

# ВЗАИМОСВЯЗЬ АНТИТЕЛ К КЛЕТКАМ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА С ОСТАТОЧНОЙ ФУНКЦИЕЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У БОЛЬНЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

Тихомирова Т.А., Лапин С.В., Толкачева Н.Ф. \*,  
Тотолян Арег А.

НМЦ МЗиСР по молекулярной медицине на базе СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова

\* Детская городская больница им. К.А. Раухфуса № 19, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Антитела к островковым клеткам поджелудочной железы (ICA) являются чувствительным и высокоспецифичным серологическим маркером сахарного диабета тип 1 (СД1).

С помощью метода непрямой иммунофлуоресценции мы исследовали сыворотку 50 детей (до 16 лет) с СД1 и 46 взрослых с СД1. В качестве контроля использовали сыворотку 10 детей и 40 взрослых.

В качестве субстрата использовались криосрезы человеческой поджелудочной железы (5 мкм). Сыворотка пациента инкубировалась с субстратом в течение 30 минут и несвязавшиеся сывороточные белки отмывались в фосфатно-солевом буфере (0,01М, рН 7,2). Для выявления связавшихся с тканью аутоантител использовалась антисыворотка против иммуноглобулинов человека. С помощью люминесцентного микроскопа оценивалось наличие специфического свечения цитоплазмы островковых клеток.

Специфичность метода составила 100%. У детей и взрослых в дебюте заболевания ИСА встречались чаще по сравнению с больными с текущим СД1: 75,6 % и 21,8 % соответственно ( $p < 0,05$ ). Мы обнаружили, что ИСА-серопозитивные пациенты нуждаются в меньшей дозе инсулина для коррекции углеводного обмена вне зависимости от длительности СД1, чем серонегативные пациенты:  $0,056 \pm 0,04$  единицы инсулина на кг веса тела в день в детях против  $0,747 \pm 0,08$  ( $p < 0,05$ ) и  $34,8 \pm 2,3$  против  $50,42 \pm 2,55$  единицы инсулина в день во взрослых, соответственно.

Лабораторные характеристики метода позволяют использовать его для подтверждения диагноза СД1 у детей. Кроме того, нам представляется вероятным, что наличие у больного сахарным диабетом ИСА косвенно свидетельствует о наличии остаточной функции островковых клеток.

*Ключевые слова:* сахарный диабет, аутоантитела, клиническое значение.

*Tihomirova T.A., Lapin S.V., Tolkacheva N.F., Totolian A.A.*

## RELATION OF ISLET CELLS ANTIBODIES AND RESIDUAL FUNCTION OF PANCREAS IN PATIENTS WITH DIABETES TYPE I

**Abstract.** Islet cells antibodies of a pancreas (ICA) are the sensitive and high-specific serological marker of diabetes type I (IDDM). Serum of 50 children (less than 16 yr.old) and 46 adult patients with IDDM was tested for ICA with indirect immunofluorescence. The control group consisted of 10 children and 40 adults without endocrinologic disorders.

Serial cryosections of human pancreas 5 mkm thick were incubated with patients serum for 30 min. After the unbound serum proteins were washed away with phosphate buffered saline (0.01M, pH 7.2) the section was incubated with FITC labeled antiserum against human immunoglobulins. Specific cytoplasmic fluorescence of islet cells was scored as positive test result.

**Адрес для переписки:** Тихомирова Т.А.  
197089, Санкт-Петербург, ул.Льва Толстого, д. 6/8,  
НМЦ МЗиСР по молекулярной медицине на базе  
СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова  
Тел./факс: (812) 238-71-94.  
E-mail: tihomirova-ta@yandex.ru

No specific staining was found in serum of the control group and specificity of the method was 100%. In adults and children at onset of IDDM ICA were found statistically more frequently than in patients with long-standing disease: 75,6 % v.s. 21,8 % ( $p < 0,05$ ). All ICA-seropositive patients require significantly smaller dose

of insulin than seronegative patients independently of disease duration. In children ICA-seropositive patients require  $0,056 \pm 0,04$  U per kg of body weight per day v.s.  $0,747 \pm 0,08$  U/kg/day ( $p < 0,05$ ) in seronegative patients. In adults seropositive patients used  $34,8 \pm 2,3$  U/day v.s.  $50,42 \pm 2,55$  U/day in seronegative patients.

Immunofluorescent test for ICA detection could be used in children with recent onset of the disease for confirmation of IDDM. Also, ICA in a patient with IDDM could indirectly indicate the presence of residual function of islet cells. (*Med. Immunol.*, 2005, vol.7, № 1, pp 41-48)

## Введение

Сахарный диабет 1 типа (СД1) – заболевание, характеризующееся деструкцией инсулинпродуцирующих клеток, которая приводит к абсолютной инсулиновой недостаточности. Рабочая классификация СД1, опубликованная ВОЗ в 1999 году, базируется на этиологии заболевания [2]. В соответствии с этой классификацией СД1 разделяют на два варианта: аутоиммунный и идиопатический. Аутоиммунный вариант СД1 характеризуется наличием в крови больного серологических маркеров заболевания – диабет-ассоциированных аутоантител, которые выявляются приблизительно у 80% пациентов в дебюте заболевания. Отсутствие в крови больного диабет-ассоциированных аутоантител позволяет поставить диагноз идиопатического СД1.

