

**О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ  
ПРОСПЕКТИВНОЙ ПРОГРАММЕ «ИММУНИТЕТ  
В ДОКЛИНИЧЕСКИЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ  
САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА», СОЗДАННОЙ  
В ГУ «ИНСТИТУТ ЭНДОКРИНОЛОГИИ И ОБМЕНА  
ВЕЩЕСТВ ИМ. В. П. КОМИССАРЕНКО НАМН  
УКРАИНЫ»**

*Н. Д. Тронько, В. В. Попова\*, К. П. Зак, Б. Н. Маньковский*

*Государственное учреждение «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев, 04114, Украина*

В статье представлено обоснование и задачи научно-исследовательской Программы «Иммунитет в доклинический период развития сахарного диабета 1 типа», созданной в 1998 г. в ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко НАМН Украины» по аналогии с уже существующими программами в странах Западной Европы и США. Согласно этой Программе проводится установление количества лиц, положительных к аутоантителам к островкам Лангерганса (ААОЛ) IAA, GADA и IA-2A, среди нормогликемических детей Украины с генетической предрасположенностью к диабету и определение у них частоты и времени возникновения клинически диагностируемого диабета. Одновременно в латентный период развития диабета проводятся исследования различных показателей естественного и адаптивного иммунитета в динамике, вплоть до клинической манифестации заболевания. Проведенные исследования подтвердили высокую диагностическую ценность определения ААОЛ для самого раннего предсказания возникновения сахарного диабета 1 типа. В обследуемой популяции нормогликемических детей с отягощенной наследственностью диабет возник у 48,9 % лиц в течение от 6 мес до 9 лет, в среднем  $30,9 \pm 3,2$  мес, после первого выявления повышенного титра ААОЛ. Вместе с тем, установлено, что в скрытый период развития диабета задолго до его клинической манифестации наблюдаются выраженные изменения Т- и ЕК-клеточного иммунитета, часто более значительные, чем при уже развившемся заболевании.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 1 типа, аутоантитела к островкам Лангерганса, предсказание возникновения диабета у нормогликемических лиц.

Согласно заключению экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Европейской (EASD) и Всемирной (SDF) ассоциаций диабетологов, на нашей планете в настоящее время наблюдается глобальное увеличение частоты возникновения сахарного диабета (СД), которое характеризуется как эпидемия [1]. Количество больных СД 1 типа (СД-1) и СД 2 типа

\* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна.

(СД-2) в мире увеличилось со 100 млн. до 133 млн в 1994-1995 гг., и до 246 млн. в 2007 г., т.е. более чем в 2 раза, охватывая в настоящее время около 4 % жителей Земли. К примеру, количество больных в такой стране как Германия, возросло с 0,6 % в 1960 г. до 6,9 % в 2005 году, т.е. в 10 раз [2]. По прогнозам эпидемиологов в 2025 г. количество больных СД-1 и СД-2 в мире превысит 350 млн. человек [1].

Заболеваемость СД в Украине, как и в других странах мира, также ежегодно возрастает. Если в 2000 г. заболеваемость СД составляла 131,6 новых случаев на 100 тыс. населения, то на конец 2006 г. этот показатель возрос до 228,1 на 100 тыс. жителей. На сегодняшний день по официальным данным количество больных СД в нашей стране превышает 1,2 млн. человек [3, 4].

Хотя количество больных СД-1 составляет примерно от 5 до 10 % от общего числа страдающих СД, тенденция к резкому возрастанию частоты заболеваемости СД-1 подобна таковой для СД-2 и достигает в ряде стран внушительных цифр. Так, количество больных СД-1 в Европе и США за последние 20 лет возросло более чем в 2 раза и составляет сейчас 20 млн. человек [5]. В США количество больных СД-1 достигло 1 %, т.е. 1/300 общей популяции детей страны, 1/20 имеющих родственников 1 линии и у половины твинов [6].

Заболеваемость СД-1 в Украине также возрастает. Ежегодно в нашей стране регистрируется почти 800 новых больных с впервые выявленным СД-1 в возрасте от 0 до 14 лет. По официальным данным, количество больных СД-1 в Украине на сегодняшний день составляет около 35 тыс. человек.

Вместе с тем, благодаря исследованиям с использованием недавно открытых аутоантител к островкам Лангерганса (ААОЛ) человека, было показано, что количество больных СД-1 значительно больше, чем предполагалось ранее, так как в 10-15 % случаев диагностики СД-1 у взрослых эта форма диабета может быть маскирована СД-2 [7, 8].

Резкое увеличение заболеваемости диабетом, сопровождаемым тяжелыми иммунными и обменными нарушениями и, как следствие, макро- и микрососудистыми осложнениями (ретинопатиями, нефропатиями, нейропатиями, синдромом диабетической стопы и др.), привело к драматическим социальным проблемам ввиду ранней инвалидизации большого количества лиц молодого и трудоспособного возраста и, естественно, к значительному росту смертности. Согласно последним данным ВОЗ, ведущими киллерами среди болезней являются такие «некоммуникабельные заболевания», как СД, сердечно-сосудистые, раковые и хронические респираторные заболевания, которые ежегодно уносят жизни более 35 млн. человек в мире [9].

