

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

State Institution «V.P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Ендокринологія

ENDOKRYNOLOGIA

УДК 612.43/.45:616.43/.45-06-08-084-089.87:616.379-008.64-036.22-053.2.7:312.2:002

2018

ТОМ 23, № 3
VOLUME 23, No. 3

Науково-практичний медичний журнал
Scientific medical journal

Заснований у квітні 1996 р.
Founded in April 1996

Виходить 4 рази на рік

INDEX COPERNICUS
INTERNATIONAL



OAJI Open Academic
.net Journals Index

ICJ JOURNALS
MASTER LIST

Загальнодержавна реферативна база даних «Україніка наукова»

УРЖ «Джерело»

Київ
Kyiv

© ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», 2018
© Видавничий дім Медкнига, 2018

Ендокринологія

ENDOKRYNOLOGIA

2018

Том 23, № 3

Volume 23, No. 3

Засновник: Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»
State Institution «V.P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy
of Medical Sciences of Ukraine»

Свідоцтво про державну реєстрацію КВ № 14099-3070 ПР від 17.06.2008

Наказом МОН України від 07.10.2015 р. № 1021 журнал внесено до

Переліку наукових фахових видань України (медичні та біологічні науки)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

ТРОНЬКО М.Д. [головний редактор]

КВАЧЕНЮК А.М., СОКОЛОВА Л.К. [заступники головного редактора з клінічної ендокринології]

МИКОША О.С. [заступник головного редактора з експериментальної ендокринології]

ГИРЯВЕНКО О.Я. [відповідальний секретар]

Богданова Т.І., Большова О.В., Гульчій М.В., Караченцев Ю.І., Коваленко А.Є., Ковзун О.І.,

Корпачев В.В., Кравченко В.І., Луцицький Є.В., Маньковський Б.М., Науменко В.Г., Орленко В.Л.,

Полторак В.В., Пушкарьов В.М., Резніков О.Г., Томас Дж. (Велика Британія), Ямашіта С. (Японія)

РЕДАКЦІЙНА РАДА:

Боцюрко В.І. (Івано-Франківськ), Вендзилович Ю.М. (Львів), Власенко М.В. (Вінниця),

Войнілович В.О. (Чернігів), Кирилюк М.Л. (Київ), Ларін О.С. (Київ), Мельниченко Г.О. (Російська Федерація),

Спринчук Н.А. (Київ), Ткач С.М. (Київ), Хатч М. (США), Шестакова М.В. (Російська Федерація)

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»,

вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна

тел.: (044) 430-36-94, факс: (044) 428-19-96

E-mail: giryavenkoelena@gmail.com

Повнотекстову версію журналу представлено на сайті <http://www.endokrynologia.kiev.ua>

Електронні копії опублікованих статей передаються до Національної бібліотеки

ім. В.В. Вернадського для вільного доступу в режимі on-line

Затверджено до друку вченою радою ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин

ім. В.П. Комісаренка НАМН України» від 05.07.2018 (протокол №3)

Редакція не завжди поділяє думки авторів статей. Відповідальність за достовірність, добір та викладення фактів у статтях несуть автори.

Правову відповідальність за розміщення, зміст, достовірність та графічне відтворення рекламно-інформаційних матеріалів про лікарські засоби чи пристрої несе виробник, дистриб'ютор або інша структура, яка надала відповідні матеріали.

Передрук та інше відтворення в будь-якій формі в цілому або частково статей, ілюстрацій та інших матеріалів дозволено тільки згідно з попередньою письмовою згодою редакції та з обов'язковим посиланням на джерело. Усі права захищено.

Видавець: Видавничий дім Медкнига, www.medkniga.kiev.ua

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи в державний реєстр видавців видавничої продукції ДК №3066 від 20.12.2007

Керівник проекту — О.П. Влас, тел. (066) 785-11-56

Відділ маркетингу — Т.Г. Овчаренко, тел. (066) 753-81-78, (067) 847-85-05

Адреса: вул. Западинська, 5, м. Київ, 04123, Україна

Тел./факс: (044) 485-15-86

Підписано до друку 28.09.2018. Наклад 4000 прим.

Обсяг до 12 ум. др. арк., 24 обл.-вид. арк.

© ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», 2018

© Видавничий дім Медкнига, 2018

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- 201 Профілактика поопераційної гіпокальціємії в пацієнтів із тиреотоксикозом
Шептуха С.А.
- 205 Соціальні аспекти ведення пацієнтів із синдромом діабетичної стопи
Марченко О.В., Горобейко М.Б., Юзвенко Т.Ю., Крушинська З.Г., Гирявенко О.Я.
- 210 Роль чинників кардіоваскулярного ризику — ожиріння та дисліпідемії в розвитку предіабетичних порушень в осіб різного віку
Чижова В.П.
- 219 Вплив продукту з чорниці на метаболічний профіль у хворих на цукровий діабет 2-го типу
Романенко М.С., Гавалко Ю.В., Синьок Л.Л., Шаповал І.М., Коруля І.А.
- 226 Вплив метанандаміду на рівень експресії мітоген-активованої протеїнкінази р38 у тканині надниркових залоз щурів
Левчук Н.І., Ковзун О.І., Микоша О.С.
- 230 Investigation of the influence of magnesium ions on the morphofunctional state of the thyroid gland of adult rats
Yanko R.V.

КЛІНІЧНІ СПОСТЕРЕЖЕННЯ

- 237 Современные подходы к лечению трофических язв нижних конечностей
Мунтян С.А., Носенко И.В., Лященко О.В.

ORIGINAL PAPERS

- 201 Prevention of postoperative hypocalcemia in patients with thyrotoxicosis
Sheptukha S.A.
- 205 Social aspects of management of patients with diabetic foot syndrome
Marchenko O.V., Gorobeiko M.B., Yuzvenko T.Yu., Krushynska Z.G., Giryavenko O.Ya.
- 210 The role of factors of cardiometabolic risk — obesity and dyslipidemia in the development of pre-diabetic disorders in people of different ages
Chyzhova V.P.
- 219 Effect of products from blackberry on metabolic profile in patients with type 2 diabetes
Romanenko M.S., Havalko Yu.V., Synyok L.L., Shapoval I.M.
- 226 Effect of methanandamide on expression level of mitogen-activated protein kinase p38 in the tissue of adrenal gland rats
Levchuk N.I., Kovzun O.I., Mikosha O.S.
- 230 Дослідження впливу іонів магнію на морфо-функціональний стан щитоподібної залози дорослих щурів
Янко Р.В.

КЛІНІЧНІ СПОСТЕРЕЖЕННЯ

- 237 Modern approaches to treating trophic lips of lower extremities
Muntyan S.A., Nosenko I.V., Lyashchenko O.V.

ОГЛЯДИ

- 242 Українсько-Американський тиреоїдний проект: огляд наукових публікацій з питань клінічної патології
Тронько М.Д., Пастер І.П., Замотаєва Г.А.
- 251 Інноваційне використання стовбурових клітин у комплексному лікуванні синдрому діабетичної стопи
Тронько М.Д., Бутенко Г.М., Болгарська С.В., Ковзун О.І., Немтінов П.І., Орленко В.Л., Пастер І.П., Соколова Л.К., Салютін Р.В., Устименко А.М.
- 269 Рецепция и внутриклеточные механизмы действия инсулина (часть 1)
Тронько Н.Д., Ковзун Е.И., Пушкарєв В.В., Соколова Л.К., Пушкарєв В.М.

ЛЕКЦІЇ

- 281 Молекулярные и эпигенетические механизмы метаболических эффектов средств, применяемых в лечении пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и его осложнений
Гарницкая А.В.

АКТУАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

- 289 Решение клинической задачи «Диагностика хромоаффиномы» — возможности современной лабораторной диагностики
Луценко Л.А., Кваченюк А.Н.

REVIEWS

- 242 Ukrainian-American thyroid project: review of scientific publication on clinical pathology
Tronko M.D., Pasteur I.P., Zamotayeva G.A.,
- 251 Innovative use of stem cells in complex therapy of diabetic foot
Tronko M.D., Butenko G.M., Bolgarska S.V., Kovzun O.I., Nemtynov P.I., Orlenko V.L., Pasteur I.P., Sokolova L.K., Salutin R.V.
- 269 Reception and intracellular mechanisms of insulin action
Tronko N.D., Kovzun E.I., Pushkarev V.V., Sokolova L.K., Pushkarev V.M.

LECTURE

- 281 Molecular and epigenetic mechanisms of metabolic effects of means applied in treatment of type 2 diabetes and its complications
Garnitska A.V.

ACTUAL INFORMATION

- 289 Solution of the clinical problem «Diagnostics of chromaffinoma» — possibilities of modern laboratory diagnostics
Lutsenko L., Kvachenyuk A.

