

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

На правах рукописи

Проценко Анна Мергеновна

**Патогенетическая роль антител к инсулину
в перинатальных исходах при инсулинзависимом
диабете у беременных**

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители
чл.-корр. РАН С.Г. Морозов
д.м.н. Т.С. Будыкина

Москва – 2022

Оглавление

Список используемых сокращений.....	4
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1. Инсулинзависимый сахарный диабет как аутоиммунное заболевание	14
1.2. Сахарный диабет и беременность	24
1.3. Иммунологические взаимоотношения матери и плода при СД1 и их влияние на развитие ребенка в раннем неонатальном периоде	30
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
2.1. Экспериментальные методы исследований	36
2.1.1. Получение олигомерного инсулина	36
2.1.2. Иммунизация лабораторных животных	36
2.1.3. Получение сывороток крови лабораторных животных	37
2.1.4. Синтез специфических иммуносорбентов для иммуноаффинного выделения антиинсулиновых антител и их антиидиотипов	38
2.1.5. Иммуноаффинное выделение антител из крови кроликов	39
2.1.6. Получение F(ab)2-фрагментов антител из крови кроликов	39
2.1.7. Определение способности антиидиотипических антител (АТ2), связывающих антиинсулиновые антитела (АТ1), взаимодействовать с рецепторами инсулина	40
2.1.7.1. Выделение мембранной фракции клеток мозга, содержащей рецепторы инсулина	41
2.1.7.2. Конкурентный иммуноферментный анализ	41
2.1.8. Тест на толерантность крыс к глюкозе	42
2.1.8.1. Феррицианидный метод определения восстанавливающих сахаров в сыворотке крови	42
2.2. Лабораторные методы исследований.	43
2.2.1. Получение сывороток крови у женщин и их новорожденных	43
2.2.2. Оценка содержания антител к инсулину (АТ1), АТ2 (к инсулиновым рецепторам) и АТ3 в сыворотке крови	44
2.2.3. Определение содержания глюкозы и гликозилированного гемоглобина	46
2.2.4. Определение экспрессии рецепторов инсулина и глюкозы на лейкоцитах крови беременных женщин с сахарным диабетом 1 типа	47
2.3. Клинические наблюдения за беременными женщинами и их детьми	47
2.4. Методы статистической обработки материалов	51
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	53
ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА АНТИИНСУЛИНОВЫХ АНТИТЕЛ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ И У ЖЕНЩИН, СТРАДАЮЩИХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА	53
3.1. Биосинтез антиинсулиновых антител различных порядков у крыс, иммунизированных олигомерным инсулином	53

3.2. Содержание АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину у женщин с СД1 до наступления беременности	60
ГЛАВА 4. ХАРАКТЕР УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ПРИ СД1 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЕЙ АНТИТЕЛ РАЗЛИЧНОГО ПОРЯДКА К ИНСУЛИНУ	64
4.1. Измерение толерантности к глюкозе у животных, иммунизированных олигомерным инсулином	64
4.2. Уровни глюкозы, гликированного гемоглобина и дозы вводимого инсулина до и во время беременности у женщин с СД1 с различным содержанием АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину	65
4.3. Экспрессия рецепторов инсулина и глюкозы на лейкоцитах крови беременных женщин с сахарным диабетом 1 типа	73
ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ АУТОАНТИТЕЛ РАЗЛИЧНЫХ ПОРЯДКОВ К ИНСУЛИНУ У БЕРЕМЕННЫХ С СД1 НА КЛИНИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ НОВОРОЖДЕННЫХ	76
5.1. Влияние аутоантител различных порядков к инсулину у беременных с СД1 на массу новорожденных	76
5.2. Нарушения функций ЦНС у новорожденных от матерей с различной антиинсулиновой иммунореактивностью	78
5.3. Особенности клинического состояния новорожденных в зависимости от уровня антител различных порядков к инсулину у матерей с СД1 во время беременности	79
5.4. Клинические признаки диабетической фетопатии (ДФ) у новорожденных от матерей с СД1	84
ГЛАВА 6. ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ЗДОРОВЬЕМ НОВОРОЖДЕННЫХ И СОДЕРЖАНИЕМ У НИХ И ИХ МАТЕРЕЙ АНТИТЕЛ К ИНСУЛИНУ 1, 2 И 3 ПОРЯДКОВ	86
ГЛАВА 7. УРОВЕНЬ ГЛИКЕМИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С СД1	89
ГЛАВА 8. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	93
Выводы	109
Практические рекомендации	111
Список литературы	112

Список используемых сокращений:

аАТ – аутоантитела

АИАТ – антиидиотипические антитела

АТ - антитела

АТ1 – антитела первого порядка

АТ2 – антитела второго порядка

АТ3 – антитела третьего порядка

ГСД – гестационный сахарный диабет

ДФ – диабетическая фетопатия

ИЛ – интерлейкин

ИМТ – индекс массы тела

ИФА – иммуноферментный анализ

ИФН – интерферон

НК – натуральные киллеры

СД 1 – сахарный диабет первого типа

СД 2 – сахарный диабет второго типа

СЗРП – синдром задержки роста плода

ФНО – фактор некроза опухоли

GAD - глутаматдекарбоксилаза

IA-2 – островковый антиген – тирозинфосфатаза

PBS – полибуфер (Phosphate Buffered Saline)

PBST – полибуфер с твином 20 (Phosphate Buffered Saline with Tween 20)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Рост численности больных сахарным диабетом (СД) и связанных с этим заболеванием осложнений остается одной из наиболее актуальных проблем современного здравоохранения. Несмотря на очевидные успехи в области диабетологии, достигнутые в последние десятилетия, число таких больных постоянно растет.

По последним данным, численность больных СД в мире за последние 10 лет увеличилась более чем в 2 раза, и к концу 2017 г. превысила 425 млн человек. Согласно прогнозам Международной диабетической федерации к 2045 г. СД будет страдать 629 млн человек. В России, как и во всех странах мира, отмечается значимый рост распространенности СД. По данным федерального регистра СД, в РФ на окончание 2018 г. состояло на диспансерном учете более 4,5 млн человек (3,1% населения), из которых СД 1 типа составляет 6%. Однако эти данные недооценивают реальное количество пациентов, поскольку учитывают только выявленные и зарегистрированные случаи заболевания [Дедов И.И. и соавт., 2019].

Очень важной стороной этой проблемы является тенденция к увеличению числа беременных женщин, страдающих СД, в том числе инсулинзависимым сахарным диабетом 1 типа (СД1). Распространённость СД I и II типа среди женщин фертильного возраста в РФ составляет 0,9–2%. Прегестационный СД выявляется у 1% беременных, в 1–5% случаев развивается гестационный СД или манифестирует истинный СД [Айламазян Э.К и соавт., 2017].

Эпидемиологические исследования показывают, что по сравнению с общей популяцией беременных, у женщин, страдающих СД1, значительно увеличиваются риски преждевременных родов [Капустин Р.В. и соавт., 2020]], серьезных осложнений развития эмбриона и плода [Петров Ю.А. и соавт., 2019]. При наличии у матери СД I типа диабетическую фетопатию (ДФ) имеют до 75% новорожденных, беременность протекает с осложнениями у 75-85% женщин, страдающих СД [Солодкова И.В. и соавт., 2015]. По данным зарубежных авторов, перинатальная заболеваемость и смертность в этой группе новорожденных в 3-9 раз выше,

чем у беременных, не страдающих СД1 [Lapolla A. et al., 2008; Капустин Р.В. и соавторы, 2018]. У женщин, страдающих сахарным диабетом, повышен риск рождения детей с врожденными аномалиями. У детей, рожденных от матерей с диабетом, 50% перинатальной смертности приходится на врожденные пороки развития, в то время как у детей, рожденных женщинами, не страдающими СД, данный показатель составляет не более 20-30% [Есаян Р.М., и соавт., 2009; Капустин Р.В. и соавторы, 2018; Ходжаева З.С. и соавторы, 2020]. У этих детей часто выявляют аномальную массу тела, неонатальную гиперинсулинемию, гипогликемию, изменения толерантности к глюкозе, нарушения липидного метаболизма. Также у них часто страдают нервная и сердечно-сосудистая системы [Капустин Р.В. и соавт., 2018; Папышева О.В. и соавт., 2019].

По-прежнему, главным диагностическим признаком СД1 остается высокое содержание глюкозы в крови. Однако, положение осложняется тем, что даже добившись нормального уровня сахара в крови во время беременности у пациенток с СД1 не всегда удается кардинально улучшить перинатальные исходы, о чем свидетельствуют многочисленные данные отечественных и зарубежных ученых. При рассмотрении возможных механизмов неблагоприятного влияния СД1 матери на перинатальные исходы многие исследователи в настоящее время пришли к заключению о важнейшей роли изменений в гуморальном звене материнской иммунной системы, а именно, повышенной продукции антител (АТ) к инсулину [Atkinson M.A. et al., 2009; Bell R. et al., 2008; Borchers A.T. et al., 2010]. В недавних исследованиях показана связь худших неонатальных исходов с наличием аутоантител (аАТ) к островковым клеткам у матерей [Li Zhe et al., 2015].

Высокое содержание АТ к антигенам островковых клеток поджелудочной железы, в том числе АТ к инсулину, выявляется в крови большинства больных СД1. В ряде случаев наступлению явного диабета предшествует довольно длительный субклинический период, характеризующийся появлением в крови аАТ против островково-специфических аутоантигенов (антиостровковых аАТ) [[Nokoff N., Rewers M., 2013]. Полагают, что взаимодействие таких АТ с антигенами β -клеток железы приводит к разрушению этих клеток с последующей ре-

дукцией выработки инсулина. На более поздних стадиях заболевания, когда собственные β -клетки уже полностью разрушены, выявляемые повышенные уровни противoinsулиновых АТ, вероятно, образуются уже на экзогенно вводимый инсулин.

По данным зарубежных исследователей, перинатальная патология у новорожденных от матерей с различными аутоиммунными нарушениями составляет значительный процент в детской заболеваемости и смертности [Min Y. et al., 2005; Borchers A.T. et al., 2010]. Имеются многочисленные данные об отрицательных онтогенетических последствиях присутствия аномального содержания в крови беременных женщин целого ряда аАТ [Di Mario U. et al., 1982; Hoftman A.C. et al., 2008; Borchers A.T. et al., 2010; Wucher H. et al., 2011; Yuan Rong, et al., 2010]. Эти данные дают основания для предположения о существовании иммунных механизмов поражения плода у женщин с диагнозом СД1.

Известно, что иммунная система плода начинает функционировать примерно с 20-24 нед беременности [Ходжаева З.С. и соавт., 2020; Щеплягина Л.А., Круглова И.В., 2009]. Собственные АТ в крови новорожденного могут выявляться уже в первые несколько месяцев жизни. При этом основу пула АТ у них составляют трансплацентарные материнские АТ, перенос которых через плаценту начинается во втором триместре беременности [Щеплягина Л.А., Круглова И.В., 2009], а их исчезновение из кровотока, как правило, происходит в течение первых 6-9 месяцев жизни.

У детей от матерей с СД1 отмечена индукция синтеза собственных антиостровковых аАТ, которая обычно наблюдается в период от 9 месяцев до 3-х лет жизни. При этом, как правило, прежде всего, синтезируются антиинсулиновые аАТ, а позже – аАТ к глутаматдекарбоксилазе [Atkinson M.A. et al., 2009; Yuan Rong, et al., 2010].

В литературе обычно рассматривается содержание только идиотипических антител к инсулину, или антител первого порядка (АТ1). Известно, именно они появляются в период бессимптомного течения СД1 у взрослых. Кроме того, АТ1 к инсулину признаются в настоящее время наиболее информативными иммуноло-

гическими маркерами при диагностике и мониторинге патологического процесса при СД1 [Potter K.N. et al., 2000; Atkinson M.A. et al., 2009; Hampe C.S., 2012; McCance D.R. et al., 2008].

В то же время, по имеющимся данным, значительное влияние на особенности течения СД1 оказывают также антиидиотипические антитела (АИАТ) к инсулину или антитела второго порядка (АТ2) [Будыкина Т.С., 2010; Alyafei F. et al., 2018; Larsson H.E. et al., 2013; Lijuan Luan et al., 2016]. Известно, что АИАТ против биологически активных веществ, как правило, обладают способностью взаимодействовать не только с $F_{(ab)}$ -фрагментами соответствующего идиотипа АТ1, но и с рецепторами исходного вещества, как бы «мимикрируя» при этом под образ самого антигена [Lapolla A. et al., 2009]. Это дает основание для предположения, что АИАТ к инсулину, являясь как бы иммунохимическим подобием, «зеркальным» отображением самого инсулина, обладают способностью связываться с его рецепторами и проявлять, таким образом, активность, свойственную антирецепторным антителам.

Несмотря на то, что многие аспекты влияния иммунных нарушений при СД1 у беременных на перинатальные исходы уже изучены [Будыкина Т.С., 2010; Melanitou E., 2013; Pertyńska-Marczewska M. et al., 2010; Duriez M., et al., 2014; Li Zhe et al., 2015], до сих пор не произведена комплексная оценка влияния антител различных порядков к инсулину (АТ1, АТ2 и АТ3) на особенности углеводного обмена у беременных с СД1 и на состояние здоровья их новорожденных. В то же время такие исследования представляются нам чрезвычайно важными, поскольку могут раскрыть новые механизмы влияния иммунных изменений у беременных с СД1 на течение беременности и перинатальные исходы, а также определить перспективы более эффективной коррекции выявляемых нарушений.

Поэтому **цель** настоящего исследования заключалась в оценке роли антител 1, 2 и 3 порядков к инсулину у беременных с СД1 в перинатальных исходах.

Для этого были поставлены следующие **задачи**:

1. Разработать иммуноферментную тест-систему для определения АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину.

2. Изучить в эксперименте и клинике при СД1 динамику продукции АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину.
3. Оценить специфичность взаимодействия АТ2 к инсулину с рецепторами инсулина.
4. Показать взаимосвязь антител различного порядка к инсулину с течением СД1 до и во время беременности.
5. Изучить взаимосвязь между особенностями гуморального иммунитета к инсулину и экспрессией рецепторов к инсулину и глюкозе на лейкоцитах периферической крови беременных с СД1.
6. Показать взаимосвязь антител различного порядка к инсулину с патологией новорожденных.
7. Изучить содержание АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину и уровень гликемии у новорожденных от матерей, страдающих СД1.

Научная новизна исследования

Впервые на экспериментальных моделях изучена динамика продукции АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину в ответ на экзогенно вводимый инсулин.

Экспериментально доказано, что антиидиотипические антитела к инсулину (АТ2) специфически взаимодействуют с рецепторами инсулина, что позволяет рассматривать их в качестве антирецепторных антител.

На экспериментальных моделях показано, что избыточное содержание в крови АТ2 к инсулину по сравнению с уровнем АТ1 способствует повышению толерантности к глюкозе при проведении теста с глюкозной нагрузкой.

Впервые установлена корреляция повышенного содержания АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину с характером течения СД1 при беременности.

Впервые показана взаимосвязь между продукцией АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину у беременных с СД1 и состоянием новорожденного.

Теоретическая значимость

Показано, что патогенетически значимым механизмом развития патологии у новорожденного от матерей с СД1 является продукция АТ к инсулину. Установлено, что особенности продукции АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину оказывают существенное влияние на состояние здоровья родившихся детей у матерей с СД1, а также на течение СД1, в том числе во время беременности. Показана протекторная роль АТ1 и АТ3 к инсулину и негативное влияние АТ2 к инсулину на течение СД1 и состояние новорожденных, что расширяет представления о регуляторном и дизрегуляторном влиянии гуморального аутоиммунитета, «иммунной сети» с направленностью к инсулину.

Практическая значимость

Внедрение разработанных иммуноферментных тест-систем для определения АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину позволит более эффективно проводить предгравидарную подготовку женщинам с СД1, мониторинг СД1 во время беременности, а также осуществлять прогноз здоровья новорожденных. Кроме того, полученные данные о состоянии здоровья новорожденных в зависимости от особенностей гуморального иммунитета к инсулину могут лечь в основу для создания новых эффективных лечебно-профилактических мероприятий, направленных на улучшение состояния здоровья новорожденных у женщин с СД1.

Методология и методы исследования

В работе представлены материалы клинического и лабораторного анализа 188 женщин (и их новорожденных) с диагнозом СД1 в возрасте от 19 до 34 лет, у которых в дальнейшем наступила беременность, закончившаяся родами. В качестве контрольных наблюдались 32 беременных в возрасте от 17 до 35 лет без эндокринной и другой значимой патологии. При исследовании рецепторов инсулина и глюкозы был исследован дополнительный контингент из 12 женщин в возрасте от 18 до 34 лет с ожирением 2 или 3 степени (средний ИМТ $36 \pm 4 \text{ кг/м}^2$) с нормально протекающей беременностью на сроке от 13 до 24 недель без СД1 и какой-либо другой патологии.

Работа выполнялась на базе ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», ГБУЗ Городская клиническая больница № 29 им. Н.Э. Баумана Департамента здравоохранения г. Москвы,

Все женщины были разделены на группы в зависимости от содержания в их сыворотке крови антител первого (АТ1), второго (АТ2) и третьего (АТ3) порядка к инсулину: 1 группа - женщины, у которых уровень АТ1, АТ2, АТ3 к инсулину не превышал норму или был ниже нормы (n=51; 27,1%); 2 группа – женщины, для которых было характерно повышение уровней антител к инсулину, с наиболее значительным повышением АТ1 к инсулину (n=49; 26,1%); 3 группа - женщины, для которых было характерно повышение уровней антител к инсулину, с наиболее значительным повышением АТ2 к инсулину (n=35; 18,6%) женщин; 4 группа - женщины, для которых было характерно повышение уровней антител к инсулину, с наиболее значительным повышением АТ3 к инсулину (n=53; 28,2%). Дети были разделены на группы в соответствии с материнскими.

Методы лабораторного анализа: полимеризация инсулина глутаровым альдегидом, иммунизация лабораторных животных, получение сыворотки крови лабораторных животных, синтез специфических иммуносорбентов для иммуноаффинного выделения антиинсулиновых антител различных порядков, иммуноаффинное выделение антител из крови кроликов и получение F(ab)₂-фрагментов антител, конкурентный иммуноферментный анализ, тест на толерантность крыс к глюкозе, феррицианидный метод определения восстанавливающих сахаров в сыворотке крови, получение сывороток крови у женщин и их новорожденных, определение с помощью созданных иммуноферментных тест-систем содержания антител АТ1 (к инсулину), АТ2 (к инсулиновым рецепторам) и АТ3 в сыворотке крови, определение уровня глюкозы в крови глюкозооксидазным методом, определение глюкозурии, кетонурии, гликозилированного гемоглобина на биохимическом анализаторе; проточная цитометрия.

Клиническое обследование: сбор анамнеза у женщин; оценка состояния ребёнка при рождении и особенностей течения раннего неонатального периода. В

ходе наблюдений за новорожденными анализировали состояние ЦНС, наличие респираторных нарушений, сердечно-сосудистые и другие нарушения.

Статистический анализ.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Течение СД1, течение беременности и перинатальные исходы при СД1 во многом зависят от содержания в сыворотке крови антител первого (АТ1), второго (АТ2) и третьего (АТ3) порядка к инсулину.

2. Повышенная продукция антиинсулиновых минимум одного из трех порядков - АТ1, АТ2 и АТ3 - установлена у 79,2% женщин с диагнозом СД1.

3. Наиболее благоприятное течение гестационного периода и перинатальные исходы отмечаются у беременных с преимущественным содержанием АТ1 к инсулину,

4. Наиболее неблагоприятное течение гестационного периода и наиболее тяжелое состояние новорожденных отмечается у женщин с преимущественным содержанием АТ2 к инсулину, способных взаимодействовать с рецепторами к инсулину.

5. АТ3 к инсулину, связывающие переменные участки АТ2 к инсулину, нивелируют патогенное влияние соответствующих АТ2 и тем самым улучшают течение гестационного процесса при СД1 и перинатальные исходы.

Внедрение результатов работы. Основные результаты настоящей работы внедрены в работу, отделения клинической и экспериментальной иммунологии ГБУЗ ГKB №29 им. Н.Э. Баумана г. Москвы.

Апробация работы. Материалы диссертационного исследования были представлены на VI Междисциплинарной конференции с международным участием «Современные проблемы системной регуляции физиологических функций» (Москва, 2022), XIV Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2020 г.), VII Международной конференции «Современные биотехнологии для науки и практики-2020» (С.-Петербург, 2020), Международной конферен-

ции «Рецепторы и внутриклеточная сигнализация» (Пушино, 2019 г.), на XI Всероссийской научно-практической конференции «Аллергические и иммунопатологические заболевания – проблема XXI века» (С.-Петербург, 2019), на шестой и седьмой российских конференциях «Нейроиммунопатология» (Москва 2010, 2012, 2022 гг.).

Публикации по теме диссертации. Всего по теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, 4 из которых в журналах, рекомендованных ВАК.

Личный вклад автора. Автор принимал непосредственное участие в разработке концепции исследования, в постановке его цели и задач, в сборе и анализе материалов исследования, проведении большей части лабораторных исследований, формировании базы данных, анализе и интерпретации полученных данных, статистической обработке материала. Разработка иммуноферментных тест-систем и сбор клинического материала проводились совместно с научным руководителем д.м.н. Т.С. Будыкиной.

Степень достоверности результатов. Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным количеством обследованных женщин и их новорожденных ($n=188$), использованием современных лабораторных методов исследования, высокой специфичностью, надежностью и воспроизводимостью созданных иммуноферментных тест-систем для определения АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину. Примененные методы соответствуют поставленным задачам. Используются адекватные методы статистического анализа. Обоснованы научные выводы и положения, выносимые на защиту. Они объективно и полноценно отражают основные результаты диссертационной работы.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Инсулинзависимый сахарный диабет как аутоиммунное заболевание

Инсулинзависимый сахарный диабет 1 типа (СД1) остается одним из наиболее распространенных и опасных заболеваний. Несмотря на высокую вариабельность по частоте заболевших в различных этнических популяциях (от 1 чел. на 1 млн. в год в некоторых областях Китая до 400 чел. на 1 млн. в Финляндии) драматический рост заболеваемости СД1 в последние десятилетия зафиксирован везде, в том числе в регионах, прежде не отличавшихся высокой частотой встречаемости этой патологии [Дедов И.И. и соавт., 2017, 2021; Кузнецов Е.В. и соавторы 2017]. В Российской Федерации общая численность пациентов с СД, состоящих на диспансерном учете, на 01.01.2021 г., по данным регистра, составила 4 799 552 (3,23% населения РФ), из них: СД1 — 5,5% (265,4 тыс.), СД2 — 92,5% (4,43 млн), другие типы СД — 2,0% (99,3 тыс.). Динамика распространенности (2016-2020 гг.) составила при СД1 168,7→180,9/100 тыс. населения, при СД2 2709→3022/100 тыс. населения; заболеваемости — при СД1 10,5→7,7/100 тыс. населения, при СД2 219,6→154,2/100 тыс. населения [Дедов И.И. и соавт., 2021]. Широкая распространенность и постоянный рост заболеваемости СД (как и СД1) во всем мире характерен не только для популяции взрослых людей, но и для детей первых лет жизни [Кураева Т.Л., 2013; Atkinson M.A. et al., 2009].

По своей этиологии СД1 часто имеет аутоиммунный генез. При этом происходит нарушение биосинтеза инсулина β -клетками поджелудочной железы в результате их деструкции с последующей потерей контроля уровня глюкозы в крови.

Одной из основных причин деструкции β -клеток ранее считали формирование в островках Лангерганса очагов воспаления, называемых инсулитами, которые инфильтрованы мононуклеарными клетками: CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами, макрофагами и дендритными клетками, с преобладанием CD8⁺ Т-клеток. Полагали, что образование инфильтратов и редукция β -клеток является

основным механизмом развития СД1 [Anand V. et al., 2021; Foulis A.K., 1986]. Однако, проведенные в последующем исследования образцов ткани поджелудочной железы пациентов с СД1 показали, что редукции β -клеток различной степени выраженности наблюдается у всех больных, в то время как инсулиты выявляются только у половины из них. При этом в очагах воспаления наблюдалась экспрессия молекул МНС II класса и гиперэкспрессия молекул МНС I класса. Показана взаимосвязь выраженности инсулитов и гиперэкспрессии МНС I с содержанием глюкозы в крови [Foulis A.K., 1986; Willox A. et al., 2008; Wherrett D.K., 2021].

Как при любом воспалительном процессе в крови пациентов с СД1 обнаруживаются медиаторы воспаления. У больных уже на ранних сроках заболевания повышено содержание в крови провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-16, уровни которых особенно высоки у продолжительно болеющих пациентов [Qiao Y.C. et al., 2017; Ozer G. et al., 2003; Lo H.C. et al., 2004; Зак К.П. и Попова В.В., 2018].

В литературе описано несколько механизмов, вызывающих разрушение β -клеток. Полагают, что одной из причин β -клеточной деструкции является Fas-обусловленный апоптоз, вызванный взаимодействием Fas-рецепторов, расположенных на β -клетках, и Fas-лигандов, экспрессированных на мононуклеарных клетках, инфильтрирующих ткань поджелудочной железы. Взаимодействие Fas-молекул запускает процесс апоптоза [Воробьев А.А., 2006; Пекарева Е.В. и соавторы, 2010]. Существует точка зрения, согласно которой в норме Fas-молекулы отсутствуют на поверхности панкреатических β -клеток и появляются при СД1. При этом β -клетки, расположенные ближе к Т-лимфоцитам, продуцирующим Fas-лиганды, подвержены наиболее интенсивному апоптозу [Stassi G. et al., 1997].

Большая роль в развитии очагов деструкции в поджелудочной железе при СД1 отводится аутоиммунным процессам. В качестве основных маркеров аутоиммунного процесса поджелудочной железы при СД1 рассматривают аАТ, распознающие инсулин, декарбоксилазу глутаминовой кислоты (GAD65), белковую тирозинфосфатазу IA-2 и транспортер цинка 8 (ZnT8), т.е. антигены, которые обнаружены на мембране секреторных гранул в бета-клетках поджелудочной

железы [Larsson H.E. et al., 2007, 2013; Lampasona V. et al., 2016]. Существует мнение, согласно которому, связанные с диабетом аАТ непосредственно не участвуют в разрушении β -клеток, а функционируют как биомаркеры продолжающегося деструктивного процесса [Knip M. et al., 2016].

Нарушение иммунной регуляции рассматривается как один из наиболее вероятных механизмов неконтролируемого апоптоза β -клеток. Присутствие чужеродных антигенов в очагах воспаления островков Лангерганса может индуцировать гипериммунный ответ и способствовать запуску процесса селективного неконтролируемого апоптоза β -клеток в очагах воспаления и развитию СД1. Это подтверждается некоторыми клиническими и экспериментальными наблюдениями. Например, описана стойкая вирусная инфекция β -клеток у диабетических больных, а также у животных с СД в модельных экспериментах [De Maria, 1998; Moriwaki M. et al., 1999; et al., 2014; Richardson S., 2018].

Среди причин, определяющих развитие СД1, большое значение придается генетическому фактору [Atkinson M., 2009, Ergo F., 2013]. По своему генезу СД1 является гетерогенным и полигенным заболеванием. Наиболее значимая роль в предрасположенности к СД1 принадлежит генам, расположенным в локусе главного комплекса гистосовместимости HLA II класса на хромосоме 6p21 (гаплотипы HLA-DR3 и HLA-DR4), на которые приходится до 45% генетически обусловленного риска развития СД1 [Buzzetti R. et al., 1998; Noble J.A., 2011, 2015; Steck A.K. et al., 2011, Steck A.K. et al., 2017]. Функция этих генов состоит в обеспечении клеточного иммунного ответа, т.е. презентации антигенных пептидов Т-лимфоцитами. Правда, специфичность этих генов для патогенеза СД1 остается не доказанной.

Значение гаплотипа II класса связано не только с хорошо известным риском развития заболевания, ассоциированного с HLA-DR3 и HLA-DR4, но и с дополнительным риском, вызываемым наличием DQ α - и DQ β -цепочек, увеличивающих предрасположенность к патологии еще на 10% [Todd J. et al., 2007, 2010, 2018; Potter K. 2000].

СД1 является полигенным заболеванием, в развитии которого могут участвовать не только HLA-локусы. Всего в настоящее время идентифицировано более 50 различных других локусов, увеличивающих предрасположенность к развитию СД1 [Schranz D.B. et al., 2000; Todd J.A. et al., 2007, 2018; Barrett D.G. et al., 2009; Onengut-Gumuscu S, et al., 2015]. Однако в настоящее время удалось выяснить функции только нескольких из них. В частности, locus в области инсулинового гена (INS) на хромосоме 11p5.5 (IDDM2) также повышает риск заболевания на 10% [Bennet S. et al., 1996; Buzzetti R., 1998; Atkinson M., 2009; Shimizu I. et al., 2006].

СД1 выделяется среди других аутоиммунных заболеваний тем, что помимо формирования предрасположенности некоторые МНС гаплотипы обеспечивают значительную защиту (протекцию) от заболевания. Так, при мониторинге пациентов, проведенном в США и в Европе, выявлены 20% обследованных, несущих протективный гаплотип HLA-DR2 (правда, среди больных детей с СД1 DR2-положительных было менее 1%).

Превалирование активности одной HLA аллели над другой или влияние факторов окружающей среды может оказаться решающим в развитии этой патологии [Todd J., 2010]. Генетические исследования, направленные на определение риска развития СД1, ведутся уже несколько десятилетий и характеризуются определенными успехами [Noble J.A., 2015]. Однако высокая вариабельность в области HLA позволяет делать прогноз с точностью, не превышающей 50%. А при оценке влияния на заболевание локусов, не связанных с HLA и характеризующихся широким полиморфизмом, был сделан вывод о том, что объяснить возникновение патологии только с помощью генетических факторов не представляется возможным [Eringsmark R., 2013]. Исследования последних лет свидетельствуют о том, что все меньшая зависимость наблюдается между генотипом высокого риска и реальной заболеваемостью СД1 [Borchers A.T. et al., 2010; Penno M.A. et al., 2013]. Таким образом, данные генетических исследований указывают на очень важную, но не решающую роль генетических факторов в развитии СД1.

Значение окружающей среды для запуска воспалительного процесса и разрушения β -клеток остается дискуссионным. До настоящего времени исследователи не выявили те факторы, которые обязательно запустят этот патологический процесс. Но известны факторы риска, способствующие развитию СД1, к которым относят: вирусные инфекции (энтеровирусы, цитомегаловирусы, ротавирусы) [Laitinen O.H. et al., 2014], некоторые особенности питания детей в раннем возрасте (особенно введение в рацион питания новорожденных компонентов коровьего молока) [Frederiksen B. et al., 2013], влияние различных токсинов (в частности, производных нитрозаминов), вакцинации [Penno M.A. et al., 2013; Tate J.E. et al., 2009]. Однако при рассмотрении этих факторов не получено убедительных доказательств их участия в качестве пусковых механизмов развития СД [Graves P., 1999; Hummel M., 2000; Olivieri B. et al., 2021]. В последнее время большое внимание уделяется исследованию роли микробиома человека в риске развития СД1, и изучению факторов, которые существенным образом сказываются на его формировании [Paun A. et al., 2016; Zheng P. et al., 2018]. Было показано, что кишечный микробиом детей групп риска развития СД1 имеет свои отличия [Kostic A.D. et al., 2015].

Традиционно при рассмотрении патогенеза СД1 принято считать, что агенты окружающей среды могут работать в качестве триггеров при запуске патологического процесса только у генетически предрасположенных индивидуумов. Однако в последние десятилетия сформировалась несколько иная, более комплексная модель запуска патологического процесса. Полагают, что врожденная иммунная дисрегуляция в сочетании с врожденным дефектом органа-мишени может в течение жизни подвергаться влиянию множественных факторов среды (инфекций, компонентов питания и т.д.), индуцируя аутоиммунные реакции [Atkinson M., 2009; Ramondetti F., 2012; Parikka V. et al., 2012]. Более того, окружающая среда способна влиять на динамику развития патологического процесса и на начало клинических проявлений СД1 после инициации аутоиммунных реакций [Eringsmark R., 2013].

При рассмотрении факторов среды, участвующих в запуске аутоиммунного процесса чаще всего в качестве таковых называют вирусные инфекции. Существует теория вирусной природы СД1, имеющая своих сторонников. Она базируется на многочисленных данных о присутствии вирусов или противовирусных антител у пациентов с СД1 [Sadeharju K, 2001; Filippi C.M., von Herrath M.G, 2008; Schneider D.A., von Herrath M.G., 2013]. В числе таких вирусов чаще других выступает энтеровирус Коксаки В4, реже - ротавирусы, цитомегаловирусы [Blomgvist M., 2002; Jaidane H., 2009; Richer M., 2009; Trier N.H. et al., 2022]. Теория вирусной природы диабета подкрепляется имеющимися данными, например, о высоком содержании антител к вирусу Коксаки у пациентов с СД1 в отличие от здоровых. Кроме того, иммунореактивный капсидный белок vp1 этого вируса чаще, чем у здоровых лиц, выявляется в очагах воспаления поджелудочной железы у пациентов с впервые диагностированным диабетом [Richardson S., 2018].

Имеются косвенные данные, указывающие на значение такого явления как молекулярная мимикрия для запуска аутоиммунного процесса при СД1. Так внедрение чужеродных антигенов может индуцировать аутоиммунные реакции с направленностью к β -клеткам поджелудочной железы. На участие механизма молекулярной мимикрии в индукции СД1 указывают данные о сходстве некоторых эпитопов глутаматдекарбоксилазы (GADA65) с вирусными пептидами, иммунная реакция на которые сопровождается продукцией аАТ, связывающих GADA65 [Trier N.H. et al., 2022]. Показано также, что антиинсулиновые АТ могут перекрестно взаимодействовать с ретровирусным белком р73, экспрессированным на β -клетках NOD мышей [Serreze D., 1988; Amdare N. et al., 2021]. Имеются и другие примеры патологических влияний негенетических факторов, однако убедительных подтверждений их роли как индукторов СД1 не получено.

Несмотря на то, что ведущая роль иммунной системы в этиологии СД1 окончательно не доказана, заболевание принято рассматривать как аутоиммунную патологию, где основная роль принадлежит Т-лимфоцитам. В то же время, имеются данные, указывающие на важную роль В-лимфоцитов в качестве презентир-

рующих некоторые аутоантигены β -клеток, например, инсулин и GADA, Т-клеткам [Amdare N. et al., 2021; Bendelac A. et al., 1987; Serreze D. et al., 1996 Oulghazi S. et al., 2020]. В связи с этим даже рассматривалась возможность использовать антиген-специфические В-клетки в качестве терапевтического средства для модуляции антиген-презентирующей активности Т-хелперов при СД1 [Davidson H., 1989; Dingman R., Balu-Iyer S.V., 2019].

Существует мнение, согласно которому иммунные реакции при СД1 интерпретируются как участники процессов, следующих за разрушением β -клеток, когда клетки иммунной системы привлекаются для удаления продуктов распада. Аутоантителам в этих процессах отводится роль свидетелей и маркеров процесса разрушения β -клеток, то есть связанные с диабетом аАТ непосредственно не участвуют в разрушении β -клеток, а функционируют как биомаркеры продолжающегося деструктивного процесса [Knip M. et al., 2016].