Следует также отметить, что по данным современных компьютерных технологий, прогнозирующих на основе математического анализа модель предполагаемого события, смертность от СД в три раза превышает официально декларируемую и публично озвученную в многочисленных докладах ВОЗ [10].

В связи с этим общество несёт колоссальные затраты на лечение диабета и его тяжёлых осложнений. Так, в 2005 г. только на обеспечение больных инсулином и другими сахароснижающими средствами было потрачено 17,8 миллиарда долларов, а в 2010 г. предполагается затратить 28 миллиардов долларов [11].

Несмотря на устрашающую картину распространения эпидемии диабета в мире, сопровождающуюся тяжелыми социальными последствиями, наши представления о патогенезе СД-1, особенно скрытом, латентном периоде его развития, остаются во многом еще не совсем ясными и находятся преимуще-

ственно на уровне гипотез. Это во многом тормозит разработку эффективных методов профилактики и предсказания возможности развития СД-1 у еще «практически здорового» человека, а также разработку таргет-терапии этого заболевания.

Исследования этиопатогенеза СД-1, особенно механизма аутоиммунной деструкции островков Лангерганса (ОЛ), до недавнего времени проводились *in vivo* на моделях аутоиммунного сахарного диабета животных (мышьях линии NOD, крысах линии BB, трансгенных грызунах). Однако, несмотря на значительные достижения экспериментальной диабетологии, использовавшей наиболее близкие человеку модели аутоиммунного СД-1, они не могут полностью отразить природу этого заболевания у людей в связи с уникальной специфичностью их генетической и иммунной систем, длительностью жизни, присущим только человеку вирусным и инфекционным заболеваниям, а также социальными и этническими факторами [12]. Это подтверждается также тем, что применение многих терапевтических воздействий и препаратов, оказывающих высокий лечебный эффект у животных с СД-1, у больного человека оказались малорезультативными. Так, из более 200 экспериментальных терапевтических воздействий, предупреждающих развитие СД-1 у животных, только некоторые могут быть использованы у человека [13-16].

Прижизненное изучение возникновения и прогрессирования аутоиммунного процесса в ОЛ поджелудочной железы человека в доклинической стадии развития СД-1 до последнего времени не проводилось по вполне известным причинам. Использование для этого материала, полученного на аутопсии, сопряжено с риском развития артефактов.

Революционным этапом в изучении аутоиммунного процесса в панкреатических ОЛ человека стало открытие методов прижизненного и нетравматического определения аутоантител к антигенам ОЛ человека, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью (история этого открытия подробно изложена нами в обзоре) [17].

В табл. 1 представлены основные виды ААОЛ, которые прошли стандартизацию и проверку временем на большом клиническом материале одновременно в 60 лабораториях 18 стран [18], и приведена информация о недавно идентифицированных аутоантителах к новому таргет-антигену ZnT8 у больных СД-1, являющемуся протеином секреторных гранул  $\beta$ -клеток, который сейчас успешно апробируется [19, 20].

Благодаря открытию ААОЛ, являющихся, по сути дела, иммунологическими маркерами деструкции бета-клеток, появилась возможность не только прижизненного достоверного установления аутоиммунного

Таблица 1. Аутоантитела к антигенам островков Лангерганса поджелудочной железы человека

|                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|
| • К цитоплазме клеток островков Лангерганса<br>(islet cell autoantibodies, ICA)   |
| • К инсулину<br>(insulin autoantibodies, IAA)                                     |
| • К декарбоксилазе глютаминовой кислоты<br>(GAD antibodies, GADA)                 |
| • К протеину-2 инсулиномы<br>(IA-2 antibodies, IA-2A и их гомолог IA-2 $\beta$ A) |
| • К транспортеру цинка-8<br>(Zinc Transporter 8 antibodies, ZnT8A)                |

процесса в ОЛ поджелудочной железы, то есть самого раннего (иногда, за годы) предсказания возникновения СД-1 у еще практически здорового нормогликемического человека, но и выявление ранее неизвестных иммунных механизмов, происходящих в скрытый период, предшествующий клинической манифестации заболевания у человека, без знания которых затруднена разработка новых научно-обоснованных и целенаправленных методов профилактики и лечения этого заболевания.

Появление стандартизированных методов определения ААОЛ у человека стимулировало создание во многих странах Западной Европы и США многолетних проспективных международных, национальных и региональных программ, целью которых является выявление ААОЛ-положительных лиц среди населения различных стран, национальностей, этнических и возрастных групп, генетически отягощенных популяций по гаплотипу DR3/DR4-DQ8, а также частоты и времени возникновения у ААОЛ-положительных лиц клинически диагностируемого заболевания, т.е. установление возможности использования этого метода для предсказания развития СД-1. Иногда такие программы осуществляются на базе общеизвестных реестров СД-1 или стыкуются с ними. Наряду с определением процента ААОЛ-положительных лиц среди различных категорий населения, чувствительности и специфичности различных видов ААОЛ для оценки риска развития СД-1 эти программы также дают возможность более точно дифференцировать СД-1 и СД-2, т.е. выделить особую форму диабета – аутоиммунный диабет взрослых (LADA). Одновременно проводится изучение влияния различных факторов внешней среды, в частности, питания, на возможную деструкцию бета-клеток. Состояние иммунной системы организма при предиабете, к сожалению, в этих программах исследовалось в значительно меньшей степени [17].