Антитела к островковым клеткам поджелудочной железы (islet cell antibodies - ICA)<sup>1</sup> являются основным серологическим маркером СД1. У больных с впервые выявленным диабетом ICA могут быть обнаружены в 60-80% случаев, причем у детей частота встречаемости ICA достигает 85-87%. Основными антигенами ICA являются глутамат-декарбоксилаза (glutamic acid decarboxylase - GAD) и тирозин-фосфатаза (tyrosine phosphatase-like protein - IA-2), кроме того, в сыворотке крови больных СД1 обнаруживаются антитела к инсулину, которые преимущественно встречаются у детей младше 7 лет.

Выявление диабет-ассоциированных антител используется в клинике для подтверждения диагноза СД1. Обнаружение этих аутоантител у пациентов с диагнозом сахарный диабет 2 типа позволяет диагностировать скрытый аутоиммунный диабет взрослых (latent autoimmune diabetes mellitus - LADA) и установить риск развития абсолютной инсулиновой недостаточности у больных с СД2 [2, 18, 22]. При полиэндокринопатиях выявление ICA используется для оценки риска развития СД1 либо гипопаратиреоза.

Диабет-ассоциированные антитела появляются задолго до клинических проявлений СД1 и могут применяться для определения риска развития СД1 у родственников первой степени родства больных с этим заболеванием. Выявление ICA до начала СД1 может отражать субклиническое течение аутоиммунного инсулита, протекающего до значительного

(80-90%) разрушения инсулинпродуцирующих клеток, при котором проявляются клинические симптомы заболевания [9].

После клинической манифестации заболевания оставшиеся  $\beta$ -клетки продолжают функционировать и производить эндогенный инсулин [4]. В норме поджелудочная железа вырабатывает 30-45 ЕД инсулина, однако существуют больные СД1, которым для компенсации углеводного обмена требуются значительно меньшие дозы экзогенного инсулина. Это связывают с наличием у них остаточной функции  $\beta$ -клеток, производящих собственный инсулин. Этот инсулин не может полностью обеспечить потребности организма, но считается, что даже минимальная остаточная функция  $\beta$ -клеток улучшает метаболический контроль и замедляет развитие поздних осложнений заболевания [4].

Как снизить или остановить деструкцию инсулинпродуцирующих клеток у этих пациентов – этот важнейший вопрос остается пока открытым. Выявление факторов, влияющих на остаточную функцию  $\beta$ -клеток, может помочь в его решении.

Данные о связи диабет-ассоциированных антител с остаточной функцией  $\beta$ -клеток чрезвычайно противоречивы. В литературе имеется множество мнений, отстаивающих как позитивное [12, 13, 15, 35], так и негативное влияние присутствия аутоантител на остаточную функцию  $\beta$ -клеток [14, 24, 28, 29, 30, 34], а некоторые исследователи говорят об отсутствии всякой взаимосвязи между ними [23, 31].

**Целью данной работы** было изучение клинико-лабораторной значимости ICA, а также определение влияния серологического статуса у больных с СД1 на параметры углеводного обмена.

## Материалы и методы

Нами было обследовано 50 детей, больных СД1, от года до 15 лет, и 46 взрослых, от 16 до 60 лет. Было сформировано 4 группы пациентов: дети с впервые выявленным диабетом (ВВД), дети с текущим диабетом (ТД), взрослые с ВВД и взрослые с ТД (см. табл. 1). В группу больных с ВВД вошли пациенты с первой госпитализацией по поводу нарушения углеводного обмена, которым был поставлен диагноз СД1 и назначена заместительная инсулинотерапия. В группу больных с ТД вошли пациенты, госпита-

<sup>1</sup> В связи с отсутствием общепризнанной отечественной номенклатуры диабет-ассоциированных аутоантител и антигенов, авторы данной статьи придерживаются англоязычных названий (ICA, GAD, IA-2)

Табл. 1. ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ СД1

Показатель	Дети с ВВД	Дети с ТД	Взрослые с ВВД	Взрослые с ТД
Количество, чел.	34	16	7	39
Отношение полов М/Ж	20/14	10/6	4/3	12/27
Средний возраст, $\pm$ SD, лет	9,1 $\pm$ 4,4	11,81 $\pm$ 2,5	27,7 $\pm$ 10,9	41,8 $\pm$ 13,6
Продолжительность СД (min-max), лет	0	1-6	0	1-25
Средняя продолжительность $\pm$ SD, лет	0 $\pm$ 0	3,25 $\pm$ 1,34	0 $\pm$ 0	11,85 $\pm$ 6,62

лизированные по поводу СД1 повторно, для обследования и коррекции терапии.

