

Инсулинсвязывающая активность клеток крови при сахарном диабете

Н.П. Микаелян, Ю.А. Князев

Российский государственный медицинский университет
(ректор - акад. РАМН В.Н. Ярыгин), Москва

Известно, что для максимального биологического эффекта инсулина в большинстве инсулинзависимых тканей достаточно занятости его молекулами не всех, а только 5-10% клеточных рецепторов. При резкой гипоинсулинемии максимальное биологическое действие инсулина не достигается, так как не оккупировано 10% рецепторов. Это может иметь место при тяжелой форме сахарного диабета (СД) 1 типа. Если же резко снижено количество рецепторов, то увеличивается концентрация гормона.

Главной особенностью СД 2 типа является отсутствие дефицита инсулина (особенно при начальных и легких формах), но снижена чувствительность тканей к инсулину, изменено состояние инсулиновых рецепторов (ИР), что определяет и соответствующие метаболические нарушения. Изучение ИР в тканях-мишенях позволило сформулировать понятие инсулинрезистентности [8, 13] и некоторые ее причины: 1) наличие повышенного количества антагонистов инсулина; 2) дефект в тканях-мишенях по отношению к действию инсулина; 3) аномальный инсулин.

Нарушения состояния ИР наблюдаются и при изменении физиологического статуса организма. Нами отмечалось снижение количества ИР в мононуклеарных клетках (МНК) и эритроцитах (Эр) не только у больных СД беременных, но и у здоровых, а у больных СД снижалось также сродство рецепторов к гормону [8, 9]. Установлено также, что с возрастом (40-59 лет) количество ИР на одну жировую клетку снижается, а уровень инсулина в крови не изменяется [1].

В задачи нашего исследования входило изучение инсулинсвязывающей активности (ИСА) клеток крови при разных формах и стадиях компенсации СД.

Объем и методы исследования

Исследовали МНК и Эр периферической крови у 241 больного СД в возрасте от 20 до 47 лет; 94 больных страдали СД 1 типа (1-я группа), 44 были с СД 2 типа (2-я группа); 30 женщинам

в III триместре беременности поставлен диагноз гестационного СД (ГСД) - 3-я группа; 43 женщины в III триместре беременности были с СД 1 типа (4-я группа). Контрольная группа включала 20 пациентов без эндокринной патологии.

У больных с декомпенсированным СД 1 типа (n=36) гликемия колебалась от 10,7 до 19,3 ммоль/л, суточная доза инсулина составляла 49,8±6,23 ЕД (23-79 ЕД). 35 больным впервые поставлен диагноз СД 1 типа. В стадии клинической и клинко-метаболической компенсации обследованы 23 больных СД 1 типа, у которых гликемия была в пределах 5,4-9,7 ммоль/л; суточная доза инсулина составляла 39,2±4,1 ЕД (от 33 до 51 ЕД). Давность заболевания составляла от 3 до 16 лет. У 11 пациентов диабет осложнился микроангиопатиями.

2-я группа состояла из 27 женщин и 17 мужчин в возрасте 23-47 лет с впервые диагностированным нелеченным СД 2 типа. У 18 больных имело место ожирение II-III степени при наличии гиперинсулинемии, у 10 - ожирение II-III степени при нормальной инсулинемии. У 16 больных диагностирован сопутствующий панкреатит; гликемия колебалась в пределах 9-17,4 ммоль/л при нормальной инсулинемии.

В 3-й группе ГСД диагностирован в сроки 20-33 нед беременности; половина беременных страдала ожирением I-II степени, у 5 беременных с ГСД имел место гестоз.

МНК периферической крови выделяли центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина [7]. Т-обогатненную фракцию лимфоцитов получали выделением Е-розеткообразующих клеток при повторном центрифугировании в градиенте плотности фиколл-верографина; для Е-розеткообразования использовали Эр барана, обработанные нейраминидазой [5].

Рецепторы к инсулину изучали по ИСА МНК, Т-лимфоцитов и Эр радиоиммунным методом [9]. ИСА рассчитывали по формуле:

$$\text{ИСА} = \frac{A - B}{A} \cdot 100,$$

где А - общее связывание (имп/мин/кл); В - неспецифическое связывание в присутствии немеченого гормона (имп/мин/кл).

Концентрацию инсулина определяли радиоиммунными наборами.

