Инсулинрецепторное взаимодействие в лимфоцитах и эритроцитах у беременных с гестационным сахарным диабетом

Н.П. Микаелян, Ю.А. Князев, В.А. Петрухин, А.В. Микаелян

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

Гормонально-метаболические сдвиги, обусловленные физиологически протекающей беременностью,с одной стороны, могут служить диабетогенным фактором. С другой стороны,сахарный диабет (СД) осложняет течение беременности и влияет на развитие плода [4]. Для физиологической беременности оправдано повышение активности супрессорного звена иммунной системы [5, 6] и гормонрецепторного взаимодействия инсулиновых рецепторов (ИР) иммунокомпетентных клеток [1]. Эти изменения могут лежать в основе декомпенсации СД. Генерация супрессорных Т-лимфоцитов сопровождается экспрессией мембранных рецепторов к Fc-γ фрагменту и Ig G (Fc-γ-P), что характерно для ранней стадии активации клеток. Маркером поздней активации Т-лимфоцитов являются рецепторы к инсулину, которые не удается обнаружить на покоящихся клетках [9].

При физиологически протекающей беременности у женщины происходит снижение гликемии натощак за счет ускоренного выведения глюкозы почками и снижения выработки глюкозы в печени. Однако во второй половине беременности активизируется синтез контринсулиновых гормонов плаценты и повышается уровень диабетогенных гормонов матери, таких как кортизол, прогестерон, эстрогены. Все это в совокупности с резким снижением физической активности беременной, повышением калорийности потребляемой пищи, прибавкой веса приводит к выраженной инсулинрезистентности, которая у здоровой женщины при нормальных резервах собственного инсулина компенсируется.

У беременной женщины, начиная с 20-й недели гестации, инсулина в крови даже больше, чем у небеременной. Это связано с тем, что действие инсулина частично блокировано другими гормонами, которые вырабатывает плацента (гормоны беременности). Некоторые из них, такие как эстроген, кортизол, плацентарный лактоген, обладают эффектом, блокирующим действие инсулина («контринсулиновым» эффектом). Это обычно начинает проявляться с 20–24-й недели беременности. Чтобы поддержать уровень глюкозы в пределах нормы, поджелудочная железа женщины не справляется с повышенной нагрузкой, поэтому возникает относительный дефицит инсулина, т.е. развивается гестационный сахарный диабет (ГСД).

Распространенность и заболеваемость ГСД в нашей стране неизвестна, т.к. эпидемиологические исследования не проводились. По данным эпидемиологических исследований США, ГСД составляет 4% случаев всех беременностей. По данным Европейских исследователей, распространенность ГСД варьирует от 1 до 14% в зависимости от популяции женщин.

Задачей нашего исследования было изучение инсулинрецепторного взаимодействия иммунокомпетентных клеток и эритроцитов в периферической крови беременных, больных ГСД и СД I типа

Объект и методика исследования

Объектом изучения служили эритроциты (Эр), мононуклеарные клетки (МНК), лимфоциты и их популяции в периферической крови 52 беременных в III триместре (30–36 нед гестации) в возрасте 20–35 лет. Из них 31 женщина страдала СД I типа (1-я группа), 21 имела ГСД, возникший в срок 20–33 нед беременности (2-я группа). У беременных с декомпенсированным СД 1 типа (n=14) уровень сахара в крови колебался в пределах 10,8–20,0 ммоль/л, суточная доза получаемого инсулина составляла в среднем 54,1±7,45 ЕД (22–82 ЕД). В стадии клинической и клинико-метаболической компенсации обследованы 17 беременных с СД I типа, у которых гликемия была в пределах 5–10 ммоль/л, суточная доза инсулина составляла 38,9±4,5 ЕД (35–50) ЕД, давность заболевания 5–14 лет. Из акушерских осложнений в 8 случаях имел место гестоз. Во 2-й группе (беременные с ГСД) 12 женщин страдали ожирением I–II степени. Контрольная группа состояла из 20 женщин в III триместре беременности без эндокринной патологии.