У больных были собраны анамнестические данные о течении диабета и предыдущих схемах инсулинотерапии, о характере контроля гликемии до госпитализации, о соблюдении диеты. У больных с ВВД учитывался характер дебюта заболевания, наличие кетоацидоза, у больных с ТД исследовались наличие и характер диабетических осложнений.

В группе детей с ВВД дозы инсулинотерапии подбирались с учетом веса, возраста, колебания гликемии в течение суток, наличия кетоацидоза. Дети без кетоацидоза получали начальную дозу из расчета 0,5-0,7 ЕД/кг массы тела в сутки, дети с ВВД и кетоацидозом – из расчета 0,5-1,0 ЕД/кг в сутки. Основной схемой инсулинотерапии у детей был базис-болюсный режим введения инсулина с индивидуальной коррекцией инъекций по времени и доли от среднесуточной дозы. Наряду с контролем глюкозы крови и дневных колебаний глюкозы, в течение суток у детей проводилось исследование уровня сахара и ацетона в моче, результаты которого также учитывались при коррекции схемы инсулинотерапии. В случае необходимости оценивались параметры кислотно-щелочного равновесия крови. Строгий гликемический контроль осуществлялся в течение всего срока госпитализации.

Доза и характер инсулинотерапии в группе взрослых подбирались эмпирически, ориентируясь на уровень гликемии в течение суток. У взрослых больных с ВВД начальная схема инсулинотерапии рассчитывалась, исходя из дозы 0,5 ЕД на кг массы тела в сутки. У взрослых больных с ТД учитывался характер последней схемы инсулинотерапии и производилась ее коррекция в зависимости от параметров гликемического контроля.

Взрослые больные самостоятельно контролировали соблюдение диеты и количество хлебных единиц (ХЕ) в сутки. У детей калорийность пищи подбиралась индивидуально в соответствии с весом и возрастом ребенка, проводился строгий контроль за соблюдением диеты. Калорийность пищи у детей рассчитывалась по соответствующим формулам [3].

Восемь больных, постоянно нарушающих диету во время госпитализации, были исключены из исследования, так как дозы инсулинотерапии корректировались в соответствии с развивающейся у них гипергликемией.

Таким образом, компенсация гликемии у обследованных больных с СД1 отвечала следующим тре-

бованиям: отсутствие клинических симптомов заболевания на фоне нормогликемии или гликемии не более 7-8 ммоль/л, колебание суточной гликемии не более 5 ммоль/л, отсутствие глюкозурии или небольшое выделение сахара с мочой не более 5% от сахарной ценности пищи. У детей целевой уровень глюкозы крови натощак составлял 4-6 ммоль/л, а после еды до 8 ммоль/л.

Для расчета среднесуточной дозы инсулина использовалась последняя (перед выпиской) доза инсулинотерапии, на которой достигнута компенсация гликемии. Так как у детей доза инсулина напрямую зависит от массы тела, мы использовали для расчета удельную среднесуточную дозу, равную суточному числу ЕД инсулина на единицу массы тела ребенка в сутки (ЕД/кг). В группе взрослых не было пациентов с индексом массы тела, выходящим за границы нормы, поэтому производить перерасчет на удельный инсулин не требовалось.

Группу контроля составили 50 человек, из них 20 взрослых здоровых доноров без тяжелых соматических заболеваний и аутоиммунной патологии, 20 больных СКВ и 10 детей с общесоматической патологией, средний возраст которых был сопоставим со средним возрастом детей, больных СД1 и составил 9,5 $\pm$ 3,8 лет.

Для выявления ИСА использовался метод непрямой иммунофлюоресценции. В качестве субстрата были применены криосрезы толщиной 5 мкм аутопсийной поджелудочной железы человека, полученные от лиц с I(0) группой крови. Для улучшения адгезии срезы наносились на предварительно силанизированные предметные стекла. Фиксация проводилась высушиванием при комнатной температуре в течение 20 минут. Сыворотка крови больных инкубировалась с тканевым субстратом в течение 30 минут во влажной камере при комнатной температуре. После отмывки в фосфатно-солевом буфере (0,01М, рН 7,2) в течение 10 минут в лунки предметного стекла вносилась античеловеческая сыворотка, меченая ФИТЦ, в разведении 1:32 (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи). После повторной отмывки в фосфатно-солевом буфере срезы монтировались в глицерин (рН 8,2). В каждую постановку включались положительные и отрицательные контроли. Специфическое свечение островков поджелудочной железы (рис. 1, см. цветную вклейку) оценивалось с помощью люминесцентного микроскопа марки Axioskop 40 фирмы Zeiss (Австрия).

Для расчета встречаемости, чувствительности и специфичности метода были использованы стандартные формулы [1].