Профілактика поопераційної гіпокальціємії в пацієнтів із тиреотоксикозом

С.А. Шептуха

ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС

Резюме. Значне зростання кількості випадків захворювання на дифузний токсичний зоб (ДТЗ) в Україні призводить до збільшення кількості оперативних втручань на щитоподібній залозі. Одним із поопераційних ускладнень тиреоїдних операцій залишається гіпокальціємія. Наразі чітких рекомендацій щодо профілактики розвитку поопераційної гіпокальціємії в пацієнтів, прооперованих із приводу ДТЗ, немає. У зв'язку із цим залишається актуальним питання вивчення методів її профілактики. **Мета** — розробка та впровадження в клінічну практику засобів запобігання поопераційній гіпокальціємії серед пацієнтів, прооперованих із приводу ДТЗ. **Матеріали та методи.** Наведено результати лікування 27 хворих із ДТЗ, прооперованих у період з грудня 2016 року по лютий 2018 року. На момент оперативного втручання всі пацієнти були в евтиреоїдному стані на тлі приймання тіамазолу в дозах від 5 мг/добу до 30 мг/добу. **Результати.** За результатами визначення рівня АТ до рецепторів ТТГ пацієнтів розподілили на 2 групи: I — 17 осіб із хворобою Грейвса, II — 10 осіб із хворобою Пламмера. У I групі всім виконано тиреоїдектомію, у II — виконано 7 тиреоїдектомій і 3 гемітиреоїдектомії. Оперативні втручання виконували за екстрафасціальною методикою з використанням апарата для високочастотного зварювання живих тканин «ПАТОНМЕД». Завдяки використаній методиці візуалізація прищитоподібних залоз значно спростила, а ймовірність їх випадкового видалення значне зменшилась. В обох групах пацієнти впродовж 10-14 діб перед операцією отримували препарати кальцію в дозі 1 г/день. За 7 діб перед операцією дозу збільшували до 2 г/день. По закінченні оперативного втручання внутрішньовенно крапельно вводили 60 мл (600 мг) кальцію глюканату на 400 мл фізіологічного розчину, наступної доби — 40 мл (400 мг) на 400 мл фізіологічного розчину. Наступного дня по операції пацієнти розпочинали приймання препаратів кальцію в дозі 3 г/добу з поступовим зменшенням дози. Швидкість зниження дози коригували на підставі скарг пацієнта, наявності або відсутності клінічних ознак гіпокальціємії та рівня кальцію іонізованого в крові (за необхідності). Обов'язковим етапом обстеження було визначення рівня кальцію іонізованого в крові на передопераційному етапі та за 2 доби по операції. Показники кальцію іонізованого на передопераційному етапі були на рівні верхньої межі норми, а в деяких випадках і вище за неї. У поопераційний період відзначено чітку тенденцію до зниження рівня кальцію іонізованого в крові попри профілактичні заходи. Лабораторно підтверджено зниження рівня кальцію нижче від референтних значень у 5 випадках. Клінічні прояви гіпокальціємії виявлено у 2 хворих. Стійкого гіпопаратиреозу в досліджуваних групах виявлено не було. **Висновки.** Призначення препаратів кальцію пацієнтам із дифузним токсичним зобом із профілактичною метою на перед-і поопераційному етапах значно зменшує частоту виникнення явищ поопераційної гіпокальціємії.

Ключові слова: дифузний токсичний зоб, кальцій іонізований, гіпокальціємія, ПАТОНМЕД.

* Адреса для листування (Correspondence): ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС, вул. Верхня, 5. м. Київ, 02000, Україна.
E-mail: shepa1979@i.ua

Оригінальні дослідження

Дифузний токсичний зоб (ДТЗ) — одне з найпоширеніших аутоімунних захворювань щитоподібної залози (ЩЗ), що характеризується надмірною секрецією тиреоїдних гормонів [1-3]. В Україні останніми 5 роками відзначається поширення ендокринних захворювань на 13%, а кількість зареєстрованих випадків захворювання на тиреотоксикоз щороку збільшується на 5% [6].

На сьогодні основним методом лікування ДТЗ є консервативна терапія з тривалим використанням антитиреоїдних препаратів (упродовж до 1-1,5 року) з оцінкою вірогідності настання ремісії. За її відсутності проводиться радіоїодтерапія або оперативне втручання [2, 3, 5].