В настоящее время в мире выполняется более 20 таких программ. Наиболее приоритетные из них, участниками или руководителями которых являются такие всемирно известные ученые, как G. S. Eisenbarth, E. Bonifacio, G. F. Bottozzo, E. A. M. Gale, P. Y. Bingle, K. Decochez, A. Lernmark и др., представлены в таблице 2. Однако в Украине, как, впрочем, и на всей территории бывшего Советского Союза, аналогичные программы до недавнего времени отсутствовали.

В октябре 1998 г. впервые в Украине в Институте эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины была создана проспективная Программа «Иммунитет в доклиническую стадию развития сахарного диабета», в рамках которой решается несколько задач:

1. Установить с помощью использования стандартизированных методов определения различных ААОЛ (IAA, GADA и IA-2A) количество ААОЛ-положительных лиц среди нормогликемических детей с отягощенной наследственностью по СД-1 ряда регионов Украины и процент возникновения у них в последующем клинического дебюта заболевания. В связи с этим решается вопрос о возможности использования методики определения ААОЛ как достоверного метода для наиболее раннего прогнозирования возникновения СД-1 у еще здоровых лиц и возможности его применения в клинической диабетологии.

2. Исследовать состояние врожденного и адаптивного иммунитета организма в латентный скрытый период, предшествующий клинической манифестации СД-1, т.е. получение недоступной ранее информации о раннем этапе патогенеза СД-1 у человека.

3. Провести анализ иммунологических параметров у детей с генетической предрасположенностью к СД-1, но ААОЛ-негативных, у которых в течение длительного времени наблюдения не возникло заболевание, с целью

Таблица 2. Зарубежные многолетние программы по изучению аутоантител к панкреатическим островкам Лангерганса человека

| Название и аббревиатура                                         | Страна                                   | Используемый вид аутоантител                        | Цель и объект исследования                                                                                                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| • <b>DAISY</b><br>(Diabetes Autoimmunity Study in the Young)    | США                                      | IAA,<br>GADA,<br>IA-2A,<br>ZnT8A                    | Выявление количества ААОЛ-положительных лиц и частоты развития у них СД-1: 1) среди общей популяции новорожденных и 2) у более взрослых детей, родственники первой линии которых больны СД-1 |
| • <b>BABYDIAB</b><br>(Baby Diabetes 1 Anti Body)                | Международная (преимущественно Германия) | ICA,<br>IAA,<br>GADA,<br>IA-2A,<br>IA-2βA,<br>ZnT8A | Выявление количества ААОЛ-положительных лиц среди детей, родственники первой линии которых больны СД-1, с последующим их исследованием в динамике, вплоть до развития заболевания            |
| • <b>ENDIT</b><br>(European Nicotinamide Diabetes Intervention) | Англия – Германия                        | IAA,<br>GADA,<br>IA-2βA                             | Сравнительное исследование различных ААОЛ для определения наиболее специфичных и чувствительных из них для установления наличия аутоиммунного процесса и степени риска СД-1                  |
| • <b>ABIS</b><br>(All Babies in Southeast Sweden)               | Швеция                                   | GADA,<br>IA-2A                                      | Выявление частоты ААОЛ среди общей популяции детей Швеции и взаимоотношений между ААОЛ-положительными индивидуумами и генотипом HLA                                                          |
| • <b>DIPP</b><br>(Diabetes Prediction and Prevention study)     | Финляндия                                | IAA,<br>GADA,<br>IA-2A                              | Исследование количества ААОЛ-лиц среди новорожденных и детей Финляндии в возрасте от 0,9 до 10,4 лет и взаимоотношений между наличием ААОЛ и диабетическим генотипом HLA (DR3/DR4-DQ8)       |
| • <b>BDR</b><br>(Belgian Diabetes Registry)                     | Бельгия                                  | ICA,<br>IAA,<br>GADA,<br>IA-2A                      | Проспективное исследование титра ААОЛ у нормогликемических жителей Бельгии в возрасте до 40 лет, родственники первой линии которых больны СД-1                                               |

| Название<br>и аббревиатура                                        | Страна             | Используемый<br>вид аутоантител | Цель и объект исследования                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| • DASP<br>(Diabetes autoanti-<br>body Standardization<br>Program) | Междуна-<br>родная | GADA,<br>IA-2A                  | Изучение и стандартизация методов определения ААОЛ (сравни-<br>тельные исследования 60 лабораторий из 18 стран)                                                                |
| • NIRAD<br>(Non Insulin-Require-<br>ment Diabetes Study)          | Италия             | GADA,<br>IA-2A,<br>ZnT8A        | Оценка ZnT8A как маркера, предсказывающего развитие СД-1 у<br>нормогликемических лиц                                                                                           |
| • CHPR<br>(Children Hospital<br>Pittsburgh Register)              | США                | ICA,<br>GADA,<br>IA-2A,<br>IAA  | Выявление наличия повышенного титра ААОЛ у детей<br>г. Питсбурга, родственники первой линии которых больны СД-1,<br>и частоты и времени развития СД-1 у ААОЛ-положительных лиц |
| • KTIDRS<br>(Karlsburg Type 1 -<br>Diabetes Risk Study)           | Германия           | GADA,<br>IAA,<br>IA-2A          | Стратификационная оценка различных ААОЛ для риска развития<br>СД-1 у детей общей популяции г. Карлсбург                                                                        |