Статистический анализ количественных данных был произведен с использованием критерия Стьюдента, качественные признаки анализировались с помощью критерия  $\chi^2$ , корреляционный анализ проводился методом ранговой корреляции по Спирмену.

## Результаты

Встречаемость ИСА была максимальной у больных в дебюте заболевания и в детском возрасте (табл. 2).

В группе контроля ИСА обнаружены не были, таким образом, специфичность метода составила 100%. Чувствительность метода колебалась от 79,41% у детей с ВВД до 15,38% у взрослых с ТД. Общая чувствительность составила 29,45%.

При сравнении больных всех возрастных групп с ВВД и ТД мы обнаружили, что ИСА встречаются у 75,6% больных с ВВД и у 21,8% больных с ТД.

При анализе клинических данных группы детей с СД1 не выявлена зависимость наличия ИСА от возраста ребенка, пола, от наличия кетоацидоза, от уровня глюкозы крови при поступлении (данные не приведены).

Было обнаружено, что группа серопозитивных по ИСА детей нуждается в достоверно меньшей дозе инсулина:  $0,556 \pm 0,04$  ед.инс./кг массы тела против  $0,747 \pm 0,08$  ед.инс./кг массы тела,  $p < 0,05$  (рис. 2). Между наличием у ребенка ИСА и дозой среднесуточного удельного инсулина существует обратная, статистически достоверная, корреляция ( $r = -0,29$ ,  $p = 0,042$ ).

При этом доза среднесуточного удельного инсулина не зависит от клинического течения заболевания (стабильное, нестабильное), от его дебюта, от пола ребенка (данные не приведены).

В литературе имеются данные о зависимости среднесуточной удельной дозы инсулина от возраста ребенка. Возраст до 2-х лет, интервал 5-7 лет и пубертатный возраст являются факторами, объективно повышающими потребность в экзогенном инсулине за счет повышения инсулинрезистентности [5, 21, 27, 29, 31]. В нашем исследовании дети этих «пиковых» возрастных групп представлены равномерно во всех анализируемых подгруппах: впервые выявленных и текущих, а в дальнейшем – в серопозитивных и серонегативных (данные не приведены). Средний возраст больных также был сопоставим во всех группах. Это позволяет исключить влияние возрастной зависимости от инсулина на результаты анализа.

При сравнении групп детей с ВВД и детей с ТД была обнаружена статистически достоверная разли-

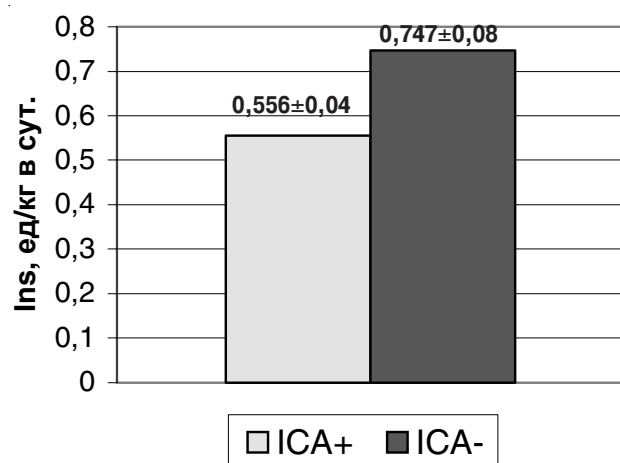


Рис. 2. Зависимость дозы инсулина от наличия островковых антител в группе детей ( $p < 0,05$ )

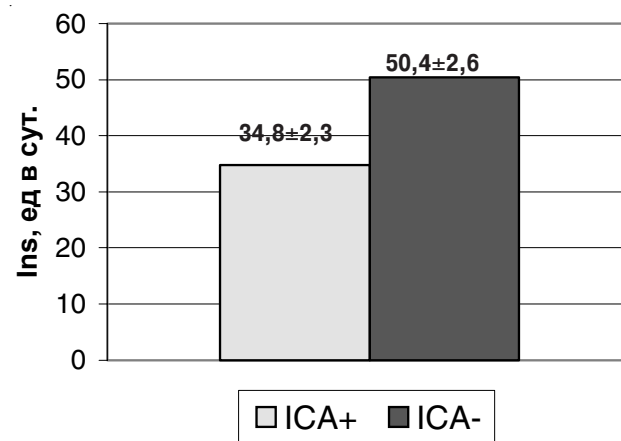


Рис. 3. Зависимость дозы инсулина от наличия островковых антител в группе взрослых ( $p < 0,05$ )

Табл. 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ИСА

Показатель	n	ИСА		Встречаемость
		присутствуют	отсутствуют	
Дети с ВВД	34	27	7	79,41%*
Дети с ТД	16	6	10	37,5%*
Взрослые с ВВД	7	4	3	57,14%**
Взрослые с ТД	39	6	33	15,38%**
Группа контроля	50	0	50	0

Примечание: \* -  $p < 0,05$  по сравнению с группой соответствующего возраста;

\*\* -  $p < 0,05$  по сравнению с группой соответствующего возраста.