У випадках встановлення діагнозу ДТЗ й у ході подальшого його лікування обов'язково досліджується рівень антитіл до рецепторів тиреотропного гормону (АТ до рец. ТТГ), який відіграє вирішальну роль у виборі обсягу оперативного лікування [2, 3]. У разі виявлення низького (<1,8 Од/л) рівня АТ до рец. ТТГ і вузлового зоба (за даними ультразвукової діагностики — УЗД) консервативна антитиреоїдна терапія буде малоефективною і тривале лікування (понад рік) не дасть можливості досягти стійкої ремісії (хвороба Пламмера). Залежно від результатів УЗД пацієнту пропонується виконання гемітиреоїдектомії (за одностороннього ураження ЩЗ вузловою патологією) або тотальної тиреоїдектомії (за двобічного ураження).

У зв'язку з великою ймовірністю рецидиву захворювання у випадках виявлення високого рівня АТ до рец. ТТГ (хвороба Грейвса), за сучасними поглядами та згідно з думкою більшості міжнародних експертів у царині лікування тиреоїдної патології, необхідно виконувати оперативне втручання в обсязі тиреоїдектомії.

Після тиреоїдектомії існує ризик виникнення низки поопераційних ускладнень, одним з яких є гіпокальціємія. Етіологічними чинниками цього явища можуть бути низька передопераційна концентрація 25-гідроксिवітаміну D (25(OH)D), похилий вік пацієнта та тиреотоксикоз із підвищеним ремоделюванням кісток (синдром «голдних кісток») [1, 2, 4]. За даними різних авторів, транзиторна поопераційна гіпокальціємія трапляється в 0,9-68% випадків, і частота її є значно більшою в пацієнтів із ДТЗ порівняно з такою в пацієнтів, прооперованих із приводу іншої тиреоїдної патології [3, 4]. За ДТЗ підвищений метаболізм у деяких випадках може включати

підвищений метаболізм кісткової тканини в поєднанні зі швидким ремоделюванням кісток, навіть на тлі досягнення евтиреозу та підтримання його тиреостатичною терапією. Отже, пацієнти, які перенесли оперативне втручання з приводу ДТЗ, більшою мірою є схильними до поопераційної гіпокальціємії через порушення компенсаторних механізмів кальцієвого обміну.

Мета дослідження — розробка та впровадження в клінічну практику засобів запобігання розвитку поопераційної гіпокальціємії серед пацієнтів, прооперованих із приводу ДТЗ.

Матеріали та методи

До даного дослідження включено 27 пацієнтів із ДТЗ, прооперованих у хірургічному відділенні ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС за період з грудня 2016 року по лютий 2018 року. До досліджуваних груп не включали пацієнтів із захворюваннями прищитоподібних залоз.

В усіх пацієнтів діагноз ДТЗ було підтверджено серійними визначеннями тиреоїдних гормонів. На момент операції функцію нирок не було порушено, що підтверджено нормальними показниками сечовини та креатиніну в крові. Усім пацієнтам на передгоспітальному етапі проводили рутинне ультразвукове дослідження ЩЗ, а за необхідності — тонкоголкову аспіраційну пункційну біопсію (ТАПБ) вузлів.

Результати та їх обговорення

Пацієнтів розподілили на 2 групи: I група — пацієнти з хворобою Грейвса (17 осіб), II група — пацієнти з хворобою Пламмера (10 осіб). Вік пацієнтів становив від 23 до 71 року, анамнез захворювання на ДТЗ — від 3 місяців до 11 років.

У період підготовки до оперативного лікування всі пацієнти приймали тіамазол у дозах від 5 мг/добу до 30 мг/добу, унаслідок чого на момент оперативного втручання у всіх пацієнтів досягнуто евтиреїдного статусу.

З наведеної таблиці видно, що переважно більшість (85,2%) пацієнтів становили жінки. За результатами визначення АТ до рец. ТТГ до I групи увійшли 17 (62,9%) пацієнтів, усім із них було виконано оперативне втручання в обсязі тиреоїдектомії. До II групи включено 10 (37,1%) пацієнтів, серед яких у 3 хворих (з одностороннім вузловим зо-

Таблиця 1. Характеристика груп пацієнтів (n)

Показник	I група (хвороба Грейвса)	II група (хвороба Пламмера)
Кількість випадків	17	10
Жінки/чоловіки	15/2	8/2
Вік, M±m	43,4±14,65	54,5±11,71
Обсяг оперативного втручання (тиреоїдектомія/гемітиреоїдектомія)	17/0	7/3

бом) виконано оперативне втручання в обсязі гемітиреоїдектомії, а в 7 (з мультифокальним ураженням обох часток щитоподібної залози) — тиреоїдектомію. Оперативні втручання виконували за екстрафасціальною методикою з використанням апарата для високочастотного зварювання живих тканин ПАТОНМЕД та обов'язковою візуалізацією всіх чотирьох прищитоподібних залоз і поворотного гортанного нерва.