выявления защитных иммун-  
ных механизмов, которые пре-  
пятствуют началу деструкции  
бета-клеток. Такая информация  
имела бы важное значение для  
разработки новых целенаправ-  
ленных методов профилакти-  
ки, способных препятствовать  
началу развития аутоиммун-  
ного процесса. Этот фрагмент  
исследований, требующий на-  
копления большого материала,  
только начал осуществляться.

К настоящему времени в  
рамках Программы проведено  
клинико-иммунологическое об-  
следование 462 детей обоего  
пола в возрасте от 8 до 15 лет  
без каких-либо видимых воспа-  
лительных или аллергических  
заболеваний. Из них 366 детей  
при первичном обследовании  
были определены как норма-  
гликемические практически  
здоровые дети, но имеющие  
в семейном анамнезе отяго-  
щенную наследственность —  
родственников первой линии  
(отцов, матерей, братьев и/или  
сестёр), страдающих СД-1.  
У всех обследуемых детей титр  
аутоантител IAA, GADA и IA-  
2A был определен радиоиму-  
нологическим методом с исполь-  
зованием гамма-счетчика Gam-  
ma-5500 В фирмы «Beckman»  
(США) и набора соответствую-  
щих реактивов фирмы «Cis Bio  
International» (Франция). На  
основании результатов анали-  
зов выделенная группа детей с  
генетической предрасположе-  
ностью была разделена на две  
подгруппы: ААОЛ-положитель-  
ную (при повышенном титре  
не менее двух ААОЛ, особен-  
но GADA и IA-2A) и ААОЛ-  
отрицательную (у которых не  
определялся повышенный титр  
всех трех ААОЛ). Контрольная  
группа состояла из 84 ААОЛ-  
отрицательных нормогликеми-  
ческих здоровых детей без отя-  
гощенной наследственности.

Все обследуемые дети были внесены в специальный реестр, а на ААОЛ-положительных и ААОЛ-отрицательных детей заполнена особая медицинская карточка, которая выдавалась на руки родителям ребенка. На процесс выявления доклинической стадии развития СД-1 и активности аутоиммунного процесса у детей с отягощенной наследственностью получен патент Украины № 27420, зарегистрированный 25.10.2007 г.

У всех детей вышеприведенных групп, внесенных в реестр, регулярно в динамике, вплоть до клинической манифестации СД-1, наряду с традиционным клиническим обследованием, определением гликемических профилей и уровня  $HbA_{1c}$  в крови, проводилось исследование следующих показателей иммунитета:

1. Общего содержания лейкоцитов в периферической крови и лейкоцитарной формулы, включая количество больших гранулодержащих лимфоцитов (БГЛ), являющихся гомологом естественных клеток-киллеров (ЕК-клеток).

2. Иммунофенотипа лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD20+ и CD56+ клеток) в периферической крови при помощи метода проточной цитометрии с использованием лазерного цитофлуориметра FACS Star plus фирмы «Becton Dickinson» (США) и моноклональных антител фирмы «Becton Dickinson» (США) и «Dako Cytomation» (Дания).

3. Концентрации различных видов цитокинов (ИЛ-1 $\alpha$  и  $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО $\alpha$ , и ИФН $\gamma$ ) и хемокинов (ИЛ-8 и ИЛ-16) в периферической крови исследовались иммуноферментным методом (ELISA) с использованием спектрофотометра с вертикальным лучом Star fax-3200 фирмы «Star» (США) и наборов реактивов фирмы «Diacron» (Франция).

4. Электронно-микроскопическое исследование различных видов лейкоцитов проводилось следующим образом. Лейкоцитарную плёнку, выделенную путем центрифугирования из периферической крови, фиксировали 2,5% глутаральдегидом и заключали в аралдит фирмы «Fluka» (Германия). Ультратонкие срезы приготавливали на микротоме LKB-8800 (Швеция) и исследовали под электронным микроскопом фирмы JEM-100C фирмы «JEOL» (Япония).