ца в количестве необходимого среднесуточного инсулина между этими группами. Удельная доза инсулина у детей с ВВД была ниже дозы инсулина у детей с ТД и составила  $0,52 \pm 0,03$  ед.инс./кг массы тела и  $0,84 \pm 0,017$  ед.инс./кг массы тела соответственно ( $p < 0,05$ ).

При анализе всех взрослых больных с СД нами не была выявлена зависимость между наличием ИСА и возрастом, полом больных, компенсацией диабета, развитием осложнений (данные не приведены).

Как и в группе детей, было обнаружено, что группа серопозитивных взрослых нуждается достоверно в меньшей дозе инсулина, чем группа серонегативных взрослых:  $34,8 \pm 2,3$  ед.инсулина в сутки и  $50,42 \pm 2,55$  ед.инсулина в сутки соответственно ( $p < 0,05$ ) (рис. 3). Среднесуточные дозы инсулина у больных составили от 24 до 88 ед/сут, при этом все серопозитивные больные вошли в группу от 24 до 44 ед/сут. Отмечалась статистически достоверная обратная корреляция между наличием ИСА и дозой среднесуточного инсулина ( $r = -0,42$ ;  $p = 0,0036$ ).

Доза заместительной инсулинотерапии не зависела от возраста, пола больного, течения заболевания и наличия осложнений (данные не приведены).

При сравнении взрослых с ВВД и ТД мы обнаружили, что доза инсулина у больных с ВВД достоверно меньше и составляет  $38,86 \pm 4,25$  ед.инсулина в сутки у больных с ВВД против  $48,49 \pm 2,5$  ед.инсулина в сутки у больных с ТД ( $p < 0,05$ ).

## Обсуждение

Нами было показано, что ИСА встречаются у 75,6% больных с ВВД и обладают 100% специфичностью при этом заболевании, что позволяет использовать этот тест в диагностике СД1. В то же время встречаемость аутоантител у больных с ТД значительно ниже, и составляет около 20%. По данным литературы, приблизительно у половины больных происходит снижение титров ИСА ниже диагностических в течение первых трех лет, однако приблизительно у 20% пациентов они сохраняются в течение всей последующей жизни [11, 20].

Одним из возможных объяснений исчезновения аутоантител к островкам является необратимое уничтожение популяции  $\beta$ -клеток эндокринной части поджелудочной железы, что приводит к исчезновению соответствующей антигенной стимуляции иммунной системы. Вероятно, у больных с аутоантителами сохраняется небольшая популяция клеток, которые способны производить инсулин, и у этих пациентов можно ожидать наличие остаточной функции  $\beta$ -клеток.

В настоящее время применяется 3 основных метода оценки функции  $\beta$ -клеток. Прежде всего, уровень эндогенного инсулина может быть напрямую измерен в венозной крови после предварительного

введения глюкозы. Косвенным методом оценки функции  $\beta$ -клеток у больных СД1 является измерение С-пептида, образующегося в секреторных гранулах  $\beta$ -клеток при ферментативном расщеплении проинсулина в эквимольных инсулину количествах. Другим методом, позволяющим косвенно оценить эндогенную продукцию инсулина сохранившимися  $\beta$ -клетками, является определение дозы экзогенного инсулина, необходимой больному для коррекции гликемии.

Оценка остаточной функции  $\beta$ -клеток с помощью подсчета среднесуточной дозы экзогенного инсулина имеет явные преимущества перед измерением С-пептида и прямой оценкой уровня инсулина в крови. Во-первых, среднесуточная доза инсулина - показатель, не изменяющийся в течение сравнительно продолжительного времени, в то время как С-пептид изменяется в зависимости от уровня гликемии, значения С-пептида различны после разных видов стимуляции и зависят от времени взятия крови после стимуляции [6, 7, 8, 17, 26]. Среднесуточная доза отражает функцию  $\beta$ -клеток в течение минимум 3-4 предыдущих дней, а иногда и нескольких предыдущих месяцев, в то время как С-пептид, как и уровень эндогенного инсулина, измеряемые в один день, отражают функциональную активность  $\beta$ -клеток именно в этот день. Кроме того, у детей многократный забор венозной крови (С-пептид, эндогенный инсулин), связан со значительным стрессом, что приводит к изменениям большинства исследуемых параметров.

Так как на среднесуточную дозу экзогенного инсулина влияет весь комплекс факторов, участвующих в гликемическом обмене, мы предполагаем, что использование этого показателя более адекватно отражает остаточную функцию  $\beta$ -клеток. Правомочность оценки остаточной функции поджелудочной железы по среднесуточной дозе экзогенного инсулина доказывают исследования, в которых обнаружена высокая обратная корреляция между уровнем С-пептида и дозой экзогенного инсулина [10, 12, 16, 17]. В нашей работе строго соблюдались условия, необходимые для того, чтобы доза экзогенного инсулина адекватно отражала уровень эндогенного инсулина. Проводился строгий гликемический контроль, учет веса больного, соблюдение им диеты. У детей учитывались особые возрастные периоды, в частности интервалы до 2-х лет, 5-7 лет и пубертатный возраст.