Концентрацию инсулина в сыворотке крови определяли радиоиммунными наборами, выделение клеток и количество ИР в плазматических мембранах Эр и МНК определяли по описанному нами методу [2]. Выделение лимфоцитов и количественную оценку субпопуляции Т-лимфоцитов производили методом розеткообразования [7]; для ЕА-розеткообразования использовали Эр барана, обработанные нейраминидазой [3]. Связывание ^{125}J инсулина с рецепторами в Эр, МНК, лимфоцитах и их фракциях исследовали [12] с использованием

метода вытеснения ^{125}J - инсулина из комплекса с рецепторами возрастающими количествами немеченого гормона в условиях равновесия [8]. Определяли общее количество инсулинсвязывающих мест и сродство рецепторов к гормону [11]. Чувствительноть клеток к инсулину оценивали по количеству утилизированной глюкозы клетками. Количество клеток, несущих Fcγ- P (Tγ), оценивали в реакции ЕА-розеткообразования с Эр быка, сенсибилизированными специфическими кроличьими антителами класса IgG [10,11].

Для обработки данных использовали параметрический критерий t Стьюдента.

Результаты исследования

Полученные данные сравнивали с результатами исследования у женщин, больных СД I типа. Оказалось, что у женщин в 24–26 нед беременности при ГСД, как и при СД в стадии компенсации, инсулинсвязывающая активность (ИСА) в МНК возрастает ($p<0,05$), в то время как при декомпенсированном СД процент связывания инсулина цитомембранами резко снижается ($p<0,01$). ИСА на Эр при ГСД достоверно снижается, как и при декомпенсированном СД, и, напротив, при компенсации СД по ИСА Эр мало отличается от таковой контрольной группы при одних и тех же сроках беременности. При физиологически протекающей беременности у женщин в III триместре ИСА МНК составила 33,6±3,26% и варьировала в пределах 24–39%.

Как видно из табл. 1, инсулинрецепторное связывание МНК беременных по сравнению с контролем было снижено как в 1-й, так и во 2-й группе обследованных. В группе здоровых беременных значения ИСА всех обследованных укладывались в пределы M±σ, а при СД I типа они не превышали среднего значения по группе здоровых и были ниже M±σ.

При ГСД индивидуальные значения ИСА во всех случаях были ниже самых низких значений в группе здоровых беременных, особенно у женщин с ожирением, а в целом по группе отмечено статистически значимое снижение по сравнению как с группой здоровых беременных, так и страдающих СД I типа ($p<0,01$). Наиболее низкие значения наблюдались у женщин с субкомпенсацией диабета.

Учитывая гетерогенность взвеси МНК по клеточному составу, мы оценивали активность ИР фракции Т-лимфоцитов. В группе здоровых беременных ИСА Т-клеток составила 24,50±2,53% и варьировала в пределах 14,3–30,9% (см. табл. 1), что свидетельствует о циркуляции в крови активированных Т-лимфоцитов и согласуется с данными о физиологически оправданной активации Т-системы иммунитета при беременности [6]. Беременные с СД I типа по ИСА разделились на 2 противоположные подгруппы: Т-лимфоциты с высокой ИСА (36,73±1,41%, $p<0,01$ по сравнению с контрольной группой в пределах 32,8–45,2%) и низкой ИСА (10,2±1,61%, $p<0,05$ по сравнению с контрольной группой в пределах 5,4–12,7%). По-видимому, это обусловлено инсулинрезистентностью у декомпенсированных больных. Низкую ИСА наблюдали у 8 беременных с диабетическими микроангиопатиями независимо от степени компенсации.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 практически у всех обследованных.

Аналогичная закономерность выявлена лишь при низких значениях ИСА как Т-лимфоцитов, так и МНК у больных СД I типа с диабетической микроангиопатией. При гестационном СД эти тенденции не прослеживаются, хотя у беременных с ожирением отмечена низкая ИСА обеих суспензий клеток, но ИСА Т-фракции была ниже.