Результаты исследования и их обсуждение

У нелеченных инсулином больных с впервые диагностированным СД 1 типа отмечена гетерогенность изменений ИСА МНК и Эр крови. Из 35 нелеченных больных у 26 ИСА была снижена за счет количества связывающих мест, у 9 - повышена (за счет сродства и количества связывающих мест). Ле-

чение инсулином в течение 2 нед нормализовало связывание ^{125}I -инсулина во 2-й группе и не изменяло его в 1-й. У больных с повышенным уровнем ИСА отмечалась более низкая инсулинемия и высокая концентрация малонового диальдегида [3, 4].

Изучение ИСА в МНК больных СД 1 типа, получающих инсулин в состоянии декомпенсации, показало нормальный или умеренно повышенный уровень связывания инсулина (главным образом за счет количества ИР); достижение компенсации сопровождалось снижением ИСА до значений несколько ниже нормальных (у здоровых лиц).

В табл. 1 представлены величины максимального специфического и неспецифического связывания ^{125}I -инсулина, а также параметры инсулинрецепторного взаимодействия, определенные с помощью построения графических зависимостей Скэтчарда (R_0) [14] и Мейтса и Рота (K_e , K_f) [12] для каждого больного.

Снижение ИСА в 1-й группе определяется количеством ИР, а повышение связывания инсулина во 2-й группе - аффинитетом свободных и занятых рецепторов. Для больных 2-й группы характерно и значимое увеличение неспецифического связывания меченого инсулина, что можно предположительно объяснить изменением свойств плазматических мембран, которое может влиять и на сродство ИР.

У больных СД 2 типа нами изучен характер связывания инсулина специфическими рецепторами на Эр, МНК (в том числе и на лимфоцитах). У больных с явным СД 2 типа и у большинства больных с нарушением толерантности к глюкозе снижена чувствительность рецепторов к инсулину. На низком уровне было связывание инсулина (ИСА в МНК составляла $12,6 \pm 1,02\%$ по сравнению с контролем - $21,6 \pm 1,6$, $p < 0,05$; в Эр - $11,9 \pm 1,8$ и $18,9 \pm 1,7$ соответственно), количество и сродство рецепторов на МНК и Эр, причем эти характеристики были получены как у больных с ожирением, так и без него.

Нами выявлена прямая корреляция между уровнем рецепторного связывания инсулина и чувствительностью МНК к экзогенному гормону ($r = 0,89$), а также обратная корреляция между указанными процессами и содержанием инсулина в крови ($r = -0,77$, $r = -0,71$ соответственно), которое у большинства больных было повышено на 25-26,5% ($p < 0,05$); у некоторых больных с гипергликемией натощак (9,5-10,3 ммоль/л) резистентность к инсулину и низкий уровень его связывания (19,7%) по сравнению с контролем -26,7% ($p < 0,05$) сочетались с нормальной или даже сниженной инсулинемией, что может быть связано с угнетающим действием длительной гипергликемии на секрецию инсулина. У леченных больных концентрация инсулина в сыворотке крови повышалась, но связывание его рецепторами до конца не нормализовалось. Это свидетельствует о первичности рецепторного дефекта по сравнению с временной недостаточностью секреции инсулина у больных СД 2 типа.

Нарушение инсулинрецепторного взаимодействия, обусловленное уменьшением количества рецепторов к инсулину, выявлено у больных СД 2 типа также на Эр и Т-лимфоцитах. При изучении корреляции характера связывания инсулина рецепторами Эр с интенсивностью метаболизма глюкозы в клетке оказалось, что при этом дозозависимая кривая характеризует нарушение чувствительности к инсулину, поскольку на субмаксимальные дозы гормона утилизация глюкозы была снижена на 23%, а на максимальную дозу повышалась до соответствующей нормы. Это указывает на наличие только рецепторного дефекта. При явном СД 2 типа и наличии ожирения и без ожирения резистентность к инсулину была более выраженной, а кривая доза - ответ демонстрировала недостаточность утилизации глюкозы при всех, включая максимальную, концентрациях инсулина в циркуляции. Это свидетельствует

Таблица 1

Параметры инсулинрецепторного взаимодействия в МНК у больных СД 1 типа, нелеченных инсулином ($M \pm m$)

Группа	Связывание меченого ¹²⁵ I-инсулина		Ro, нмоль/мг белка	Ke, 107 М-1	Kf, 107 М-1
	максимальное специфическое	неспецифическое			
	% к общему количеству ¹²⁵ I-инсулина				
1-я	10,2±1,4 <0,001 * <0,001 **	3,4±0,8 >0,1 * <0,01 **	0,17±0,02 <0,001 * <0,05 **	15,8±1,02 <0,1 * <0,01 **	6,7±0,3 <0,1 * <0,1 **
2-я	30,9±1,5 <0,001 *	7,5±0,7 <0,01 *	0,75±0,17 >0,1 *	31,6±4,6 <0,001 *	8,3±1,43 <0,05 *
Контроль	21,6±1,6	3,7±0,7	0,47±0,06	17,6±3,1	4,9±0,84

Примечание: *р - по сравнению с контролем; **р - сравнение между группами.