Альтернативная точка зрения отводит ведущую роль неконтролируемому нарушению функций иммунной системы, вызывающему повышенную реакцию на некий исходный толчок, ведущий к разрушению β -клеток и удалению продуктов их распада. Аутоантитела к антигенам этих клеток вызывают их последующее разрушение [Borchers A. et al., 2010; Foustieri G. et al., 2017]. Независимо от того, является ли аномальная активация аутоиммунитета причиной разрушения β -клеток или его следствием, очевидно, что происходит взаимодействие клеточных аутоантигенов с антиген-презентирующими клетками, поэтому СД1 в большинстве случаев имеет аутоиммунную природу, а аАТ выступают в качестве свидетелей процесса аутоиммунного разрушения β -клеток.

Аутоантитела к компонентам островковых клеток вместе с аутоиммунными инсулитами появляются на ранних стадиях заболевания [Bonifacio E. et al., 2008; Löfvenborg J.E. et al., 2021]. Основными маркерами аутоиммунного процесса поджелудочной железы при СД1 являются аАТ, распознающие инсулин, декарбоксилазу глутаминовой кислоты (GAD65), тирозинфосфатазу IA-2 и транспортер цинка 8 (ZnT8), т.е. антигены, которые обнаружены на мембране секреторных гранул в бета-клетках поджелудочной железы [Lampasona V. et al., 2016]. Для

большинства больных СД1 свойственно повышенное содержание аАТ к островковым клеткам и к компонентам β -клеток, особенно к инсулину. Зарубежными авторами была проведена сравнительная оценка способности этих аАТ предопределять последующее развитие СД1, показавшая, что наибольшей прогностической ценностью обладают аАТ к инсулину (IAA), несколько меньшей – к островковым клеткам (ICA-2) и значительно меньшей - к цитоплазматическим компонентам β -клеток: к глутаматдекарбоксилазе (в особенности к GADA65) и к тирозинфосфатазе (IA-2) [Kimpimaki T. et al., 2000; Smith L.B. et al., 2021]. Этот результат не является неожиданным, если принять во внимание, что указанные цитоплазматические антигены не обладают высокой специфичностью для β -клеток тогда как аАТ к инсулину такой специфичностью обладают, что привлекает к ним особое внимание как к свидетелям процесса разрушения β -клеток [Verge C. et al., 1998; Atkinson M. et al., 2009, Ng K. et al., 2022].

Важным диагностическим преимуществом антиинсулиновых АТ перед другими является их появление в крови пациентов в доклинической фазе диабета, т.е. в начальный период формирования инсулитов и процессов разрушения β -клеток, а главное, в период отсутствия клинических признаков заболевания. Этот период преддиабета может длиться в течение многих месяцев и даже лет до наступления клинической фазы заболевания, когда продукция инсулина уменьшается настолько, что гормон не может контролировать уровень глюкозы в крови [Gorsuch A. et al., 1981; Jia X. et al., 2019; Ziegler A. et al., 1999; Wyatt R.C. et al., 2022]. Характерной особенностью патогенеза СД1 является длительный период бессимптомной фазы заболевания, когда процесс формирования инсулитов и разрушения β -клеток уже происходит, но клинические признаки еще не выявляются. Поэтому антитела к компонентам островковых клеток, в том числе к инсулину, считаются важными и надежными маркерами для ранней диагностики и превентивной терапии сахарного диабета.

Некоторые исследователи при этом полагают, что наиболее достоверным и полным биохимическим указанием на наличие и характер течения патологическо-

го процесса является параллельное определение нескольких видов антиостровковых аАТ [Bingley P. et al., 2016; Roll U. et al., 1996; Pacaud D. et al., 2021].

Клинические признаки диабета обычно появляются на поздних стадиях болезни, на этапе практически полного разрушения β -клеток, которое может достигать 80-90%, и почти полного прекращения продукции инсулина, когда антиинсулиновые аАТ уже практически не синтезируются. В этот период они могут появляться только в ответ на вводимый экзогенный инсулин [Brooks B., 1999], что может вызвать развитие резистентности и увеличение дозы инсулина [Wichterle D., 1995].

Биологические и клинические эффекты антиинсулиновых АТ могут быть различны. В отдельных случаях АТ1 могут функционировать в качестве белков, связывающих инсулин и тем самым предохраняющих молекулу гормона от протеолиза. В других случаях АТ1 могут выступать в роли белков, блокирующих активность инсулина. В первом случае поступающий в кровь инсулин связывается с низкоаффинными АТ1, что способствует формированию в плазме динамического равновесия между свободным и связанным с АТ1 инсулином. По мере захвата инсулина рецепторами и его функционального использования происходит диссоциация комплексов инсулин-АТ1. Таким образом, АТ1-носители могут пролонгировать период действия инсулина. Кроме того, АТ1, связывая инсулин, способствуют его переходу через плацентарный барьер от матери к плоду.

С другой стороны, антиинсулиновые АТ связывают инсулин и блокируют его действие. Такие сравнительно высокоаффинные АТ1, взаимодействуя с инсулином более прочно, затрудняют диссоциацию комплексов инсулин-АТ1 и могут способствовать снижению содержания в плазме свободного инсулина ниже физиологического уровня [Lacroix-Desmazes S., 1998; Siloși I. et al., 2016].

В норме имеет место равновесие между этими процессами, однако его смещение в сторону преобладания тех или других антиинсулиновых АТ может приводить к проявлению клинически выраженных или субклинических изменений, либо предшествовать развитию патологии. При преобладании АТ1-носителей у больных СД1 наблюдается отсрочка ацидоза даже при длительном

отсутствии экзогенного инсулина. Преобладание AT1-блокаторов может способствовать развитию гипергликемии и глюкозурии, даже при высоких дозах вводимого инсулина [Sodoyez J. et al., 1991; Uriuhara A. et al., 1994; Komiya T. et al, 2021].

Важным следствием гиперпродукции антиинсулиновых АТ служит их способность индуцировать синтез антиидиотипических антител (АИАТ) или антител второго порядка [Elias D. et al., 1987; Lamb M.M. et al., 2008; Полетаев А.Б. и соавт., 1998]. Появление АИАТ является вполне закономерным процессом, описанным в сетевой теории организации иммунной системы, сформулированной в 1973 г. Н. Ерне. Согласно данной теории, переменные участки молекул любых антител (в нашем случае AT1 к инсулину) могут выступать в качестве антигенов и стимулировать синтез анти-антител. Таким образом, AT1 способны связываться с соответствующими анти-антителами (АИАТ), или, как их еще называют, антителами второго порядка (AT2), переменные участки которых, в свою очередь, тоже способны выступать в качестве антигена и индуцировать образование выработку AT1-подобных антител третьего порядка (AT3), которые контролируют эффекторные влияния AT2. AT3, подобно AT1, способны связывать нативный антиген, однако их константа связывания на порядок ниже. Они обладают большей аффинностью к AT2, чем к самому антигену.

Известно, что первичные антитела вырабатываются не к полной молекуле антигена, а лишь к его антигенно детерминированному участку - эпитопу, состоящему из нескольких аминокислотных остатков. Участок антитела, связывающийся с эпитопом – паратоп, при выработке анти-антитела сам выступает в качестве эпитопа, так что паратоп одного антитела может взаимодействовать с паратопом другого антитела. В этом случае паратоп первичного антитела, действующий как специфическая антигенная детерминанта (эпитоп) для анти-антитела, называется идиотипом, а соответствующие антитела к нему - идиотипическими (AT1). Анти-антитела, связывающиеся с AT1, называются антиидиотипическими (АИАТ), или антителами второго порядка (AT2).

Исходя из сказанного, можно считать, что АИАТ представляют собой зеркальное подобие эпитопа исходного антигена (в нашем случае – инсулина), что позволяет предположить способность этих анти-АТ1, подобно инсулину, связываться с рецепторами инсулина и функционировать в качестве антител к рецепторам инсулина.

АТ к рецепторам инсулина были описаны как при клинически выраженном синдроме инсулинорезистентности, так и при гипогликемических состояниях. В последнем случае АТ к рецепторам инсулина проявляли активность, свойственную инсулину [Tailor S. et al., 1982; Elias D. et al., 1987; Rochet N. et al., 1989; Cochran E. et al., 2016]. По сведениям ряда авторов, у многих пациентов с высоким уровнем АТ1 к инсулину отмечается также и повышенное содержание АИАТ (АТ2) к инсулину [Вахрушева Л.Л. и соавт., 2004; Евсюкова И.И., Кошелева Н.Г., 2009].

В литературе имеется лишь очень ограниченное число публикаций, касающихся изучения содержания АИАТ к инсулину при диабете [Thomas J., 1986, 2018; Diaz J., 1988; Nell L., 1989; Felton J.L. et al., 2018; Полетаев А.Б. с соавт., 2000; Будыкина Т.С., 2010]. Что касается АТ3 к инсулину при СД1, то, судя по данным литературы, таких исследований не проводилось. Поэтому в своей работе мы сделали акцент на изучении последствий нарушения равновесия в продукции АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину для течения СД1 во время беременности и состояния новорожденных в начальном периоде их адаптации.

1.2. Сахарный диабет и беременность

Беременность у женщин с СД1 сопровождается выраженными изменениями многих обменных и физиологических процессов: нарушениями углеводного и жирового обмена, изменениями микроциркуляции, иммунного статуса. Это приводит к значительным сдвигам в гомеостазе и может способствовать развитию выраженных трофических изменений в органах и тканях. Как показывают эпидемиологические исследования, у женщин с СД1 повышен риск неблагоприятных исходов беременности, включая перинатальную смертность, выкидыши, прежде-

временные роды, а также бесплодие [Айламазян Э.К. и соавт., 2017; Капустин Р.В. и соавт., 2018 и 2020; Borchers A.T., 2010]. В Глобальном докладе по диабету Всемирной организации здравоохранения (2016) показано, что некомпенсированный полностью сахарный диабет во время беременности может оказывать негативное воздействие на мать и плод, и приводить к существенному увеличению риска потери плода, врожденных пороков развития, мертворождения, перинатальной смертности, акушерских осложнений и материнской заболеваемости и смертности [Global report on diabetes, 2016].

Само течение беременности намного чаще, чем у здоровых женщин, осложняется развитием патологических состояний: гестационной преэклампсией, склонностью к гипо- и гипергликемии, кетоацидозом, быстрым прогрессированием сосудистых осложнений, таких как диабетическая ангиопатия, ретино- и нефропатия [Айламазян Э.К. и соавт., 2017; Капустин Р.В. и соавт., 2018 и 2020; Ali D.S. et al., 2020; Bequer L. et al., 2018; Borchers A.T. et al., 2010].

Аномальный уровень гликемии остается важнейшим показателем выраженности диабетического процесса. Главным инструментом снижения частоты осложнений беременности и улучшения перинатальных исходов является достижение максимально возможной нормогликемии как до, так и во время беременности [Евсюкова И.И. и соавт., 1996, Петров Ю.А. и соавторы, 2019]. Имеющийся клинический материал свидетельствует об эффективности строгого контроля за уровнем гликемии у беременных. В условиях контроля за гликемическим профилем и при достижении нормогликемии до беременности или на ее ранних сроках значительно уменьшен риск развития сосудистых осложнений, гестозов, а также макросомии у плода [Краснопольский В.И. и соавторы, 2005; Куницина М.А. и соавт., 1996; Bell R. et al., 2008; Cosson E. et al., 2021; Jensen D.M. et al., 2004; Shand A.W. et al., 2008].

Одним из условий благоприятного исхода беременности при СД является компенсация углеводного обмена во время гестации, поддержание определенного уровня сахара в крови, а также уровня гликозилированного гемоглобина и фруктозамина в пределах нормы без развития кетонурии, что достигается, прежде

всего, назначением адекватной инсулинотерапии [Cosson E. et al., 2021; Evers I.M. et al., 2004, Voormolen D.N. et al., 2013].

О сходных результатах сообщает и ряд других зарубежных исследователей, которым удавалось в отдельных группах женщин при надлежащем ведении беременных и строгом диабетическом контроле, проводившемся в специализированных центрах, добиться таких исходов беременности у больных СД1, которые примерно соответствовали исходам у женщин без диабета [Bell R. et al., 2008; Rys P.M. et al., 2018].

Однако, многие исследователи считают, что распространенное мнение о том, что строгий гликемический контроль у женщин с СД1 является гарантией благоприятного исхода беременности, во многих случаях не подтверждается. По их данным, риск врожденных пороков остается повышенным в 2-6 раз, а риск перинатальной смертности - в 3,5–8,5 раз (по сравнению с общей популяцией) даже у женщин, у которых осуществлялся постоянный мониторинг беременности и жесткий гликемический контроль, позволявший добиваться нормального уровня глюкозы [Jensen D.M. et al., 2004; Shand A.W. et al., 2008; Rys P.M. et al., 2018].

По мнению ряда отечественных исследователей, добиться удовлетворительной компенсации углеводного обмена при СД1 в период гестации удастся только у 25-39% пациенток [Федорова М.В. и соавторы, 2001; Есаян Р.М. и соавторы, 2009; Яркова Н.А. и соавторы, 2016]. При этом достижение нормогликемии не приводит к полной нормализации обменных процессов у беременной [Грязнова И.М. и Второва И.М., 1985; Древаль А.В., 2013]. Более того, по данным зарубежных авторов, использование интенсивной инсулинотерапии и жесткого гликемического контроля значительно увеличивает риски развития гипогликемии, которая не только способствует неблагоприятному исходу беременности, но и повышает вероятность ухудшения здоровья матери [Evers I.M. et al., 2004; Workgroup on hypoglycemia, 2005; Moy F.M. et al., 2017].

Тем не менее, применение инсулинотерапии в настоящее время остается основным инструментом коррекции состояния беременных с СД1. Потребность в инсулине имеет свои особенности и существенно варьирует в процессе гестации.

В первой половине беременности она снижается почти на 30% от первоначальной дозы, что сопровождается склонностью к гипогликемическим состояниям. Начиная с 16-20 недель гестации, вслед за активизацией функции плаценты, коры надпочечников и гипофиза, потребность в инсулине возрастает примерно на 50-100%. Такое резкое повышение часто влечет за собой развитие кетоацидоза и гипергликемических состояний. В последние недели беременности потребность в инсулине снижается, что грозит развитием гипогликемии у матери и антенатальной гибелью плода.

В периоды гипогликемии у матери могут наблюдаться острые нарушения кровообращения в мозге и сетчатке глаза, а также сбои в работе сердца, а у плода - острые гипоксические состояния. Подобные осложнения пагубно влияют на беременную и плод, особенно при появлении поздних осложнений диабета таких, как кетонурия, декомпенсация СД1, прекома. Такие нарушения в большинстве случаев принято объяснять неадекватной инсулинотерапией.

Существует и другая сложность при использовании инсулинотерапии. Исследователи обращают внимание на тот факт, что не все препараты инсулина, предназначенные для коррекции гликемических отклонений, способствуют благоприятным исходам беременности. Кроме того, постоянное применение инсулина или его модификаций может грозить формированием стойкой гипогликемии у пациентов [Tamborlane W.V. et al., 1992; Borchers A.T. et al., 2010].

Несмотря на очевидную роль гипергликемии в развитии осложнений при СД1 у беременных, большая роль в их развитии принадлежит аутоиммунным процессам. При беременности изменяются многие параметры гомеостаза, в том числе и в иммунной системе. Например, выявлено повышение секреции фактора некроза опухолей (ФНО)- α и интерлейкина (ИЛ)-12 как при нормально протекающей беременности, так и при осложненной СД1 [Pertyńska-Marczewska M. et al., 2010]. Однако имеется ряд нарушений со стороны иммунной системы, характерных для пациенток с СД1. У беременных с этой патологией выявлено повышение экспрессии цитокинов, продуцируемых нейтрофилами (по сравнению с беременными женщинами без диабета), повышение уровня ИЛ-6, повышение со отноше-

ния Т-хелперов первого и второго типа (Th1/Th2) [Groen B. et al., 2015]. Так же у беременных с СД1 повышен процент натуральных киллерных Т клеток и снижен процент натуральных киллеров (НК) по сравнению со здоровой беременностью или с небеременными больными СД1. НК матки и децидуальной оболочки выполняют уникальные функции, включая регуляцию инвазии трофобласта и васкуляризацию плаценты [Moffett-King A., 2002]. У женщин с ГСД и СД1 функции этих клеток меняются, становится другим профиль продуцируемых ими цитокинов, повышается содержание провоспалительных цитокинов [Chiba H., et al., 2016; Hara C de C.P., 2016]. При СД1 наблюдали уменьшение содержания НК CD56⁺ [Burke S.D., et al., 2015]. У беременных с СД1 повышен уровень апоптоза дендритных клеток и снижен уровень апоптоза $\gamma\delta$ -Т клеток [Friebe-Hoffmann U. et al., 2017].

Довольно большая часть пациенток с СД1 страдает ожирением. Ожирение повышает риск развития осложнений при беременности, а также является дополнительным фактором риска развития патологии плода. У беременных женщин с ожирением показано изменение экспрессии ряда генов в жировой ткани (индол-этиламин N-метилтрансфераза, ингибитор тканевого фактора-2, рецептор эфрина типа B) [Bashiri A., et al., 2014]. Ожирение повышает риск преэклампсии [Huda S. et al., 2014] и метаболического воспаления в жировой ткани, сопряженного с накоплением в ней CD68⁺ макрофагов, повышением экспрессии ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-8, MCP1 (monocyte chemotactic protein-1), а также рецепторов CD14 и TLR4 [Basu S. et al., 2011].

К числу больных СД1 часто относят некоторых пациенток с ГСД, у которых клиническая симптоматика имеет сходство с СД1 и впервые проявляется во время беременности. У данной группы женщин могут выявляться гены HLA DR3 и HLA DR4, характерные для людей, генетически предрасположенных к СД1. Беременность у этих женщин во многих случаях способствует переходу ГСД в СД1 или СД2. При этом высокий риск клинического развития диабета ассоциируется с повышенным содержанием аАТ к островковым клеткам, что может служить

прогнозом дальнейшего неблагоприятного развития СД [Jarvela I.Y. et al., 2006; Dai F. et al., 2022].

В некоторых случаях именно беременность провоцирует проявление СД и повышенный биосинтез аАТ к инсулину и некоторым антигенам островковых клеток [Järvelä I.Y. et al., 2006; Dai F. et al., 2022]. Так, в одной из популяций японских женщин было обнаружено, что аАТ к инсулину и β -клеткам островков поджелудочной железы выявляются только в период беременности и не определяются в ее отсутствие [Toshihiro M. et al., 2011].

Таким образом, нормализация содержания сахара в крови больных СД1 не всегда обеспечивает благополучное течение беременности и ее исход. Сравнивая результаты эпидемиологических наблюдений за течением и исходами беременности при СД1 у матерей в разных странах, где зафиксированы как низкие, так и высокие уровни врожденной патологии, перинатальных нарушений и смертности, исследователи пришли к заключению о наличии иных факторов, помимо уровня глюкозы в крови, влияющих на течение и исход беременности [Borchers A.T. et al., 2010].

Одним из таких факторов признаны особенности аутоиммунных процессов у беременных женщин, страдающих СД, в частности, повышенное содержание аАТ к компонентам β -клеток, прежде всего к инсулину [Potter K. et al., 2000; Atkinson M. et al., 2009; Borchers A.T. et al., 2010; Hampe C.S., 2012]. Присутствие таких аАТ в крови беременных женщин с СД1 является общеизвестным фактом. Число пациенток с повышенным уровнем антиинсулиновых аАТ, по данным разных авторов, колеблется от 40% до 80% в общей популяции обследованных пациенток с СД1 [Potter K. et al., 2000, Hampe C.S., 2012; Smith L.B. et al., 2021]. Высокое содержание в крови пациенток с недиагностированным СД антиинсулиновых аАТ (также, как и антител к GADA и цитоплазматическому антигену) означает высокий риск развития СД1, а их отсутствие – достаточно низкую вероятность развития заболевания [Verge C. et al., 1998; Kimpimaki T. et al., 2000; Smith L.B. et al., 2021].

1.3. Иммунологические взаимоотношения матери и плода при СД1 и их влияние на развитие ребёнка в раннем неонатальном периоде

Исторически СД1 рассматривали как заболевание, дебют которого относится чаще всего к детскому и юношескому возрасту [Liu C. et al., 2021]. Именно в этом возрасте антиостровковые аАТ, особенно антиинсулиновые, присутствуют чаще всего и в наиболее высоком титре [Karjalainen J., 1989; Smith L.B. et al., 2021]. Последующие исследования существенно изменили это мнение: было установлено, что диабет может дебютировать практически в любом возрасте. В частности, от 5% до 30% пациентов, предварительно диагностированных как больные СД2 типа, затем на основании иммунологических данных были признаны больными СД1 типа [Zimmet P. et al., 2016; Turner R., 1997]. В некоторых странах, например, в Японии, большинство случаев СД1 выявляется у взрослых людей [Ingawa A., 2000].

Что касается риска развития диабета у детей от родителей, страдающих этой патологией, существует множество исследований, указывающих на генетическую предрасположенность к повышенному синтезу антиостровковых антител и развитию СД1. В общем объеме имеющейся информации можно найти усредненные данные о частоте встречающегося диабета как 3-4% (В странах Европы эти результаты могут отличаться по географии исследований, но в среднем они колеблются от 7% до 2,5% [EUROLAB AE Study Group, 2000]. На начало 2017 г. общая численность пациентов с СД в РФ составила 4,348 млн человек (2,97% населения). из них 6% - пациенты с СД1 [Дедов И.И. и соавт., 2017], на окончание 2018 г., по данным федерального регистра СД, в РФ состояло на диспансерном учете более 4,5 млн человек (3,1% населения), из которых СД 1 типа составлял 6% [Дедов И.И. и соавт., 2019].

Данные по перинатальной смертности при СД колеблются в довольно больших пределах. К 2004 году перинатальная смертность по Европе составляла 3-5% [Evers I.M. et al., 2004; Jensen D.M. et al., 2004]. По данным Borchers A.T. et al., 2010, в разных странах и популяциях перинатальная смертность у беременных с СД1 составляет от 0 до 6,6%, неонатальная смертность от 0 до 2,6%. По данным

Lepercq J. et al. (2019), частота тяжелых врожденных пороков развития составила 1,5%, а перинатальная смертность - 0,7%. По данным Солодковой И.В. и соавт. (2015), перинатальная смертность при беременностях, осложненных СД, остается высокой и составляет в России от 3 до 15%.

Материнский диабет в процессе беременности существенно влияет на метаболизм и развитие плода: по данным Melamed N, Hod M. (2009), Lepercq J. et al. (2019), риск рождения детей с врожденными аномалиями выше, чем в общей популяции в 2-6 раз, а перинатальной смертности в 3,5-8,5 раз. У детей часто наблюдают макросомию, неонатальную гипергликемию, изменения толерантности к глюкозе, нарушения липидного метаболизма, аномальную массу тела [Silverman B., 1993, 1995; Plagemann A. et al., 1997; Weiss P., 2000; Lindsay R. et al., 2004; Nielsen G. et al., 2006; Cortelazzi D., 2007; Bowers K. et al., 2021]. По результатам эпидемиологических исследований составлен рейтинг наиболее распространенных заболеваний, которыми страдают дети женщин с СД1. Оказалось, что такие дети, в первую очередь, подвержены заболеваниям нервной системы, а на втором месте – патология сердечно-сосудистой системы [Macintosh M., 2006; Солодкова И.В. и соавт., 2015].

Метаболические нарушения, в том числе риск аномальной толерантности к глюкозе у плода является следствием фетальной гиперинсулинемии. Инсулин у новорожденных имеет, главным образом, материнское происхождение и поступает к плоду трансплацентарно в составе комплекса с антиинсулиновыми антителами класса IgG. Высокие титры АТ к инсулину могут оставаться в крови новорожденного до 6 месяцев жизни [Stumpp C., 2014]. Фетальная гиперинсулинемия, выявляемая в амниотической жидкости и в пуповинной крови у новорожденных непосредственно после родов [Dornhorst A., 1994, Lindsay R.S., 2003], а также связанные с этим колебания уровня глюкозы способствуют развитию толерантности к глюкозе [Silverman B., 1995; Weiss P., 2000; Desoye G., Nolan C.J., 2016] и формированию макросомии [Silverman B., 1993; Bowers K. et al., 2021]. По данным английских исследователей, несмотря на значительное улучшение в последние десятилетия методики гликемического контроля при ведении беременных с

СД1, поддержание нормального уровня глюкозы у них остается проблематичным. Многочисленные исследования, направленные на выяснение связи содержания глюкозы с повышенным весом новорожденных не дают однозначного ответа [Combs C., 1992; Penney G., 2003; Кс К. et al, 2015]. Полагают, что масса тела новорожденных от матерей с СД1 остается в норме, если в среднем уровень глюкозы в крови матерей составляет менее 5.3 ммоль/л (95 мг/дл) [Mello G., 2000; Johnstone F. et al., 2006; Helman S. et al., 2020].

Риск развития макросомии у новорожденных от матерей с СД1 коррелирует не только с концентрацией глюкозы, но и с гестационными инфекциями у матерей, с генетической предрасположенностью к СД1 у детей и с присутствием антиостровковых аАТ. Например, различная патология у матерей во время гестации повышает риск формирования макросомии у детей, в то время как присутствие аАТ к инсулину снижает эти риски [Larssen H., 2007, 2013]. С этими данными согласуются выводы немецких исследователей о том, что как повышенная (>3700 г), так и сниженная масса тела (<3200 г) новорожденных ассоциируются с низким уровнем аАТ к инсулину у детей от матерей с СД1 [Bonifacio E. et al., 2008; Pasaud D. et al., 2021]. При этом имеющиеся данные не подтверждают наличия непосредственной связи между присутствием аАТ к инсулину у матерей с СД1 с массой тела новорожденных [Lindsay R., 2004; McCance D. et al., 2008].

Аутоантитела, определяемые в крови новорожденных, в значительной степени являются материнскими [Roll U., 1994; Pasaud D. et al., 2021]. Существует определенная корреляция между содержанием антител в пуповинной крови новорожденных и в крови матерей [Ziegler A., 1993; Bonifacio E, Achenbach P., 2019]. Перенос повышенных количеств материнских АТ1 к инсулину через плаценту способствует образованию в организме плода избытка циркулирующих инсулин-антительных комплексов, которые могут стать причиной развития гипогликемии или гиперинсулинемии с тяжелыми последствиями для новорожденных в постнатальном периоде [Berk M. et al., 1989; Härmäläinen A.M., 2002; Koczwara K. et al., 2004; Lepercq J. et al., 2019].

Многими авторами было показано, что у новорожденных детей от матерей с СД1 часто обнаруживаются АТ к инсулину, островковым клеткам, GAD65 и IA-2 как следствие трансплацентарного переноса из кровотока матери, и чаще всего они исчезают из кровотока детей в течение первого года жизни [Martikainen A. et al., 1996; Hämäläinen A.M. et al., 2000; Koczwara K. et al., 2004; Stumpp C. et al., 2014].

Материнские аАТ начинают появляться в кровотоке плода уже во втором триместре беременности, а исчезают медленно, как правило, к 6-9 месяцам, в редких случаях – к 1 году жизни. Полагают, что материнские аАТ в организме плода выполняют несколько функций: защищают его от инфекций, и, по-видимому, участвуют в специфической настройке иммунной системы развивающегося организма посредством феномена эпигенетического иммунного импринтинга [Абламуниц В.Г., 2016]. Влияние материнского аутоиммунного статуса на процессы, приводящие к инициации повышенного синтеза антиинсулиновых антител у потомства, было продемонстрировано, например, в экспериментах на NOD-мышях. У детенышей самок с модельным СД1 синтез собственных аАТ происходит с гораздо большей интенсивностью, чем трансплацентарное поступление к детенышам материнских антител, о чем свидетельствует повышенный уровень аАТ к инсулину у потомства по сравнению с соответствующим уровнем у самок [Melanitou E., 2004].

Собственная система гуморального иммунитета плода начинает формироваться примерно с 20-24 недель беременности [Хаитов Р.М., 2000; Галактионов В.Г., 1998, Прозоровская К.Н., 1981; Титов Л.П. и соавторы, 2009]. Антиостровковые аАТ определяются в крови новорожденного уже в первые месяцы жизни, а их концентрация существенно увеличивается к 9 месяцам жизни. Большинство исследователей указывает, что наиболее интенсивная продукция антиостровковых аАТ происходит в период между 9 месяцами и 3 годами жизни. В этот период значительно возрастают титры аАТ к инсулину, а затем (в меньшем количестве) к глутаматдекарбоксилазе [Atkinson M.A., 2009]. По некоторым наблюдениям раннее выявление у детей с генетическим риском аутоиммунных нарушений и быст-

рое нарастание у них титров аАТ к 3-6 месяцам жизни с определенностью указывают на последующее развитие СД1 у детей [Parikka V, 2012].

Антиостровковые АТ могут синтезироваться и у беременных, не страдающих СД1: у них определяются аАТ к инсулину, к GAD и к IA-2 как по отдельности, так и в комбинациях. При этом антиинсулиновые АТ вырабатываются в наибольшем количестве по сравнению с GAD и с IA-2 [Lindehammer S., 2011].

Изложенные выше факты указывают на повышенную продукцию материнских и фетальных аАТ к антигенам бета-клеток поджелудочной железы как на важнейший фактор многочисленных нарушений развития плода, его метаболизма и формирования функциональной незрелости органов и систем у ребенка, не соответствующих его гестационному возрасту, в том числе и со стороны нервной системы [Ginsberg-Felner F., 1980; Fay R., 1983; Thoenen H., 1987; Evers I., 2004; Jensen D.M. et al., 2004; Macintosh M., 2006].

Правда, существуют факторы, снижающие риски гиперпродукции антиостровковых аАТ и развития диабета у детей. Это не только упоминавшийся выше вес новорожденных (как высокий, так и низкий), но и уровень гликозилированного гемоглобина (HbA1c) в крови матерей с СД1. По данным немецких исследователей, постепенное увеличение в процессе беременности содержания HbA1c, выявляемое примерно у половины обследованных пациенток, непосредственно ассоциировано со снижением риска повышенной продукции аАТ к инсулину у их детей [Dahlguist G. 1996; Bonifacio E., 2019; Lepercq J. et al, 2019].

Содержание таких аАТ в крови признается в настоящее время (наряду с уровнем глюкозы) наиболее важным биохимическим маркером течения СД1 и показателем риска развития патологических осложнений и тяжелых последствий (вплоть до гибели) у новорожденных в неонатальном периоде. Поэтому необходимость иммунологического контроля очевидна не только ввиду бессимптомного характера течения начальной стадии СД1, когда антиинсулиновые аАТ первыми сигнализируют о начале патологического процесса, но и вследствие их предполагаемого активного вмешательства в условия внутриутробного развития плода.

Тем не менее аутоиммунные аспекты течения СД1 во время беременности до сих пор во многом остаются не исследованными. В частности, почти нет данных о характере биосинтеза антиинсулиновых антител различных порядков (т.е. АТ1, АТ2 или АИАТ и АТ3), нет сведений о значении соотношения этих АТ у беременных с СД1 и новорожденных для течения беременности и состояния родившихся детей. О важности этого направления исследований говорят полученные данные о том, что избыточные количества материнских АТ к инсулину может стимулировать продукцию соответствующих АИАТ, которые трансплацентарно проникают к плоду и, по-видимому, вследствие блокировки рецепторов инсулина, вызывают толерантность к нему и способствуют повышению уровня глюкозы в крови [Будыкина Т.С., 2010].

Поэтому наша работа была предпринята с целью исследования взаимосвязи продукции антител к инсулину различного порядка (АТ1, АТ2 и АТ3) с характером течения беременности при СД1, а также с особенностями состояния здоровья новорожденных.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнялась на базе ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», ГБУЗ Городская клиническая больница № 29 им. Н.Э. Баумана Департамента здравоохранения г. Москвы,

2.1. Экспериментальные методы исследований

2.1.1. Получение олигомерного инсулина

Для получения антисывороток к инсулину при иммунизации кроликов и для изучения динамики продукции АТ различного порядка при иммунизации крыс использовали олигомерный инсулин, который более иммуногенный по сравнению с нативным инсулином. Олигомерный инсулин также использовали при создании тест-систем для определения АТ1 к инсулину.

Олигомерный инсулин человека, полимеризованный глутаровым альдегидом, получали путем смешивания раствора инсулина (Ново-Нордиск, Дания) в концентрации 1 мг/мл в 0,1М фосфатном буфере (рН 7,5) с 50% раствором глутарового альдегида (Fluka, Швейцария) до конечной концентрации 0,1%. Полученную смесь инкубировали 16 ч при 4°C. После инкубации к раствору добавляли фенилаланин до конечной концентрации 0,02 М и смесь выдерживали 2 ч при комнатной температуре. Затем проводили гель-фильтрацию на хроматографической колонке с сефадексом G-25, уравновешенной рабочим буфером. Отбирали фракцию, элюирующуюся в свободном объеме. Полученный образец концентрировали на ультрафильтре YM10 (Amicon Corp., США) до концентрации белка 0,4 мг/мл и подвергали однократной заморозке при -80°C.

2.1.2. Иммунизация лабораторных животных

Взрослых лабораторных крыс-самок линии Вистар (весом 190-200 г) иммунизировали олигомерным инсулином. Крысы получали внутрибрюшинную инъекцию инсулина из расчета 0,1 мг олигомерного инсулина на животное на одну инъекцию. Последующие инъекции такой же дозой иммуногена проводили

каждый месяц в течение 8 месяцев. Анализ крови на содержание АТ1, АТ2 и АТ3 проводили каждые 2 нед. Препарат вводили с полным адъювантом Фрейнда в объемном соотношении 1:1 после тщательного смешивания. Объем однократно вводимого препарата составлял 2 мл. Животным контрольной группы вместо раствора инсулина вводили раствор бычьего сывороточного альбумина такой же концентрации.

Пятимесячных кроликов породы шиншилла иммунизировали подкожно в 5-6 точек в зоны лимфатических узлов 3 раза с интервалом в 7-10 дней. Затем еще через 7-10 дней проводили пробный забор крови. При отсутствии соответствующих антител, выявляемых с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), или при их титрах ниже 1:8 проводили дополнительно 1-2 иммунизации по указанной схеме из расчета 0,5-0,7 мг белка на одно животное на одну иммунизацию. При наличии антител в титрах выше 1:16 делали перерыв в течение 1,5 месяцев, а затем проводили еще несколько иммунизаций 1 раз в 2 месяца. Для получения АТ1 к инсулину кроликов иммунизировали олигомерным инсулином. Для получения АТ2 проводили иммунизацию F(ab)₂-фрагментами АТ1 к инсулину. Анализ крови на содержание АТ1 и АТ2 проводили каждые 2 нед.

Первые три иммунизации кроликам проводили с полным адъювантом Фрейнда, а последующие – с неполным в объемном соотношении 1:1 после тщательного перемешивания. Объем вводимого препарата составлял 6-7 мл.

2.1.3. Получение сывороток крови лабораторных животных

Материалом для исследований служили сыворотки крови кроликов и крыс-самок линии Вистар. При работе с животными руководствовались правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (Guidelines for the use of animals in neuroscience research, 1992).