В нашей работе мы обнаружили, что во всех возрастных группах больные СД1 с ВВД нуждаются в достоверно меньших дозах инсулина, чем больные с ТД. Эти данные подтверждают тот факт, что при клинической манифестации диабета часть  $\beta$ -клеток сохранена, и их функция постепенно утрачивается со временем. Результаты, полученные методом измерения С-пептида, также отражают тенденцию

снижения его уровня с увеличением срока заболевания [12, 16, 24, 27, 29, 30, 33, 34].

Кроме того, нами получены данные, указывающие на отрицательную корреляцию между уровнем экзогенного инсулина и наличием ИСА. Эту связь мы наблюдали вне зависимости от продолжительности заболевания и во всех возрастных группах. Наши данные могут указывать, что ИСА-позитивные больные имеют более сохранную функцию  $\beta$ -клеток, чем ИСА-негативные.

Данные литературы не позволяют сделать однозначное заключение о влиянии диабет-ассоциированных антител на функцию  $\beta$ -клеток у больных СД1. Однако целый ряд исследований указывает на отрицательное влияние аутоантител на функцию  $\beta$ -клеток [14, 24, 28, 29, 30, 34]. Хотя большинство этих работ являлись проспективными, однако в них не учитывался факт сероконверсии с течением времени, а в качестве метода оценки остаточной функции поджелудочной железы использовался С-пептид. В нашей работе мы одновременно оценивали серологический статус пациентов с различным стажем заболевания, и для определения остаточной функции поджелудочной железы использовали уровень экзогенного инсулина.

Значительная прогностическая роль этих аутоантител как у родственников больных СД1, так и у больных СД2 подразумевает их прямое участие в деструкции островковых клеток. Тем не менее, диабет-ассоциированные антитела являются скорее «свидетелями» аутоиммунного процесса и не играют сколь-нибудь значительной роли в разрушении  $\beta$ -клеток.

Наиболее убедительное доказательство отсутствия прямого деструктивного действия диабет-ассоциированных антител на функцию  $\beta$ -клеток приведено в работе Namalainen A.M. с соавторами, 1998 [19]. Было показано транзитное носительство диабет-ассоциированных антител у младенцев без признаков СД1, рожденных от антителоопозитивных матерей с СД1. Факт развития СД1 у ребенка с генетическим дефектом В-лимфоцитов и, как следствие, с отсутствием антител [25], также подвергает сомнению значимую роль диабет-ассоциированных антител в патогенезе СД1.

Stassi G. с соавторами, 1997 [32] при исследовании аутопсийного материала поджелудочной железы было обнаружено, что  $\beta$ -клетки больных СД1 экспрессируют Fas-рецепторы. Клеточный инфильтрат был представлен в основном CD3+ лимфоцитами с фенотипом Т-хелперов. Большинство Т-лимфоцитов, инфильтрирующих островки, были положительны при окраске на FasL. Основным механизмом деструкции  $\beta$ -клеток в патогенезе СД1 у человека вероятно является Fas-опосредованная Т-клеточная цитотоксичность, приводящая к апоптозу клеток-мишеней.

Таким образом, основным механизмом разрушения  $\beta$ -клеток является клеточный иммунитет. Островковые антитела косвенно свидетельствуют о сохранности некоторой массы  $\beta$ -клеток, которые, продуцируя эндогенный инсулин, снижают потребность пациента в экзогенном инсулине. Если все инсулин-продуцирующие клетки разрушаются, антигенная стимуляция прекращается, и больной становится серонегативным. При этом из-за отсутствия эндогенного инсулина повышается потребность больного в экзогенном инсулине.

Этот факт становится особенно важным ввиду современных возможностей иммуносупрессивной терапии, которые открываются благодаря появлению очеловеченных моноклональных антител и рекомбинантных белков, способных специфически подавлять воспалительные ответы. Выявление больных с более сохранной функцией  $\beta$ -клеток может являться одним из ориентиров, позволяющих отобрать пациентов для проведения иммуносупрессивной терапии, способной остановить процесс аутоиммунной деструкции островков поджелудочной железы.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность к.б.н. Вартамян Н.Л. (лаборатория биотехнологий диагностических препаратов НИИ Гриппа), к.м.н., заведующему патологоанатомическим отделением ГБ №2 Грантынь В.А., сотруднику канцелярии патологоанатомического отделения ГБ №2 Владимировой Т.Н., к.м.н., доценту кафедры патологической анатомии СПбГМУ, заведующему патологоанатомическим отделением ГБ №26 Клечикову В.З., а также коллективам отделения эндокринологии ДГБ им. К.А. Раухфуса № 19, отделения патологической анатомии ГБ № 38 им. Н.А. Семашко и отделения патологической анатомии ГБ № 26 за помощь в проведении работы. Отдельное спасибо ООО «ВидеоТест» и ООО «Карл Цейсс» за предоставление оборудования и техническую поддержку, которые сделали возможным выполнение работы.

