентки были разделены на 2 группы: 1-ю группу составила 41 женщина, беременность у них закончилась рождением живого и жизнеспособного ребенка; во 2-ю группу были включены 38 женщин, беременность у которых закончилась антенатальной, интранатальной гибелью плода или ранней неона-