Взятие крови у крыс проводили из хвостовой вены, для чего хвост зафиксированной крысы согревали теплой водой, кончик хвоста смачивали 70% спиртом и от него отрезали несколько миллиметров. Пробы крови объемом 0,2 мл

собирали в пробирки типа Эппендорф. Кровотечение останавливали смачиванием 70% спиртом.

Забор крови у кроликов проводился из краевой вены уха, после обработки уха ксилолом. При пробном взятии объём крови составлял 2-3 мл. При заборе крови для выделения антител объём крови составлял 40-70 мл. Кровь забирали 2 раза в неделю в течение месяца после последней иммунизации.

Кровь выдерживали несколько часов при +2-8°C после чего получали сыворотку центрифугированием при 3000g в течение 15 мин. Сыворотки хранили при +2-8°C. В тех случаях, если из сыворотки не готовили препараты для введения животным, в них добавляли консервант азид натрия.

2.1.4. Синтез специфических иммуносорбентов для иммуноаффинного выделения антиинсулиновых антител и их антиидиотипов

Хроматографические колонки заполняли иммуносорбентом по стандартной методике [Остерман Л.А., 1985]. Бромциансефарозу суспендировали в 1мМ HCl, промывали на стеклянном фильтре, помещали в колонку и промывали 1 объемом 0,1М карбонатного буфера (pH 9,0). При подготовке иммуносорбента для выделения АТ1 к инсулину к полученному гелю добавляли инсулин, перемешивали в течение 10 ч и отмывали от несвязавшегося инсулина 0,15М раствором NaCl. Незанятые активные группы матрицы блокировали 0,1М β-аланином в течение 5 ч. Затем колонку уравнивали 0,15М раствором NaCl в 0,01М Na-фосфатном буфере (pH 7,5) (PBS).

Аналогичным образом готовили колонки с иммобилизованными на сефарозе F(ab)₂-фрагментами антиинсулиновых АТ1 кролика (для выделения антиидиотипических АТ2 к антиинсулиновым АТ1), с IgG фракцией сыворотки крови здорового человека (Иммуноглобулин человека нормальный. Раствор для внутривенного введения. ФГУП «НПО «Микроген») и IgG фракцией интактного кролика.

2.1.5. Иммуноаффинное выделение антител из крови кроликов

Сыворотку крови кроликов, иммунизированных олигомерным инсулином (для получения АТ1) или F(ab)₂-фрагментами АТ1 (для получения АТ2), а также интактных кроликов для получения неиммунного IgG, центрифугировали 15 мин при 6000g, осадок удаляли. На колонку со специфическим иммуносорбентом (инсулином или F(ab)₂-фрагментами АТ1 к инсулину) наносили супернатант в объеме в 7 раз превышающем объем иммуносорбента. Колонку отмывали от не-связавшихся белков сыворотки 0,1М фосфатным буфером (pH 7,5) с 0,01% тритоном X100 и 0,02% NaN₃. Элюцию антител (АТ1 или АТ2 соответственно) проводили 4М KSCN на указанном буфере. Контроль за элюцией осуществляли посредством фотометрического детектора при длине волны 280 нм.

2.1.6. Получение F(ab)₂-фрагментов антител из крови кроликов

Для получения F(ab)₂-фрагментов АТ1 или АТ2 полученные антиинсулиновые АТ1 или АТ2, а также неиммунные IgG (для получения F(ab)₂-фрагментов неиммунных IgG), диализовали против 4 л 0,05М ацетатного буфера (pH 4,5) и подвергали протеолитическому гидролизу пепсином в соотношении АТ/пепсин как 100/1 в течение 48 ч при 37°C.

Для разделения F(ab)₂- и Fc-фрагментов полученный раствор нейтрализовали 0,05М карбонатным буфером pH 9,2 и проводили гель-фильтрацию на Сефадексе G-100. Гель-фильтрацию проводили на колонках фирмы Pharmacia согласно рекомендациям этой фирмы.

Для удаления примесей, которые могут потенциально неспецифически связаться с человеческими IgG, полученные F(ab)₂-фрагменты пропускали через колонку с иммобилизованными на сефарозе коммерческим препаратом IgG здоровых людей (Иммуноглобулин человека нормальный. Раствор для внутривенного введения. ФГУП «НПО «Микроген»).

Суммарные IgG выделяли из сыворотки крови 16 интактных кроликов путем четырехкратного повторного переосаждения в 33,3% растворе (NH₄)₂SO₄.

Образовавшийся осадок растворяли в 0,1М фосфатном буфере (pH 7,5) и очищали от $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ гель-фильтрацией на колонке с сефадексом G-25 с тем же буфером. Последующая доочистка иммуноглобулинов IgG из сывороток интактных животных, как и доочистка AT1 и AT2, осуществлялась на колонках HiTrap Protein-G (Pharmacia, Швеция). Для этого на колонку HiTrap Protein G 1 ml, уравновешенную 20мМ фосфатным буфером (pH 7,0), наносили образец, содержащий не более 25 мг белка. После отмывки колонки от несвязавшегося белка проводили элюцию иммуноглобулинов IgG в 0,1М глициновым буфером (pH 2,7), а затем проводили гель-фильтрацию на колонке с сефадексом G-25, уравновешенной PBS.

Для удаления AT2, связывающихся с эпитопами AT1, расположенными за пределами гипервариабельных инсулин-связывающих сайтов, AT2 дополнительно очищали, пропуская через колонки с иммобилизованными на сефарозе человеческими IgG (Иммуноглобулин человека нормальный. Раствор для внутривенного введения. ФГУП «НПО «Микроген») и кроличьими IgG, выделенными из сывороток интактных кроликов. Не связавшиеся с IgG антитела собирали под контролем фотометрического детектора при длине волны 280 нм.

2.1.7. Определение способности антиидиотипических антител (AT2), связывающих антиинсулиновые антитела (AT1), взаимодействовать с рецепторами инсулина

Специфические антиидиотипические AT2 к антиинсулиновым AT1, содержащиеся в сыворотках крови гипериммунных к инсулину кроликов, а также в пулированных сыворотках 21 женщины с СД1, выделяли на колонках с иммобилизованными на CNBr-сефарозе F(ab)₂-фрагментами антиинсулиновых AT1. Затем определяли способность выделенных AT2 конкурировать с инсулином за связывание со специфическими инсулиновыми рецепторами, содержащимися в мембранной фракции клеток мозга крыс.

2.1.7.1. Выделение мембранной фракции клеток мозга, содержащей рецепторы инсулина

Для получения мембранной фракции клеток мозга ткань мозга крысы отмывали от кровяных сгустков 0,05М стандартным полибуфером (PBS), затем ткань гомогенизировали, смешивали с PBS в соотношении 1:7 и центрифугировали при 60000 g в течение 40 мин. Образовавшийся осадок растворяли в 0,05М PBS с добавлением 50мМ октилглюкозида и 1 мМ фенилметилсульфонилфлюорида на магнитной мешалке при +4°C в течение 1 ч, а затем центрифугировали при 60000g в течение 60 мин. Для дальнейшей работы отбирали супернатант.

Для обогащения инсулиновыми рецепторами, фракцию мембран мозга крысы гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе Поттера в 0,32М сахарозе и центрифугировали 10 мин при 1000g. Супернатант разбавляли в 5 раз 0,15М раствором NaCl и центрифугировали 30 мин при 35000g. Осадок отмывали путем ресуспендирования в 0,15М NaCl с последующим 30-минутным центрифугированием при 35000g.

2.1.7.2. Конкурентный иммуноферментный анализ

В лунках полистироловых планшетов для ИФА проводили сорбцию свежевыделенных порций мембран (2 мкг суммарного белка/мл в 100 мкл 0,01М карбонатного буфера, pH 9,0) и инкубировали 16 ч при 4° С.

После инкубации несорбированное содержимое лунок удаляли стряхиванием, а в лунки вносили по 100 мкл 0,5% раствора желатина в PBST. Планшет инкубировали 30 мин при +37°C и трижды отмывали PBST. Затем в лунки вносили раствор выделенных АТ2 к антиинсулиновым АТ1, либо суммарную неиммунную фракцию IgG, выделенную из сыворотки крови intactных кроликов в концентрации 5 мкг/мл на PBST. В ряды лунок с добавленными АТ2 вносили по 100 мкл раствора инсулина человека, либо бычьего сывороточного альбумина (БСА) в возрастающих концентрациях от 10 мкг/мл до 5 мг/мл и инкубировали 90 мин при 37°C. Затем лунки трижды отмывали PBST и в них вносили меченые пероксида-

зой хрена козы антитела к IgG кролика (Имтек, Россия). После дополнительной инкубации в течение 90 мин при 37°C лунки отмывали раствором PBST и приливали к ним 0,01% раствор о-фенилендиамина с 0,001% H₂O₂ на 0,035М цитрат-фосфатном буфере (0,035М C₃H₄OH(COOH)₃, 0,08М Na₂HPO₄, pH 4,5). Спустя 15-20 мин инкубации в темноте в лунки добавляли по 25 мкл 1М H₂SO₄. Интенсивность реакции в лунках планшетов регистрировали с помощью ИФА-ридера на длине волны 490 нм относительно фильтра сравнения 630 нм.

Полученные результаты позволяли оценить степень конкуренции между антиинсулиновыми антиидиотипическими антителами и инсулином за связывание с мембранными инсулиновыми рецепторами.

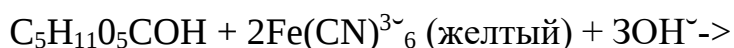
2.1.8. Тест на толерантность крыс к глюкозе

Интakтным и иммунизированным инсулином крысам после 16-часовой пищевой депривации внутрибрюшинно вводили 3,5 г глюкозы/кг веса в виде раствора на стерильном изотоническом растворе NaCl. Кровь для определения содержания глюкозы брали из хвостовой вены перед инъекцией, через 30, 60 и 120 мин после инъекции. Определение содержания глюкозы в сыворотке проводилось при помощи модифицированного для микрообъемов феррицианидного метода.

2.1.8.1. Феррицианидный метод определения восстанавливающих сахаров в сыворотке крови

Данная методика представляет собой модификацию способа определения концентрации восстанавливающих сахаров. Преимуществом данной модификации является возможность использования небольшого количества сыворотки крови (20 мкл) для постановки одной пробы в режиме трехкратного дублирования, а также возможность постановки реакции в стандартных 96-луночных планшетах с последующим определением оптической плотности при помощи ИФА-ридера, что делает метод очень экономичным и менее трудоемким в сравнении со стандартным вариантом.

Для осаждения белка к 20 мкл сыворотки добавляли 380 мкл 11% CCl_3COOH и центрифугировали при 800g в течение 10 мин. В лунки 96-луночного планшета для ИФА вносили по 100 мкл супернатанта и 100 мкл 4 mM $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ в 0,8M NaOH. Планшет инкубировался 20 мин при 90°C. Оптическую плотность определяли на ИФА-ридере (Dynex Technologies) при длине волны 406 нм по уравнению реакции:



Калибровочный график строили для каждого планшета с использованием стандартного раствора глюкозы и метода полуторного титрования. Концентрацию восстанавливающих сахаров в образцах определяли с помощью компьютерной программы Sigma Plot, Version 2.1 (Jandel Scientific, Израиль). Все пробы дублировали трижды, для расчетов использовали среднее арифметическое полученных значений ОП. При определении относительного изменения уровня глюкозы в сыворотке крови; исходная концентрация (до введения глюкозы) принималась за 100%.

2.2. Лабораторные методы исследований

2.2.1. Получение сывороток крови у женщин и их новорожденных

Забор крови у женщин проводили утром натощак в количестве 4-5 мл из локтевой вены. Пробы крови отстаивались при комнатной температуре в течение 1 ч, затем их центрифугировали при 3000g в течение 15 мин. Полученную сыворотку разливали в пробирки типа Эппендорф и подвергали однократной заморозке до исследования при температуре -20° C не более 1 мес.

Для определения экспрессии рецепторов инсулина и глюкозы на лейкоцитах крови беременных женщин с СД1 кровь брали в вакутейнеры с ЭДТА для предотвращения агломерации клеток.

Кровь у 188 новорожденных женщин с СД1 и группы контроля получали из вены пуповины при рождении в количестве 3-4 мл. Сыворотку крови получали и хранили способом, описанным выше.

2.2.2. Оценка содержания антител АТ1 (к инсулину), АТ2 (к инсулиновым рецепторам) и АТ3 в сыворотке крови

В ходе работы мы проводили определение уровней антител разного порядка (АТ1, АТ2, АТ3) к инсулину в крови лабораторных животных и у контингента обследуемых - у женщин с СД1 и группы контроля, а также у их новорожденных.

Определение уровней антител к инсулину проводили методом твердофазного ИФА. С этой целью при определении антиинсулиновых антител различного порядка (АТ1, АТ2, АТ3) в крови людей и лабораторных животных использовали тест-системы, включающие:

1) олигомерный инсулин человека (полимеризованный глютаровым альдегидом), для выявления антиинсулиновых АТ1, направленных к главным ("мажорным") антигенным детерминантам инсулина;

2) F(ab)₂-фрагменты антиинсулиновых АТ1 (полученные из соответствующих АТ1, выделенных из сыворотки иммунизированных инсулином кроликов) для определения содержания АТ2;

3) F(ab)₂-фрагменты антиинсулиновых АТ2 (полученные из соответствующих АТ2, выделенных из сыворотки иммунизированных F(ab)₂-фрагментами антиинсулиновых АТ1 кроликов) для определения содержания АТ3.

Определяемые АТ3 являются некоторым подобием АТ1, т.к. переменные участки соответствующих АТ2 взаимодействуют как с АТ1, так и с АТ3. Однако главное отличие определяемых АТ3 от АТ1 состоит в том, что этот препарат представляет собой комплекс антител к широкому спектру антигенных детерминант белковой молекулы, в данном случае к инсулину [Морозов С.Г., 1997].

При постановке ИФА использовали 96-луночные полистироловые планшеты, на которые были иммобилизованы вышеуказанные компоненты тест-систем. В качестве буферного раствора для сорбции в лунках компонентов применялся 0,01М карбонатный буфер (рН 9,0). Растворы сорбируемых компонентов в концентрации 2 мкг/мл вносили в отдельные лунки по 100 мкл. После инкубации при температуре +2-4°C в течение 14-16 ч содержимое лунок удаляли стряхиванием и в лунки вносили по 100 мкл блокирующего буфера (0,5% раствора желатина в

0,01М фосфатном буфере (pH 7,5) с 0,15М NaCl и 0,05% Твина-20 (PBST). Планшет инкубировали 30 мин при температуре +37°C и трижды отмывали отмывочным буфером PBST. Затем в лунки вносили по 100 мкл раствора анализируемой сыворотки в PBST в разведении 1:200. Планшет инкубировали при температуре +4-8°C в течение 14-16 ч. После 3-кратной отмывки отмывочным буфером в лунки вносили по 95 мкл раствора меченых пероксидазой хрена козьих АТ к IgG человека (в экспериментальном исследовании – крысы) (Имтек, Россия) в разведении 1:2000 в PBST. После дополнительной 90 минутной инкубации при +37°C лунки трехкратно отмывали PBST и вносили в них по 90 мкл 0,01% раствора о-фенилендиамина (Sigma, США) с 0,001% H₂O₂ в 0,1М цитрат-фосфатном буфере (pH 4,5). После инкубации 15-20 мин в темноте при комнатной температуре и остановки реакции путем внесения в лунки по 25 мкл 1М H₂SO₄, интенсивность реакции в лунках планшетов оценивали в единицах оптической плотности (О.П.) на ИФА-ридере Microtiter Plate Reader MRX 1.2 ELISA Reader (Dynex Technologies) при длине волны 490 нм относительно фильтра сравнения 630 нм.

Коэффициент вариации созданных тест-систем составлял не более 10%.

Иммунореактивность каждого образца исследуемых сывороток выражали в условных единицах (У.Е.), отражавших проценты иммунореактивности образца от интенсивности реакции стандартной сыворотки в соответствии с уравнением:

$$\text{У.Е.} = (\text{ОП анализируемого образца} \times 100 / \text{ОП стандартной сыворотки}) - 100$$

В качестве стандартной сыворотки, в зависимости от того, какая кровь подвергалась исследованиям, использовали смешанные в равных количествах сыворотки 9 взрослых лабораторных крыс (или 9 лабораторных кроликов) не подвергавшихся иммунизации, либо (при анализе сывороток человека) пулированную сыворотку здоровых доноров.

Для сопоставления относительных уровней сывороточного содержания антиинсулиновых АТ1 и их антиидиотипов - АТ2, вычислялся коэффициент к:

$$k = (\text{У.Е.1} + 100) / (\text{У.Е.2} + 100), \text{ где}$$

У.Е.1 - иммунореактивность образца к инсулину (в условных единицах),

У.Е.2 - иммунореактивность образца к антиинсулиновым АТІ (в условных единицах).

Для выяснения, антитела какого порядка преобладают у экспериментальных лабораторных животных и у контингента обследуемых женщин, высчитывали соотношение относительных уровней сывороточного содержания антиинсулиновых АТІ, АТ2 и АТ3. Для этого были введены коэффициенты K :

$$K1(AT1/AT2) = (y.e.1 + 100)/(y.e.2+100)$$

$$K2(AT2/AT3) = (y.e.2 + 100)/(y.e.3+100)$$

$$K3(AT1/AT3) = (y.e.1 + 100)/(y.e.3+100), \text{ где}$$

у.е.1- уровень АТ1 в условных единицах,

у.е.2- уровень АТ2 в условных единицах,

у.е.3 - уровень АТ3 в условных единицах.

Уровни антител первого, второго и третьего порядков считали сбалансированными, если коэффициенты K находился в пределах 1,2 - 0,8. Повышение коэффициентов $K1 > 1,2$ и $K3 > 1,2$ расценивали как преобладание АТ1, при $K2 > 1,2$ преобладали АТ2. Уменьшение коэффициента $K1 < 0,8$ говорит о преобладании АТ2, при $K2 < 0,8$ и $K3 < 0,8$ преобладают АТ3.

2.2.3. Определение содержания глюкозы и гликозилированного гемоглобина

Уровень глюкозы в крови беременных женщин и новорожденных определяли в пробах цельной крови (20 мкл) глюкозооксидазным методом на полуавтоматическом анализаторе глюкозы АГКМ-01 (Россия). У беременных женщин динамический контроль за уровнем гликемии проводился 2-3 раза в неделю, а при необходимости - ежедневно. Уровень глюкозурии определяли 2 раза в неделю в суточном количестве мочи параллельно с определением гликемического профиля. Уровень кетонурии исследовали одновременно с уровнем глюкозурии. В качестве критерия компенсированности сахарного диабета использовался показатель гликозилированного гемоглобина (HbA1c), который определяли на биохимическом

анализаторе AU480 (Beckman Coulter, США) с помощью наборов реагентов Beckman Coulter Diagnostics (США).

2.2.4. Определение экспрессии рецепторов инсулина и глюкозы на лейкоцитах крови беременных женщин с сахарным диабетом 1 типа

Кровь из локтевой вены беременных женщин с СД1 брали натощак в вакутейнеры с ЭДТА для предотвращения агломерации клеток. Далее в неё добавляли лизирующий буфер (Becton Dickinson, США), согласно инструкции фирмы-производителя, отстаивали 10 мин при комнатной температуре и центрифугировали 10 мин при 400g в результате чего получали свободную от эритроцитов популяцию белых клеток крови. Затем к ним добавляли PBS, повторно центрифугировали при тех же условиях и для дальнейшей работы отбирали осадок. Полученные таким образом белые клетки крови окрашивали моноклональными антителами к соответствующим белкам или рецепторам, напрямую меченными флуоресцентными красителями (фирма Abcam). Для исследования уровня экспрессии рецепторов применяли метод проточной цитометрии, измерения интенсивности флуоресценции проведены на проточном цитометре FACSCalibur по программе SimulSet. Интерпретация результатов и их обработка проведены с помощью программы WinMD28. Первоначальный анализ общей популяции клеток крови проводили в системе координат FSC/SSC (при прямом и боковом рассеянии лазером). Далее анализ отдельных популяций клеток крови проводили в соответствующих гейтах на каналах FL-1A, FL-2A или FL-3A в зависимости от флуоресцентного красителя использованных моноклональных антител.

2.3. Клинические наблюдения за беременными женщинами и их детьми

Были обследованы 188 женщин с диагнозом СД1 в возрасте от 19 до 34 лет, у которых в дальнейшем наступила беременность, закончившаяся родами. В качестве контрольных наблюдались 32 беременных в возрасте от 17 до 35 лет без эндокринной патологии, аутоиммунных заболеваний, сопутствующей соматической патологии, психических и инфекционных заболеваний.

Обследование женщин включало получение всех анамнестических данных (акушерских, сведений о наличии генитальных и экстрагенитальных заболеваний до наступления беременности).

Экстрагенитальная патология у обследованных беременных женщин представлена в таблице 1. Наиболее часто в анамнезе встречались детские инфекции: ветряная оспа, краснуха, эпидемический паротит. Как в группе беременных, страдающих СД1, так и в контрольной группе выявлено большое количество женщин, страдающих заболеваниями органов зрения, не связанными с СД1 (миопия, гиперметропия): 58 женщин (30,9%) с диагнозом СД1 и 10 женщин контрольной группы (33,3%). Довольно часто встречались заболевания ЖКТ (в 13,8% и 12,5% соответственно). Статистически значимой разницы между группой пациенток с СД1 и контрольной группой по этим патологиям не выявлено.

Таблица 1

Экстрагенитальная патология у беременных.

Заболевание	СД1 (188 чел.)	Группа контроля (32 чел.)
Заболевания органов зрения	58 (30,9%)	10 (33,3%)
Заболевания желудочно-кишечного тракта	26 (13,8%)	4 (12,5%)
Гнойно-воспалительные заболевания кожи	13 (6,9%)	1 (3,1%)
Артериальная гипертензия	20(10,6%)	-
Хронический пиелонефрит	28 (14,9%)*	-
Диффузный нетоксический зоб	7 (3,7%)	-

Аутоиммунный тиреоидит	1 (0,5%)	-
Ветряная оспа	75 (39,9%)	10 (31,3%)
Эпидемический паротит	33 (17,5%)	4 (12,5%)
Краснуха	48 (25,5%)	5 (15,6%)
Вирусный гепатит	15 (8%)	1 (3,1%)

* - $p < 0,05$

У 28 женщин с СД1 (14,9%) до момента наступления данной беременности диагностирован хронический пиелонефрит, у 20 (10,6%) - артериальная гипертензия. У одной пациентки (0,5%) выявлен аутоиммунный тиреоидит и у 7 (3,7%) диффузный нетоксический зоб. Этим женщинам до и во время беременности проводилась соответствующая терапия.

При сборе гинекологического анамнеза выявлено, что нарушения менструального цикла отмечались у 54 женщин с СД1 (29,2%) и у 9 женщин (28,1%) из группы контроля. Среди гинекологических заболеваний наиболее часто в анамнезе встречались эрозия шейки матки (32 женщины с СД1 (17%) и 6 из контрольной группы (18,8%), воспалительные заболевания матки и придатков (16 женщин (8,5%) и 2 (6,3%) соответственно), и инфекции, передаваемые половым путем (18 женщин (9,6%) и 3 (9,4%) соответственно). Значимых различий между группами обследованных женщин не выявлено.

Данные по акушерскому анамнезу представлены в таблице 2. Текущая беременность первая у 58% женщин с СД1 и 65,6% женщин контрольной группы. Предыдущие беременности прерывали абортom 5 женщин (2,7%) с СД1 и 2 женщины (6,3%) из контрольной группы. Следует отметить, что у 12,2% женщин с СД1 предыдущие беременности закончились самопроизвольными выкидышами.

Акушерский анамнез беременных

Показатель	СД1 (188 чел.)	Группа контроля (32 чел.)
Первобеременные	109 (58%)	21 (65,6%)
Повторнобеременные первородящие	40 (21,3%)*	2 (6,3%)
Повторнобеременные повторнородящие	39(20,7%)	9 (28,1%)
Самопроизвольные выкидыши	23 (12,2%)*	-
Неразвивающаяся беременность	12 (6,4%)	-

* - $p < 0,05$

Данные о длительности и характере течения сахарного диабета, о течении беременности и о динамике биосинтеза аутоантител к инсулину в этот период по результатам иммуноферментного анализа представлены в соответствующих разделах.

После родов наблюдения проводились за новорожденными женщин с СД1 и группы контроля.

Из исследования были исключены женщины, у которых беременность не завершилась рождением ребёнка.

При исследовании рецепторов инсулина и глюкозы был исследован дополнительный контингент из 12 женщин в возрасте от 18 до 34 лет с ожирением 2 или 3 степени (средний ИМТ $36 \pm 4 \text{ кг/м}^2$) с нормально протекающей беременностью на сроке от 13 до 24 недель без СД1 и какой-либо другой патологии.

При наблюдениях за новорожденными рассматривали состояние ребенка и его матери при рождении и особенности течения раннего неонатального периода. Оценка состояния ребенка в раннем неонатальном периоде проводилась врачом-

неонатологом. Все данные фиксировали в отдельной для каждого ребенка карточке. В ходе наблюдений за новорожденными анализировали:

- состояние ЦНС (в том числе признаки нарушения мозгового кровообращения, наличие тремора подбородка и конечностей, гипотонии, нарушение процессов сосания и глотания);
- наличие респираторных нарушений (отсутствие самостоятельного или ослабленное дыхание, рассеянные хрипы в легких, вторичное апное, что в некоторых случаях требовало перевода на искусственную вентиляцию легких);
- сердечно-сосудистые нарушения (аритмия, приглушенность сердечных тонов, систолический шум);
- заболевания желудочно-кишечного тракта (парез кишечника, кишечная непроходимость);
- содержание антител различного порядка к инсулину в течение всего раннего периода адаптации.

В группу сравнения вошли новорожденные, родившиеся у матерей контрольной группы.

2.4. Методы статистической обработки материалов

При обработке количественных данных использовали как абсолютные значения, так и относительные (перцентильные) величины. Применение перцентильных величин оказалось информативнее при анализе динамических изменений показателей, что позволяло оценивать степень их увеличения или уменьшения, особенно в сравнении с другими параметрами.

Математическая обработка числовых значений большинства параметров потребовала применения непараметрических методов статистики. Для характеристики распределения случайных величин использовали их медианы и квартили. Медиана соответствует центральной точке распределения и отражает наиболее характерное значение измеряемой величины. По обе стороны от медианы расположены равные количества измерений - квартили (нижний и верхний), являющиеся, соответственно, серединами верхней и нижней половин распределения, отде-

ляющие по 25% измерений, прилежащих к медиане. Таким образом, если медиана отражает наиболее характерное значение данной величины, то квартили указывают пределы ее отклонения. Такой подход позволяет оценивать асимметричность выборки.

Различия в группах наблюдений между собой оценивали путем попарного сравнения всех измерений в двух группах с помощью ряда непараметрических критериев (Уилкоксона-Манна-Уитни, Смирнова, Фишера, Хи-квадрат). Такой метод сравнения позволяет дать ответ о достоверности различий сравниваемых групп, даже в случае их небольшой численности и при наличии резко отличающихся значений. Ответ получали в форме вероятности.

Математическая обработка материала, а также сравнительный анализ выборок по u -критерию Вилкоксона проводился на основе непараметрических методов статистики с использованием персонального компьютера IBM PC и пакета прикладных программ. Результаты представлены в виде медианы (медиана 50%) и ее стандартных отклонений - ее верхний и нижний квартили (75% и 25%).

Статистический анализ результатов *определения экспрессии рецепторов инсулина и глюкозы на лейкоцитах крови* проведен по программе ANOVA, данные представлены как $M \pm m$. При малой выборке использован непараметрический анализ Ньюмена-Кейлса, при котором достоверные различия между группами даются как $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА АНТИИНСУЛИНОВЫХ АНТИТЕЛ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ И У ЖЕНЩИН, СТРАДАЮЩИХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

3.1. Биосинтез антиинсулиновых антител различных порядков у крыс, иммунизированных олигомерным инсулином

Биосинтез антител к инсулину различных порядков, а именно первого (АТ1), второго (АТ2) и третьего (АТ3) порядков исследовали на лабораторных крысах, иммунизированных олигомерным инсулином. В качестве контрольных животных использовали интактных животных. У крыс обеих групп каждые две недели на протяжении 7 месяцев из хвостовой вены отбиралось по 100 мкл крови. В полученной сыворотке методом твердофазного ИФА определяли уровни идиотипических (АТ1), антиидиотипических (АТ2) антител к инсулину, а также соответствующих АТ3 и анализировали динамику изменений их содержания.

По данным литературы, при определении уровней антител к различным белкам с помощью ИФА бывает целесообразно использовать для активации полистироловых планшетов вместо нативных белковых антигенов $F(ab)_2$ - фрагменты антиидиотипических антител к ним. Такой подход позволяет существенно повысить эффективность выявления антител, поскольку обеспечивает презентацию поликлональными антиидиотипическими антителами более полного спектра эпитопов белка. Происходит это потому, что вариабельные участки антиидиотипов являются как бы зеркальным отражением детерминант самого белка, его иммунохимическими аналогами. Часть эпитопов нативного белка при иммобилизации на планшете могут деформироваться и, таким образом снизится их способность связываться с соответствующими антителами из тестируемой сыворотки. Кроме того, при таком технологическом подходе можно определять содержание антител и к «минорным», скрытым детерминантам белка [Морозов С.Г., 1997; Гнеденко Б.Б., 2006]. В этом, пожалуй, и состоит одно из основных отличий спектра антител первого порядка к антигену – АТ1 от спектра антител третьего порядка – АТ3.

В справедливости такого подхода мы убедились при сравнительном исследовании интенсивности взаимодействия антиинсулиновых антител, содержащихся в крови иммунизированных инсулином крыс, с $F(ab)_2$ -фрагментами кроличьих антиидиотипических антиинсулиновых антител (АТ2) в сравнении с интенсивностью взаимодействия с нативным инсулином.

В этих исследованиях мы использовали сравнительный ИФА. На полистироловые планшеты предварительно сорбировали: 1) инсулин; 2) $F(ab)_2$ -фрагменты антиидиотипических антиинсулиновых кроличьих антител (АТ2) и 3) $F(ab)_2$ -фрагменты не иммунных IgG. Затем в лунки вносили сыворотку крови иммунизированных инсулином крыс, содержащую антиинсулиновые АТ1, в разведениях от 1/50 до 1/3200. Интенсивность реакции в лунках оценивали фотометрически по оптической плотности на длине волны 490 нм.

При сравнительной оценке результатов использовали отношения интенсивности реакции сывороточных антител с $F(ab)_2$ -фрагментами относительно их реакции с инсулином, т.е. $ОП_{F(ab)_2} / ОП_{инсулин}$. На рисунке 1а представлены относительные величины интенсивности взаимодействия антител с $F(ab)_2$ -фрагментами АТ2 и с $F(ab)_2$ -фрагментами неиммунных IgG относительно интенсивности взаимодействия АТ1 с инсулином. Интенсивность взаимодействия противоинсулиновых АТ1 с $F(ab)_2$ -фрагментами АТ2 в 1,5–2 раза превышала интенсивность реакции с нативным инсулином. Эта разница практически нивелировалась при высоких разведениях иммунной сыворотки. Выявленные различия во взаимодействии сывороточных АТ к инсулину с $F(ab)_2$ -фрагментами соответствующих АТ2 по сравнению с инсулином объясняются, по-видимому, тем, что, как уже было сказано, сорбированные $F(ab)_2$ -фрагменты АТ2 способны презентировать большее количество детерминант самого белка, и поэтому такая тест-система оказывается более чувствительной. Взаимодействие антиинсулиновых АТ с $F(ab)_2$ -фрагментами неиммунных IgG отсутствовало, что указывало на специфичность описанного выше взаимодействия (рисунок 1б).

Полученные результаты подтверждают диагностическую ценность использования F(ab)₂-фрагментов АТ для определения уровней антител к белковым антигенам, т.е. фактически определения АТЗ.

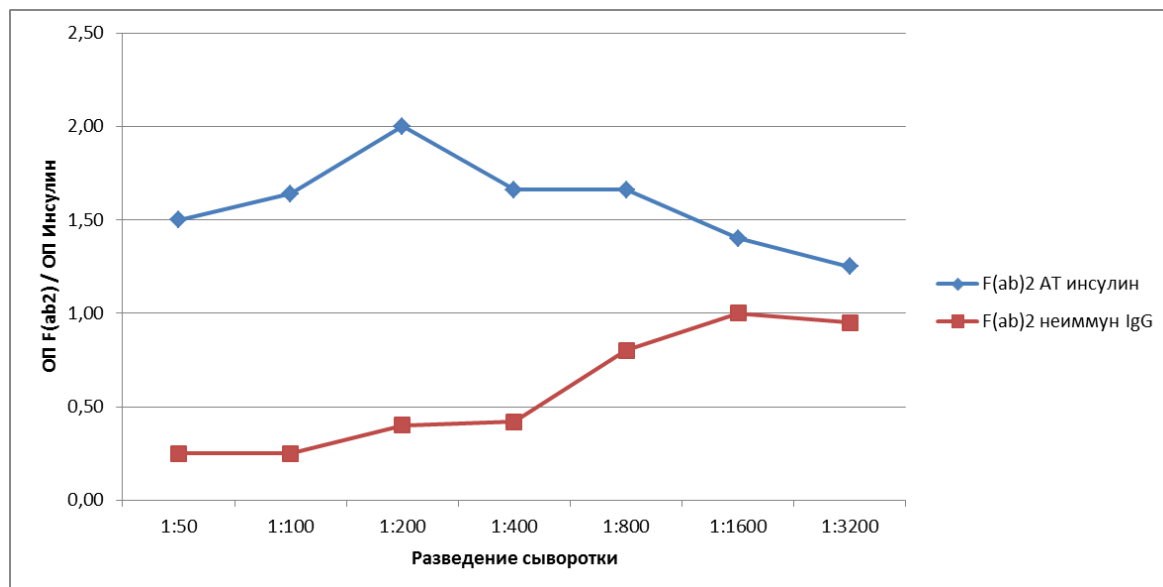


Рис. 1а. Относительные значения интенсивности реакции противоинсулиновых антител с F(ab)₂-фрагментами АТ2 к инсулину и с F(ab)₂-фрагментами не иммунных IgG относительно реакции АТ1 с инсулином.

В связи с тем, что антитела к АТ1 являются антителами второго порядка (АТ2), антитела к АТ2, которые определяются при иммобилизации их F(ab)₂-фрагментов на планшете, являются антителами третьего порядка (АТ3). Как известно, АТ3 во многом подобны АТ1, но в ходе проведенного эксперимента было показано, что определение АТ3 является более информативным по сравнению с АТ1, поэтому такой подход было решено также использовать в дальнейших клинических исследованиях.

Далее была изучена динамика продукции АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину в сыворотке крови лабораторных крыс, иммунизированных олигомерным инсулином (см. п. 2.1.2.), в сравнении с контролем – сыворотками не иммунизированных животных. Результаты, полученные на опытных и контрольных животных, показали нарастание продукции всех исследуемых антител, т.е. АТ1, АТ2 и АТ3. При этом динамика их биосинтеза была различна.