Проведенные исследования показали, что у 26,7 % из 366 нормогликемических детей с отягощенной наследственностью при двукратном определении был выявлен повышенный титр GADA и IA-2A, а 73,3 % детей оказались отрицательными к ААОЛ. При этом у 48,9 % детей из подгруппы ААОЛ-положительных после первого обследования в течение от 6 мес до 9 лет (в среднем  $30,9 \pm 3,2$  мес) возник клинически диагностируемый СД-1 (данные на конец 2009 г.). Среди ААОЛ-отрицательных детей за этот же период времени СД-1 возник только у одного ребёнка, т.е. в 0,8 % случаев (рис. 1). Полученные нами результаты близки к данным других программ, особенно тех, в которых представлены более высокие цифры как количества ААОЛ-положительных лиц среди генетически предрасположенной популяции детей, так и процент возникновения у них СД-1 через 5 лет после первого определения титра ААОЛ [21, 22]. Вполне можно допустить, что полученные нами более высокие показатели возникновения СД-1 обусловлены особыми экологическими факторами, в частности, последствиями аварии на Чернобыльской АЭС, характерными для тех территорий Украины, на которых преимущественно проживали обследуемые дети (Киевская, Житомирская, Черниговская области).

При анализе полученных данных был также обнаружен весьма интересный факт: примерно у половины (55,3 %) ААОЛ-положительных детей, у которых возник СД-1, родственниками первой линии были страдающие диабетом сибсы (братья и/или сёстры) (рис. 2). Подобное явление описано и другими

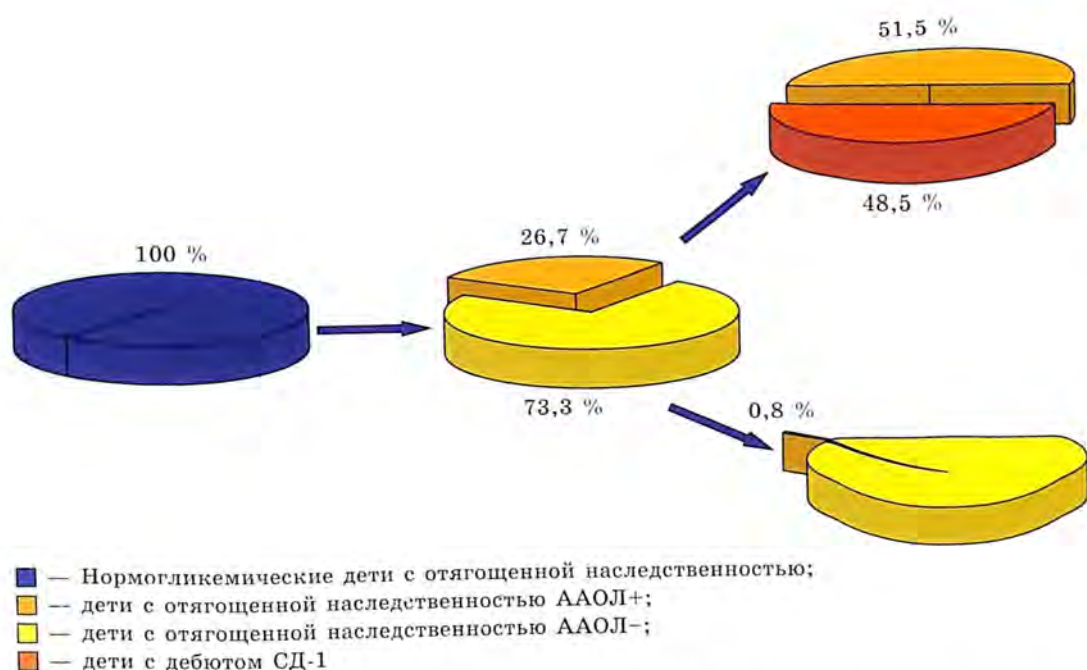


Рис. 1. Частота возникновения СД-1 у ААОЛ-положительных и ААОЛ-негативных детей с отягощенной наследственностью.

авторами [23]. По мнению G. S. Eisenbarth и J. Jeffrey [24], более высокая склонность сибсов к развитию у них СД-1 по сравнению с потомками других родственников 1-й линии объясняется тем, что сибсы делят примерно половину генома с диабетическими пробами. Сибсы могут обладать обеими половинами HLA гаплотипа (DR3/DR4-DQ8), в то время как потомки унаследуют только единственный гаплотип от одного из своих родителей. У ААОЛ-положительных сибсов процент развития СД-1 может достигать 80 %.

В то же время, среди ААОЛ-положительных детей, у которых диабетом страдали родители (отцы или матери), СД-1 развивался значительно чаще у потомков отцов (35,1 %), чем у потомков матерей (9,65 %) (рис. 2). Полученные нами результаты полностью согласуются с данными литературы о том, что у потомков «диабетических» отцов более чем вдвое чаще выявляется повышенный титр ААОЛ и развивается СД-1, чем у потомков «диабетических» матерей [23-25].