ет и о рецепторном, и о пострецепторном нарушении (см. рисунок). Выраженность пострецепторного дефекта возрастает в прямой зависимости от степени гипергликемии и становится доминирующим нарушением.

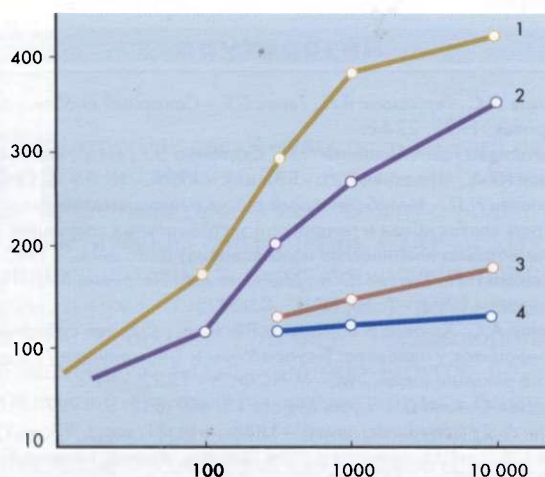


Рис. Биологическая эффективность инсулина при СД 2 типа.
По оси абсцисс: логарифм концентрации инсулина в крови, пг/мл;
По оси ординат: утилизация глюкозы эритроцитами, мкмоль/ч $\times 2 \cdot 10^9$ клеток.
1 - дозозависимая кривая у здоровых лиц, 2 - у больных с нарушенной толерантностью к глюкозе, 3 - у больных СД без ожирения, 4 - у больных СД с ожирением.

Как известно, ожирение само по себе характеризуется недостаточной чувствительностью периферических тканей к инсулину и выраженной гиперинсулинемией натощак и после нагрузки глюкозой. Благодаря этому уровень глюкозы в крови у лиц с ожирением сохраняется в пределах нормы даже после приема глюкозы [10].

Нами показано, что ИСА клеток крови беременных ($n=30$) по сравнению с нормой (20 женщин) снижается, как у беременных с СД 1 типа (43 женщины), так и при ГСД ($n=30$). Если у здоровых беременных значения ИСА в целом укладывались в пределы $M \pm m$, то параметры ИСА клеток у беременных с ГСД были статистически значимо снижены по сравнению как с группой здоровых беременных, так и страдающих СД 1 типа ($p < 0,05$). Наиболее низкие значения ИСА клеток крови отмечались у женщин с субкомпенсацией СД.

Активность ИР фракции Т-лимфоцитов у здоровых беременных варьировала в пределах 15-32%, что свидетельствует о циркуляции в крови активированных Т-лимфоцитов и является физиологически оправданным. У беременных с СД 1 типа выявляются Т-лимфоциты с высокой ИСА по сравнению с контролем и с низкой ИСА, возможно, обусловленной инсулинрезистентностью при декомпенсации СД или избытком инсулина при компенсации. Низкую ИСА наблюдали у 8 беременных с диабетическими микроангиопатиями независимо от степени компенсации. У беременных с ГСД ИСА Т-клеток была в 2 раза ниже по сравнению с контрольной группой. Сопоставление значений ИСА МНК и Т-лимфоцитов показало, что у здоровых беременных ИСА Т-фракции ниже, чем МНК не только в целом по группе, но и у всех обследованных. Аналогичная закономерность выявлена лишь при низких значениях ИСА как Т-лимфоцитов, так и МНК у больных СД 1 типа с диабетической микроангиопатией. При ГСД эти тенденции не прослеживаются.

Как видно из табл. 2, уровень связывания инсулина Т-клетками был снижен при ГСД и у больных всех указанных групп и не коррелировал с величиной ИРИ ($r=0,31$, $p < 0,05$) и концентрацией глюкозы ($r=0,24$) в крови, что может свидетельствовать об иммунологически активной форме процесса. При

Таблица 2

ИСА клеток крови у беременных, больных СД, в зависимости от компенсации заболевания ($M \pm m$)