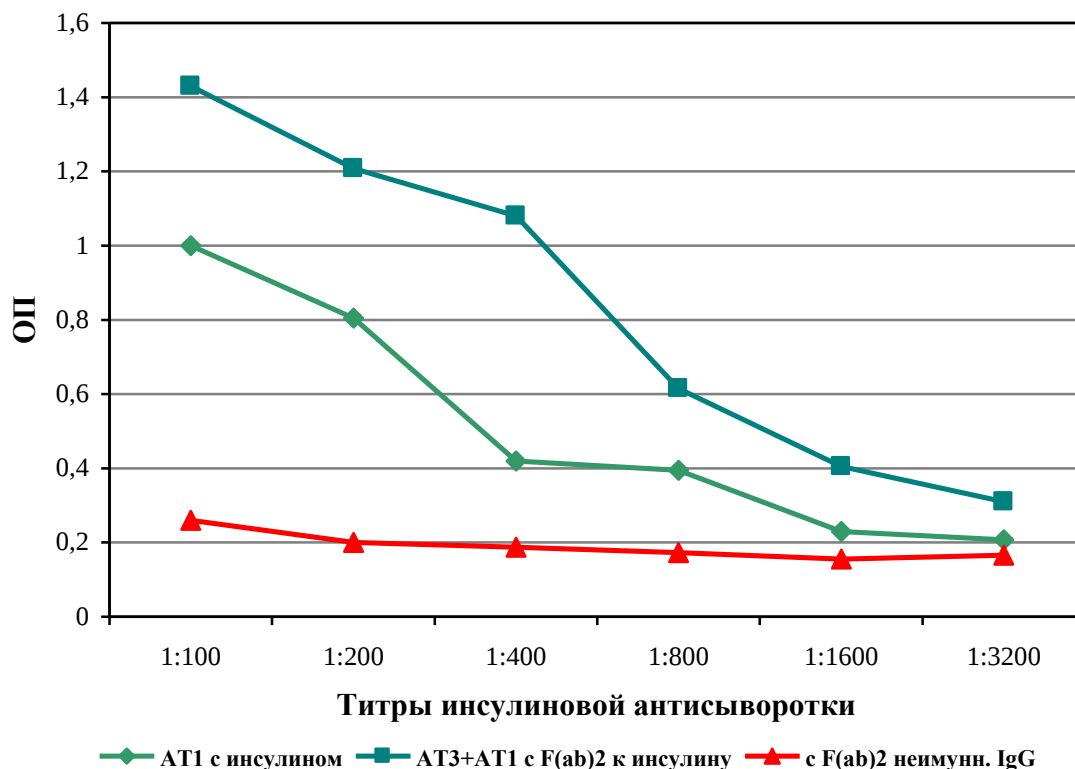


Рис. 16. Сравнительная интенсивность взаимодействия (по оптической плотности) антител к инсулину с нативным инсулином, F(ab)2-фрагментами AT2 к инсулину и F(ab)2-фрагментами неиммунных IgG.

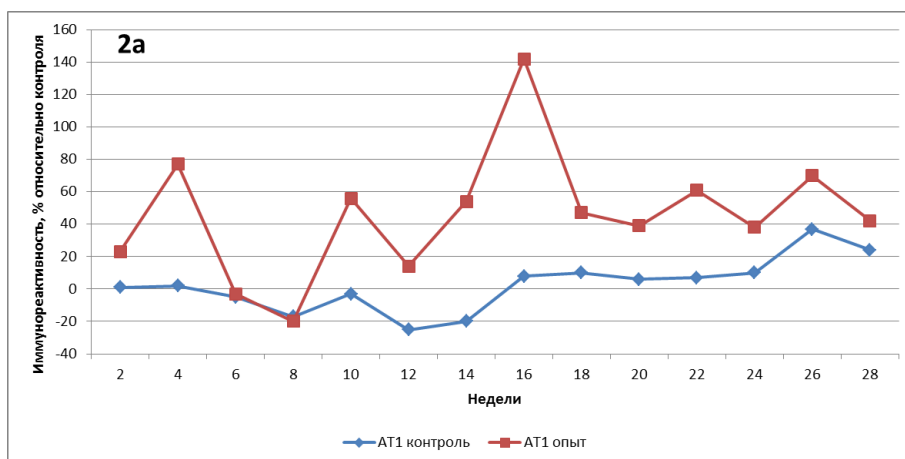
Анализ динамики продукции AT1, AT2 и AT3, представленной на рисунке 2, позволяет выявить целый ряд интересных закономерностей. Содержание всех трех видов исследуемых антител носило волнообразный характер. Как и следовало ожидать, прежде всего появляется пик, соответствующий AT1. Этому же периоду соответствует и несколько менее интенсивное повышение AT3. Далее идет волнообразное понижение с последующим повышением уровней AT1 и AT3 через 6 недель. Однако, есть все основания полагать, что первый пик - это не истинные AT3, образовавшиеся в ответ на переменные участки AT2, а AT3-подобные AT1, взаимодействующие с F(ab)₂-фрагментами антиидиотипических антител (AT2). По-видимому, эти появившиеся AT1 стимулируют синтез соответствующих AT2 и еще через 6 недель после второго пика AT1 мы наблюдаем уже максимальный пик AT1. На это же время приходится и максимальный пик AT2. Есть

основания полагать, что к этому времени соотношение АТ1/АТ2 уже становится сбалансированным.

Еще через 6 недель наблюдается максимальный подъем АТЗ, отражающий максимальный подъем антител к скрытым и «минорным» эпитопам инсулина. В отличие от первого пика, это уже «истинные» АТЗ, синтез которых индуцирован переменными участками АТ2. Мы полагаем, что отсроченное появление этих антител связано с тем, что для их синтеза необходимо высокое содержание в крови АТ2, которое мы перед этим наблюдали у иммунизированных животных.

Наблюдаемый скачкообразный подъем АТ1, АТ2 и АТЗ в разные периоды времени свидетельствует о глобальной перестройке «иммунной сети» с направленностью к вводимому антигену и приведении антител различного порядка к состоянию равновесия.

Содержание определяемых антител в сыворотке крови контрольных крыс оставалось практически неизменным на уровне фоновых значений и колебалось в небольшом диапазоне концентраций.



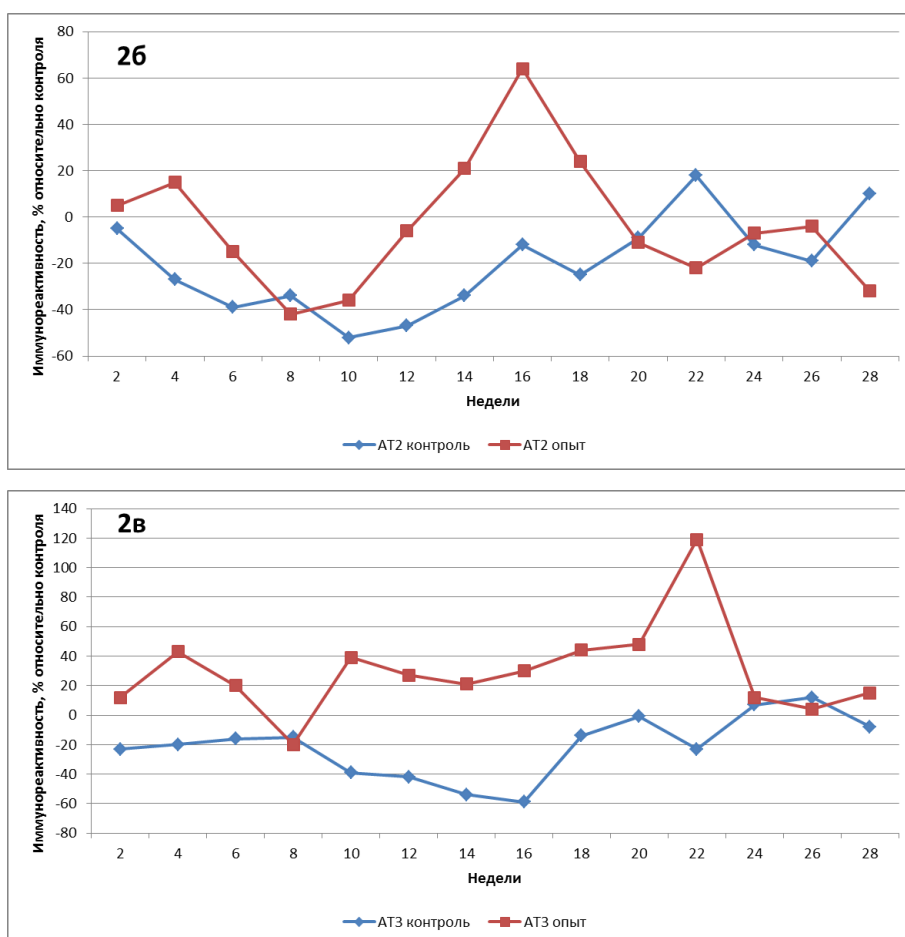


Рис.2. Динамика биосинтеза антиинсулиновых АТ1 (2а), АТ2 (2б) и АТ3 (2в) при иммунизации крыс олигомерным инсулином.

По данным литературы [Гнеденко Б.Б., 2001], АИАТ (АТ2) к антиинсулиновым АТ1 представляют собой иммунохимическое подобие инсулина и способны специфически взаимодействовать не только с соответствующими АТ1, но и с рецепторами инсулина.

Убедиться в этом позволили результаты экспериментов, проведенные совместно с д.м.н. Будыкиной Т.С. по выявлению конкуренции между АТ2 и инсулином за взаимодействие с инсулиновыми рецепторами. Было предположено, что в том случае, если такое взаимодействие имеет место, то инсулин способен его ингибировать.

На рисунке 3 представлены результаты конкурентного ИФА по взаимодействию кроличьих АТ2 (к антиинсулиновым АТ1) с мембранной фракцией клеток мозга, содержащей рецепторы инсулина, в присутствии инсулина (раздел 2.1.7.1. - 2.1.7.2).

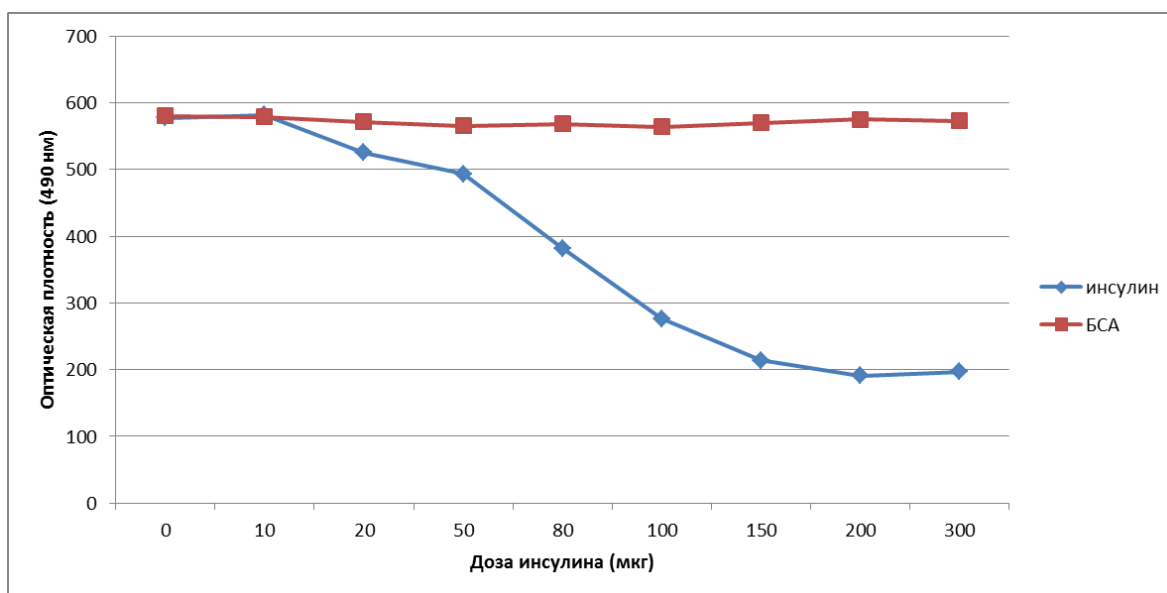


Рис. 3. Взаимодействие AT2 к инсулину с инсулиновыми рецепторами при добавлении инсулина и БСА.

В лунки с сорбированными рецепторами инсулина наряду с AT2 к инсулину добавляли в возрастающих концентрациях раствор инсулина. Тенденция к ингибированию взаимодействия рецепторов с AT2 начинала выявляться при внесении в лунку инсулина начиная с дозы 20 мкг. Максимум ингибирования достигался при внесении в лунку 200 мкг инсулина. Доказательством специфичности взаимодействия AT2 с рецепторами инсулина служило отсутствие ингибирующего эффекта при добавлении в лунку в качестве конкурирующего компонента не инсулина, а БСА. Наблюдаемый эффект также отсутствовал при внесении на планшет вместо AT2 к инсулину неиммунной фракции IgG, полученной из сыворотки крови интактных кроликов.

Таким образом, наблюдаемый эффект ингибирования инсулином реакции связывания AT2 к инсулину с рецепторами инсулина, зависящего от дозы конкурирующего инсулина, указывает не только на специфичность данного взаимодействия, но и подтверждает иммунохимическую идентичность данных AT2 и инсулина, а, следовательно, предполагает способность данных антител при взаимодействии с инсулиновыми рецепторами влиять на метаболизм глюкозы.

3.2. Содержание АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину у женщин с СД1 до наступления беременности

По имеющимся в литературе данным, у большинства больных, страдающих СД, наблюдаются повышенные уровни АТ к инсулину, что часто коррелирует с тяжестью течения патологического процесса. У женщин, страдающих СД, эти АТ влияют и на перинатальные исходы [Будыкина Т.С., 2010; Морозов С.Г., 1997; Borchers A. et al., 2010; Penno M.A., 2013, 2020]. При этом не проводилось комплексного изучения взаимосвязи продукции АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину с течением СД и перинатальными исходами. Лабораторные исследования на иммунизированных олигомерным инсулином животных показали особенности продукции АТ1, АТ2 и АТ3. Поэтому, с учетом того, что АТ2 способны взаимодействовать с рецепторами инсулина, а также с АТ1 и АТ3, есть все основания полагать, что указанные антитела способны влиять на уровень глюкозы в крови при СД1 и, таким образом, на течение самого СД1. Кроме того, у женщин с диагнозом СД1 они могут влиять и на исходы беременности.

Содержание АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину в сыворотке крови исследовали у 188 женщин с диагнозом СД1, у которых в дальнейшем наступила беременность. При наступлении беременности содержание АТ определяли в течение всего срока гестации.

Было установлено, что у 137 из всех обследованных женщин с СД1 (72,9%) имеет место аномальный биосинтез антител. При этом спектр данных антител значительно варьировал как по содержанию, так и по соотношению. Для последующего анализа возможного влияния этих различий на течение заболевания было предпринято условное подразделение всех женщин на группы в соответствии с особенностями биосинтеза у них антиинсулиновых антител различных порядков (см. п. 2.2.2.).

Все обследуемые были разделены на 5 групп, включая контрольную группу:

1 группа - женщины с диагнозом СД1, у которых уровень АТ1, АТ2, АТ3 к инсулину не превышал норму или был ниже нормы – 51 женщина (27,1%)

2 группа – женщины с диагнозом СД1, для которых было характерно повышение уровней антител к инсулину, с наиболее значительным повышением АТ1 к инсулину – 49 (26,1%) женщин;

3 группа - женщины с диагнозом СД1, для которых было характерно повышение уровней антител к инсулину, с наиболее значительным повышением АТ2 к инсулину – 35 (18,6%) женщин;

4 группа - женщины с диагнозом СД1, для которых было характерно повышение уровней антител к инсулину, с наиболее значительным повышением АТ3 к инсулину – 53 (28,2%) женщины;

5 группа (контрольная) - пациентки без СД1 и другой эндокринной патологии, аутоиммунных заболеваний, сопутствующей соматической патологии, психических и инфекционных заболеваний, с физиологическими уровнями определяемых антител – 32 женщины.

В таблице 3 приведены данные по содержанию всех определяемых АТ у обследуемых женщин. Как видно из таблицы, у женщин 2 группы содержание АТ1 достоверно превышало АТ2 и АТ3. У женщин 3 группы содержание АТ2, а у женщин 4 группы содержание АТ3, достоверно превышало уровни АТ других порядков. Собственно говоря, по уровням указанных АТ и были сформированы группы. Следует отметить, что у некоторых женщин, отнесенных к 1-й группе, уровни исследуемых АТ были несколько ниже, чем в контрольной группе.

При анализе анамнестических данных пациенток, в целом, была установлена некоторая взаимосвязь между уровнями антител различных порядков к инсулину и продолжительностью заболевания СД.

Так, от 2 до 4 группы, по мере возрастания максимальных значений антител от 1 до 3 порядков, увеличивалась давность заболевания. Во второй группе у большинства обследуемых (32 чел. - 65,3%) она составила от 1 года до 6 лет (отличие от 1 и 4 групп; $p < 0,05$), в 3 группе (20 чел. - 57,1%) от 3 до 8 лет (отличие от 1 группы; $p < 0,05$), а в 4 группе (33 чел. - 62,3%) от 7 до 10 лет. Эти данные в чем-то отражают результаты приведенных выше экспериментов, где мы наблюдали

нарастание уровней вначале АТ1, затем АТ2, а лишь затем АТ3 у иммунизированных инсулином животных. Следует отметить, что у пациентов 1 группы, с сывороточными уровнями определяемых АТ, не превышающими нормальные показатели, отмечалась, в целом, самая большая давность заболевания, что, вероятно, свидетельствует об истощении пулов данных АТ.

Таблица 3

Уровни АТ1, АТ2, АТ3 и продолжительность СД1 у обследуемых групп

Группы женщин	N	Уровни АТ1, у.е.	Уровни АТ2 (АИАТ), у.е.	Уровни АТ3, у.е.	Продолжительность заболевания
1	51	-15 ± 8	-11 ± 12	1 ± 9	Более 10 лет (69,8%)
2	49	53 ± 8	$15,4 \pm 9 *$	$28 \pm 7 *$	1-6 лет (65,3%)
3	35	$21 \pm 6 \#$	49 ± 7	$24 \pm 12 \#$	3-8 лет (57,1%)
4	53	$31 \pm 10 +$	$36 \pm 13 +$	62 ± 18	7-10 лет (62,3%)
Контроль	32	-7 ± 10	0 ± 9	4 ± 12	

N - число обследованных;

статистические значимые отличия ($p < 0,05$ по критерию Стьюдента) от АТ1 соответствующей группы обозначены «*», от АТ2 – «#», от АТ3 – «+».

Известно, что течение СД1 может протекать значительно тяжелее при наличии у больных характерных для данной патологии осложнений: диабетической ретинопатии, полинейропатии или нефропатии. Такие осложнения разной степени выраженности были диагностированы в наших исследованиях у 131 (69,7%) из всех обследованных пациенток с диагнозом СД1 (до наступления беременности).

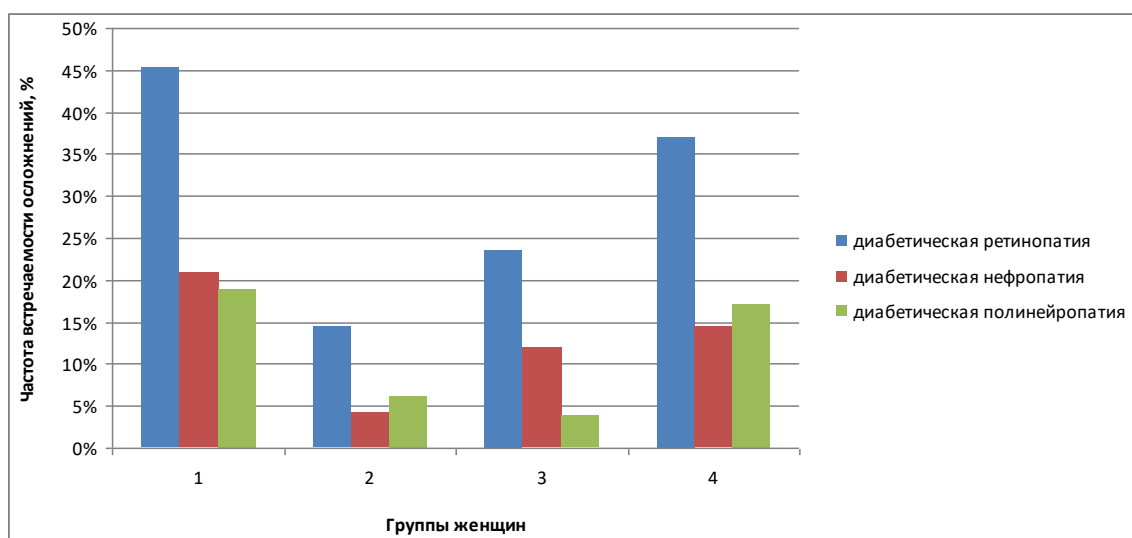


Рис. 4. Число женщин с осложнениями СД1 в разных группах до наступления беременности.

На рисунке 4 представлены данные о частоте проявления диабетических осложнений в разных группах женщин. Видно, что эти осложнения коррелировали с давностью заболевания, а не с наблюдаемыми иммунохимическими изменениями.

ГЛАВА 4. ХАРАКТЕР УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ПРИ СД1 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЕЙ АНТИТЕЛ РАЗЛИЧНОГО ПОРЯДКА К ИНСУЛИНУ

4.1. Измерение толерантности к глюкозе у животных, иммунизированных олигомерным инсулином

Для анализа связи между интенсивностью углеводного обмена и уровнем продукции антиинсулиновых антител были проведены модельные эксперименты на животных. Исследовали развитие толерантности к глюкозе у крыс, гипериммунизированных олигомерным инсулином, в сравнении с контрольными, не иммунизированными животными. С этой целью был проведен тест на глюкозную нагрузку (см. п. 2.1.8).

Было установлено, что эффект от инъекции иммунизированным животным 3,5 г глюкозы зависит от различий в содержании у них антиинсулиновых АТ1 и АТ2. В соответствии с этим были отобраны 2 основные подгруппы животных: с преобладанием антиинсулиновых АТ1 ($АТ1/АТ2 - \lambda > 1,2$) ($n=11$), либо с превалированием антирецепторных АТ2 ($АТ1/АТ2 - \lambda < 0,8$) ($n=9$). На рисунке 5 представлена динамика изменения уровня глюкозы в крови животных при проведении теста на глюкозную нагрузку.

Достоверные различия ($p < 0,05$) в относительном уровне глюкозы в крови крыс экспериментальной группы с $\lambda < 0,8$ и контрольной группы наблюдались через 80 мин после инъекции глюкозы и еще более возрастали через 120 мин. У этих животных с преобладанием в крови АТ2 концентрация глюкозы через 120 минут после инъекции снижались почти до исходных значений. При этом у контрольных и экспериментальных крыс с $\lambda > 1,2$ уровень глюкозы оставался высоким.

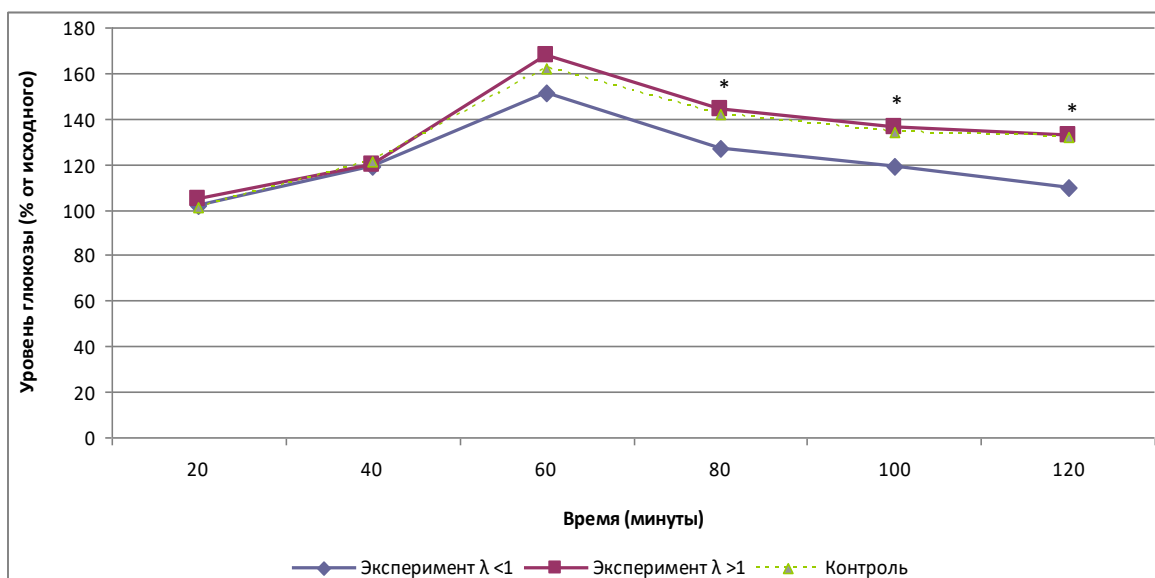


Рис.5. Изменение уровня глюкозы в течение двух часов в сыворотке крови иммунизированных инсулином и контрольных крыс при проведении теста на глюкозную нагрузку.

* - $p < 0.05$

Возможным объяснением данных результатов может служить подтвержденный нами ранее факт иммунохимического подобия AT2 и нативного инсулина. Преобладание в крови AT2 к инсулиновым рецепторам, по-видимому, в ряде случаев по аналогии с инсулином, может способствовать активации рецепторов инсулина и утилизации глюкозы.

4.2. Уровни глюкозы, гликированного гемоглобина и дозы вводимого инсулина до и во время беременности у женщин с СД1 с различным содержанием AT1, AT2 и AT3 к инсулину

В таблице 4 представлены медианы минимальных и максимальных величин среднесуточной гликемии, значения гликированного гемоглобина и дозы вводимого инсулина в разных группах пациенток до наступления у них беременности.

Обращает на себя внимание относительное сходство уровней сахара в крови у пациенток 3 и 4 групп: медиана максимального среднесуточного уровня гликемии у этих пациенток составляла 12,6 и 11,8 ммоль/л соответственно, что достоверно ($p < 0,05$) превышало аналогичные параметры у женщин с преимуще-

ственным биосинтезом антиинсулиновых АТ1 (2 группа) – 9,2 ммоль/л. При продукции исследуемых АТ, не превышающей нормальные значения, т.е. для пациенток 1 группы, медиана максимальной среднесуточной гликемии по величине приближалась к показателям 2 группы и составляла 9,0 ммоль/л.

Значения гликированного гемоглобина HbA1c (%) во всех наблюдаемых группах отражали разную степень компенсированности заболевания: наиболее благоприятное и стабильное состояние - во 2 группе, где HbA1c составил 6,6%. Наименьшая степень компенсированности определена в 3 и 4 группах с высоким содержанием АТ2 и АТ3, где HbA1c составлял 8,9% и 8,2% соответственно.

Таблица 4

Содержание антител к инсулину, уровни гликемии, гликированного гемоглобина и вводимой дозы инсулина у женщин с СД1 вне беременности

Группы женщин	Уровни АТ, у.е.			Уровень гликемии, ммоль/л		Суточная доза инсулина, ЕД/сут	Уровень HbA1c (%)
	АТ1	АТ2	АТ3	max	min		
1	-15± 8	-11 ± 12	1 ± 9	9,0 (7,5-10,0)	8,0 (6,7-9,4)	42 (36-50)	7,0 (5,7-7,9)
2	53 ±8	15,4 ± 9	28 ± 7	9,2 (7,2-10,4)	6,8 (6,1-7,9)	32(14-42)	6,6 (5,4-7,7)
3	21 ± 6	49 ± 7	24 ± 12	12,2 * (11,2-14,6)	9,8 (7,2-10,9)	56 (48-62)	8,9 * (8,0-9,7)
4	31 ±10	36 ± 13	62 ± 18	11,8 * (10,2-13,9)	9,2 (7,2-9,8)	50 (38-53)	8,2 * (7,6-9,4)

Примечание: статистически значимые отличия от группы 2 ($p < 0,05$ по критерию Манна–Уитни) обозначены «*».

Характер течения заболевания в разных группах пациенток в большинстве случаев коррелировал с состоянием у них антиинсулиновой иммунореактивности. В 1 и 2 группах до наступления беременности, как правило, удавалось добиться субкомпенсации, а в некоторых случаях, главным образом во 2 группе, течение заболевания носило компенсированный характер (10чел – 20,4%). В 3 группе пациенток, характеризовавшейся гиперпродукцией АТ2, компенсированности не

удавалось добиться даже при применении инсулинотерапии до 62 ЕД/сут, субкомпенсации удалось достичь только у 5 пациенток (14,3%). В 4 группе течение СД1 отличалось достаточно высокой степенью лабильности и, в целом, характеризовалось как субкомпенсированное.

Тяжесть течения патологического процесса во всех обследованных группах также была различной. В целом, тяжелая форма СД1 была диагностирована у 67,6% обследованных женщин. При этом в 1 группе их численность составила 45,1% (23 чел.), во 2-й – 24,5% (12 чел.), в 3-й – 71,4% (25 чел.), в 4-й – 54,7% (29 чел.). Значение показателя в 3 группе было самым высоким и достоверно превышало соответствующие значения, характерные для 1 и 2 групп ($p < 0,05$).

Проведенные нами исследования показали взаимосвязь особенностей течения СД1 у обследуемых женщин перед наступлением беременности и содержанием у них АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину. Тяжелая форма СД1 и лабильный характер течения заболевания чаще всего отмечались у женщин 3 и 4 групп ($p < 0,01$). Для большинства женщин этих групп характерны повышенные уровни гликемии и необходимость в применении значительных доз инсулина, что, однако, часто не позволяло добиться полной компенсированности СД1, даже при применении высоких доз инсулина – до 62 ЕД/сут.

Напротив, среди женщин с преимущественной продукцией антиинсулиновых АТ1 (2 группа) преобладала сравнительно благоприятная либо среднетяжелая форма заболевания. В этой группе нередко удавалось достигать компенсированности течения СД1.

Особенности продукции исследуемых АТ у пациенток различных групп во время беременности могли стать причиной осложненного течения СД1. По данным литературы, беременность, в свою очередь, может существенно осложнять течение многих аутоиммунных процессов [Borchers A.T., 2010].

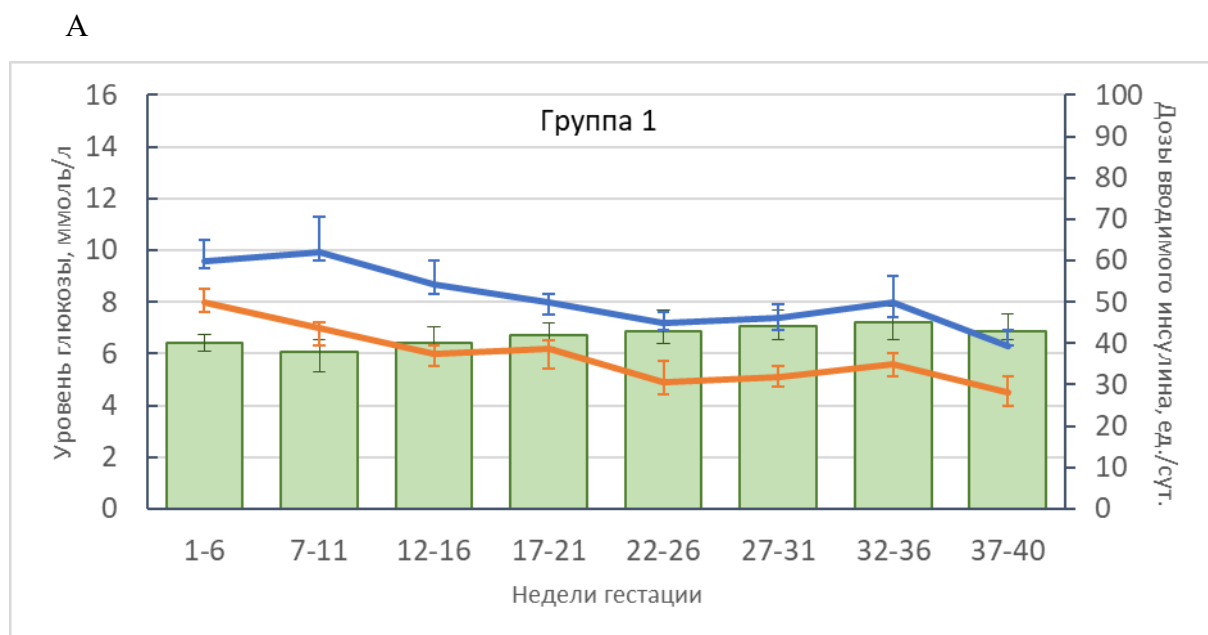
Наши наблюдения за 188 пациентками с диагнозом СД1 перед наступлением у них беременности и в процессе ее развития показали, что в каждой из групп течение СД1 при беременности имело свои особенности.

Для 1 группы женщин, где уровни исследуемых АТ не превышали норму, были характерны небольшие колебания уровней гликемии и потребности в инсулине на всем протяжении беременности (рис.6А). При наступлении беременности медианы минимальной и максимальной гликемии составляли 8,0 (7,2-10,6) и 9,6 (8,8-11,0) ммоль/л соответственно, а доза необходимого инсулина равнялась 40 (32-45) ЕД/сут. В первые недели беременности уровни гликемии, в целом, незначительно снижались: медианы минимальной и максимальной гликемии в начале 2-го триметра составляли 6,0 и 8,7 ммоль/л, а средняя доза инсулина составляла около 40 ЕД/сут.

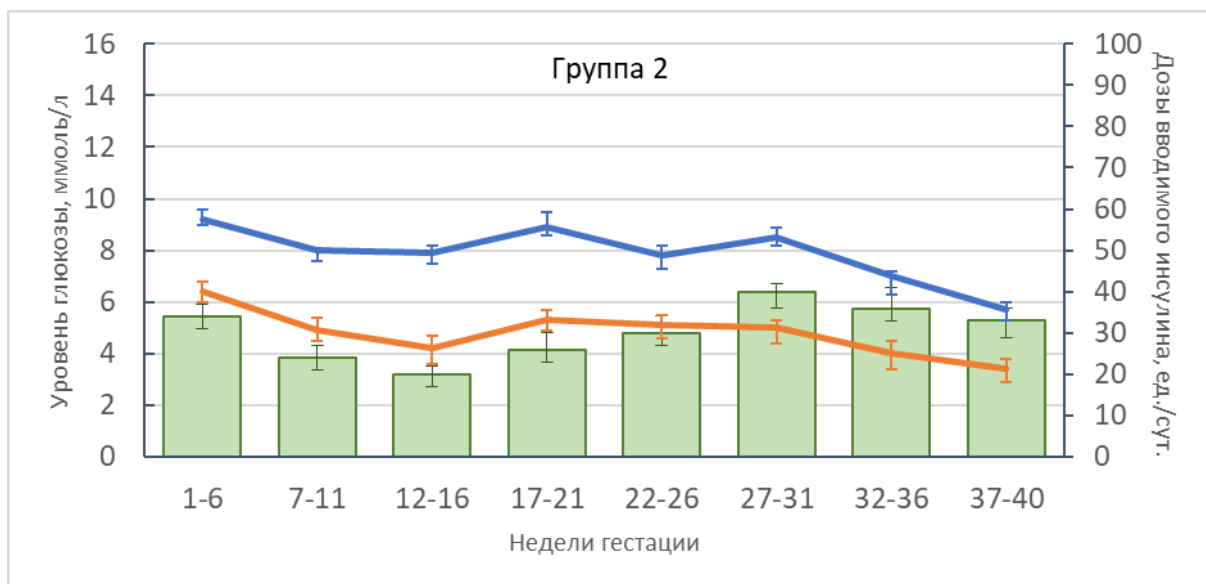
В последующие недели медианы минимальной и максимальной гликемии незначительно колебались около 5,3 (4,5-6,2) и 7,4 (6,3-8,0) ммоль/л при дозах необходимого инсулина до 45 ЕД/сут.