При исследовании состояния иммунитета в доклинический период развития СД-1 были выявлены значительные изменения иммунофенотипа лимфоцитов, содержания различных видов цитокинов и хемокинов, которые предшествовали клинической манифестации заболевания. Полученные нами резуль-

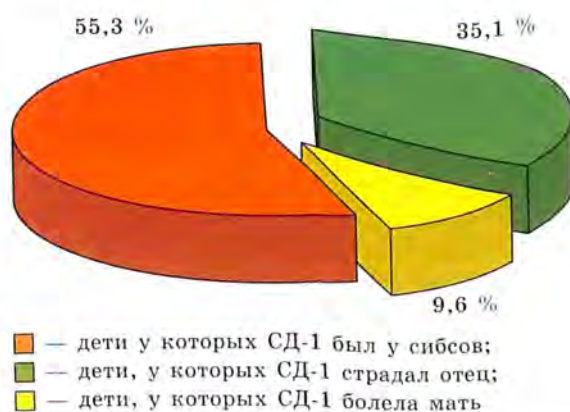


Рис. 2. Процентное соотношение родственников первой линии (отцов, матерей и сибсов) ААОЛ-положительных детей, у которых развился клинический дебют СД-1.

таты неоднократно публиковались и докладывались на ежегодных съездах Европейской ассоциации по изучению диабета (EASD) в виде фрагментов по мере выполнения Программы [12, 17, 26-32].

При исследовании иммунофенотипа лимфоцитов периферической крови было установлено, что в латентной стадии у ААОЛ-положительных нормогликемических детей с генетической предрасположенностью к СД-1 наблюдалось статистически достоверное снижение общего количества Т-лимфоцитов (CD3+ клеток), Т-хелперов/индукторов (CD4+ клеток) и ЕК-клеток (CD56+ клеток и БГЛ) и, в несколько меньшей степени, – Т-супрессоров/киллеров (CD8+ клеток) в периферической крови по сравнению с ААОЛ-отрицательными детьми и, особенно, с контрольной группой [31, 33].

При определении содержания различных видов цитокинов и хемокинов в сыворотке у большинства нормогликемических ААОЛ-положительных детей задолго до клинической манифестации СД-1 отмечался повышенный уровень провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-6 и ФНО $\alpha$ , а также хемоаттрактантов (ИЛ-8 и ИЛ-16) при снижении уровня противовоспалительного антидиабетического цитокина ИЛ-4 [27].

При электронно-микроскопическом исследовании CD4+ клеток (лимфоцитов, содержащих в цитоплазме тельца Голла) и CD56+ клеток (морфологического гомолога БГЛ) у нормогликемических ААОЛ-положительных детей с отягощенной наследственностью были обнаружены значительные изменения ультраструктуры, указывающие на изменение их функции, т.е. на повышение секреторной активности CD4+ клеток и снижение цитотоксичности CD56+ клеток [30, 33].

После клинической манифестации заболевания у части ААОЛ-положительных детей наблюдалась нормализация содержания исследуемых субпопуляций лимфоцитов и их ультраструктуры, а также уровня различных видов цитокинов в периферической крови, что, по-видимому, обусловлено затуханием аутоиммунного процесса в ОЛ в связи с гибелью большинства бета-клеток. Длительность и активность этой стадии была весьма индивидуальна. Вместе с тем, наличие повышенного титра ААОЛ в начальной стадии развития диабета можно считать одним из маркеров, указывающих на сохранность некоторой части бета-клеток и возможной их пролиферативной регенерации при применении специфических стимуляторов роста бета-клеток, что должно быть учтено в будущем при создании методов таргет-терапии. При более длительном течении заболевания аутоиммунный процесс в ОЛ полностью прекращается и ААОЛ вовсе не определяются. Это, естественно, сопровождается нормализацией показателей иммунитета. Однако, при прогрессировании заболевания и развитии сосудистых воспалительных осложнений (диабетических нефропатий, ретинопатий, диабетической стопы и др.) снова становятся возможными дальнейшие изменения ряда показателей иммунитета: изменение иммунофенотипа лимфоцитов и подъем уровня различных провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ФНО $\alpha$ ) в циркуляции.

Таким образом, исследования, проведенные в рамках нашей Программы, подтверждают данные зарубежных программ о высокой диагностической ценности определения титра ААОЛ для раннего предсказания возникновения СД-1 у нормогликемических здоровых лиц, что дает возможность выделить группу риска и своевременного назначения терапии по жизненным показаниям при развитии диабета, и, что особенно важно для клиницистов-диабетологов, избежать диабетической комы. В то же время они показывают, что нарушение иммунного статуса на уровне ОЛ и всего организма при предиабете происходят задолго, иногда за годы, до

возникновения заболевания. Ввиду этого врач имеет достаточно времени, чтобы вмешаться в естественное течение аутоиммунной деструкции бета-клеток и предотвратить или затормозить её. Но это дело ближайшего будущего.