## Список литературы

1. Медицинские лабораторные технологии. Справочник в 2-х томах под ред. А.И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 1999. – 655 с.
2. Особенности дебюта и прогноз сосудистых осложнений у больных медленно прогрессирующим диабетом взрослых. Пособие для врачей / Под ред. Дедова И.И. – М., 2003. – с.38.
3. Петеркова В.А., Максимова В.П., Кураева Т.Л., Долгих А.С. Питание детей и подростков с сахарным диабетом. Пособие для родителей. – М., 2003. – с.65.

4. Смирнова О.М., Горельшева В.А., Дедов И.И. Характеристика фазы ремиссии при впервые выявленном инсулинзависимом сахарном диабете // Сахарный диабет. – 1999. - №1. – С. 16-21.
5. Amiel S.A., Caprio S., Sherwin R.S., Plewe G., Haymond M.W., Tamborlane W.V. Insulin resistance of puberty: a defect restricted to peripheral glucose metabolism // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1991. Feb; 72(2). – P.277-282.
6. Argoud G.M., Schade D.S., Eaton R.P. Insulin suppresses its own secretion in vivo // *Diabetes.* – 1987. – Vol. 36. – P. 959–962.
7. Arnold-Larsen S., Madsbad S., Kuhl C. Reproducibility of the glucagon test // *Diabet Med.* – 1987. – Vol. 4. – P.299-303.
8. Aspinwall C.A., Lakey G.R.T., Kennedy R.T. Insulin-stimulated insulin secretion in single pancreatic beta cells // *J Biol Chem.* – 1999. – Vol. 274, Issue 10, March 5 – P. 6360-6365.
9. Atkinson M.A., Leiter E.H. The NOD mouse model of type 1 diabetes: as good as it gets? // *Nat.Med.* – 1999. – Vol. 5. – P. 601-604.
10. Bonora E., Coscelli C., Butturini U. Residual B-cell function in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: its relation to clinical and metabolic features // *Acta Diabetol Lat.* – . – Vol. 21. – P. 375-383.
11. Borg H., Marcus C., Sjoblad S., Fernlund P., Sundkvist G. Islet cell antibody frequency differs from that of glutamic acid decarboxylase antibodies/IA2 antibodies after diagnosis of diabetes // *Acta Paediatr.* – 2000. – Vol. 89. – P. 46 –51.
12. Couper J.J., Hudson I., Werther G.A., Warne G.L., Court J.M., Harrison L.C. Factors predicting residual  $\beta$ -cell function in the first year after diagnosis of childhood type 1 diabetes // *Diabetes Res Clin Pract.* – 1991. – Vol. 11. – P. 9–16.
13. Daneman D., Sochett E., Pak C.Y., Yoon J.W. Relationship of islet cell and islet cell surface antibodies to the presentation and early course of IDDM in childhood // *Diabetes Res Clin Pract.* – 1988. . – Vol. 4(2), Jan 7 – P. 127-132.
14. Decochez K., Keymeulen B., Somers G., Dorchy H., De Leeuw I., Mathieu C., Rottiers R., Winnock F., ver Elst K., Weets I., Pipeleers D., Gorus F., the Belgian Diabetes Registry. Use of islet cell antibody assay to identify type 1 diabetic patients with rapid decrease in C-peptide levels after clinical onset // *Diabetologia.* – 1999. – Vol. 42. – P. 62.
15. Decochez K., Tits J., Coolens J.-L., Van Gaal L., Krzentowski G., Winnock F., Anckaert E., Weets I., Pipeleers D.G., Gorus F.K. High frequency of persisting or increasing islet-specific autoantibody levels after diagnosis of type 1 diabetes presenting before 40 years of age: the Belgian Diabetes Registry // *Diabetes Care.* – 2000. – Vol. 23. – P. 838 –844.
16. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effects of age, duration and treatment of insulin-dependent diabetes mellitus on residual b-cell function: observations during eligibility testing for the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) // *J Clin Endocrinol Metab.* – 1987. – Vol. 65. – P. 30-36.
17. Gandullia E., Bonioli E., Monteverde R., La Fauci M.F., Lattere M., Augeri C., De Grandi R., Chiossi M., Alpigiani M.G. Significance of the evaluation of C-peptide in children with type 1 diabetes mellitus // *Pediatr Med Chir.* – 1986. – Vol. 8(5). – P. 687-689.
18. Gottsater A., Landin-Olsson M., Fernlund P., Lernmark A., Sundkvist G. B-cell function in relation to islet cell antibodies (ICA) during the first three years after the clinical diagnosis of diabetes in non-insulin-dependent (type II) diabetic patients // *Diabetes Care.* – 1993. – Vol. 16. – P. 902–910.
19. Hamalainen A.M., Ronkainen M.S., Akerblom H.K., Knip M. Postnatal elimination of transplacentally acquired disease-associated antibodies in infants born to families with type 1 diabetes // *J. of Clinical Endocrinology & Metabolism.* – 2000. – Vol. 85, No. 11 – P. 4249-4253.
20. Kolb H., Dannehl K., Gruneklee D., Zielasek J., Bertrams J., Hubinger A., Gries F.A. Prospective analysis of islet cell antibodies in children with type 1 (insulin-dependent) diabetes // *Diabetologia.* – 1988. – Vol. 31. – P. 189–194.
21. Komulainen J., Kulmala P., Savola K., Lounamaa R., Ilonen J., Reijonen H., Knip M., Akerblom H.K. Clinical, Autoimmune, and Genetic Characteristics of Very Young Children With Type 1 Diabetes // *Diabetes Care.* – 1999. – Vol. 22. – P. 1950-1955.
22. Littorin B., Landin-Olsson M., Lernmark A. Antibodies (ICA and GADA) at diagnosis of diabetes predict the subsequent need for insulin // *Diabetes Care.* – 1999. – Vol. 22. – P. 409-412.
23. Ludvigsson J., Binder C., Mandrup-Poulsen T. Insulin autoantibodies are associated with islet cell antibodies; their relation to insulin antibodies and B-cell function in diabetic children // *Diabetologia.* – 1988. – Vol. 31(9). – P. 647-651.
24. Marner B., Agner T., Binder C. Increased reduction in fasting C-peptide is associated with islet cell antibodies in type I (insulin-dependent) diabetic patients // *Diabetologia.* – 1985. – Vol. 28. – P. 875–880.
25. Martin S., Wolf-Eichbaum D., Duinkerken G., Scherbaum W.A., Kolb H., Noordzij J.G., Roep B.O. Development of type 1 diabetes despite severe hereditary B-lymphocyte deficiency // *N.Engl.J Med.* – 2001. – Vol. 345. – P. 1036-1040.
26. Ronnema T. Practical aspects in performing the glucagon test in the measurement of C-peptide secretion in diabetic patients // *Scand J Clin Lab Invest.* – 1986. – Vol. 46. – P. 345-349.
27. Sabbah E., Savola K., Ebeling T. Genetic, Autoimmune, and Clinical Characteristics of Childhood and Adult-Onset Type 1 Diabetes // *Diabetes Care.* – 2000. – Vol. 23. – P. 1326–1332.