В отдельных случаях у небольшого числа беременных (21,6%) (11чел) отмечался кратковременный подъем уровня гликемии до 13,0-13,5 ммоль/л, сопровождавшийся кетонурией и глюкозурией. Уровень HbA1c варьировал в пределах 7,2 (6,2-8,3) ммоль/л.

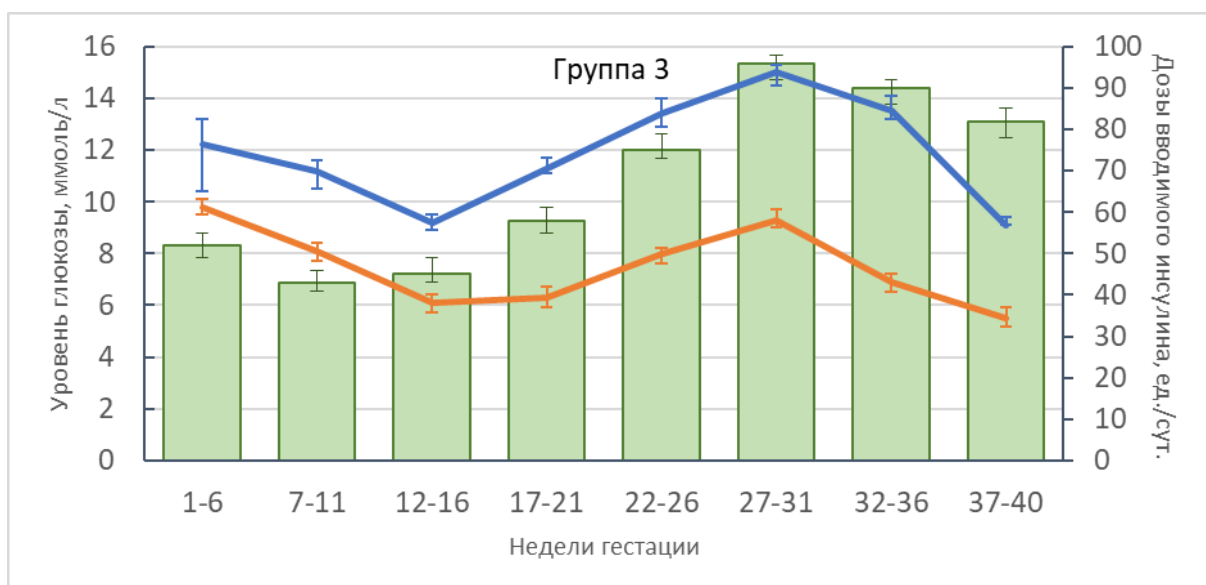
С начала 3-го триместра отмечался незначительный подъем уровня гликемии и к окончанию срока беременности на 36-37 неделе, медианы минимальной и максимальной гликемии составляли 5,0 ммоль/л и 7,1 ммоль/л соответственно.



Б



В



Г

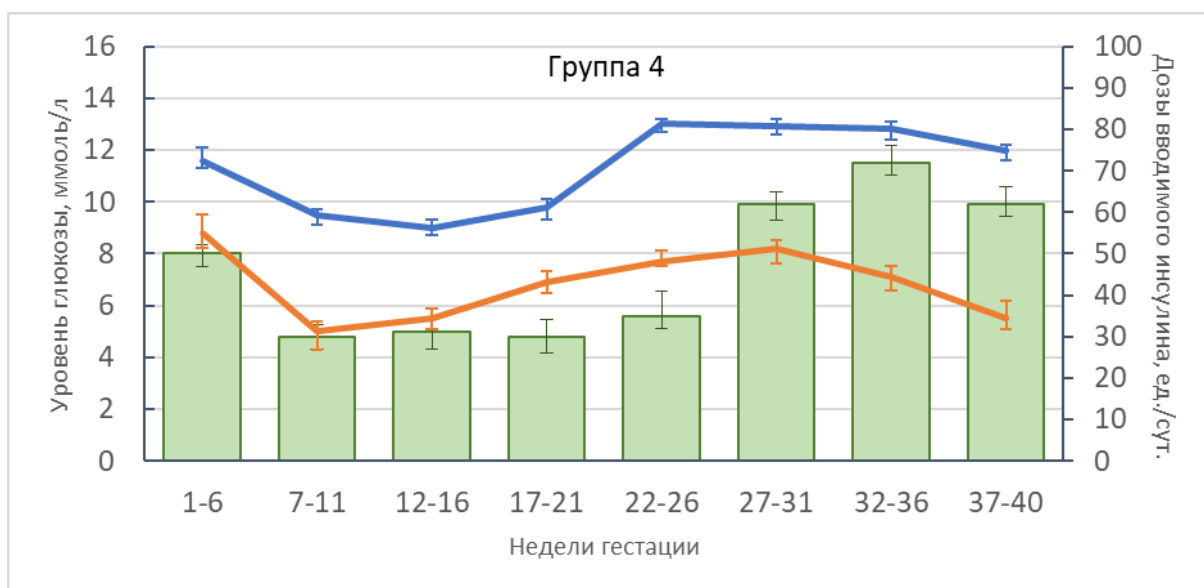


Рисунок 6. Максимальные (синяя линия) и минимальные (оранжевая линия) уровни гликемии, и дозы вводимого инсулина (столбцы) в женщин 1-й (А), 2-й (Б), 3-й (В) и 4-й (Г) групп в течение беременности. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха.

У женщин с повышенным уровнем только антиинсулиновых АТ1 (2 группа) течение СД1 на протяжении всего периода беременности было относительно благоприятным, а вводимые дозы инсулина нередко помогали добиться компенсированного течения заболевания.

К началу беременности медианы минимальной и максимальной гликемии варьировали в пределах 6,4 (4,9-7,9) и 9,2 (7,2-10,4) ммоль/л соответственно, необходимая доза инсулина составляла 34 (15-44) ЕД/сут (рис. 6Б). Снижение уровня гликемии и потребности в инсулине в конце 1-го триместра было достаточно заметным; доза вводимого инсулина была снижена примерно на 30,0%.

Во 2-м триместре потребность в инсулине начинала возрастать, достигая максимума в первую половину 3-го триместра - 40 (29-44) ЕД/сут. Иногда (20,4% случаев, 10 чел) во 2-м и 3-м триместрах наступали периоды декомпенсации СД1, сопровождавшиеся повышенным уровнем гликемии до 13,0-13,5 ммоль/л, что часто было связано с нарушением диеты или режима инсулинотерапии. Однако у основного числа пациенток 2 группы (79,6%) (39 чел) течение СД1 в этот период характеризовалось как компенсированное или субкомпенсированное. Медианы минимальной и максимальной гликемии колебались во 2 триместре в пределах

4,2-5,3 и 7,8-8,9 ммоль/л соответственно, значения HbA_{1c} были на уровне 6,7 (6,0-7,4)%.

В конце беременности потребность в инсулине незначительно снижалась до 33 (28-36) ЕД/сут.

Для пациенток 3 группы с преимущественной продукцией антирецепторных АТ2 к инсулину характерны наиболее значительные изменения в течении СД1 и самые высокие уровни гликемии (рис. 6В). Медианы минимального и максимального уровней гликемии в процессе беременности изменялись в широком диапазоне значений: минимальные от 6,0 до 9,9 ммоль/л, а максимальные - от 9,1 до 15,0 ммоль/л. Перед наступлением беременности течение СД1 характеризовалось как декомпенсированное: медианы минимальной и максимальной гликемии определялись на уровне 9,8 (7,2-10,9) и 12,2 (11,2-14,6) ммоль/л соответственно, вводимая доза инсулина в этой группе значительно превышала таковые в других группах и составляла 56 (48-62) ЕД/сут.

В 1-ом триместре, как и в других группах, наблюдалось снижение уровня гликемии на 25-31% и потребности в инсулине до 44 ЕД/сут.

Затем на протяжении 2-го и 3-го триместров, характеризовавшихся лабильным и некомпенсированным течением СД1, значения медианы гликемии неуклонно возрастали и в 3 триместре достигали минимальные до 9,2 (7,7-12,2) ммоль/л, максимальные – до 15,0 (12,0-17,5) ммоль/л, а уровень HbA_{1c} поднимался до 8,5 (7,5-9,3)%. Потребность в инсулине, начиная со 2-го триместра резко возрастала, достигая максимальных значений в 94-98 ЕД/сут к 29 неделе ($p < 0,01$). У 20% (7 беременных) на протяжении 2-го и начала 3-го триместров наблюдались явные признаки гипергликемии с характерной для этого состояния клинической картиной.

У большинства женщин 4 группы с гиперпродукцией АТ3 к инсулину течение СД1 перед наступлением беременности и в процессе гестации в 73,6% (39 чел) случаев характеризовалось как субкомпенсированное (рис. 6Г). На начальных сроках беременности значения медианы минимальной и максимальной гликемии составляли 8,8 (7,2-10,4) и 11,6 (10,2-14,2) ммоль/л, а доза вводимого инсу-

лина - 50 (38-53) ЕД/сут. В течение 1 триместра беременности потребности в инсулине резко снижалась, часто на 30-40% от исходной дозы до 28-32 ЕД/сут.

Начиная со 2-го триместра уровень гликемии возрастал и достигал своего максимума к 24-29 нед беременности (медианы минимальной и максимальной гликемии 8,1 ммоль/л и 13,1 ммоль/л соответственно). Потребность в инсулине тоже возрастала максимально к 34 нед до 70-75 ЕД/сут и затем несколько снижалась в последние недели перед родами.

Уровень HbA_{1c} составлял 7,8 (6,5-8,6)%, что можно расценивать как состояние субкомпенсированности.

Таким образом, каждой из обследуемых групп женщин, отличающихся определенным набором антиинсулиновых аАТ различных порядков, свойственны различные особенности клинической картины течения СД1:

- в тех случаях, когда уровни АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину не превышают норму, а также при изолированной гиперпродукции АТ1 к инсулину, т.е. в 1 и 2 группах, течение СД1 характеризуется отсутствием существенных колебаний уровней гликемии и потребности в инсулине на всем протяжении беременности. Этой категории больных свойственно стабильно субкомпенсированное течение СД1;

- самая тяжелая картина течения СД1 характерна для пациенток с преимущественной продукцией антирецепторных АТ2 (3 группа). У женщин этой группы отмечается аномально высокий уровень гликемии и повышенная потребность в инсулине практически на всем протяжении беременности, но особенно - во 2-м и 3-м триместрах. Развивающиеся при этом гипергликемические состояния носят тяжелый характер.

- при гиперпродукции антиинсулиновых АТ3 (4 группа) течение заболевания имеет, как правило, субкомпенсированный характер, чаще всего проявляющийся во 2-м и 3-м триместрах. Эти состояния нередко чередуются с периодами декомпенсации. У пациенток этой группы определяется высокая (но более низкая по сравнению с 3 группой) потребность в инсулине, достигающая максимальных

значений в 3 периоде гестации. Нестабильный, субкомпенсированный характер течения СД1 у беременных 4 группы, по-видимому, обусловлен дисбалансом эффектов, вызываемых АТ2 и АТ3.

Таким образом, в процессе беременности, как и в период подготовки к ней, у женщин с СД1 отчетливо проявляется зависимость характера течения заболевания от особенностей продукции АТ различного порядка к инсулину: тяжелое, часто некомпенсируемое течение диабета при высоком уровне АТ2, и наиболее благоприятное, легко нормализуемое при превалирующем биосинтезе АТ1.

Важно добавить, что уровни АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину и их соотношение достоверно не изменялись на протяжении всего срока гестации во всех исследованных группах, что может свидетельствовать об отсутствии заметного влияния процесса беременности на их продукцию.

Материалы раздела 4.2 опубликованы в журнале Патогенез, 2022 г, Т. 20, № 2, С. 29-37.

4.3. Экспрессия рецепторов инсулина и глюкозы на лейкоцитах крови беременных женщин с сахарным диабетом 1 типа

Далее мы предположили, что в тех случаях, когда у беременных с СД1 наблюдается изменение уровней антител различных порядков к инсулину, может иметь место и изменение экспрессии самих рецепторов к инсулину, а также к глюкозе. Поэтому на следующем этапе нашей работы было решено провести исследование уровней экспрессии рецепторов инсулина (IR- β) и глюкозы (GLUT-1 и GLUT-4) на лейкоцитах периферической крови беременных женщин с СД1 и здоровых беременных.

Обследованы 68 женщин (36 пациенток с СД1 и 32 женщины с нормально протекающей беременностью – группа контроля) на сроках беременности от 13 до 24 недель. При сравнении уровней экспрессии рецепторов у беременных женщин с СД1 и женщин с нормально протекающей беременностью так же учитывали массу тела беременных, поэтому каждую из групп женщин разделили на 2 подгруппы:

- беременные с нормальной массой тела (индекс массы тела (ИМТ) <25 кг/м²): 24 с СД1 и 18 с нормально протекающей беременностью

- с ожирением 2 или 3 степени (средний ИМТ 36 ± 4 кг/м²): 12 пациенток с СД1 и 14 с нормально протекающей беременностью.

Данные по экспрессии рецепторов инсулина (IR- β) и глюкозы (GLUT-1 и GLUT-4) на лейкоцитах периферической крови беременных женщин с СД1 в зависимости от наличия ожирения представлены в таблице 3.

Выявлено, что изменение экспрессии рецепторов инсулина и глюкозы наблюдалось независимо от изменения уровней антител различных порядков.

Как видно из таблицы 5, снижение экспрессии рецепторов инсулина у беременных с СД1 по сравнению с нормальной беременностью, статистически недостоверно. Но при наличии ожирения экспрессия рецепторов инсулина на лейкоцитах беременных с СД1 снижается достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с нормальной беременностью.

При анализе уровней экспрессии рецепторов глюкозы выявлено достоверное снижение экспрессии GLUT-1 и GLUT-4 на лейкоцитах периферической крови у беременных с СД1, особенно при наличии ожирения. Отличие наблюдалось как по проценту клеток, так и по интенсивности флуоресценции рецепторов.

Таким образом, было показано, что при СД1 у беременных в клетках крови наблюдается нарушение экспрессии рецепторов глюкозы, а при ожирении – и инсулина, что отражает резистентность к инсулину у данной группы больных.

Таблица 5

Экспрессия рецепторов инсулина и глюкозы на лейкоцитах крови беременных с сахарным диабетом 1 типа и у здоровых беременных с нормальной массой тела и ожирением

Интенсивность флуоресценции	ИМТ $20,3 \pm 1,4$ кг/м ² (нормальная масса тела)	ИМТ $36,1 \pm 4,2$ кг/м ² (ожирение)
Беременные с СД1	(n = 24)	(n = 12)
IR-β, %	$87 \pm 2\% \#$	$82 \pm 3\% *$
IR-β, у.е.	171 ± 14	$158 \pm 13 *$
GLUT-1, %	$92 \pm 2\% * \#$	$84 \pm 3\% *$
GLUT-1, у.е.	$120 \pm 7 *$	$111 \pm 5 *$
GLUT-4, %	$90 \pm 2\% * \#$	$83 \pm 2\% *$
GLUT-4, у.е.	$195 \pm 5 *$	$189 \pm 7 *$
Здоровые беременные	(n = 18)	(n = 14)
IR-β, %	$91 \pm 3\%$	$88 \pm 1\%$
IR-β, у.е.	182 ± 12	177 ± 15
GLUT-1, %	$98 \pm 1\%$	$96 \pm 1\%$
GLUT-1, у.е.	145 ± 9	142 ± 11
GLUT-4, %	$96 \pm 1\% \#$	$91 \pm 3\%$
GLUT-4, у.е.	$218 \pm 7 \#$	201 ± 9

* - $p < 0,05$ по сравнению с аналогичной подгруппой здоровых беременных;

- $p < 0,05$ по сравнению с подгруппой с ожирением;

ИМТ – индекс массы тела;

у.е. – условные единицы,

IR-β - рецептор инсулина,

GLUT-1 и GLUT-4 – рецепторы глюкозы.

ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ АУТОАНТИТЕЛ РАЗЛИЧНЫХ ПОРЯДКОВ К ИНСУЛИНУ У БЕРЕМЕННЫХ С СД1 НА СОСТОЯНИЕ НОВОРОЖДЕННЫХ

Выявляемые у беременных с СД1 различия в содержании аАТ различных порядков к инсулину, а также соответствующие им особенности углеводного обмена и характера течения этого заболевания не могут не сказаться как на развитии плода, так и на исходах родов и состоянии новорожденных. Поэтому было проведено изучение состояния новорожденных у женщин всех обследуемых групп.

5.1. Влияние аутоантител различных порядков к инсулину у беременных с СД1 на массу новорожденных

Известно, что наличие СД1 у беременных существенным образом отражается на физическом развитии их детей [Jensen D.M. et al., 2004; Silva Idos S. et al., 2005; Bonifacio E. et al., 2019]. В то же время, зависимость показателей физического развития от выявленных нами особенностей гуморального аутоиммунитета к инсулину не изучалась.

У обследуемых беременных синдром задержки роста плода (СЗРП) отмечался у 46 женщин из 188 (24,5%); чаще всего - у женщин 3 группы (15 чел. - 42,8%). В остальных группах частота встречаемости СЗРП была следующей: в 1 группе – у 9 (17,6%), во 2 группе – у 6 (12,2%), в 4 группе - у 14 женщин (26,4%).

Данные по массе тела новорожденных представлены в таблице 6. При анализе этих данных видно, что наибольшие отклонения в весе наблюдались у детей женщин 3 группы. У 34,3% из них (12 чел.) масса тела колебалась в диапазоне 2000–3000 г. С микросомией (менее 2000 г) в этой группе было 3 ребенка (8,6%).

Наиболее высокие показатели массы тела новорожденных были отмечены у женщин 2 группы. Так, количество детей с массой более 3 кг у женщин 2 группы было достоверно ($p < 0,05$) больше, чем у женщин 3 группы.

Таблица 6

Масса тела новорожденных у матерей с СД1 (в граммах)

Группы женщин	Масса тела новорожденного (грамм)			
	< 2000	2000-3000	3000-4000	>4000
1 гр. – 51 чел.	1 (2,0%)	13 (25,5%)	34 (66,7%)	3 (5,9%)
2 гр. – 49 чел.	-	9 (18,4%)	36 (73,5%)	4 (8,2%)
3 гр. – 35 чел.	3 (8,6%)	12 (34,3%)	20 (57,1%)	-
4 гр. – 53 чел.	1 (1,9%)	17 (32,1%)	34 (64,2%)	1 (1,9%)
Контроль – 32 чел.	-	4 (12,5%)	27 (84,4%)	1 (3,1%)

При оценке особенностей массы тела новорожденных мы применяли и другой подход – использование перцентильной таблицы, которая позволяет определить количественные границы признака (веса), соответствующие норме и отклонениям от нее. Показатели нормы соответствуют интервалу 25-75 Ц, выход за эти границы в сторону уменьшения (<25 Ц) или увеличения (>75 Ц) указывает на признаки аномальной массы тела.

Данные, представленные в таблице 7, показывают, что с низкой массой тела больше всего родилось у женщин 3 группы (34,3%), а крупных детей – во 2 группе (20,4%).

Таблица 7

Масса тела новорожденных у матерей с СД1 (в перцентилях)

Группы матерей	Перцентильные показатели массы тела у новорожденных		
	< 25 П	25-75 П	> 75 П
1 группа	8 (15,7%)	41 (80,4%)	2 (3,9%)
2 группа	1 (2,0%)	38 (77,6%)	10 (20,4%)
3 группа	12 (34,3%)	22 (62,8%)	1 (2,9%)
4 группа	8 (15,1%)	41 (77,4%)	4 (7,5%)

5.2. Нарушения функции ЦНС у новорожденных от матерей с различной антиинсулиновой иммунореактивностью

Одним из наиболее частых видов патологии новорожденных от матерей с СД1 являются нарушения функций ЦНС, в первую очередь - гипоксически-ишемического поражения ЦНС I, II и III степени тяжести. На рисунке 7 представлены различия по степени выраженности таких поражений у новорожденных от матерей исследуемых групп в первые 20 дней жизни. При анализе представленных диаграмм видно, что степени НМК коррелируют с содержанием АТ различных порядков к инсулину.

Наибольшее число новорожденных с гипоксически-ишемическими поражениями ЦНС II и III степени наблюдалось у женщин 3 группы (27 человек – 77,2%), что достоверно больше ($p < 0,05$), чем в любой другой группе.

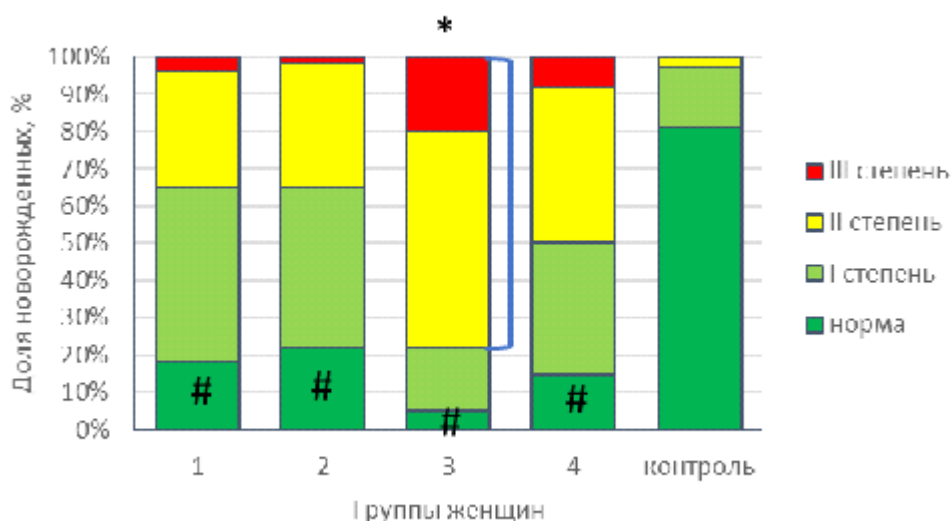


Рис. 7. Степени гипоксически-ишемического поражения ЦНС новорожденных у женщин различных групп.

* - отличия от других групп; # - отличия от контрольной группы

Синдром угнетения ЦНС встречался в 3 группе чаще ($p < 0,05$), чем в других группах – у 40% детей. Также чаще здесь диагностировался судорожный синдром – у 31,4% детей ($p < 0,05$ по сравнению со 2 группой).

Таким образом, результаты исследования нарушений функций ЦНС у новорожденных свидетельствовали о том, что наиболее благоприятные показатели

наблюдались у детей женщин 2 группы (с преимущественным повышением АТ1 к инсулину), а самые неблагоприятные – у детей женщин 3 группы.

5.3. Особенности клинического состояния новорожденных в зависимости от уровня антител различных порядков к инсулину у матерей с СД1

У наблюдавшихся 188 беременных с СД1 роды закончились рождением живых детей. У 1 женщины новорожденный погиб в постнатальном периоде.

Количество преждевременных родов по группам составило 11,8%, 10,2%, 22,9%, 13,2% соответственно. Наблюдалась тенденция к увеличению числа преждевременных родов в 3 группе. В большинстве случаев досрочные роды были вызваны тяжелой формой гестоза и ухудшением внутриутробного состояния плода.

Среди осложнений при родах у новорожденных отмечены состояния асфиксии разной степени тяжести. Частота их встречаемости представлена в таблице 8.

Таблица 8

Степень тяжести асфиксии в различных группах

Группы	N	Степень асфиксии		
		Лёгкая	Средняя	Тяжёлая
1	51	15 (29,4%)	9 (17,6%)	-
2	49	16 (32,7%)	10 (20,4%)	-
3	35	12 (34,3%)	11 (31,4%)	1 (2,9%)
4	53	21 (39,6%)	13 (24,5%)	-
Контрольная	32	2 (6,3%)	1 (3,1%)	-

N – число образцов сыворотки

Как видно из представленной таблицы, наблюдалась тенденция к увеличению более тяжёлых форм асфиксии у женщин 3 группы.

Для анализа взаимосвязи между состоянием здоровья новорожденных и

уровнем определяемых аАТ мы разделили новорожденных на несколько групп в соответствии с тяжестью их состояния и особенностями течения раннего неонатального периода.

Выделено 4 группы детей (и их матерей):

- группа Ia – 54 новорожденных (и их матери) (28,7%) с относительно удовлетворительным состоянием при рождении и в раннем неонатальном периоде;

- группа Ib – 62 новорожденных (и их матерей) (33,0%) с незначительными поражениями ЦНС при рождении и положительной динамикой состояния в течение раннего неонатального периода

- группа II – 55 новорожденных (и их матерей) (29,3%) в состоянии средней тяжести при рождении и в раннем неонатальном периоде;

- группа III – 17 новорожденных (и их матерей) (9,0%) с тяжелым состоянием при рождении и в течение раннего неонатального периода, 1 ребёнок из этой группы погиб постнатально в раннем неонатальном периоде.

Распределение этих детей по группам женщин с различным содержанием противоинсулиновых аАТ представлено на рисунке 8.

При анализе представленных диаграмм видно, что опять наиболее благоприятной в плане показателей здоровья новорожденных оказалась 2 группа женщин с преимущественным повышением АТ1 к инсулину.

Только в этой группе детей в тяжелом состоянии было меньше всего – 2,0%. К группе Ia относилось 51,0% детей, что достоверно ($p<0,05$) больше по сравнению со всеми остальными группами.

Наиболее неблагоприятной в отношении состояния новорожденных оказалась 3 группа пациенток. Среди них было 22,8% детей, родившихся в тяжелом состоянии и 45,7% детей в состоянии средней тяжести (в сумме – 68,5%, что больше, чем в других группах, $p<0,05$). В этой группе один ребёнок, родившийся в тяжёлом состоянии, умер в раннем неонатальном периоде.

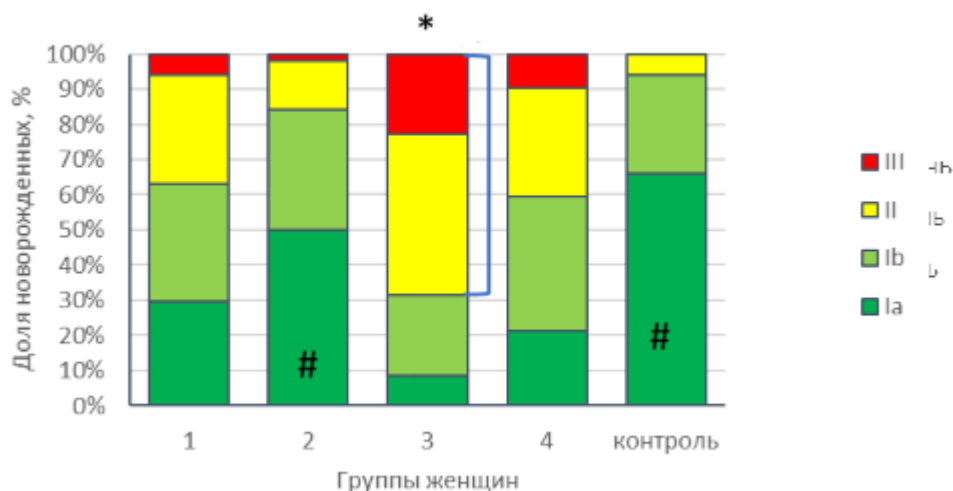


Рис. 8. Состояние здоровья новорожденных у женщин различных групп.

* - отличия от других групп; # - отличия от 1, 3 и 4 групп

В целом, полученные результаты продемонстрировали взаимосвязь между особенностями гуморального аутоиммунитета к инсулину и состоянием здоровья родившихся детей.

Далее приведем краткую клиническую характеристику детей, отнесенных нами к различным клиническим группам.

Все дети группы Ia (54 чел.) родились своевременно и в хорошем или удовлетворительном состоянии, с оценкой по шкале Апгар равной или выше 8 баллов.

Масса тела при рождении по перцентильной шкале оценки для подавляющего большинства детей данной группы (96,3%) (52 чел.) соответствовала диапазону 25-75 П. У 3,7% (2 чел.) новорожденных имели место признаки макросомии с оценкой >75 П.

У части детей (11,1%, 6 чел.) на 2-й день проявилась желтуха, вскоре исчезнувшая.

У 7 детей (13,0%) к началу 2-х суток появились слабые симптомы повышенной нервно-рефлекторной возбудимости. Эти состояния достаточно быстро (в течение 5-6 дней) нормализовались. Все дети этой группы были выписаны в удовлетворительном состоянии.

Для детей группы Ib при рождении характерно удовлетворительное состояние (по шкале Апгар 7-8 баллов) и признаки гипоксически-ишемического поражения ЦНС I степени, выражающиеся в повышенной нервно-рефлекторной возбудимости, расстройствах сна, срыгивании, треморе подбородка, усилении или снижении рефлексов, снижении тонуса мышц. У большинства детей этой группы (54 ребёнка, 87,1%) в первые 3-4 суток не отмечалось значительных нарушений здоровья, однако у 12,9% (8 детей), рожденных в удовлетворительном состоянии, к началу 2-х суток здоровье ухудшилось до среднетяжелого. У этих детей проявились симптомы повышенной нервно-рефлекторной возбудимости и двигательных расстройств, которые достаточно быстро компенсировались соответствующими лечебными мероприятиями. У 6 из них наблюдались гипогликемические состояния, сопровождавшиеся признаками акроцианоза. В результате предпринятого лечения их состояние быстро улучшалось, хотя при этом у 2 новорожденных сохранялась небольшая мышечная гипотония и невыраженное нарушение рефлекторной активности. При этом выявляемые нарушения ЦНС не превышали легкой степени тяжести.

Группу II (55 детей) составили новорожденные, состояние которых оценивалось как среднетяжелое. Из них 14 детей (25,5%) родилась недоношенными. В состоянии асфиксии средней тяжести родилось 27 детей (49,1%).

Оценка по шкале Апгар в основном не превышала 7 баллов на 1-й минуте, но к 5-й минуте в 74,5% (41 ребёнок) достигала 8 баллов.

Масса тела при рождении по перцентильной шкале оценки у 21,8% (12 детей) составляла <25 П с признаками микросомии, и у такого же количества детей имели место признаки макросомии с оценкой >75Ц.

У 34,5% (19 новорожденных) определялся синдром морфофункциональной незрелости, что дополнительно осложнялось серьезной потерей массы тела в первые 3-4 суток.

В течение первых 2-х дней жизни у 25,5% (14 новорожденных) состояние ухудшалось от среднетяжелого до тяжелого. Конъюгационная желтуха появилась у 17 (30,9%) детей. Нарушения функции ЦНС характеризовались проявлением

симптомов НМК I, II или II–III степени, синдромами гипервозбудимости у 26 детей (47,3%), угнетения функций ЦНС - у 23 детей (41,8%), мышечной дистонией – у 36 детей (65,5%), нарушениями зрения, косоглазием у 3 (5,5%) детей. У 7 детей (12,7%) развился судорожный синдром.

Все новорожденные II группы сразу после рождения получали соответствующее лечение. Большинству детей требовалась интенсивная терапия. Проводились оксигенотерапия, инфузионная, гемостатическая и дегидрационная терапия, искусственная вентиляция легких в случаях дыхательной недостаточности. Дети получали антибиотики, комплекс метаболитов и адаптогенных препаратов.

Практически все новорожденные данной группы в состоянии средней тяжести проходили второй этап выхаживания.

Группа III состояла из 17 новорожденных с тяжелым состоянием. Из них 12 (70,6%) детей родились недоношенными; 16 детей в состоянии асфиксии средней тяжести и 1 ребёнок в состоянии тяжёлой асфиксии.

По перцентильной шкале масса всех родившихся детей была оценена как <25П, т.е. все дети были маловесными.

Тяжёлое гипоксически-ишемическое поражение ЦНС наблюдалось у 14 детей (82,4%) и характеризовалось тяжелыми нарушениями мозгового кровообращения II и III степени, синдромами гипервозбудимости и угнетения ЦНС, снижением безусловно-рефлекторной активности и мышечной гипотонией, которая в последующем нередко сменялась гипертонусом отдельных групп мышц конечностей и проявлением судорожного синдрома. В результате перенесенной гипоксии у 7 детей (41,2%) развивалась дыхательная недостаточность; у 6 детей (35,3%) формировался отечный синдром.

На 2-4 сутки жизни состояние 2 детей ухудшалось до крайне тяжелого, развивались нарушения микроциркуляции и гемодинамические расстройства, проявлялась конъюгационная желтуха 2 и 3 степени тяжести, а уровень общего билирубина возрастал до 320 мкмоль/л. Один ребёнок погиб в раннем неонатальном периоде.

Детям этой группы требовалось проведение интенсивной терапии с момента рождения. Они получали лечение в отделении интенсивной терапии с использованием оксигенотерапии и искусственной вентиляции легких. Проводилась инфузионная терапия и лечение антибиотиками, комплексом метаболитов, адаптогенов и гемостатических препаратов.

Материалы разделов 5.1, 5.2 и 5.3 опубликованы в журнале Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 2022, № 3.

5.4. Клинические признаки диабетической фетопатии (ДФ) у новорожденных от матерей с СД1

Признаки диабетической фетопатии (ДФ) различной степени выраженности встречались во всех группах новорожденных от матерей с СД1 (таблица 9).

Выявлено, что количество детей без признаков ДФ статистически значимо ($p < 0,001$) уменьшалось с утяжелением состояния новорожденных (в группах Ia, Ib, II). Количество детей с признаками ДФ в группе Ia достоверно меньше ($p < 0,001$) чем в других группах. У детей этой группы отсутствовали признаки выраженной ДФ (кардиомегалия, гепатомегалия, спленомегалия). Количество фенотипических признаков ДФ, встречающихся у одного новорожденного в группе Ia, составляло от 1 до 3. Максимальное количество сочетанных признаков ДФ отмечалось у детей II и III групп и доходило до 6-7 признаков у одного ребенка.

Чаще всего у новорожденных выявляли следующие фенотипические признаки ДФ: пастозность мягких тканей (62,8%), лунообразное лицо (39,9%), короткая шея (23,4%), одутловатость лица (18,6%). Эти признаки встречались у детей всех клинических групп. Причем частота встречаемости пастозности мягких тканей и лунообразного лица достоверно ($p < 0,001$) возрастала с утяжелением клинического состояния новорожденных. Выявлено достоверное увеличение от группы к группе встречаемости таких признаков, как короткая шея ($p < 0,01$) и выраженный плечевой пояс ($p < 0,01$).