Ни в одной группе обследованных не обнаружено зависимости ИСА Т-клеток от их общего числа. У здоровых беременных прослежена обратная зависимость ИСА от количества Т-лимфоцитов (r=-71). По-видимому, при физиологической беременности ИСА МНК связана с экспрессией инсулиновых рецепторов на моноцитах и В-лимфоцитах [8]. Кроме того, в группе здоровых беременных, несмотря на выраженную ИСА Т-фракции и увеличение количества Tγ-клеток (29,42±1,61%, 392,8±32,8 клеток/мкл), корреляции между этими показателями отсутствовали (r =-0,14). В подгруппе беременных с высокой ИСА при ГСД обнаружена средняя обратная корреляция между ИСА Т-лимфоцитов и относительным количеством Tγ-клеток (r=-0,38). Напротив, у больных с низкими значениями ИСА и сниженным числом Tγ-лимфоцитов (24,1±1,5%) обнаружена сильная обратная корреляция между этими показателями при ГСД (r=-0,73).Выявленная положительная корреляция ИСА Т-лимфоцитов с количеством Tγ-клеток (r=0,73) подтверждает представление об экспрес-

Таблица 1

Инсулинсвязывающая активность МНК и Т-лимфоцитов крови у женщин с СД в III триместре гестации в зависимости от степени компенсации заболевания (M±m)

Группа беременных	Инсулинсвязывающая активность, % МНК	Т- лимфоциты
Контроль (физиологическое течение беременности)	33,6±3,26	24,50±2,53
ГСД	16,1±5,02*	16,6±2,93
СД I типа	23,50±2,61 *	22,44±2,91
декопенсированный	26,64± 2,90	24,85±2,86
компенсированный	20,32±3,13*	20,33±2,95

*p<0,05 по сравнению с группой здоровых беременных

сии инсулиновых рецепторов на хелперноиндукторных лимфоцитах. Средняя обратная корреляционная связь параметров в подгруппе беременных с высокой ИСА при ГСД может быть объяснена как увеличением числа клеток с ИР, так и повышением авидности и аффинитета рецепторов. У здоровых женщин в III триместре гестации высокая ИСА МНК коррелировала с содержанием в ней Fcγ-P^+-клеток [1]. Корреляция между ИСА Т-фракции и количеством Tγ−лимфоцитов не выявлена. У беременных с ГСД характер взаимосвязи между ИСА Т-лимфоцитов и количеством Tγ−клеток был иным и различался при высокой и низкой ИСА.

Абсолютное количество лимфоцитов только при СД I типа снижается ($p<0,05$), в то время как ИСА на Т-клетках была понижена при всех стадиях и формах СД и не коррелировала с величиной ИРИ ($r+0,31$, $p>0,05$) и концентрацией глюкозы ($r=0,24$) в крови, что свидетельствует об иммунологически активной форме процесса (табл. 2).

При ГСД абсолютное количество Tγ-лимфоцитов снижается с 392±32,8 до 293,2±61,6 клеток ($p<0,05$), т.е. на 70%. Содержание Tμ-клеток соответствует нормальному уровню. При ГСД по сравнению с контрольной группой достоверно снижается ИСА Tμ-лимфоцитами. Отмечается тесная взаимосвязь между степенью ИСА и количеством Tμ-лимфоцитов ($r=0,76$). Снижение ИСА Т-лимфоцитов свидетельствует о наличии дефекта на рецепторном уровне. Количество Fcγ-рецепторных лимфоцитов у больных и здоровых беременных оставалось на одинаковом уровне ($p<0,05$).