Показатель	Контроль (физиологическое течение беременности)	Беременные с СД 1 типа (компенсация и декомпенсация)	Беременные с СД 1 типа (декомпенсация)	Беременные с ГСД
Специфическое связывание, %				
на МНК	$29,75 \pm 2,12$	$35,47 \pm 1,83^*$	$21,67 \pm 0,9^*$	$25,6 \pm 1,69^*$
на Т	$20,1 \pm 1,6$	$17,78 \pm 0,9^*$	$24,8 \pm 1,07^*$	$16,6 \pm 1,9^*$
на Эр	$11,2 \pm 0,6$	$10,8 \pm 1,01^*$	$9,4 \pm 0,6^*$	$9,0 \pm 0,4^*$
Глюкоза, ммоль/л	$4,8 \pm 0,38$	$8,14 \pm 0,67^*$	$11,77 \pm 0,8^*$	$7,96 \pm 0,63^*$
ИРИ, мкЕд/мл	$9,67 \pm 1,0$	$8,87 \pm 0,9^*$	$7,1 \pm 0,3^*$	-

Примечание: * Достоверные различия по сравнению с контролем.

ГСД и СД 1 типа в стадии компенсации (по сравнению с контролем) достоверно снижена ИСА Т-лимфоцитов, при декомпенсации она достоверно повышается. Снижение ИСА Т-лимфоцитов свидетельствует о наличии дефекта на рецепторном уровне, что может привести при СД к изменению вообще иммунного ответа [6, 11]. Индивидуальные значения ИСА Т-лимфоцитов у беременных с ГСД во всех случаях были ниже самых низких значений в группе здоровых беременных, особенно у женщин с ожирением.

Полученные данные свидетельствуют о важном значении состояния рецепторов к инсулину в патогенезе СД и частично могут объяснить особенности его течения и эффект терапии.

Выводы

1. Чувствительность к инсулину у больных СД 1 типа снижается по мере нарастания пролонгированной гипергликемии. Инсулинрезистентность и снижение инсулинрецепторной активности вторичны по отношению к дефициту инсулина и являются показателем недостаточной коррекции дисметаболизма.

2. При СД 2 типа имеется сочетание сниженной чувствительности клеток крови к инсулину и инсулиновой недостаточности; последняя является относительной и характеризуется повышенным уровнем ИРИ крови и сниженной инсулинсвязывающей активностью крови.

3. ГСД характеризуется гипергликемией, обусловленной низкой инсулинсвязывающей активностью инсулиновых рецепторов. При ГСД ИСА отличается качественным своеобразием, поэтому диагностическая и прогностическая оценка должна быть иной.

Литература

1. Ефимов А.С., Германюк Я.Л., Генес С.Г. - Сахарный диабет. - Киев, Здоровье, 1983. 224 с.
2. Жумгалиева Г.Д., Микаелян Н.П., Скрябина Э.Г., Петрухин В.А., Князев Ю.А., Чередеев А.Н. - БЭБ и М. - 1999. - № 2. - С. 230-233.
3. Микаелян Н.П. - Метаболический статус и инсулинсвязывающая активность клеток крови и печени при экстремальных состояниях (экспериментально-клиническое исследование) Докт. дисс., - 1991. - М.
4. Микаелян Н.П., Князев Ю.А., Максина А.Г., Петрухин В.А. - Пробл. эндокрин. - 1994, - Т. 40, № 4. - С. 4-7.
5. Павлюк А.С., Крюков Б.В., Петров Р.В. и др. - Оценка субпопуляции Т-лимфоцитов у человека: Т-супрессоры и Т-помощники // Методические рекомендации. - М. - МЗРФСР. - 1982. - 82 с.
6. Andersen O. Kuhl C. *Diabete Metab.* 13: 607-612, p. 1987.
7. Boyum A. // *Scand.Lab/ Invest.* - 1968. - vol. 21, suppl. 97., p. 77-82.
8. Kahn C.R. - *Insulin receptors // The Diabetes Annual.* - Amsterdam: Elsevier, 1985. - p. 446-461.
9. Kasuga M. Karisson F.A., Kahn C.R. // *Science.* - 1982. - 215, N 4528. - P.185-187.
10. Kolterman O.G. Cray R.S., Griffin I. et al // *J. Clin. Investing.* - 1980. - 65, N 6. - P. 1272-1284.
11. Kuhl C. Workshop-conference on Gestational Diabetes Mellitus. - 1998. - Vol. 21. Suppl. 2. - 1998.
12. Meyts P. De, Roth I. // *Biochem and Biophys. Res. Commun.* - 1975. - 66, N 8. P. 1118-1126.
13. Olefsky I.M., Kolterman O.G. *Amer. J. Med.* - 1981. - 70, N 1. - P. 151-168.
14. Scatchard L. // *Ann N/Y/ Acad/ Sci.* - 1949. - 51, N 6. - P. 660-572.