Таблица 9

**Признаки диабетической фетопатии у новорожденных
от матерей с СД1**

Признаки ДФ	Ia (n=54)	Iб (n=62)	II (n=55)	III (n=17)
кардиомегалия			7 (12,7%)	4 (23,5%)
гепатомегалия		6 (9,9%)	35 (63,6%)	13 (76,4%)
спленомегалия			4 (7,3%)	2 (11,6%)
лунообразное лицо	7 (12,9%)	15 (25%)	39 (70,9%)	14 (82,4%)
одутловатость лица	3 (5,5%)	13 (20,9%)	16 (29%)	3 (17,6%)
заплывшие глаза		9 (14,5%)	15 (27,3%)	6 (35,3%)
пастозность мягких тканей	4 (7,4%)	47 (75,8%)	51 (92,7%)	16 (94,1%)
короткая шея	5 (9,3%)	11 (17,7%)	25 (45,5%)	3 (17,6%)
короткие конечности		2 (3,3%)	13(23,6%)	3 (17,6%)
выраженный плече- чевой пояс		3 (4,8%)	9 (16,4%)	2 (11,6%)
гипертрихоз			10 (18,1%)	5 (29,4%)
избыточный вес	2 (3,7%)	5 (8,1%)	12 (21,8%)	
нет признаков ДФ	46 (85,2%)	32 (51,6%)	9 (16,4%)	1 (5,9%)

n – количество детей

Кардиомегалию и спленомегалию, указывающие на выраженную ДФ, выявляли только у детей II и III групп. У 54 (28,7%) детей выявлена гепатомегалия. Не зафиксировано ни одного случая гепатомегалии у детей группы Ia. Частота встречаемости этого признака ДФ в других клинических группах статистически значимо ($p < 0,001$) возрастала с утяжелением состояния новорожденных.

Новорожденные контрольной группы не имели признаков ДФ. Избыточный вес был отмечен у 1 (3,1%) новорожденного из группы контроля.

ГЛАВА 6. ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ЗДОРОВЬЕМ НОВОРОЖДЕННЫХ И СОДЕРЖАНИЕМ У НИХ АНТИТЕЛ К ИНСУЛИНУ 1, 2 И 3 ПОРЯДКОВ

Литературные данные свидетельствуют о значительной зависимости состояния плода/новорожденного от особенностей антиинсулиновой иммунореактивности матерей с диагнозом СД1 [Евсюкова И.И. и соавт., 1996; Hoftman A.C. et al., 2008; Koczwara K. et al., 2004; Bonifacio E. et al., 2019; Penno M.A., 2020].

В наших исследованиях установлено, что при СД1 у беременных содержание АТ к инсулину 1, 2 и 3 порядков может быть различным, что коррелирует с особенностями течения беременности и состоянием здоровья новорожденных. Избыточные количества антиинсулиновых антител, переносимых трансплацентарно к плоду могут существенно влиять на развитие плода и состояние новорожденного.

Было показано влияние особенностей гуморального иммунитета к инсулину у новорожденных на тяжесть их состояния.

На рисунке 9 представлены результаты сопоставления состояния здоровья новорожденных, относящихся к группам Ia, Ib, II и III с содержанием у них АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину. Как показали эксперименты, описанные ранее, АТ2 к инсулину можно условно рассматривать как АТ к рецепторам инсулина. Была показана взаимосвязь между здоровьем новорожденных и содержанием у них АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину.

Из представленного графика видно, что чем выше содержание у ребёнка АТ2 к инсулину, тем более тяжелое его состояние, т.е. мы видим их повышение от группы Ia к группе III ($p < 0,05$). Между группами Ia и II тоже наблюдалась достоверная разница по уровню АТ2.

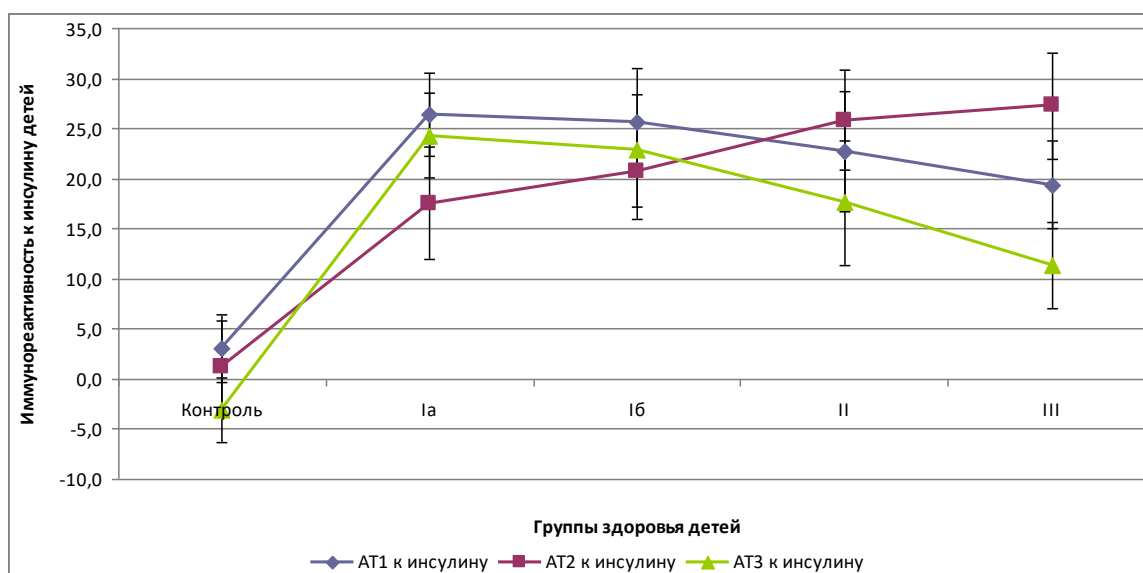


Рис. 9. Взаимосвязь между здоровьем новорожденных от матерей с СД1 и содержанием AT1, AT2 и AT3 к инсулину.

Что касается уровней AT1 и AT3, то тут наблюдается противоположная картина. От группы Ia к группе III наблюдается достаточно равномерное снижение их содержания, причем для AT3 это снижение носило достоверный характер ($p < 0,05$).

У детей группы Ia с благоприятным течением раннего неонатального периода наблюдалось самое высокое содержание антиинсулиновых AT1 и AT3. Эти результаты дают основание рассматривать повышенное содержание антиинсулиновых AT1 и AT3 как положительный фактор для организма новорожденных при СД1 у их матерей. Можно предположить, что высокие уровни AT1 и AT3 способствуют снижению отрицательного воздействия трансплацентарно поступающих к плоду повышенных количеств материнских антирецепторных AT2. В тоже время, избыточные количества AT1, связывая циркулирующий в крови ребенка эндогенный инсулин, помогают защитить его от протеолиза и пролонгируют его активность. AT3 теоретически тоже могут связывать инсулин, однако эта связь на порядок слабее.

Приведенные выше данные позволяют прийти к выводу о крайне негативном влиянии на состояние детей повышенного содержания антирецепторных AT2. При этом, вероятно, у самих новорожденных продукция собственных анти-

инсулиновых АТ1 и АТ3 вполне может оказаться недостаточной для блокирования избыточных количеств материнских АТ2, проникающих при беременности трансплацентарно.

Таким образом, полученные данные указывают на зависимость состояния новорожденных от характера их антиинсулиновой реактивности на протекторную роль АТ1 и АТ3 к инсулину.

ГЛАВА 7. УРОВЕНЬ ГЛИКЕМИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С СД1

Анализ основных параметров гликемии был проведен у всех 188 новорожденных от матерей с СД1. У 104 детей (55,3%) медианы среднесуточного уровня глюкозы в крови соответствовали значениям, характерным для здоровых новорожденных (2,0–5,6 ммоль/л). Отклонения от нормального уровня выявлены у 84 новорожденных (44,7%), из них синдром гипогликемии отмечен у 46 детей (24,5%), а гипергликемии – тоже у 38 новорожденных (20,2%). Частота проявления гипер- и гипогликемических состояний по группам детей представлена на рисунке 10.

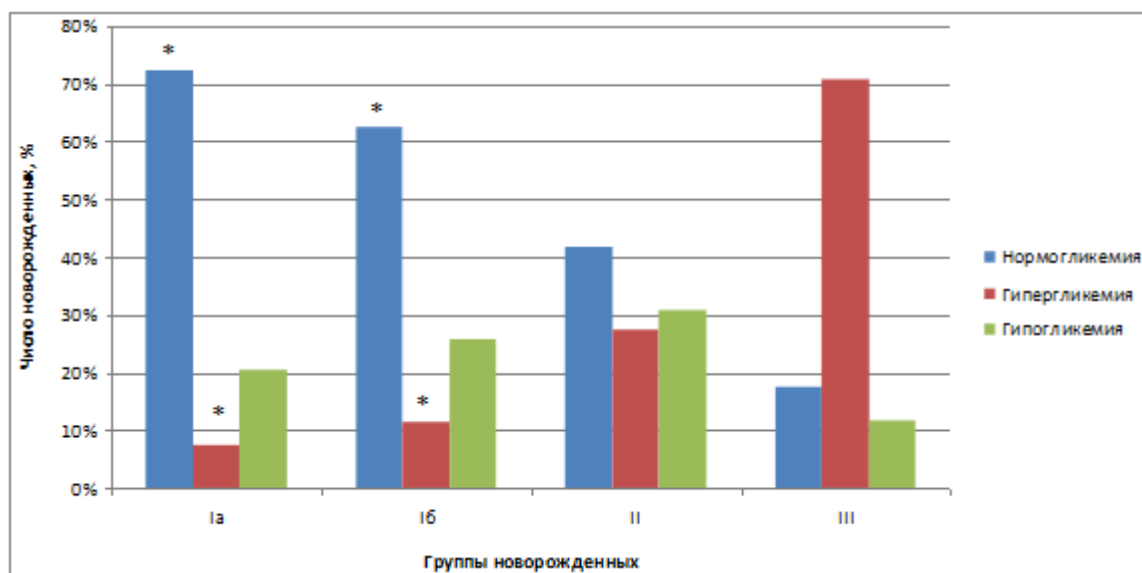


Рис. 10. Частота проявления среднесуточной нормогликемии, гипо- и гипергликемии в группах новорожденных в зависимости от тяжести их состояния.

*- $p < 0,01$ по сравнению с группой III

Нормогликемия чаще всего определялась у новорожденных с удовлетворительным состоянием или с незначительными отклонениями в группах Ia и Ib. Так, в первые сутки жизни нормальный уровень глюкозы в этих группах отмечен у 39 (72,2%) и 39 (62,9%) детей соответственно, что достоверно выше ($p < 0,01$), чем в группе III (17,6%, 3 чел.).

Частота проявлений дисглюкоземии возрастала по мере утяжеления состо-

яния новорожденных: от 27,8% (15 чел.) в группе Ia до 82,4% (14 чел.) в группе III ($p < 0,05$).

Выявлено, что максимальная и минимальная гликемия у новорожденных в первые сутки имела некоторые отличия по группам (рис. 11).

В группе Ia медиана максимального уровня гликемии в первые сутки жизни оставляла 3,4 (2,5-4,8) ммоль/л, минимального - 2,6 (2,0-3,1) ммоль/л. В течение раннего периода адаптации медианы среднесуточных значений гликемии колебались в диапазоне значений 3,4–5,5 ммоль/л. Число новорожденных с гипогликемией составило 9 (16,7%), со слабо выраженной гипергликемией 6 (11,1%) ребенка.

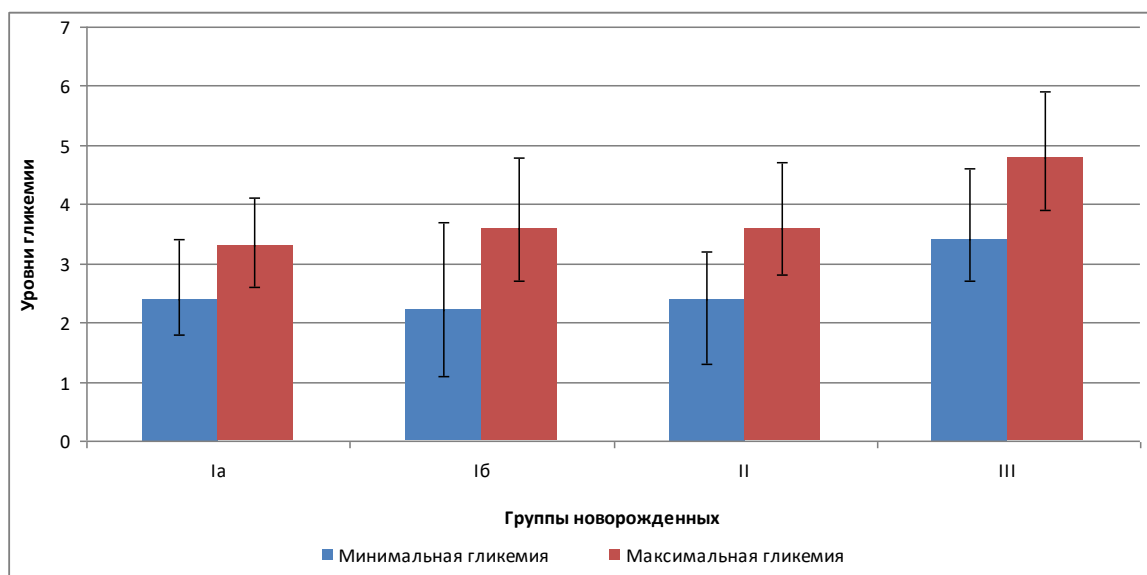


Рис. 11. Медианы минимальной и максимальной гликемии в первые сутки у новорожденных с состоянием различной степени тяжести.

У новорожденных группы Ib нормальный уровень глюкозы определялся в 62,9% (39 чел.) наблюдений, а нарушения гликемического состояния в первый день жизни отмечены у 23 (37,1%) детей. Минимальные значения медианы гликемии составляли 2,0-3,2 ммоль/л, а максимальные - 2,7-5,5 ммоль/л. В течение последующего раннего периода адаптации медианы максимальных значений среднесуточной гликемии варьировали в диапазоне от 3,7 до 6,6 ммоль/л, а минимальных – 2,1-3,0 ммоль/л.

Группа II новорожденных достоверно ($p < 0,05$) отличалась от групп Ia и Ib снижением числа детей с нормальным уровнем гликемии - до 41,8% (23 чел.) и увеличением числа детей с дисглюкоземией - 58,2% (32 чел.),

В первые сутки жизни медиана максимальной гликемии составляла 3,9 (2,9-5,2) ммоль/л, а минимальной - 1,8 (1,3-2,8) ммоль/л. Во время последующего раннего периода адаптации медианы максимальных значений гликемии варьировали в диапазоне от 3,0 до 4,7 ммоль/л, а минимальных – 1,3-2,6 ммоль/л.

Гипогликемия первых часов жизни у 17 детей имела неодинаковый характер: у одних (9 человек) она была непродолжительной и легко компенсировалась. У другой части новорожденных II группы (8 человек) гипогликемия отличалась устойчивостью и с трудом поддавалась терапии. У этих детей проявлялись клинические симптомы гипоксии: снижение двигательной и условно-рефлекторной активности, трудности с дыханием. Для матерей этих детей, в целом, было характерно субкомпенсированное течение СД1.

Гипергликемия, зафиксированная в первые часы жизни у 15 новорожденных, в 80,0% случаев достигала значений 7,0 ммоль/л. Однако она не сопровождалась выраженными клиническими проявлениями и отличалась непродолжительностью.

В III группе установлено дальнейшее уменьшение числа детей с нормальным содержанием глюкозы в крови до 17,6% (3 чел.) и повышение числа новорожденных с дисглюкоземией до 82,4% (14 чел.): 8 детей (47,1%) с гипергликемией и 6 (35,3%) - с гипогликемией.

Среднесуточные медианы максимальной и минимальной гликемии в первый день после рождения составляли соответственно 4,6 (3,5-5,9) и 3,2 (2,6-4,0) ммоль/л. В течение всего раннего периода адаптации медианы максимальных значений гликемии находились в пределах 3,6 – 6,6 ммоль/л, а минимальных – 2,8-3,9 ммоль/л.

Гипергликемия с уровнем выше 6,5 ммоль/л имела место у 29,4% (5 чел.) детей и отличалась устойчивостью и невосприимчивостью к инсулинотерапии. Примечательно, что матери этих детей были отнесены к 3 группе, т.е. с преиму-

щественным повышением АТ2 к инсулину.

Гипогликемия первых часов жизни у части детей данной группы (3 чел., 17,6%) была сравнительно непродолжительной и приходила в норму от инъекций раствора глюкозы. У другой части новорожденных (3 чел., 17,6%), среди которых были недоношенные дети, гипогликемия носила устойчивый характер. Важно подчеркнуть, что матери этих детей страдали тяжелой формой СД1 в стадии субкомпенсации.

Анализируя взаимосвязь зависимости особенностей гликемии новорожденных от содержания в их крови АТ различного порядка к инсулину, мы видим, что если взять детей с дисглюкоземией Ia и Ib групп, для которых, в целом, характерно повышение АТ1 к инсулину, то гипогликемия встречалась в 71,1% (27 чел.) случаев, что выше, чем в III группе, для которой, в целом, характерно повышение АТ2 к инсулину (2 чел., 14,3%, $p < 0,05$). Соответственно, среди детей Ia и Ib групп с дисглюкоземией количество детей с гипергликемией (11 чел., 28,9%) меньше, чем в III группе (12 чел., 85,7%, $p < 0,05$).

Исходя из этого можно сделать вывод о том, что АТ2, как было показано выше, блокируя рецепторы инсулина, создают основу для инсулинорезистентности, а АТ3 к инсулину, синтез которых индуцируется соответствующими АТ2, связывают АТ2 и тем самым блокируют их патогенное действие.

Материалы главы 7 опубликованы в журнале Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 2022, № 3.

ГЛАВА 8. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе предпринята попытка оценить влияние особенностей иммунореактивности к инсулину у матерей с диагнозом СД1 на состояние здоровья их новорожденных. По данным отечественных и зарубежных исследователей перинатальная заболеваемость у таких детей продолжает оставаться высокой, поэтому её ранняя диагностика и профилактика чрезвычайно актуальны. До недавнего времени важнейшим критерием сбалансированности течения СД1 и благоприятного исхода беременности считалось поддержание нормогликемии. Однако многочисленные эпидемиологические исследования последних лет свидетельствуют о том, что несмотря на нормализацию уровня глюкозы в крови во время беременности, уровень перинатальной заболеваемости и смертности остается значительно более высоким по сравнению с популяционными показателями.

Кроме того, СД1 относят к аутоиммунным заболеваниям, при котором у большинства больных определяется повышенное содержание антиинсулиновых антител, способных при беременности проходить через плацентарный барьер и влиять на морфогенез плода и здоровье новорожденного.

Поэтому есть все основания полагать, что именно изменения в системе гуморального иммунитета у беременных с СД1 могут быть причиной повышенного риска перинатальных осложнений. В литературе обычно рассматриваются в таком контексте идиотипические АТ к инсулину или АТ первого порядка. Однако известно, что согласно «сетевой» теории Нильса Ерне (1974), переменные участки АТ первого порядка индуцируют синтез антиидиотипических АТ, или АТ второго порядка. Их переменные участки, индуцируют синтез АТ третьего порядка и т.д. Причем АТ3 иммунохимически подобны АТ1, однако их связь с самим АГ на порядок слабее. Наличие в организме в норме подобной «иммунной сети» является основой её саморегуляции [Полетаев А.Б., Морозов С.Г. 1996; Акмаев И.Г. с соавт., 2014].

Что касается АТ2 к инсулину и их влияния на течение беременности и перинатальные исходы, то в литературе имеются лишь единичные публикации [Гнеденко Б.Б., 2001, 2006; Будыкина Т.С., 2010; Poletaev A.V. et al., 2000]. Что

касается АТЗ к инсулину, то таких публикаций нами не обнаружено. В то же время ввиду того, что функциональная активность АТ1, АТ2 и АТЗ к инсулину неразрывно связана друг с другом, мы считаем, что комплексное изучение их влияния на течение беременности при СД1 и перинатальные исходы будет более объективно и показательно, чем изучение их по отдельности.

С этой целью прежде всего были созданы иммуноферментные тест-системы для определения АТ1, АТ2 и АТЗ к инсулину (коэф. вариации 7,2-9,1%). При разработке тест-системы для определения АТ1 к инсулину в качестве АГ на планшет наносили олигомерный инсулин, ввиду его небольшой молекулярной массы. При создании тест-систем для определения АТ2 и АТЗ к инсулину - F(ab)₂-фрагменты АТ1 и АТ2 к инсулину, полученных из сывороток гипериммунных кроликов.

Далее были исследованы особенности биосинтеза антиинсулиновых АТ1, АТ2 и АТЗ в эксперименте и клинике. В эксперименте самок крыс иммунизировали олигомерным инсулином. Было установлено, что продукция АТ1 и АТ2 достигает максимума на 15-16 неделе после начала иммунизации. При этом биосинтез АТ1 происходит в два этапа: первый пик определяется через 9-10 недель от начала иммунизации, а второй пик - на 6 недель позже, практически одновременно с максимумом АТ2. Максимальная продукция АТЗ отмечается на 22 неделе, что совпадает третьим пиком АТ1 и АТ2. Есть основания полагать, что их продукция обусловлена нарастанием содержания в крови антиидиотипических АТ2, которые в качестве иммунохимического подобия антигена-инсулина копируют различные антигенные домены (в том числе стерически скрытые в нативной молекуле гормона) и инициируют синтез АТЗ.

Поэтому неудивительно, что когда на планшет мы сорбировали олигомерный инсулин и F(ab)₂-фрагменты АТ2 к инсулину, а затем обрабатывали его антисывороткой к инсулину и проявляли реакцию соответствующим конъюгатом, то наибольший сигнал получали от тех лунок, на которых были сорбированы F(ab)₂-фрагменты АТ2 к инсулину.

Убедиться в способности АТ2 связываться с рецепторами инсулина и выступать в качестве антирецепторных аутоантител позволили проведенные совместно с д.м.н. Т.С. Будыкиной, исследования специфичности связывания кроличьих АТ2 с инсулиновыми рецепторами, локализованными в мембранной фракции ткани мозга. Используя метод иммуноферментного анализа, мы показали, что при конкурентном взаимодействии АТ2 и инсулина за связывание с его рецепторами, сорбированными на лунках планшетов для ИФА, инсулин подавляет взаимодействие АТ2 с рецепторами. Ингибирование имеет количественный характер и прямо пропорционально дозе вносимого в лунки инсулина. Специфичность взаимодействия АТ2 с рецепторами дополнительно подтверждалась отсутствием ингибирующего эффекта при замене инсулина (как конкурирующего агента) на БСА, а чистота эксперимента – отсутствием взаимодействия АТ2 с инсулином. Этот результат подтверждает правомочность оценки АТ2 как антител к рецепторам инсулина - антирецепторных антител.

Учитывая разнонаправленность влияния АТ1, АТ3 и АТ2 на течение СД1 у беременных женщин, мы рассматривали их в комплексе. Из литературных источников известно, что в крови больных СД1 определяются и те и другие антитела [Bell R. et al., 2008; Bonifacio E. et al., 2019, Penno M.A., 2020]. Однако оценка их совокупного влияния на течение СД1 требует дополнительного анализа.

Количественное содержание АТ1, АТ2 и АТ3, установленное при обследовании пациенток, страдающих СД1, позволило выделить четыре группы женщин, имеющих характерные различия в уровнях и количественном соотношении антиинсулиновых АТ1, антирецепторных АТ2 и АТ3, а так же группу контроля – женщин без эндокринной патологии, аутоиммунных заболеваний, сопутствующей соматической патологии, психических и инфекционных заболеваний. Важно подчеркнуть, что при определении содержания антиинсулиновых АТ3 использовали F(ab)₂-фрагменты АТ2, а для оценки уровня антирецепторных АТ2 - F(ab)₂-фрагменты АТ1.

Полученные результаты свидетельствуют о вариабельности в биосинтезе антиинсулиновых антител, которая в большинстве случаев отражает характерные

особенности течения заболевания. К 1 группе были отнесены женщины, у которых уровни АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину были не повышены. Ко 2-й группе отнесены женщины с избирательным повышением содержания АТ1 к инсулину, то есть у кого коэффициент АТ1/АТ2 и АТ1/АТ3 превышал 1,2. В 3-ю группу вошли женщины с преимущественным повышением АТ2, а в 4-ю группу с преимущественным содержанием АТ3 в сыворотке крови.

Из исследования были исключены женщины, беременность которых не закончилась рождением ребёнка, т.к. основная цель нашего исследования заключалась в оценке влияния особенностей гуморального иммунитета к инсулину при СД1 у матери на состояние здоровья родившихся детей.

Анамнестический анализ, проведенный в данных группах пациенток, выявил существование взаимосвязи между репертуаром антиинсулиновых антител и продолжительностью патологического процесса: наиболее длительный срок болезни (более 10 лет) был выявлен у большинства пациенток 1 группы. Самый непродолжительный срок заболевания (до 6 лет) отмечался у большинства женщин 2 группы. Далее по продолжительности заболевания следуют женщины 3 и 4 группы.

Полученные данные во многом напоминают результаты эксперимента, где у животных иммунизация инсулином вначале вызывала индукцию соответствующих АТ1, затем АТ2, а потом уже АТ3, только здесь уже наблюдались другие временные диапазоны.

Мы полагаем, что эти данные правомерно рассматривать в согласии с существующими представлениями о характере патогенеза СД как о постепенном процессе разрушения островковых клеток поджелудочной железы антителами к антигенам этих клеток по мере их накопления. Этот процесс может продолжаться незаметно в течение месяцев и даже лет, вплоть до клинического проявления болезни. Поэтому многие исследователи рассматривают АТ1 в качестве надежного маркера доклинических стадий диабета [Беспалова В.А. и соавт., 1991; Potter K.N. et al., 2000; Atkinson M.A. et al., 2009]. При этом гиперпродукция антиинсулиновых АТ1, по-видимому, служит толчком к последующей индукции биосинте-

за антиидиотипических, т.е. антирецепторных АТ2, которые при достижении патологического уровня приводят к наиболее тяжелой клинической картине основного заболевания [Elias D. et al., 1987; Potter K.N. et al., 2000]. Мы сделали предположение, что нарастающие затем уровни АТ3, связывающие АТ2, могут нивелировать их негативные эффекты, что и было наглядно продемонстрировано в ходе нашей работы. А то, что в 1 группе, с наиболее длительным анамнезом СД1 мы не видим повышенной продукции антиинсулиновых АТ, то это, на наш взгляд, является следствием истощения соответствующих звеньев системы гуморального иммунитета.

Что касается таких осложнений СД1 как диабетическая ретинопатия, нефропатия и полинейропатия, то самая низкая их частота наблюдалась во 2 группе, затем следуют 3, потом 4 группы. А самая высокая частота таких осложнений наблюдалась в 4 группе. На основании полученных данных был сделан вывод о том, что их встречаемость зависит в первую очередь от давности заболевания, а не от особенностей продукции противоинсулиновых АТ, хотя их участие в инициации данных процессов тоже нельзя исключать.

Как показали наши исследования, характер сывороточной реактивности АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину в значительной степени определяет клинические особенности течения СД1

Известно, что тяжесть течения СД во многом определяется компенсированностью углеводного обмена. В каждой из четырех групп пациенток репертуар антиинсулиновых антител в большинстве случаев коррелировал с тяжестью течения заболевания, степенью его компенсированности и уровнем гликемии. У пациенток 3-й и 4-й групп медианы максимального среднесуточного содержания сахара в крови до наступления беременности составляли 12,2 и 11,8 ммоль/л соответственно, что было достоверно выше, чем в 1-й и 2-й группах, где данный показатель составлял 9,0 и 9,2 ммоль/л соответственно. Показатель гликированного гемоглобина самым высоким был в 3 группе (медиана 8,9%). Примечательно, что в 4 группе его уровень был достоверно меньше (медиана 8,2%). И этот результат представляется нам принципиально важным, так как является одним из подтвер-

ждений нашей концепции о протективной роли АТЗ к инсулину. В 1 и 2 группах содержание гликированного гемоглобина было достоверно меньше и между собой значимо не отличалось.

Прослеживалась также взаимосвязь между тяжестью и характером течения СД1 и особенностями продукции АТ к инсулину. Так, женщин с тяжёлой формой СД1 больше всего наблюдалось в 3 группе (71,4%), в 4 группе их было меньше (54,7%), что опять же говорит в пользу нашей концепции о протективной роли АТЗ. К тому же в 4 группе течение СД1, в целом, характеризовалось как субкомпенсированное, в то время как в 3 группе субкомпенсации удалось достичь только у 14,3% женщин. У этих пациенток часто наблюдались тяжелые гипогликемические состояния, и нередко формировались гипергликемия и инсулинорезистентность. В 1 и 2 группах удавалось достичь субкомпенсации, а в некоторых случаях, главным образом во 2 группе (20,4%) и компенсации процесса, т.е. 2 группа в этом плане была самой благоприятной.

Несмотря на то, что мы видим явно негативное влияние антирецепторных АТ2 к инсулину на течение СД1, есть все основания полагать, что их действие может иметь разноплановый характер. И это обусловлено тем, что АТ2 в качестве подобия инсулина обладают определенной разнородностью доменов, свойственных гормону, которые способны неоднозначно влиять на содержание глюкозы у больных СД1. Полагают, что некоторые из доменов, активизируют рецепторы, вызывая тем самым развитие гипогликемии [Elias D. et al., 1987]. Это соображение подтверждается нашими данными, полученными в модельных экспериментах на крысах: повышенные концентрации АТ2 к инсулину в крови животных способствуют достоверно более активной утилизации экзогенно вводимой глюкозы.

На первый взгляд может показаться, что данный результат противоречит полученным нами результатам клинических исследований. Возможно, следовало ожидать, что АТ2 должны блокировать инсулиновые рецепторы и таким образом снижать толерантность к глюкозе (снизить интенсивность потребления глюкозы). В то же время, данный факт также может найти и свое объяснение. Дело в том, что, по-видимому, АТ2, как уже было отмечено, могут иметь разную специфич-

ность и мимикрировать под различные эпитопы инсулина. И если некоторые из таких АТ могут блокировать инсулиновые рецепторы, то другие могут мимикрировать под действие инсулина и таким образом запускать метаболические каскады, которые наоборот будут способствовать повышенной утилизации глюкозы.

Взаимодействие с доменами, которые, наоборот, способны блокировать инсулиновые рецепторы, приводит к инсулинорезистентности и гипергликемии [Lapolla A. et al., 2009; Lepercq J. et al, 2019]. Способность блокировать действие инсулина и нарушать возможность клеток связывать гормон во многом зависит от конкуренции между инсулином и АТ2 за взаимодействие со специфическими рецепторами. Кроме того, есть сведения о том, что АТ2 при связывании с мембранными рецепторами инсулина могут снижать их количество в результате поглощения связанных рецепторов цитоплазмой [Garcia-Bournissen F. et al., 2003]. В этом случае даже при избыточной секреции эндогенного инсулина или при инъекциях его экзогенных аналогов может наблюдаться недостаток функционирующего инсулина, известный как патологическая инсулинорезистентность, сопровождающаяся гипергликемией. Важная роль антирецепторных АТ2 в развитии инсулинорезистентности и гипергликемии подтверждается рядом других исследователей [Балаболкин М.И., 1998; Rochet N. et al., 1989; Schranz D.B, 2000].

Гиперпродукция антиинсулиновых АТ1 способствовала наиболее благоприятному течению СД1. Только у женщин 2 группы удавалось добиться компенсированного и наиболее мягкого течения заболевания в сравнении с другими группами. И хотя у них нередко отмечаются незначительные гипогликемические состояния, особенно в 1-м и 3-м триместрах, они не сопровождаются серьезными клиническими обострениями и устраняются сравнительно легко. Сходной точки зрения придерживаются и некоторые другие авторы, рассматривая взаимосвязь между состоянием легкой гипогликемии и гиперпродукцией АТ1 к инсулину [Вахрушева Л.Л. и соавт., 1991].

Влияние повышенных концентраций АТ1 может подразумевать несколько вариантов активности АТ1. Например, повышенные уровни АТ1 активизируют образование комплексов АТ1-АТ2, что может способствовать уменьшению небла-

гоприятных воздействий АТ2 на инсулиновые рецепторы (на их избыточное блокирование или деблокирование) и восстановлению способности рецепторов связывать инсулин, нормализуя его физиологическую активность.

Другой вариант влияния АТ1 - формирование его комплексов с циркулирующим в крови свободным инсулином. Такие комплексы, распадаясь, вызывают появление в крови повышенных концентраций свободного инсулина, что может способствовать развитию гипогликемического состояния [Краснопольский В.И. и соавт., 1991]. Аналогичный механизм влияния гиперпродукции АТ1 на формирование состояния легкой гипогликемии рассматривает и Л.Л. Вахрушева [1991].

Относительно благоприятное течение СД1 у пациенток с преимущественной продукцией АТ1 дает основание для предположения о протективном характере влияния АТ1, которое можно объяснить способностью этих антител при связывании с инсулином защищать его от протеолиза, позволяя тем самым продлевать его физиологическую активность и снижать потребность в экзогенном инсулине. В этом случае проявляется склонность к легким гипогликемическим состояниям у пациенток с благоприятным течением беременности.

При отсутствии повышения АТ какого-либо порядка к инсулину (1 группа) течение СД1 во время беременности было стабильно субкомпенсированным с минимальными колебаниями гликемии и потребности в инсулине. Не исключено, что отсутствие повышенных показателей противоинсулиновых АТ связано не только с истощением со временем пулов соответствующих иммунокомпетентных клеток, но и с иммуносупрессивным эффектом различных вирусных, вирусоподобных и бактериальных инфекций. На определенное влияние вирусных и микробных агентов на аутореактивность к компонентам β -клеток при СД1 указывается в ряде зарубежных исследований [Singh B. et al., 1993; Pak C.J. et al., 1988; Harrison L.C., 1992; Ghosh S. et al., 2022].

Для женщин 3 группы, с повышенным уровнем антирецепторных АТ2 к инсулину, было характерно тяжёлое, некомпенсированное течение СД1 во время беременности с аномально высоким уровнем гликемии и повышенной потребностью в инсулине, особенно во 2 и 3 триместрах.

У женщин 4 группы, с повышенным содержанием АТЗ к инсулину, течение СД1 во время беременности носило более благоприятный характер, чем в 3 группе. Оно характеризовалось как субкомпенсированное практически на всем протяжении беременности с перемежающимися периодами декомпенсации, периодическими состояниями гипогликемии у большинства пациенток в 1-м и в конце 3-го триместров и повышенной потребностью в инсулине к концу беременности, что нередко проявлялось даже при нормальном уровне глюкозы в крови. Это опять же свидетельствует в пользу нашего предположения о протекторной роли АТЗ к инсулину.

Таким образом, сопоставление результатов клинических наблюдений с данными по содержанию антиинсулиновых АТ1, АТ2 и АТЗ позволяет прийти к заключению о зависимости клинической картины патологического процесса от характера антиинсулиновой иммунореактивности. Это создает для клиники дополнительные возможности для мониторинга течения СД1 во время беременности.

Степень утилизации глюкозы в организме во многом зависит от уровня экспрессии рецепторов инсулина и глюкозы на клетках. В литературе имеются данные о снижении экспрессии IRS-1, GLUT-1 и GLUT-4 при гестационном диабете, а также об изменениях фосфорилирования рецепторов инсулина без нарушения их экспрессии на клетках скелетной мускулатуры [Chu Y. et. al., 2014].