Таблица 2

Инсулинсвязывающая активность клеток крови у беременных с ГСД (M±m)

Показатель	Контроль (физиологическое течение беременности)	Беременные женщины с гестационным СД
Количество лейкоцитов, мкл	8800±500	7500±7400
Количество лимфоцитов, %	24,5±2,04	20,2±2,1
абс.	2026±156	1570,1±219
Количество Fcγ, %	30,2±1,26	32,9±1,32
абс.	576±51	403,9±69
Количество Tγ, %	27,2±1,32	39,8±2,86*
абс.	386,8±30,9	295,3±58,4*
Количество Tμ, %	35,4±1,8	27,93±6,2*
абс.	285,1±22,7	248,9±41,3
Специфическое связывание инсулина, %		
на МНК	29,75 ± 2,42	36,67 ± 1,73*
на Tγ	18,1 ± 2,6	7,9 ± 1,5*
на Tμ	20,1 ± 1,2	16,41 ± 1,62*
на Эр	11,2 ± 0,7	8,92 ± 0,8*
Глюкоза, ммоль/л	4,8 ± 0,38	8,96 ± 0,45*
ИРИ, МКЕ / мл	9,67 ± 1,0	7,4 ± 0,3*

* Достоверные значения по сравнению с контролем.

Заключение

Таким образом, ИСА в различных клетках крови в норме и в разных популяциях лимфоцитов неодинакова; при ГСД в III триместре беременности отмечается дефицит Т-супрессоров в периферической крови при нормальном содержании Т-хелперов. Дисбаланс отмечается не только при количественной, но и функциональной оценке Т-клеток, т.е. по ИСА этих популяций. Следовательно, экстраполяция данных, полученных на одних клетках крови, на другие неправомерна. Более стабильные изменения получены только на Эр, поэтому применение Эр для изучения инсулинрецепторных взаимодействий при СД у беременных является предпочтительным.

Изучение иммунокомпетентных клеток у беременных важно для своевременного выявления ГСД и при необходимости назначения адекватной терапии с целью сохранения здоровья женщины и рождения здорового ребенка.

Литература

1. Жумагалиева Г.Д., Микаелян Н.П., Скрябина Э.Г. Петрухин В.А., Князев Ю.А. Чередеев А.Н. Инсулинсвязывающая активность лимфоцитов, несущих Fcγ –рецепторы, у беременных с сахарным диабетом.- БЭБиМ.-1999.- Том 127, №2.-С.230-233.
2. Микаелян Н.П. Метаболический статус и инсулинсвязывающая активность клеток крови и печени при экстремальных состояниях (экспериментально-клиническое исследование) .\\ Дисс. доктора наук.-М., 1992.
3. Павлюк А.С., Крюков Б.В., Петров Р.В. и др.- Оценка субпопуляции Т-лимфоцитов у человека: Т-супрессоры и Т- помощники. Метод. рекомендации.- М., 1982.
4. Федорова М.В., Краснопольский В.И.,Петрухин В.А. Сахарный диабет, беременность и диабетическая фетопатия. М., 2001.
5. Di Mario U., dotta f., gargullo P. Et all. // Diabetologia.- 1987.-vol. 27.- P.66-71.
6. Garguilo P., Di Mario U., dotta F. Et all / / Eu . J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.- 1986.- vol.23. P.127 -135.
7. Harlow C.Z., Hiebert I.M., Ryan N.T. et all //Surg . Forum.- 1975.- vol.26.- P.42- 46.
8. Helderman J .N., Auso K., Rosenstoc J., Raskin P.// J. Clin. Invest.-1987.- vol.79.- N 2.-P.566-571.
9. Kahn C.R., Freychet P., Roth I. // J. Biol. Chem.- 1974.- Vol.249.- P.2249-2257.
10. Kumagai I.- L., Akiyama H., Iwashita S. Et all.// J.Immunol.- 1981.- Vol.125. N4.- P.1249-1254.
11. Meyts I.P.M., Roth I. // Biochem. And Biophys. Res. Commun.-1975.- Vol.66.- N8. P.1118- 1126.
12. Roth I.A., Gassel D.I. // Science.- 1983.- Vol 219.- N 4582.- P. 299 -301.