28. Sabbah E., Savola K., Kulmala P., Veijola R., Vahasalo P., Karjalainen J., Ekerblom H.K., Knip M. Diabetes-associated autoantibodies in relation to clinical characteristics and natural course in children with newly diagnosed type 1 diabetes // J Clin Endocrinol Metab. – 1999. – Vol. 84. – P. 1534–1539.

29. Schiffrin A., Suissa S., Poussier P., Guttman R., Weizner G. Prospective study of predictors of  $\beta$ -cell survival in type 1 diabetes // Diabetes. – 1988. – Vol. 37. – P. 920–925.

30. Schiffrin A., Suissa S., Weitzner G., Poussier P., Lalla D. Factors predicting course of  $\beta$ -cell function in IDDM // Diabetes Care. – 1992. – Vol. 15. – P. 997–1001.

31. Sochett E.B., Daneman D., Clarson C., Ehrlich R.M. Factors affecting and patterns of residual insulin secretion during the first year of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in children // Diabetologia. – 1987. – Vol. 30. – P. 453–459.

32. Stassi G., Maria D.R., Trucco G., Rudert W., Tesi R. Nitric Oxide Primes Pancreatic  $\beta$ -Cells for Fas-

mediated Destruction in Insulin-dependent Diabetes Mellitus // J. Exp. Med. – 1997. – Vol. 186. Number 8, October 20 – P. 1193-1200.

33. Torn C., Landin-Olsson M., Lernmark A., Schersten B., Ostman J., Arnqvist H.J., Bjork E., Blohme G., Bolinder J., Eriksson J., Littorin B., Nystrom L., Sundkvist G. Combinations of beta-cell-specific autoantibodies at diagnosis of diabetes in young adults reflects different courses of beta cell damage // Autoimmunity. – 2001. – Vol. 33. – P. 115-120

34. Wallensten M., Dahlquist G., Persson B. Factors influencing the magnitude, duration, and rate of fall of  $\beta$ -cell function in type 1 (insulin-dependent) diabetic children followed for two years from their clinical diagnosis // Diabetologia. – 1988. – Vol. 31. – P. 664–669.

35. Zamaklar M., Jotic A., Lalic N., Lalic K., Rajkovic N., Milicic T. Relation between course of disease in type 1 diabetes and islet cell antibodies // Ann N Y Acad Sci. – 2002. – Vol. 958. – P.251-253.

*поступила в редакцию 10.11.2004*

*принята к печати 17.12.2004*