Принимая во внимание приведённые выше данные о возможности интернализации мембранных рецепторов инсулина и уменьшения их количества вследствие связывания с АТ2 к инсулину [Garcia-Bournissen F. et al., 2003], на следующем этапе нашей работы было проведено сравнение уровней экспрессии рецепторов инсулина и глюкозы (GLUT-1 и GLUT-4) на лейкоцитах периферической крови у здоровых беременных женщин и беременных с СД1. Также проведен анализ изменения их уровней в зависимости от наличия ожирения.

В результате было показано, что при СД1 у беременных в клетках крови наблюдается нарушение экспрессии рецепторов глюкозы, а при ожирении – и инсулина, что отражает резистентность к инсулину у данной группы больных. В

тоже время какой-либо достоверной взаимосвязи с особенностями гуморального аутоиммунитета к инсулину выявлено не было.

Различные аутоиммунные заболевания, куда можно отнести и СД1, негативно влияют на условия развития эмбриона/плода, что не может не оказывать влияния на состояние здоровья новорожденного [Borchers A.T. et al., 2010]. Литературные источники указывают на отрицательные последствия нарушенной антиинсулиновой иммунореактивности у матерей для развития плода и состояния новорожденного [Betterle C. et al., 1980; Borchers A.T. et al., 2010; Atkinson M.A. et al., 2009; Lepercq J. et al., 2019]. Особо важная роль при этом принадлежит процессу трансплацентарного поступления к плоду избыточных количеств материнских антиинсулиновых АТ, способных нарушить формирование оптимального содержания данных антител у новорожденного с последующими изменениями в обменных процессах и нормальное развитие различных систем организма.

Эти данные совпадают с наблюдениями других авторов, отмечавших, что для достижения компенсированного течения СД1 и нормального развития эмбриона/плода часто бывает недостаточно лишь одной адекватной инсулинотерапии [Будыкина Т.С., 2010; Shand A.W. et al., 2008].

Многие исследователи отмечают, что нарушения в системе гуморального иммунитета матери при СД являются одной из причин рождения у них детей с аномальной массой тела [Полетаев А.Б. с соавт., 1998, 2000; Evers I.M. et al., 2002]. В нашем исследовании прослеживалась взаимосвязь между массой родившихся детей и особенностями продукции АТ к инсулину. Так, во 2 группе женщин, с преимущественным повышением АТ1 к инсулину, наблюдалось больше всего детей с повышенной массой тела (20%; >75 П). Тогда как новорожденные от матерей с преимущественной продукцией антирецепторных АТ2 к инсулину (3-я группа) достоверно чаще (34,3%) рождались с микросомией (<25П). Именно в этой группе чаще, чем в других отмечался СЗРП (42,8%).

Рождение детей с микросомией или с макросомией в связи с нарушением иммунореактивности к инсулину у их матерей можно рассматривать как результат конкурентного влияния антиинсулиновых АТ1 и антирецепторных АТ2, по-

ступающих от матери к плоду. По-видимому, перенос повышенных количеств материнских антиинсулиновых АТ1 приводит к образованию в организме плода избытка циркулирующих инсулин-антиинсулиновых комплексов и может стать причиной развития гиперинсулинемии и гипогликемии у новорожденных в раннем периоде адаптации [Будыкина Т.С., 2010].

Оценка состояния здоровья новорожденного в раннем неонатальном периоде проводилась врачом-неонатологом. На основании его заключений было проведено разделение всех новорожденных на 4 группы в соответствии с тяжестью их состояния: от группы Ia с удовлетворительным состоянием до группы III с тяжелым состоянием.

Наши исследования показали зависимость состояния новорожденных как от характера антиинсулиновой иммунореактивности у матерей, так и у самих новорожденных. Уровни АТ1, АТ2 и АТ3 у матерей достоверно ($p < 0,05$) коррелировали с тяжестью состояния новорожденного: чем выше были их уровни, тем тяжелее было состояние новорожденного.

Наиболее пагубно на состоянии новорожденных сказывалось преимущественное повышение АТ2 к инсулину у матерей (3 группа). Именно в этой группе было больше всего детей (22,8%), состояние которых в ранний период адаптации было оценено как тяжёлое, а новорожденных с состоянием тяжелым и средней тяжести было достоверно больше (68,5%), чем в других группах. Один ребёнок из этой группы умер в раннем неонатальном периоде.

Мы полагаем, что состояние плода/новорожденного в значительной степени обусловлено трансплацентарно поступающим от матери повышенным количеством антирецепторных АТ2. Блокируя инсулиновые рецепторы на мембране разных типов клеток плода, и нарушая тем самым нормальное потребление клетками глюкозы, эти антитела вызывают обширные изменения энергетического, белкового и жирового метаболизма во всех органах и тканях плода/новорожденного и последующие изменения в общем развитии ребенка.

Новорожденные женщин 4 группы имели более высокие показатели здоровья по сравнению с новорожденными женщин 3 группы. Есть все основания пола-

гать, что индуцируемая антирецепторными АТ2 продукция соответствующих АТЗ способствует нейтрализации их негативного влияния. Это может способствовать восстановлению функциональной активности рецепторов, локализованных на тканях различных органов плода/новорожденного, их способности связывать инсулин и нормализовать утилизацию глюкозы.

Однако, тяжесть состояния новорожденного во многом зависит и от его собственной антиинсулиновой иммунореактивности: по мере возрастания содержания АТ2 в сыворотке пуповинной крови новорожденного его состояние ухудшалось. При этом, зависимость состояния ребенка от уровня АТЗ в его крови имела обратный характер: состояние было тем тяжелее, чем ниже был уровень АТЗ ($p < 0,05$). Такая же тенденция наблюдалась и для АТ1 к инсулину. Создаётся впечатление, что снижение содержания в сыворотке АТЗ и АТ1 к инсулину относительно соответствующих АТ2 приводит к значительному ухудшению состояния здоровья новорожденных. Объясняется это недостаточным количеством АТ1 и АТЗ, чтобы связать антирецепторные АТ2.

По-видимому, еще не сформировавшаяся иммунная система ребенка не в состоянии вырабатывать то количество антиинсулиновых АТЗ, которое необходимо для нейтрализации избыточных количеств антирецепторных АТ2, поступающих от матери. В результате инсулиновые рецепторы новорожденного могут быть заблокированы, что вызовет образование высокого уровня глюкозы в крови, состояние гипергликемии и значительное ухудшение здоровья новорожденного.

Как уже отмечалось выше, АТ2 могут оказывать двоякий эффект: они способны как подавлять активность инсулиновых рецепторов, так и активизировать их, выступая в качестве аналога инсулина. В последнем случае инсулиноподобная активность материнских АТ2 может спровоцировать повышенное потребление тканями глюкозы и вызвать у новорожденного состояние гипогликемии даже при высоком содержании инсулина в крови.

Таким образом, понижение содержания АТЗ в сыворотке новорожденного соответствует утяжелению его состояния и, напротив, высокий уровень АТЗ способствует относительно благополучному здоровью ребенка в раннем неонаталь-

ном периоде.

Механизм такого влияния можно объяснить с одной стороны способностью АТЗ связываться с АТ2 и тем самым нейтрализовать их негативную активность, а с другой стороны – АТЗ, подобно АТ1, но в меньшей степени, могут комплексоваться со свободно циркулирующим эндогенным инсулином, что защищает последний от протеолиза и пролонгирует его активность. Сопутствующим моментом при повышенном уровне АТ1 нередко являются слабые гипогликемические состояния, которые, как правило, легко купируются.

Благоприятное влияние повышенных концентраций АТЗ новорожденных на их здоровье в раннем неонатальном периоде ставит вопрос о том, за счет чего может формироваться такое содержание, зависит ли оно только от количества поступающих к плоду материнских АТЗ или еще и от способности собственной иммунной системы ребенка самой эффективно формировать благоприятную для него иммунореактивность по отношению к инсулину? Есть все основания полагать, что значение имеет и собственная продукция иммунной системой ребёнка АТЗ к инсулину.

Таким образом, уровень антиинсулиновых АТЗ в раннем периоде адаптации можно рассматривать как параметр, коррелирующий при СД1 у матери с состоянием здоровья ребенка, а продукцию АТЗ как защитную реакцию на избыточное поступление материнских АТ2. Следовательно, в раннем периоде новорожденности иммунная система ребенка часто оказывается недостаточно сформированной для противодействия отрицательному влиянию материнских антител. Данные литературы также указывают на значительно более позднее созревание иммунной системы новорожденных, которое может иногда длиться до 1-го года жизни [Atkinson M.A. et al., 2009].

На основании результатов приведенного выше анализа можно считать, что уровни АТ1, АТ2 и АТЗ к инсулину у матери при СД1 в большинстве случаев коррелируют со степенью компенсированности СД1. Декомпенсированное течение заболевания, отмечаемое при преимущественной продукции АТ2, может приводить к гипергликемическим состояниям, которые не поддаются нормализа-

ции даже при применении инсулинотерапии, поскольку рецепторы заблокированы антирецепторными АТ. В этих условиях с большой степенью вероятности можно ожидать рождения детей в состоянии средней тяжести или тяжелом состоянии. У таких детей, как правило, отмечается повышенное содержание антирецепторных АТ2 и уже в первые часы жизни проявляется синдром гипергликемии. Вследствие этого резко нарушается нормальная утилизация глюкозы тканями новорожденного и утяжеляется его общее состояние.

Следует, пожалуй, сделать оговорку, что под АТ1 мы подразумеваем те антитела, которые связываются с олигомерным инсулином, а под АТ3 – антитела, которые связываются с F(ab)2-фрагментами АТ2 к инсулину. Четкой границы между ними провести мы не можем, так как АТ1 и АТ3 во многом иммунохимически схожи.

Изменение уровня сахара в крови матери как в сторону гипогликемии, так и в сторону гипергликемии может негативно сказаться на различных функциях развивающегося организма, в том числе на функциях его нервной системы. Незначительные признаки поражения ЦНС были свойственны детям группы Ib. У этих детей проявились слабые симптомы повышенной нервно-рефлекторной возбудимости и угнетения ЦНС, отмечалось некоторое снижение двигательной активности и умеренная мышечная гипотония. Степень повреждения функции ЦНС оценивалась как легкая.

У новорожденных со среднетяжелым и тяжелым состоянием часто встречались гипоксически-ишемические поражения ЦНС. Наибольшее число новорожденных с такими поражениями ЦНС II и III степени наблюдались у женщин 3 группы (77,2%), что было достоверно больше, чем в любой другой группе. Здесь также чаще, чем в других группах, диагностировали синдром угнетения ЦНС (40%). Полученные данные свидетельствовали о взаимосвязи поражений ЦНС у новорожденных и особенностей антиинсулиновой иммунореактивности их матерей. Следует ещё раз отметить, что у новорожденных от женщин 4 группы, у которых наиболее высокими были АТ3 к инсулину, тяжесть гипоксически-ишемических поражений ЦНС была менее выражена, чем у новорожденных от

женщин 3 группы, что ещё раз свидетельствует о протекторной функции АТЗ к инсулину у женщин с СД1.

Определение гликемических параметров у новорожденных разных групп показало, что в сыворотке крови почти половины детей от матерей с СД1 (44,7%, 84 чел.) определяются аномальные уровни глюкозы разной степени выраженности. Число детей с нарушенным уровнем гликемии возрастало в соответствии с утяжелением их состояния. Так, в первые сутки жизни нормальный уровень глюкозы в группах Ia и Ib составил 72,2% и 62,9%, что достоверно выше, чем в III группе ($p < 0,05$).

Превышение порога среднесуточной гликемии выше 6,5 ммоль/л у новорожденных в первые сутки жизни предвещало у большинства из них тяжелое или средней тяжести течение раннего неонатального периода, характерное для групп II и III. Такие показатели гликемии у детей III группы сопровождались устойчивостью и невосприимчивостью к инсулинотерапии. У матерей этих детей наблюдалось преимущественное повышение АТ2 к инсулину, то есть они относились к 3 группе.

Обобщая результаты экспериментальных наблюдений, когда мы наблюдали за утилизацией глюкозы у крыс с повышенным содержанием АТ2 к инсулину и проведенных клинических исследований, можно сделать вывод о том, что влияние АТ2 может реализовываться в двух аспектах: в качестве иммунохимических аналогов инсулина и как антитела к рецепторам инсулина. В разных ситуациях метаболизм глюкозы, по-видимому, определяется не только количественным соотношением АТ1, АТ2 и АТЗ к инсулину, но и тем, в каком качестве могут выступать антиидиотипические АТ2 и насколько они способны конкурировать с инсулином за связывание с его рецепторами.

В клинике мы часто наблюдали, как трансплацентарный перенос повышенных количеств антирецепторных АТ2, способных блокировать антиинсулиновые рецепторы, нарушает нормальное потребление глюкозы клетками и провоцирует генерализованные нарушения обменных процессов и метаболизма во всех органах и тканях плода и новорожденного. При гипергликемических состояниях у

беременной избыток глюкозы от матери может проникать через плацентарный барьер, способствуя повышенному биосинтезу и секреции инсулина в организме плода. Это, по мнению ряда исследователей, способствует формированию различных осложнений развития плода, аномальному функционированию ЦНС у новорожденного, в том числе, нарушению мозгового кровообращения.

Проведенное исследование позволило несколько по-новому взглянуть на течение беременности и перинатальные исходы при СД1, с точки зрения «сетевой» теории нобелевского лауреата Нильса Ерне (1974). Было впервые изучено влияние АТ к инсулину различных порядков, а именно АТ1, АТ2 и АТ3 на течение СД1 у беременных и состояние здоровья родившихся детей. Посылком для данной работы послужили данные о том, что именно иммунные изменения в организме матери являются главной причиной часто неудовлетворительных перинатальных исходов при СД1, несмотря на достижение нормогликемии, а инсулин является одним из главных антигенов, являющихся мишенью иммунной атаки.

Данная работа показала, что «неуравновешенность» иммунной сети, выражающаяся в избирательном повышении АТ1, АТ2 или АТ3 к инсулину находят своё непосредственное отражение как на течении самого СД1, так и на перинатальных исходах. Особенности иммунореактивности к инсулину, на основании чего женщины и были поделены на различные группы, сохранялись в течение периода наблюдения, что значительно облегчило выполнение поставленных нами задач. По-видимому, эти особенности гуморальной иммунореактивности к инсулину зависят как от индивидуальных особенностей иммунной системы, так и от длительности заболевания.

Есть основания полагать, что полученные результаты могут представлять значительный интерес для клиники, позволяя повысить своевременность выявления серьезных нарушений у беременных женщин с СД1 и снизить риски аномальных отклонений в формировании будущего ребенка.

ВЫВОДЫ

1. Разработана иммуноферментная тест-система для определения антител первого, второго и третьего порядка к инсулину (АТ1, АТ2 и АТ3) (коэф. вариации 7,2-9,1%). Показано, что АТ2 к инсулину способны взаимодействовать с рецепторами инсулина.

2. При сахарном диабете 1 типа (СД1) повышенная продукция антиинсулиновых антител минимум одного из трех порядков - АТ1, АТ2 и АТ3 - установлена у 79,2% женщин. По мере возрастания преимущественно максимальных значений АТ от 1-го до 3-го порядков, увеличивалась давность заболевания.

3. Течение СД1 до и во время беременности во многом зависит от уровней АТ к инсулину различных порядков. При отсутствии повышенных уровней определяемых АТ к инсулину и при преимущественном повышении АТ1 к инсулину, как правило, удается добиться компенсации или субкомпенсации процесса. При преимущественном повышении АТ2 к инсулину у большинства пациентов (85,7%) не удается добиться компенсации СД1. Повышенный уровень АТ3 к инсулину способствует субкомпенсации процесса.

4. Показано снижение экспрессии рецепторов глюкозы (GLUT-1 и GLUT-4) и тенденция к снижению экспрессии рецепторов инсулина на лейкоцитах периферической крови беременных с СД1 на сроке от 13 до 24 нед, которые не зависели от уровней антител различных порядков к инсулину.

5. Показана взаимосвязь между особенностями гуморального иммунитета к инсулину и состоянием здоровья родившихся детей у матерей с СД1. При повышении уровней АТ к инсулину какого-либо порядка (АТ1, АТ2 или АТ3) наилучшие показатели здоровья новорожденных отмечаются у женщин с преимущественным повышением АТ1 к инсулину, наиболее низкие – с преимущественным повышением АТ2 к инсулину. Повышение материнских АТ3 к инсулину способствует улучшению состояния здоровья новорожденных.

6. Показана взаимосвязь между AT1, AT2 и AT3 к инсулину у женщин с СД1 и состоянием здоровья новорожденных. Повышение уровня AT1 и AT3 к инсулину способствует улучшению, а AT2 – ухудшению показателей здоровья новорожденных.

7. При преимущественном повышении AT1 к инсулину у новорожденных от матерей с СД1 характерно развитие гипогликемических состояний, при повышении антирецепторных AT2 к инсулину отмечается тенденция к развитию гипергликемических состояний.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

С целью прогнозирования состояния здоровья новорожденных у женщин с СД1, прогноза течения у них СД1, мониторинга проводимой терапии, рекомендуем проводить им комплексное определение АТ1, АТ2 и АТ3 к инсулину.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абламуниц В.Г. Механизмы толерантности матери к плоду: уроки молекулярной дипломатии. // Проблемы репродукции. – 2016. – V. 2. - N2. – P. 8-16.
2. Айламазян Э.К., Абашова Е.И., Аржанова О.Н. и др. Сахарный диабет и репродуктивная система женщины: руководство для врачей // Под ред. Э.К. Айламазяна. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 428 с.
3. Акмаев И.Г., Александров А.С., Алчинова И.Б., Бочаров Е.В., Карганов М.Ю., Крыжановский Г.Н., Кучеряну В.Г., Магаева С.В., Морозов С.Г., Носкин Л.А., Панфилов Д.Н., Пшенникова М.Г., Сарманаев С.Х., Сепиашвили Р.И., Сюч Н.И., Фисун А.Я., Чувин Б.Т. Санология // Под редакцией А.А. Кубатиева, В.Б. Симоненко. – М.: Наука, 2014.
4. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом // Под редакцией Дедова И.И., Шестаковой М.В., Майоровой А.Ю. Клинические рекомендации. 9-й выпуск. Сахарный диабет. – 2019. – N22. – S1.
5. Балаболкин М.И. Клебанова Е.М., Креминская В.М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний: (руководство). – М.: Медицинское информационное агентство (МИА), 2008. - 751 с.
6. Беспалова В.А., Кирбасова Н.П., Микаэлян Н.П. Влияние инсулинемии, плацентарных гормонов и кортизола на активность инсулиновых рецепторов у беременных, больных сахарным диабетом // Тезисы докладов II Всероссийского съезда эндокринологов. Челябинск, 1991. – С. 62.
7. Будыкина Т.С. Аутоиммунные аспекты патогенеза и профилактики перинатальных осложнений при сахарном диабете у матери: автореферат дис. ... доктора медицинских наук: 14.03.03, 14.01.01 / Будыкина Татьяна Сергеевна: УРАМН Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАМН. - Москва, 2010. - 48с.

8. Вахрушева Л.Л., Глыбин А.А., Смирнов В.В. Роль антител к инсулину в патогенезе ИЗСД у детей / Сборник «Иммунология эндокринной системы у детей и подростков» (ред. Ю.А. Князева, Л.Ф. Марченко). – М., 1991. – С. 48–50.

9. Воробьев А.А., Быков А.С., Караулов А.В. Иммунология и аллергология // Практическая медицина. – М., 2006.

10. Гнеденко Б.Б. Иммунохимические основы патогенеза диабетической фетопатии: автореферат дис. ... кандидата биологических наук: 03.00.04 / Научно-исследовательский институт биомедицинской химии РАМН. - Москва, 2001. - 22с.

11. Гнеденко Б.Б., Морозов С.Г., Грибова И.Е., Ключник Т.П и соавт. Иммуноферментный анализ с использованием F(ab)2-фрагментов антиидиотипических антител вместо нативных антигенов // Иммунология. – 2006. – Т. 27. - № 6. - С. 364-368.

12. Грязнова И.М., Второва И.М. Сахарный диабет и беременность. - М.: Медицина, 1985. - 207 с.

13. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А. Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным Федерального регистра сахарного диабета на 01.01.2021 // Сахарный диабет. – 2021. – Т. 24. - № 3. – С. 204-221.

14. Древаль А.В., Древаль О.А., Старостина Е.Г. Непрерывное мониторирование гликемии в клинической практике и новые методы анализа его результатов // Проблемы эндокринологии. – 2013. – № 4. – С. 41-49.

15. Евсюкова И.И., Кошелева Н.Г. Сахарный диабет: беременные и новорожденные. - Спб.: Специальная литература. – 2009. - 272с.

16. Есаян Р.М., Григорян О.Р., Пекарева Е.В. Роль компенсации углеводного обмена у беременных с сахарным диабетом 1 типа в развитии перинатальных осложнений // Сахарный диабет. – 2009. – Т. 12. - № 4. – С. 23-27.

17. Зак Л.П., Попова В.В. Хемокины при сахарном диабете 1-го типа у человека // Роль интерлейкина-17 в патогенезе сахарного диабета 1-го и 2-го типа у человека // *Mižnarodnij endokrinologičnij žurnal*. – 2018. – V.14. - N5. – P. 514-521.

18. Капустин Р.В., Алексеенкова Е.Н., Аржанова О.Н., и др. Преждевременные роды у женщин с сахарным диабетом // *Журнал акушерства и женских болезней*. – 2020. – Т. 69. – № 1. – С. 17–26.

19. Капустин Р.В., Оноприйчук А.Р., Аржанова О.Н., и др. Патофизиология плаценты и плода при сахарном диабете // *Журнал акушерства и женских болезней*. — 2018. — Т. 67. — № 6. — С. 79–92.

20. Князев Ю.А., Бельмер С.В., Вахрушева Л.Л. Углеводная интолерантность у детей и подростков/ М.: РГМУ, 2004. — 18 с.

21. Краснопольский В.И., Логутова Л.С., Петрухин В.А., Аксенов А.Н., Башакин Н.Ф., Троицкая М.В., Бурумкулова Ф.Ф., Будыкина Т.С., Витушко С.А., Шидловская Н.В., Котов Ю.Б., Нестеренко О.С. Динамическое наблюдение за детьми, родившимися у матерей с различной эндокринной патологией // *Российский вестник акушера-гинеколога*. - 2005. – Т. 1. - № 5. - С.74

22. Кузнецов Е.В., Жукова Л.А., Пахомова Е.А., Гуламов А.А. Эндокринные заболевания как медико-социальная проблема современности // *Современные проблемы науки и образования*. – 2017. – № 4. Дата публикации 07.08.2017

23. Кураева Т.Л. Современная инсулинотерапия сахарного диабета у детей и подростков аналогами инсулина. Проблемы и пути решения // *Проблемы эндокринологии*. – 2013.– № 6. – С. 80–86.

24. Кураева Т.Л., Андрианова Е.А., Титович Е.В., Емельянов А.О. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению сахарного диабета 1-го типа у детей и подростков // *Проблемы эндокринологии*. – 2013. – Т. 59. – № 6. – С. 57-71.

25. Морозов С.Г. Антитела к белкам нервной ткани при нервных и психических заболеваниях (иммунохимическое и клиничко-иммунологическое исследование): автореферат дис. ... доктора медицинских наук: 03.00.04 / Морозов Сергей Георгиевич: Научно-исследовательский институт питания РАМН. Москва, 1997. – 48 с.
26. Папышева О.В., Старцева Н.М., Савенкова И.В., Аракелян Г.А., Маяцкая Т.А., Попова О.А. Здоровье новорожденных от матерей с гестационным сахарным диабетом // Доктор.Ру. - 2019. – Т.162. - №7. - С. 12-18 /
27. Пекарева Е.В., Никонова Т.В., Смирнова О.М. Роль апоптоза в патогенезе сахарного диабета 1 типа // Сахарный диабет. - 2010. - №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-apoptoza-v-patogeneze-saharnogo-diabeta-1-tipa>
28. Петров Ю.А., Оздоева И.М.-Б., Султыгова Л.А. Особенности гестационного периода и его исходы при сахарном диабете // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2019. – № 5. – С. 93-97
29. Полетаев А.Б., Будыкина Т.С., Морозов С.Г. Аутоантитела к инсулину, сахарный диабет I типа и диабетическая фетопатия // Сахарный диабет. - 2000. - №4. - С. 23-28.
30. Полетаев А.Б., Вабищевич Н.К., Гнеденко Б.Б. и др. О возможных механизмах нарушения развития нервной системы ребенка при диабетической фетопатии. // Вестн. Рос. ассоц. акуш. – 1998. – № 3. – С. 31–36.
31. Полетаев А.Б., Морозов С.Г. Применение антиидиотипических антител для коррекции аутоиммунных реакций к белку мозга S-100 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1996. – Т. 122. - № 11. – С. 508-511.
32. Прозоровская К.Н. Состояние иммунологической реактивности плода и новорожденного // В кн.: Иммунологические проблемы в акушерстве и гинекологии (ред. И.М. Грязновой). М.: Медицина, 1981. – С. 19-23.

33. Солодкова И.В., Мельникова Л.Н., Паршина Н.В. и др. Дети от матерей с сахарным диабетом. Сахарный диабет у новорожденных. Клинические рекомендации (проект). Детская медицина Северо-Запада. - 2015. - Т. 6. - № 3. – С. 4-10.
34. Титов Л.П., Кирильчик Е.Ю., Канашкова Т.А. Особенности строения, развития и функционирования иммунной системы детского организма // Медицинские новости. – 2009. - №5. – С. 7-16.
35. Фёдорова М.В., Краснопольский В.И., Петрухин В.А. Сахарный диабет, беременность и диабетическая фетопатия /– М., 2001. – 288 с.
36. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. М., Медицина, 2000.
37. Ходжаева З.С., Снеткова Н.В., Муминова К.Т., Горина К.А., Абрамова М.Е., Есаян Р.М. Особенности течения беременности у женщин с гестационным сахарным диабетом // Акушерство и гинекология. - 2020. - № 7. - С. 47-52.
38. Щеплягина Л.А., Круглова И.В. Возрастные особенности иммунитета у детей // «РМЖ». – 2009. - №23. – С. 1564
39. Яркова Н.А., Григорьева Н.Ю., Власова Т.В. Особенности планирования и ведения беременности при сахарном диабете // Медицинский альманах. – 2016. – Т. 45. - №5. – С. 63-67.
40. Ali D.S., Davern R., Rutter E., Coveney C., Devine H., Walsh J.M., Higgins M., Hatunic M. Pre-Gestational Diabetes and Pregnancy Outcomes. // Diabetes Ther. – 2020. – V. 11. - N12. – P. 2873-2885.
41. Alyafei F., Soliman A., Alkhalaf F., Sabt A., De Sanctis V., Elsayed N., Waseef R. Prevalence of β -cell antibodies and associated autoimmune diseases in children and adolescents with type 1 diabetes (T1DM) versus type 2 diabetes (T2DM) in Qatar // Acta Biomed. – 2018. – V. 89. - S5. – P. 32-39.

42. Amdare N., Purcell A.W., DiLorenzo T.P. Noncontiguous T cell epitopes in autoimmune diabetes: From mice to men and back again. // J Biol Chem. – 2021. V. 297. - N1. – P. 100827.

43. Anand V., Li Y., Liu B., Ghalwash M., Koski E., Ng K., Dunne J.L., Jönsson J., Winkler C., Knip M., Toppari J., Ilonen J., Killian M.B., Frohnert B.I., Lundgren M., Ziegler A.G., Hagopian W., Veijola R., Rewers M. Islet Autoimmunity and HLA Markers of Presymptomatic and Clinical Type 1 Diabetes: Joint Analyses of Prospective Cohort Studies in Finland, Germany, Sweden, and the U.S. // Diabetes Care. – 2021. – V. 44. - N10. - P. 2269–76.

44. Atkinson M.A., Gianani R. The pancreas in human type 1 diabetes: providing new answers to age-old questions. // Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. – 2009. – V. 16. N4. – P. 279-85.

45. Barrett J.C., Clayton D.G., Concannon P., Akolkar B., et al. Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 lociaffect risk of type 1 diabetes // Nat. Genet. – 2009. – N. 41. – P. 703-707.

46. Bashiri A., Heo H., Ben-Avraham D., Mazor M., et al. Pregnancy complicated by obesity induces global transcript expression alterations in visceral and subcutaneous fat // Mol. Genet. Genomics. - 2014. - V. 289. – N 4. - P. 695-705.

47. Basu S., Haghiac M., Surace P. et al. Pregravid obesity associates with increased maternal endotoxemia and metabolic inflammation // Obesity (Silver Spring). - 2011. - V. 19. – N 3. - P. 476-482.

48. Bell R., Beiley K., Cresswell T. et al. Trends in prevalence and outcomes of pregnancy in women with preexisting type 1 and type 2 diabetes // BJOG. – 2008. - V. 115. – P. 445-452.

49. Bendelac A., Carnaud C., Boitard C. et al. Siyngeneic transfer of autoimmune diabetes from diabetic NOD mice to healthy neonates. Requirement for vbothL3T4+ and Lyt-2+ T cells // J. Exp. Med. – 1987. - V. 166. – P. 823-832.

50. Bennett S.T., Todd J.A. Human type 1 diabetes and the insulin gene: principles of mapping polygenes // *Annu. Rev. Genet.* – 1996. – N. 30. – P. 343-370.
51. Bequer L., Gómez T., Molina J.L., Álvarez A., Chaviano C., Clapés S. Experimental diabetes impairs maternal reproductive performance in pregnant Wistar rats and their offspring. // *Syst Biol Reprod Med.* – 2018. – V. 64. - N1. – P. 60-70.
52. Berk M.A., Mimouni F., Miodovnik M., Herzberg V. Macrosomia in infants of insulin dependent diabetic mothers // *Pediatrics* – 1989. – V. 83. – P. 1029–1034.
53. Bingley P.J., Boulware D.C., Krischer J.P.; Type 1 Diabetes TrialNet Study Group. The implications of autoantibodies to a single islet antigen in relatives with normal glucose tolerance: development of other autoantibodies and progression to type 1 diabetes. // *Diabetologia.* – 2016. – V. 59. - N3. – P. 542-9.
54. Blomqvist M., Juhela S., Erkkila S. et al. Rotavirus infections and development diabetes-associated autoantibodies during the first 2 years of life// *Clin Exp Immunol.* - // *Diabetologia.* – 2002. - V.128. – P.511-515
55. Bonifacio E, Achenbach P. Birth and coming of age of islet autoantibodies. *Clin Exp Immunol.* 2019 Dec;198(3):294-305.
56. Bonifacio E., Pfluger M., Marienfeld S. et al. Maternal type 1 diabetes reduces the risk of islet autoantibodies: relationships with birthweight and maternal HbA_{1c} // *Diabetologia.* – 2008. - V. 51. – P. 1245-1252.
57. Bonifacio E.1., Bingley P.J. Islet autoantibodies and their use in predicting insulin-dependent diabetes // *Acta Diabetol.* – 1997. – V. 34. – N 3. - 185-193.
58. Borchers A.T., Naguwa S.M., Keen C.L et al. The implications of autoimmunity and pregnancy // *J. Autoimmunity.* - 2010. - V. 34. – P. 287-299.
59. Borchers A.T., Uibo R, Gershwin ME. The geoepidemiology of type 1 diabetes // *Autoimmun. Rev.* – 2010. – V. 9. – P. A355-365.
60. Bowers K., Ehrlich S., Dolan L.M., Gupta R., Altaye M., Ollberding N.J., Szczesniak R., Catalano P., Smith E., Khoury J.C. Elevated Anthropometric and Meta-

bolic Indicators among Young Adult Offspring of Mothers with Pregestational Diabetes: Early Results from the Transgenerational Effect on Adult Morbidity Study (the TEAM Study). // J Diabetes Res. – 2021. – V. 2021. – P. 6590431.

61. Brooks B., Chong R., Ho I., Capstick F., et al. Diabetic retinopathy and nephropathy in Fiji: comparison with data from an Australian diabetes centre // Aust N Z J Ophthalmol. – 1999. – V. 27. – N 1. – P. 9-13.

62. Burke S.D., Seaward A.V.C., Ramshaw H., Smith G.N., Virani S, Croy B.A., et al. Homing receptor expression is deviated on CD56+ blood lymphocytes during pregnancy in Type 1 diabetic women // PLoS ONE. - 2015. – V. 10. – N 3. - e0119526.

63. Chiba H., Fukui A., Fuchinoue K., Funamizu A., et al. Expression of natural cytotoxicity receptors on and intracellular cytokine production by NK cells in women with gestational diabetes mellitus // American Journal of Reproductive Immunology. – 2016. – V. 75. – N 5. – P. 529–538.

64. Chu Y., Gong Y., Su Z., Yu H., Cui Q., Jiang H., Qu H. Relationship between tyrosine phosphorylation and protein expression of insulin receptor and insulin resistance in gestational diabetes mellitus // J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci. - 2014. - V. 34. – N 3. - P. 393-397.

65. Cochran E., Brown R.J., Gorden P. Other Antibodies Resulting in Diabetes Mellitus: Type B Insulin Resistance and Insulin Autoimmune Syndrome. // AACE Clin Case Rep. – 2016. – V. 2. - N3. – P. e274-e275.

66. Combs C., Gunderson E., Kitzmiller J. et al. The relationship of fetal macrosomia to maternal postprandial and glucose during pregnancy // Diabetes Care. - 1992. – V. 15 – P. 1251–1257.

67. Cortelazzi D., Corbetta S., Ronzoni S. et al. Maternal and foetal resistin and adiponectin concentrations in normal and complicated pregnancies // Clin. Endocrinol (Oxf). – 2007. – V. 66. – P. 447–453.

68. Cosson E., Bentounes S.A., Nachtergaele C., Berkane N., Pinto S., Sal M., Bihan H., Tatulashvili S., Portal J.J., Carbillon L., Vicaut E. Prognosis Associated with Sub-Types of Hyperglycaemia in Pregnancy. // J Clin Med. – 2021. – V. 10. - N17. – P. 3904.
69. Dahlguist G., Bennich S.S., Kallen B. Intrauterine growth pattern and risk of childhood onset insulin dependent diabetes population based case-control study // BMJ. – 1996. - V. 313. – P. 1174-1177.
70. Dai F., Mani H., Nurul S.R., Tan K.H. Risk stratification of women with gestational diabetes mellitus using mutually exclusive categories based on the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups criteria for the development of postpartum dysglycaemia: a retrospective cohort study. // BMJ Open. – 2022. – V. 12. - N2. – P. e055458.
71. De Maria R., Testi R. Fas-FasL interactions: a common pathogenetic mechanism in organ-specific autoimmunity // Immunol Today. – 1998. – V. 19. – N 3. – P. 121-125.
72. Desoye G., Nolan C.J. The fetal glucose steal: an underappreciated phenomenon in diabetic pregnancy. // Diabetologia. – 2016. – V. 59. - N6. – P. 1089-94.
73. Diaz J., WilkinT. Effect of iodination site on binding of radiolabelled ligand by insulin antibodies and insulin autoantibodies // Clin Chem. – 1988. - V.34. – P. 356 – 359.
74. Dingman R, Balu-Iyer SV. Immunogenicity of Protein Pharmaceuticals. // J Pharm Sci. – 2019. - V. 108. - N5. – P. 1637-1654.
75. Dornhorst A., Nicholls J.S., Ali K., et al. Fetal proinsulin and birth weight // Diabet. Met. – 1994. – V. 11. – P. 177–181.
76. Dotta F., Sebastiani G. Enteroviral infections and development of type 1 diabetes: The Brothers Karamazov within the CVBs. // Diabetes. - 2014. – V. 63. - N2. – P. 384-6.