## Литература

1. Carnethon M. R. Can we out-run the diabetes epidemic ? // *Diabetologia*. 2007, 50, 1113–1115.
2. Kolb H., Mandrup-Poulsen T. The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation // *Diabetologia*. 2010, 53, N 1, 10–20.
3. Тронько К. М. Рівень циркулюючих прозапальних цитокінів (ІЛ-16 та ФНП альфа) у крові хворих на цукровий діабет 1 типу, ускладнений ретинопатією // *Ендокринологія*. 2007, 12, № 1, 151–153.
4. Тронько М. Д. Сучасний стан та перспективи розвитку фундаментальної і клінічної ендокринології в Україні // *Ендокринологія*. 2010, 12, № 2, 174–191.
5. Rewers M. Environmental factors in diabetes aetiology // *Diabetologia*. 2007, 50, Suppl. 1, 155.
6. Liu E., Eisenbarth G. S. Accepting clocks that tell time poorly: Fluid phase versus standard ELISA autoantibody assays // *Clin. Immunol*. 2007, 125, N 2, 120–126.
7. Bottazzo G. F., Bosi E., Cull C. A. et al. IA-2 antibody prevalence and risk assessment of early insulin requirement in subjects presenting with type 2 diabetes (UKPDS 71) // *Diabetologia*. 2005, 48, N 4, 1691–1699.
8. Davis T. M. E., Wright A. D., Mehta Z. M. et al. Islet autoantibodies in clinically diagnosed type 2 diabetes: prevalence and relationship with metabolic control (UKPDS 70) // *Diabetologia*. 2005, 48, N 4, 695–702.
9. Simmons R. K., Alberti K. G. M. M., Gale E. A. M. et al. The metabolic syndrome: useful concept or clinical tool? Report of a WHO Expert Consultation // *Diabetologia*. 2010, 53, 600–605.
10. Roglic G., Unwin N. C., Bennett P. H. Realistic estimates of excess deaths attributable to diabetes // *Diabetologia*. 2004, 47, Suppl. 1, A-123.
11. Hauber A., Gale E. A. M. The market in diabetes // *Diabetologia*. 2006, 49, N 2, 247–252.
12. Зак К. П., Грузов М. А., Афанасьева В. В. и др. Иммуитет в доклиническом периоде развития сахарного диабета 1-го типа и положительных к диабетассоциированным аутоантителам // *Клиническая медицина*. 2006, № 8, 35–40.
13. Röep B. O., Atkinson M. Animal model have little to teach us about type 1 diabetes. In support of this proposal // *Diabetologia*. 2004, 47, N 10, 1650–1656.
14. Aly T., Devendra D., Eisenbarth G. S. Immunotherapeutic approaches to prevent, ameliorate, and cure type 1 diabetes // *Am. J. Ther.* 2005, 12, N 6, 481–490.
15. Arner P. Resistin: yet another adipokine tells us that men are not mice // *Diabetologia*. 2005, 48, N 11, 2203–2205.
16. Pietropaolo M., Surhigh J. M., Nelson P. W., Eisenbarth G. S. Primer: immunity and autoimmunity // *Diabetes*. 2008, 57, 2872–2882.
17. Попова В. В., Зак К. П. Открытие аутоантител к островкам Лангерганса поджелудочной железы – выдающееся достижение в области предсказания возникновения и диагностики типа сахарного диабета в клинике (Обзор с включением собственных данных) // *Лікарська справа*. 2006, № 7, 3–12.
18. Törn C., Mueller P. W., Schlosser M. et al. Diabetes antibody standardization program: evaluation of assays for autoantibodies to glutamic acid decarboxylase and islet antigen-2 // *Diabetologia*. 2008, 51, 846–852.
19. Wenzlau J. M., Juhl K., Yu L. et al. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc 30 A8) is a major antigen in human type 1 diabetes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007, 104, 17040–17045.

20. Achenbach P., Bonifacio E., Williams A. J. K. et al. Autoantibodies to IA-2 $\beta$  improve diabetes risk assessment in high-risk relatives // *Diabetologia*. 2008, 51, N 3, 488–492.
21. Pietropaolo M., Yu S., Libman I. M. et al. Cytoplasmic islet cell antibodies remain valuable in defining risk or progression to type 1 diabetes in subjects with other islet autoantibodies // *Pediatr. Diabetes*. 2005, 6, N 4, 184–192.
22. Achenbach P., Bonifacio E., Gale E. A. M. et al. Improved diabetes risk assessment in high risk relatives: role of autoantibodies to IA-2 $\beta$  // *Diabetologia*. 2007, 50, Suppl. 1, S196.
23. Decochez K., Truyen J., Van der Anvera B. et al. Combined positivity for HLA DQ2/DQ8 and IA-2 antibodies defines population at high risk type 1 diabetes // *Diabetologia*. 2005, 48, N 4, 687–694.
24. Eisenbarth G. S., Jeffrey J. The natural history of type 1A diabetes // *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 2008, 52, N 2, 146–155.
25. Verge C. F., Gianani R., Kawasaki E. et al. Prediction of type 1 diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GADA, and ICA512bdc/IA-2 autoantibodies // *Diabetes*. 1996, 45, N 7, 926–933.
26. Зак К. П., Малиновская Т. Н., Тронько Н. Д. Иммуитет у детей, больных сахарным диабетом. К.: Книга плюс, 2002. 111 с.
27. Зак К. П., Попова В. В., Мельниченко С. В., Маньковский Б. Н. Уровень циркулирующих цитокинов и хемокинов в доклиническую и раннюю клиническую стадии развития сахарного диабета типа 1 // *Терапевт. архив*. 2010, № 10, 147–153.
28. Попова В. В., Мельниченко С. В., Зак К. П. и др. О значительном снижении уровня хемокина интерлейкина-16 в крови детей с впервые выявленным сахарным диабетом типа 1 // *Лікарська справа*. 2004, № 7, 32–34.
29. Попова В. В., Мельниченко С. В., Зак К. П., Маньковский Б. Н. Рівень циркулюючого хемокіну – інтерлейкіну-8 у передклінічній і ранній клінічній стадіях цукрового діабету 1-го типу у дітей // *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2007, № 2 (19), 38–41.
30. Popova V. V., Gruzov M. A., Afanasyeva V. V. et al. Immunologic phenotype and ultrastructure of lymphocytes in normoglycemic first-degree relatives of patients with type 1 diabetes positive for diabetes-associated autoantibodies // *Diabetologia*. 2004, 47, Suppl. 1, A-184.
31. Popova V. V., Zak K. P., Gruzov M. A. et al. The prognostic value of the immunological phenotype lymphocytes in subjects positive for diabetes-associated autoantibodies // *Diabetologia*. 2006, 49, Suppl. 1, 280–281.
32. Popova V., Zak K., Mankovsky B. Immunological changes in subjects positive for diabetes-associated autoantibodies at preclinical and clinical stages of type 1 diabetes mellitus // *Diabetologia*. 2008, 51, Suppl. 1, 26–27.
33. Зак К. П., Попова В. В. Хемокины при сахарном диабете 1-го типа у человека (обзор литературы и собственные данные) // *Укр. мед. часопис*. 2008, № 6 (68), 69–78.