77. Duriez M., Quillay H., Madec Y., El Costa H. et al. Human decidual macrophages and NK cells differentially express Toll-like receptors and display distinct cytokine profiles upon TLR stimulation // *Frontiers in Microbiology*. – 2014. – V. 1. – N 5. – P. 316.
78. Egro F.M. Why is type 1 diabetes increasing? // *J. Mol. Endocrinol.* – 2013. – V. 51. – N 1. – P. 1-13.
79. Elias D., Cohel R.I., Shechter J. et al. Autoantibodies to insulin receptor followed by antiidiotype antibodies to insulin in child with hypoglycemia // *Diabetes*. – 1987. – V. 36. – P. 348–354.
80. Eringsmark R., Lernmark A. The environment and the origins of islet autoimmunity and Type 1 diabetes // *Diabet Med.* –2013. – V.30. – N 2. – P. 155–160.
81. EUROLAB AE Study Group. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe // *Lancet*. – 2000. - V. 355. – P. 873-879.
82. Evers I.M., deVolk H.W., Mol B.W. et al. Macrosomia despite good glycaemic control in Type 1 diabetes pregnancy: results of a nationwide study in The Netherlands // *Diabetologia*. – 2002. – V. 45. – P. 1484–1489.
83. Fay R.A., Hughes A.O., Farron N.T. Platelets in pregnancy: Hyperdestruction in pregnancy // *Obstet. Gynecol.* – 1983. –V. 61. – N 2. –P. 238–240.
84. Felton J.L., Maseda D., Bonami R.H., Hulbert C., Thomas J.W. Anti-Insulin B Cells Are Poised for Antigen Presentation in Type 1 Diabetes. // *J Immunol*. 2018. – V. 201. - N3. – P. 861-873.
85. Filippi C.M., von Herrath M.G. Viral trigger for type 1 diabetes pros and cons // *Diabetes*. –2008. – V. 57. – P. 2863–2871.
86. Foulis A.K., Farquharson M.A. Aberrant expression of HLA-DR antigens by insulin-containing beta-cells in recent-onset type I diabetes mellitus // *Diabetes*. – 1986. – V. 35. – N 11. – P. 1215-1224.

87. Fousteri G., Ippolito E., Ahmed R., Hamad A.R.A. Beta-cell Specific Auto-antibodies: Are they Just an Indicator of Type 1 Diabetes? // Curr. Diabetes Rev. – 2017. – V. 13. – N 3. – P. 322-329.

88. Frederiksen B., Kroehl M., Lamb M.M. et al. Infant exposures and development of type 1 diabetes mellitus: the diabetes autoimmunity study in the young (DAISY). // JAMA Pediatr. – 2013. – V. 167. – N 9. – P. 808-815.

89. Friebe-Hoffmann U., Antony L., Kruessel J. et al. Peripheral immunological cells in pregnant women and their change during diabetes // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. - 2017. - V. 125. – N 10. - P. 677-683.

90. Fujii Y., Yamaguchi N. Maternal T cells of immunized pregnant mice induce immune suppression in their offspring // Immunology. – 1992. – V. 77. – N 2. – P. 171-176.

91. Garcia-Bournissen F., Feig D.S., Koren G. Maternal-fetal transport of hypoglycaemic drugs // Clin. Pharmacokinet. – 2003. – V. 42. – N 4. – P. 303-313.

92. Ghosh S., Mahalanobish S., Sil P.C. Diabetes: discovery of insulin, genetic, epigenetic and viral infection mediated regulation. // Nucleus (Calcutta). -2022. – V. 65. - N2. – P. 283-297.

93. Ginsberg-Felner F., Mark E.M., Nechemias C. et al. Islet cell antibodies in gestational diabetics. – Lancet. – 1980. – V. 2. – P. 362–363.

94. Global report on diabetes. World Health Organization. – Paris. – 2016. – 88 p. Available at http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204874/4/WHO_NMH_NVI_16.3_rus.pdf Accessed: June 18.

95. Gorsuch A.N., Spencer K.M., Lister J. et al. Evidence for a long prediabetic period in Type 1 diabetes mellitus // Lancet. – 1981. - V. 2. – P. 1363-1365.

96. Graves P., Barriga K., Norris J. et al. Lack of association between early childhood immunization and beta-cell autoimmunity // *Diabetes Care*. – 1999. – N 22. – P. 1694-1697.
97. Groen B., van der Wijk A., van den Berg P., Lefrandt J., van den Berg G., Sollie K. et al. Immunological adaptations to pregnancy in women with type 1 diabetes // *Sci. Rep.* - 2015. - V. 5. - P. 13618.
98. Hämäläinen A.M., Knip M. Autoimmunity and familial risk of type 1 diabetes. *Curr Diab Rep.* – 2002. – V. 2. - N4. – P. 47-53.
99. Hämäläinen 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. The Finnish TRIGR Study Group. Trial to Reduce IDDM in the Genetically at Risk // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2000. – N 85. – P. 4249–4253.
100. Hampe C.S. Protective role of anti-idiotypic antibodies in autoimmunity Lessons for type 1 diabetes // *Autoimmunity*. – 2012. – V. 45. - №4. - P. 320-331.
101. Hara C. de C.P., França E.L., Fagundes D.L., de Queiroz A.A., Rudge M.V., Honorio-França A.C. et al. Characterization of Natural Killer Cells and Cytokines in Maternal Placenta and Fetus of Diabetic Mothers // *J Immunol Res.* – 2016. – V. 2016. – P. 7154524.
102. Harrison L.C. Islet cell antigens in insulin-dependent diabetes: Pandora's box revisited // *Immunol. Today*. – 1992. - V. 13. – P. 348–352.
103. Helman S., James-Todd T.M., Wang Z., Bellavia A., Wyckoff J.A., Serdy S., Halprin E., O'Brien K., Takoudes T., Gupta M., McElrath T.F., Brown F.M. Time trends in pregnancy-related outcomes among women with type 1 diabetes mellitus, 2004-2017. // *J Perinatol.* – 2020. – V. 40. - N8. – P. 1145-1153.
104. Hoftman A.C., Hernandez M.I., Lee K.W. et al. Newborn illnesses caused by transplacental antibodies // *Adv. Pediatr.* – 2008. - V. 55. – P. 271-304
105. Holmes V.A., Young I.S., Patterson C.C., et al. Diabetes and Pre-

eclampsia Intervention Trial Study Group. Optimal glycemic control, pre-eclampsia, and gestational hypertension in women with type 1 diabetes in the diabetes and pre-eclampsia intervention trial. // *Diabetes Care*. - 2011. – V. 34. – P. 1683–1688

106. Huda S., Forrest R., Paterson N., Jordan F., Sattar N., Freeman D. In preeclampsia, maternal third trimester subcutaneous adipocyte lipolysis is more resistant to suppression by insulin than in healthy pregnancy // *Hypertension*. 2014. - V. 63. – N 5. - P. 1094-1101.

107. Hummel M., Fuchtenbusch M., Schenker M. et al. No major association of breast-feeding, vaccination and childhood viral diseases with early islet autoimmunity // *Diabetes Care*. - 2000. - V.23. – P. 969-974.

108. Ingawa A., Hanafusa T. et al. A novel subtype type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence diabetes-related // *N. Engl. J. Med.* - 2000. – V. 342. – P. 301-307.

109. Jaidane H., Sane F., Gharbi J. et al. Coxsackievirus B4 and type 1 diabetes pathogenesis: contribution of animal models// *Diabetes Metab Res Rev.* – 2009. – V.25, N 7 – P. 591–603

110. Jarvela I.Y., Juutinen. J., Koskela A.L. et al. Gestational diabetes identifies women at risk for permanent type 1 and type 2 diabetes in fertile age: predictive role of autoantibodies // *Diabetes Care*. - 2006. - V. 29. – P. 607-612.

111. Jensen D.M., Damm P., Moelsted-Pedersen L. et al. Outcomes in type 1 diabetic pregnancies: a nationwide, population-based study // *Diabetes Care*. – 2004. - V.27. – P. 2819-2824.

112. Jia X, Gu Y, High H, Yu L. Islet autoantibodies in disease prediction and pathogenesis. // *Diabetol Int.* – 2019. – V. 11. – N1. – P. 6-10.

113. Johnstone F.D., Lindsey R.S., Steel J. Type 1 diabetes and pregnancy: trends in birth weight // *Obstet Gynecol.* - 2006. - V.107. – P. 1297-1302.

114. Karjalainen J., Salmela P., Surcel H.M. et al. A comparison of childhood and adult type 1 diabetes mellitus // *N. Eng. J. Med.* - 1989. - V. 320. – P. 881-886.
115. Kc K., Shakya S., Zhang H. Gestational diabetes mellitus and macrosomia: a literature review. // *Ann Nutr Metab.* – 2015. – V. 66. – N2 (Suppl). – P. 14-20.
116. Kimpimäki T., Kulmala P., Savola K., Vähäsalo P., Reijonen H., Ilonen J., et al. Disease-associated autoantibodies as surrogate markers of type 1 diabetes in young children at increased genetic risk. Childhood Diabetes in Finland Study Group // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2000. – V. 85. – N 3. - P. 1126-1132.
117. Knip M., Siljander H., Ilonen J., Simell O., Veijola R. Role of humoral beta-cell autoimmunity in type 1 diabetes // *Pediatric Diabetes.* – 2016. – V. 17. – N 22. – P. 17–24.
118. Koczwara K., Bonifacio E., Ziegler A.G. et al. Transmission of maternal islet antibodies and risk of autoimmune diabetes in offspring of mothers with type 1 diabetes // *Diabetes.* – 2004. - V. 53. – P. 1-4.
119. Komiya T., Mori A., Nishii N., Oda H., Onozawa E., Seki S., Sako T. Relationship between anti-insulin antibody production and severe insulin resistance in a diabetic cat. // *J Vet Med Sci.* – 2021. – V. 83. - N4. - P. 661-665.
120. Kostic A.D., Gevers D., Siljander H. et al. The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes // *Cell Host Microbe.* – 2015. – N 17. – P. 260–273.
121. Lacroix-Desmazes S., Kaveri S.V., Mouthon L., Ayoub A., Malanchère E., Coutinho A., Kazatchkine M.D. Self-reactive antibodies (natural autoantibodies) in healthy individuals. // *J Immunol Methods.* – 1998. – V. 216. - N1-2. – P. 117-37.
122. Laitinen O.H., Honkanen H., Pakkanen O. et al. Coxsackievirus B1 is associated with induction of beta-cell autoimmunity that portends type 1 diabetes // *Diabetes.* – 2014. – N 63. – P. 445–446.
123. Lamb M.M., Yin X., Barriga K., Hoffman M.R., Barón A.E., Eisenbarth

G.S., Rewers M., Norris J.M. Dietary glycemic index, development of islet autoimmunity, and subsequent progression to type 1 diabetes in young children. // J Clin Endocrinol Metab. – 2008. – V. 93. - N10. – P. 3936-42.

124. Lampasona V., Liberati D. Islet Autoantibodies // Curr. Diab. Rep. – 2016. – V. 16. – N 6. – P. 53.

125. Lapolla A., Dalfrà M.G., Fedele D. Diabetes related autoimmunity in gestational diabetes mellitus: is it important? // Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. – 2009, - V. 19. – N 9. – P. 674-682.

126. Lapolla A., Dalfrà M.G., Spezia R., Anichini R., et al. Outcome of pregnancy in type 1 diabetic patients treated with insulin lispro or regular insulin: an Italian experience // Acta Diabetol. – 2008. – V. 45. – N 1. – P. 61-66.

127. Larssen H., Lynch K., Lernmark B. et al. Relationship between increased relativ birthweight and infections during pregnancy in children with a high-risk diabetes HLA genotype // Diabetologia. - 2007. - V. 50. – P. 161-169.

128. Larsson H.E., Jönsson I., Lernmark A., Ivarsson S., Radtke J.R., Hampe C.S. Decline in titers of anti-idiotypic antibodies specific to autoantibodies to GAD65 (GAD65Ab) precedes development of GAD65Ab and type 1 diabetes // PLoS One. - 2013. – V. 8. – N 6. – P. e65173.

129. Lepercq J., Le Ray C., Godefroy C., Pelage L., Dubois-Laforgue D., Timsit J. Determinants of a good perinatal outcome in 588 pregnancies in women with type 1 diabetes. // Diabetes Metab. – 2019. – V. 45. - N2. – P. 191-196.

130. Lijuan Luan, Rong Xue, Chao Lu, Anfeng Cui, Yanqiang Hou, Jing Quan, Meng Xiang, Xinhong Wang, Wenjun Yuan, Ning Sun, Dan Meng, Sifeng Chen. Anti-serum with anti-autoantibody activity decreases autoantibody-positive B lymphocytes and type 1 diabetes of female NOD mice //Autoimmunity. – 2016. – V. 49. - N1. – P. 21-30.

131. Lin H.C., Su C.T., Wang P.C. An application of artificial immune recognition system for prediction of diabetes following gestational diabetes // J. Med. Syst. – 2011. - V. 35. - N 3. – P. 283–289.

132. Lindehammer S.R, Hansson I., Midberg B. et al. Seroconversion to islet autoantibodies between early pregnancy and delivery in non-diabetic mothers // J. Reprod. Immunol. – 2011. - V. 88. – P.72-79.

133. Lindsay R.S., Ziegler A.G.A., Hamilton B.A., Calder A.A., et al. Type 1 diabetes-related antibodies in the fetal circulation: prevalence and influence on cord insulin and birth weight in offspring of mothers with type 1 diabetes // J. Clin. Endocrinol. Metab. - 2004. – V. 89. – P. 3436-3439.

134. Lo H.C., Lin S.C., Wang Y.M. The relationship among serum cytokines, chemokine, nitric oxide, and leptin in children with type 1 diabetes mellitus // Clin. Biochem. – 2004. – V. 37. – N 8. – P. 666-672.

135. Löfvenborg J.E., Carlsson S., Andersson T., Hampe C.S., Koulman A., Chirlaque Lopez M.D., Jakszyn P., Katzke V.A., Kühn T., Kyrø C., Masala G., Nilsson P.M., Overvad K., Panico S., Sánchez M.J., van der Schouw Y., Schulze M.B., Tjønneland A., Weiderpass E., Riboli E., Forouhi N.G., Sharp S.J., Rolandsson O., Wareham N.J. Interaction Between GAD65 Antibodies and Dietary Fish Intake or Plasma Phospholipid n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Incident Adult-Onset Diabetes: The EPIC-InterAct Study. // Diabetes Care. – 2021. – V. 44. - N2. – P. 416-424.

136. Macintosh M., Fleming KM, Bailey J. et al. Perinatal mortality and congenital anomalies in babies of women with type 1 or type 2 diabetes in England, Wales, and Northern Ireland: population based study // BMJ. - 2006; 333 doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.38856.692986.AE>

137. Martikainen A., Saukkonen T., Kulmala P.K. et al. Disease-associated antibodies in offspring of mothers with IDDM // Diabetes. – 1996. – N 45. – P. 1706-1710.

138. McCance D.R., Damm P., Mathiesen E.R. et al. Evaluation of insulin antibodies and placental transfer of insulin aspart to pregnant women with type 1 diabetes mellitus // *Diabetologia*. - 2008. - V. 51. – P. 2141-2143.
139. Melamed N., Hod M. Perinatal mortality in pregestational diabetes // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2009. - V.104 (Suppl. 1). – P. 20-24.
140. Melanitou E, Tekaiia F, Yeramian E. Investigation of secreted protein transcripts as early biomarkers for type 1 diabetes in the mouse model. // *Gene*. – 2013. – V. 512. – N1. – P. 161-5.
141. Melanitou E., Regnault B. Genetic architecture of early pre-inflammatory stage transcription signatures of autoimmune diabetes in the pancreatic lymph nodes of the NOD mouse reveals significant gene enrichment on chromosomes 6 and 7. // *Meta Gene*. – 2015. – V. 6. - P. 96-104.
142. Mello G., Paretttty E., Mecacci F. et al. What degree of maternal metabolic control in women with type 1 diabetes is associated with normal body size and proportions in full-term infants? // *Diabetes Care*. - 2000. - V.23. – P. 1494-1498.
143. Min Y., Lowy C., Gherbemeskel K. et al. Unfavorable effect of type 1 diabetes and type 2 diabetes on maternal and fetal assential fatty acid status: a potential marker of fetal insulin resistance // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2005. - V. 82. – P. 1162-1168.
144. Moffett-King A. Natural killer cells and pregnancy. *Nature Reviews Immunology* // 2002. – V. 2. – N 9. – P. 656–663.
145. Moriwaki M., Itoh N., Miyagawa J., Yamamoto K. et al. Fas and Fas ligand expression in inflamed islets in pancreas sections of patients with recent-onset Type I diabetes mellitus // *Diabetologia*. – 1999. – V. 42. – N 11. – P. 1332-1340.
146. Moy F.M., Ray A., Buckley B.S., West H.M. Techniques of monitoring blood glucose during pregnancy for women with pre-existing diabetes. // *Cochrane Database Syst Rev*. – 2017. – V. 6. – N6. – P. CD009613.

147. Nell L., Hulbert C., Thomas J. et al. Human insulin autoantibody fine specificity and H and L chain use // J. Immunol. – 1989. - V. 142. – P. 3063-3069.
148. Ng K., Stavropoulos H., Anand V., Veijola R., Toppari J., Maziarz M., Lundgren M., Waugh K., Frohnert B.I., Martin F., Hagopian W., Achenbach P. Islet Autoantibody Type-Specific Titer Thresholds Improve Stratification of Risk of Progression to Type 1 Diabetes in Children. // Diabetes Care. – 2022. – V. 45. - N1. – P. 160-168.
149. Nielsen G.L., Moller M., Sorensen H.A.T. HbA1c in early pregnancy and pregnancy outcomes: a Danish population-based cohort study of 573 pregnancies in women with type 1 diabetes // Diabetes Care. - 2006. - V.29. – P. 2612-2616.
150. Noble J.A. Immunogenetics of type 1 diabetes: A comprehensive review// Journal of Autoimmunity, 2015.- P. 1-12.
151. Noble J.A., Valdes A.M. Genetics of the HLA region in the prediction of type 1 diabetes // Curr Diab Rep. - 2011 - V.11, N.6. – P.533-542.
152. Nokoff N., Rewers M. Pathogenesis of type 1 diabetes: lessons from natural history studies of high-risk individuals // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2013. – N. 1281. – P. 1–15.
153. Olivieri B., Betterle C., Zanoni G. Vaccinations and Autoimmune Diseases. // Vaccines (Basel). – 2021. V. 9. - N8. P. 815.
154. Onengut-Gumuscu S., Chen W.M., Burren O. et al. Fine mapping of type 1 diabetes susceptibility loci and evidence for colocalization of causal variants with lymphoid gene enhancers // Nature genetics. – 2015. – N 47. – P. 381-386.
155. Oulghazi S., Wegner S.K., Spohn G., Müller N., Harenkamp S., Stenzinger A., Papayannopoulou T., Bonig H. Adaptive Immunity and Pathogenesis of Diabetes: Insights Provided by the $\alpha 4$ -Integrin Deficient NOD Mouse. // Cells. – 2020. – V. 9. - N12. – P. 2597.

156. Pacaud D., Nucci A.M., Cuthbertson D., Becker D.J., Virtanen S.M., Ludvigsson J., Ilonen J., Knip M.; TRIGR investigators. Association between family history, early growth and the risk of beta cell autoimmunity in children at risk for type 1 diabetes. // *Diabetologia*. – 2021. – V. 64. - N1. – P. 119-128.
157. Pak C.J., Eun H-M., McArthur R.G et al. Association of cytomegalovirus infection with autoimmune type 1 diabetes // *Lancet*. – 1988. – V. 2. – N 8601. – P. 1-4.
158. Parikka V., Nanto-Salonen K., Saarinen M. et al. Early seroconversion and rapidly increasing autoantibody concentrations predict prepubertal manifestation of type 1 diabetes in children at genetic risk // *Diabetologia*. – 2012. – V.55. – P.1926-1936.
159. Paun A., Yau C., Danska J.S. Immune recognition and response to the intestinal microbiome in type 1 diabetes // *J. Autoimmun.* – 2016. – N 71. – P. 10-18.
160. Penney C., Mair G., Pearson D. The relationship between birth weight and maternal glycated haemoglobin (HbA1c) concentration in pregnancies complicated by type 1 diabetes // *Diabet. Med.* - 2003. – V.20 – P.162–166.
161. Penno M.A., Couper J.J., Craig M.E. et al. Environmental determinants of islet autoimmunity (ENDIA): a pregnancy to early life cohort study in children at-risk of type 1 diabetes // *BMC Pediatr.* – 2013. – N 13. – P. 124.
162. Penno M.A.S., Oakey H., Augustine P., Taranto M., Barry S.C., Colman P.G., Craig M.E., Davis E.A., Giles L.C., Harris M., Haynes A., McGorm K., Morahan G., Morbey C., Rawlinson W.D., Sinnott RO., Soldatos G., Thomson R.L., Vuillermin P.J., Wentworth J.M., Harrison L.C., Couper J.J. Changes in pancreatic exocrine function in young at-risk children followed to islet autoimmunity and type 1 diabetes in the ENDIA study. // *Pediatr Diabetes*. – 2020. V. 21. - N6. – P. 945-949.
163. Pertyńska-Marczewska M., Głowacka E., Grodzicka A. et al. Profile of peripheral blood neutrophil cytokines in diabetes type 1 pregnant women and its correlation with selected parameters in the newborns // *Am. J. Reprod. Immunol.* - 2010. - V. 63. – N 2. - P. 150-160.

164. Plagemann A., Harder T., Kohlhoff R., Rohde W., Dörner G. Overweight and obesity in infants of mothers with long-term insulin-dependent diabetes or gestational diabetes // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* – 1997. – V. 21. – N 6. – P. 451-456.
165. Poletaev A.B., Gnedenko B.B., Makarova A.A., Krasnopolsky V.I., Budykina T.S., Petrukhin V.A., Morozov S.G. Possible mechanisms of diabetic fetopathy: polyclonal antibodies to insulin and insulin receptor in sera of diabetic pregnant women and their newborns // *Human Antibodies.* – 2000. – V. 9. – N 4. – P. 189-197.
166. Potter K.N., Wilkin T.J. The molecular specificity of insulin autoantibodies // *Diabetes Metab. Res. Rev.* – 2000. - V. 16. – P. 338-353.
167. Qiao Y.C., Chen Y.L., Pan Y.H., Tian F., Xu Y., Zhang X.X., Zhao H.L. The change of serum tumor necrosis factor alpha in patients with type 1 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. // *PLoS One.* – 2017. – V. 12. - N4. – P. e0176157.
168. Ramondetti F., Sacco S., Comelli M., Bruno G. et al. Type 1 diabetes and measles, mumps and rubella childhood infections within the Italian Insulin-dependent Diabetes Registry // *Diabet. Med.* – 2012. – V. 29. – N 6. – P. 761-766.
169. Redondo M.J., Eisenbarth G.S. Genetic control of autoimmunity in type 1 diabetes and associated disorders // *Diabetologia.* – 2002. - V. 45. – P. 605-622.
170. Richardson SJ, Morgan NG. Enteroviral infections in the pathogenesis of type 1 diabetes: new insights for therapeutic intervention. // *Curr Opin Pharmacol.* – 2018. – V. 43. – P. 11-19.
171. Richer M.J., Horvits M.S. Coxsackievirus infection as an environmental factor in the etiology of type 1 diabetes // *Autoimmun. Res.* – 2009. - V.8. – N 7. – P. 611-615.

172. Rochet N., Blanche S., Carel J.C., Fischer A., Deist F.L., Griscelli C., Van Obberghen E., Marchand-Brustel Y. Hypoglycaemia induced by antibodies to insulin receptor // *Diabetologia*. – 1989. – V. 32. - N 3. – P. 167–172.

173. Rogers I., EURO-BLCS Study group. The influence of birthweight and intrauterine environment on adiposity and fat distribution in later life // *Int. J. Obes, Relat. Metab. Disord.* – 2003. - V. 27. – P. 755-777.

174. Roll U., Christie MR., Fuchtenbusch M. et al. Perinatal autoimmunity in offspring of diabetic parents. The German Multicenter BABY-DIAB study: detection of humoral immune responses to islet antigens in early childhood // *Diabetes*. – 1996. – V. 45. – N 7. – P. 967–973.

175. Rys P.M., Ludwig-Slomczynska A.H., Cyganek K., Malecki M.T. Continuous subcutaneous insulin infusion vs multiple daily injections in pregnant women with type 1 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials and observational studies. // *Eur J Endocrinol*. – 2018. – V. 178. - N5. – P. 545-563.

176. Schneider D.A., von Herrath M.G. Viruses and Type 1 diabetes: a dynamic labile equilibrium. // *Diabetes Manag (Lond)*. – 2013. – V. 3. - N3. – P. 217-223.

177. Schranz D.B., Bekris L., Landin-Olsson M., Törn C., Niläng A., Toll A., Sjöström J., Grönlund H., Lernmark A. Newly diagnosed latent autoimmune diabetes in adults (LADA) is associated with low level glutamate decarboxylase (GAD65) and IA-2 autoantibodies. Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS). // *Horm Metab Res*. - 2000. – V. 32. - N4. P. 133-8.

178. Serreze D.V., Chapman H.D., Varnum D.S., Hanson M.S., et al. B lymphocytes are essential for the initiation of T cell-mediated autoimmune diabetes: analysis of a new "speed congenic" stock of NOD. Ig mu null mice // *J. Exp. Med.* – 1996. – V. 184. – N 5. – P. 2049-2053.

179. Shand A.W., Bell J.C., McElduff A. et al. Outcomes of pregnancies in women with pregestational diabetes mellitus and gestational diabetes mellitus // *Diabet Med.* - 2008. - V.25. – P. 708-715.

180. Shimizu I., Makino H., Imagava A. et al. Clinical and immunogenetic characteristics of fulminant type 1 diabetes associated with pregnancy // *Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. - V. 91. – N 2. – P. 471-476.

181. Siloși I., Siloși C.A., Boldeanu M.V., Cojocaru M., Biciușcă V., Avrămes-cu C.S., Cojocaru I.M., Bogdan M., FolcuȚi R.M. The role of autoantibodies in health and disease. // *Rom J Morphol Embryol.* – 2016. – V. 57. - N2 (Suppl). – P. 633-638.

182. Silva Idos S., Higgins C., Sverdlow A. et al. Birthweight and other pregnancy outcomes in a cohort of women with pregestational insulin-treated diabetes mellitus, Scotland // *Diabet Med.* - 2005. - V. 22. – P. 440-447.

183. Silverman B.L., Landsberg L., Metzger B. Fetal hyperinsulinism in offspring of diabetic mothers. Association with the subsequent development of childhood obesity // *Ann. N.Y. Acad .Sci.* – 1993. - V.699. – P.36-45.

184. Singh B., Rabinovitch A. Influence of microbial agents on the development and prevention of autoimmune diabetes // *Autoimmunity.* – 1993. - V. 15. – P. 210-213.

185. Smith L.B., Lynch K.F., Driscoll K.A., Johnson S.B. TEDDY Study Group. Parental monitoring for type 1 diabetes in genetically at-risk young children: The TEDDY study. // *Pediatr Diabetes.* – 2021. – V. 22. - N5. – P. 717-728.

186. Sodoyez J.C., Koch M., Sodoyez-Goffaux F. Anticorps anti-insuline: méthodologie et implications cliniques [Insulin antibodies: methodology and clinical implications]. // *Diabete Metab.* – 1991. – V. 17. - N2. – P. 255-69.

187. Steck A.K., Xu P., Geyer S., Redondo M.J., Antinozzi P., Wentworth J.M., Sosenko J., Onengut-Gumuscu S., Chen W.M., Rich S.S., Pugliese A. Type 1 Diabetes TrialNet Study Group. Can Non-HLA Single Nucleotide Polymorphisms Help Stratify

Risk in TrialNet Relatives at Risk for Type 1 Diabetes? // J Clin Endocrinol Metab. – 2017. – V. 102. - N8. – P. 2873-2880.

188. Stumpp C., Beyerlein A., Bonifacio E. Neonatal and infant beta cell hormone concentrations in relation to type 1 diabetes risk // Pediatr. Diabetes. – 2014. – V. 15. – P. 528-533.

189. Tamborlane W.V., Amiel S.A. Hypoglycemia in the treated diabetic patient. A risk of intensive insulin therapy. // Endocrinol Metab Clin North Am. – 1992. – V. 21. - N2. – P. 313-27

190. Tate J.E., Curns A.T., Cortese M.M. et al. Burden of acute gastroenteritis hospitalizations and emergency department visits in US children that is potentially preventable by rotavirus vaccination: a probe study using the now-withdrawn rotashield vaccine // Pediatrics. – 2009. – V. 123. – N 3. – P. 744–749.

191. Taylor S.I., Grunberger G., Marcus-Samuels B. et al. Hypoglycemia associated with antibodies to the insulin receptor // N. Engl. J. Med. – 1982. - V. 307. – P. 1422-1426.

192. Thoenen H., Bandflow C., Heumann R. The physiological function of nerve growth factor in the central nervous system: comparison with the periphery. Rev. Physiol., Biochem. and Pharmacol. – 1987. – V.109. – P. 145–178.

193. Thomas J, Virta V., Nell L. Idiotypic determinants on human anti-insulin antibodies are cyclically expressed // J. Immunol. - 1986. – V. 137. – P. 1610–1615.

194. Thomas J.W. Antigen-specific responses in autoimmunity and tolerance. // Immunol Res. – 2001. – V. 23. – N2-3. – P. 235-44.

195. Todd A., Walker N.M., Cooper J.D., et al., Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes // Nat. Genet. – 2007. – N 39. – P. 857-864.

196. Todd J.A. Etiology of type 1 diabetes. // Immunity. – 2010. – V. 32. N4. P. 457-67.

197. Todd J.A. Evidence that UBASH3 is a causal gene for type 1 diabetes. // *Eur J Hum Genet.* - 2018. – V. 26. - N7. – P. 925-927.
198. Toshihiro M., Katagiri H., Kataoka K. et al. Recurrent hypoglycemia during pregnancy in a woman with multiple autoantibodies including anti-insulin receptor antibody and anti-platelet antibody? Whose serum lowered murine blood glucose levels and phosphorylated insulin receptor of CHO-IR cells // *Endocr J.* – 2011. – V. 58. – N 12. – P. 1037-1043.
199. Trier N.H., Valdarnini N., Fanelli I., Rovero P., Hansen P.R., Schafer-Nielsen C., Ciplys E., Slibinskas R., Pociot F., Friis T., Houen G. Peptide Antibody Reactivity to Homologous Regions in Glutamate Decarboxylase Isoforms and Coxsackievirus B4 P2C. // *Int J Mol Sci.* – 2022. – V. 23. - N8. – P. 4424.
200. Tzioufas A.G., Routsias J.G. Idiotypic, anti-idiotypic network of autoantibodies: pathogenetic considerations and clinical application. // *Autoimmun Rev.* – 2010. – V 9(9). – P. 631-633.
201. Uriuhara A., Morita S., Kuroda S. et al. Severe insulin-resistant diabetes mellitus associated with hypereosinophilic syndrome // *Internal Medicine.* –1994. – V. 33. - N 10. – P. 632–636.
202. Vanderbeeken Y., Sarfati M., Bose R., Delespesse G. In utero immunization of the fetus to tetanus by maternal vaccination during pregnancy // *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.* – 1985. – V. 8. – N 2. – P. 39-42.
203. Verge C.F., Stenger D., Bonifacio E. et al. Combined use of autoantibodies (IA-2 autoantibody, GAD autoantibody, insulin of autoantibody, cytoplasmic islet cell autoantibodies) in Type 1 diabetes: Combinatorial islet Autoantibody Workshop // *Diabetes.* – 1998. - V. 47. – P. 1857-1866.
204. Voormolen D.N., DeVries J.H., Evers I.M., Mol B.W., Franx A. The efficacy and effectiveness of continuous glucose monitoring during pregnancy: a systematic review. // *Obstet Gynecol Surv.* – 2013. – V. 68. - N11. – P. 753-63.

205. Weiss P.A., Scholz H.C., Haas J. et al. Long-term follow-up of infants of mothers with type 1 diabetes: evidence for hereditary and nonhereditary transmission of diabetes and precursors // *Diabetes Care*. – 2000. – N 23. – P. 905–911.

206. Wherrett D.K. Improving Prediction of Risk for the Development of Type 1 Diabetes-Insights From Populations at High Risk. // *Diabetes Care*. – 2021. – V. 44. - N 10. – P. 2189–91.

207. Wichterle D., Stolba P., Bendlova B. Anti-insulin antibodies and insulin resistance // *Vnitr Lek*. - 1995. - V. 41. – N 2. – P. 146-150.

208. Workgroup on hypoglycemia. Defining and reporting hypoglycemia in diabetes: report from the American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia // *Diabet Care*. – 2005. - V. 28. – P. 1245-1249.

209. Wucher H., Lepercq J., Carette C., Colas C., Dubois-Laforgue D., Gautier J.F., et al. Poor prognosis of pregnancy in women with autoimmune type 1 diabetes mellitus masquerading as gestational diabetes. *Diabetes & Metabolism*. 2011;37(1): 47–51.

210. Wyatt R.C., Hagopian W.A., Roep B.O., Patel K.A., Resnick B., Dobbs R., Hudson M., De Franco E., Ellard S., Flanagan S.E., Hattersley A.T., Oram R.A., Johnson M.B. Congenital beta cell defects are not associated with markers of islet autoimmunity, even in the context of high genetic risk for type 1 diabetes. // *Diabetologia*. – 2022. – V. 65. - N7. – P. 1179-1184.

211. Yuan Rong, Tu Xin-zhi, Wang Chen-hong. Combined determination of three autoantibodies in gestational diabetic patients and its clinical significance. *Hainan Medical Journal*. 2010;21(7): 32–33.

212. Zhe L., Tian-mei W., Wei-jie M., Xin C., Xiao-min X. The influence of maternal islet beta-cell autoantibodies in conjunction with gestational hyperglycemia on neonatal outcomes // *PLoS ONE*. – 2015. – V. 10. – N 3. – P. 1-8: e0120414. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120414>

213. Zheng P., Li Z., Zhou Z. Gut microbiome in type 1 diabetes: A comprehensive review. // *Diabetes Metab Res Rev.* – 2018. – V. 34. - N7. – P. e3043.

214. Ziegler A., Hummel M., Schenker M. Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with Type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BABYDIAB Study // *Diabetes.* – 1999. - V. 48. – P. 460-468.

215. Zimmet P., Alberti K.G., Magliano D.J., Bennett P.H. Diabetes mellitus statistics on prevalence and mortality: facts and fallacies. // *Nat Rev Endocrinol.* – 2016. – V. 12. - N10. – P. 616-22.

216. Zorena K., Michalska M., Kurpas M., Jaskulak M., Murawska A., Rostami S. Environmental Factors and the Risk of Developing Type 1 Diabetes-Old Disease and New Data. // *Biology (Basel).* – 2022. – V. 11. - N4. – P. 608.