**Про науково-дослідну проспективну Програму «Імунітет в доклінічний період розвитку цукрового діабету 1 типу», створену в ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України»**

М. Д. Тронько, В. В. Попова, К. П. Зак, Б. М. Маньковский

*ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, 04114, Україна*

В статті наводиться обґрунтування і задачі науково-дослідної Програми «Імунітет в доклінічну стадію розвитку цукрового діабету 1 типу», започаткованої в 1998 р. в ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України» і подібної до вже створених аналогічних програм в ряді країн Західної Європи і США. Згідно з Програмою проводиться встановлення кількості

осіб, позитивних до автоантитіл до острівців Лангерганса (ААОЛ) IAA, GADA і IA-2A, серед здорових нормоглікемічних з генетичною схильністю дітей України та визначення частоти та часу виникнення у них клінічно діагностованого цукрового діабету 1 типу. Водночас в латентний період розвитку діабету проводяться дослідження різних показників природного та набутого імунітету в динаміці, аж до клінічної маніфестації захворювання. Вже виконані дослідження підтвердили високу діагностичну цінність визначення ААОЛ для самого раннього передбачення виникнення діабету. В обстеженої нами популяції нормоглікемічних дітей з обтяженою спадковістю діабет виник у 48,9 % осіб впродовж від 6 міс до 9 років, в середньому  $30,9 \pm 3,2$  міс, після першого встановлення підвищеного титру ААОЛ. Разом з тим встановлено, що в прихований період розвитку ЦД-1 задовго до його клінічної маніфестації спостерігаються виражені зміни Т- і ПК-клітинного імунітету, часто навіть більш виражені, ніж при захворюваннях, що вже розвинулися.

**Ключові слова:** цукровий діабет 1 типу, автоантитіла до острівців Лангерганса, передбачення виникнення діабету у нормоглікемічних осіб.

**About the scientific research prospective Program "Immunity in preclinical period of diabetes mellitus development" of the State Institution «V. P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine»**

N. D. Tronko, V. V. Popova, K. P. Zak, B. N. Mankovsky

*State Institution «V. P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Natl Acad. Med. Sci. of Ukraine», 04114, Kiev, Ukraine*

The background and the tasks of the scientific research Program "Immunity in preclinical period of diabetes mellitus development" established in 1998 at "V. P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine", similar to the existing identical programs in countries of Western Europe and the U.S.A., are presented in the article. In accordance with this Program, the determination of the number of persons being positive to autoantibodies to Langerhans islets (AAIL) IAA, GADA and IA-2A is realized among normoglycemic Ukraine children with genetic predisposition to diabetes and determination of the frequency and time of the occurrence in them of clinically diagnosed type 1 diabetes mellitus. Simultaneously, researches of different indices of natural and adaptation immunity in dynamics, up to the clinical manifestation of disease, are carried out in the latent period of diabetes development. The high diagnostic value of AAIL for the earliest prediction of type 1 diabetes mellitus development was confirmed by the researches realized. Diabetes mellitus has developed in 48,9 % of patients within a period from 6 months to 9 years, at an average of  $30,9 \pm 3,2$  months after the first finding of an increased AAIL titer in the population of normoglycemic children with burden heredity, observed by us. At the same time, it has been established that pronounced changes in T- and NK-cell immunity being frequently more significant than under the developed disease are noted at the latent period of type 1 diabetes mellitus development long before its clinical manifestation.

**Key words:** type 1 diabetes mellitus, autoantibodies to Langerhans islets, prediction of diabetes development in normoglycemic patients.

(Надійшла 20.09.2010)