У передопераційний період і за 2 доби по операції обов'язковим етапом було дослідження рівня кальцію іонізованого (Ca^{++}) у крові (референтні значення нормокальціємії становили 1,05-1,32 ммоль/л).

Усі пацієнти на передопераційному етапі отримували препарати кальцію за схемою: за 10-14 діб перед операцією — 1 г/день, за 7 діб перед операцією — 2 г/день, з 1-ї поопераційної доби — 3 г/день із поступовим зменшенням дози під контролем рівня кальцію іонізованого в крові та спостереженням щодо можливого розвитку клінічних симптомів гіпокальціємії. Крім того, на 1-у поопераційну добу внутрішньовенно вводили 60 мл (600 мг) кальцію глюканату на 400 мл фізіологічного розчину, а на наступну добу — 40 мл (400 мг) на 400 мл фізіологічного розчину.

За результатами лабораторних досліджень на передопераційному етапі рівень Ca^{++} в крові у пацієнтів був на рівні верхньонормальних значень, а в деяких випадках і перевищував верхню межу референтних значень.

У поопераційний період за даними лабораторних досліджень відзначено чітку тенденцію до зниження рівня Ca^{++} в крові попри прийман-

Таблиця 2. Динаміка рівня Ca^{++} в крові (M±m)

Термін визначення	I група	II група
Напередодні операції	1,26±0,03319	1,26±0,00257
За 2 доби по операції	1,13±0,00237	1,15±0,03327
Поопераційна гіпокальціємія (з/без клінічних проявів), n	5 (2/3)	0

ня пацієнтами препаратів кальцію у великих дозах. Слід відзначити, що зниження рівня кальцію нижче від референтних значень виявлено в 5 хворих. Клінічні прояви гіпокальціємії у вигляді парестезій виникли у 2 із них. Після приймання вітаміну В упродовж 2-4 діб явища парестезій минули в обох пацієнтів. Стійкого гіперпаратиреозу не виникло в жодному випадку.

Висновки

1. Профілактичне призначення препаратів кальцію пацієнтам із встановленим діагнозом ДТЗ на перед- і поопераційному етапах значно зменшує частоту розвитку поопераційної гіпокальціємії.
2. Проведення оперативних втручань за екстрафасціальною методикою з візуалізацією всіх чотирьох прищитоподібних залоз дає можливість запобігти випадковому видаленню патологічно не зміненої прищитоподібної залози, що значною мірою впливає на зменшення ризику розвитку гіпокальціємії.
3. Усім пацієнтам після перенесених оперативних втручань необхідний ретельний контроль симптомів гіпокальціємії, а за їх наявності — контроль рівня Ca^{++} в крові з подальшою його корекцією.

Список використаної літератури

1. Аметов АС. Избранные лекции по эндокринологии. Москва: МИА, 2009: 496 с. (Ametov AS. Selected lectures on endocrinology. Moskva: MIA, 2009:496).
2. Дедов ИИ, Мельниченко ГА, Фадеев ВВ. Эндокринология. Учебник для вузов. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2012;432 с. (Dedov II, Melnichenko GA, Fadeev VV. Endocrinology. Textbook for high schools. Moskva: GEOTAR-Media, 2012:432 p.).
3. Кеннеди Ли. Диагностика и лечение в эндокринологии. Проблемный подход. Пер. с англ. под ред. проф. ВВ Фадеева. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010:304. (Kennedy Lee. Diagnosis and treatment in endocrinology. Problem approach. Trans. from english. prof. VV Fadeev (ed). Moskva: GEOTAR-Media, 2010:304 p.).
4. Симакина ОВ, Латкина НВ, Кузнецов НС. Факторы, определяющие развитие гипокальциемии у пациентов с болезнью Грейвса после тиреоидэктомии. Клиническая и экспериментальная тиреология. 2014;10(2):43-8. (Simakina OV, Latkina NV, Kuznetsov NS. Factors determining the development of hypocalcemia in patients with Graves' disease after thyroidectomy. Klinicheskaya i eksperimentalnaya tireoidologiya. 2014;10(2):43-8).
5. Garmendia M, Santos Palacios S, Guillen-Grima F, Galofri JC. The incidence and prevalence of thyroid dysfunction in Europe: a meta-analysis. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99(11):923-31.
6. Паньків ВІ. Стан кісткової тканини за синдрому тиреотоксикозу. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2016;53(1):34-40 (Pan'kiv VI. State of bone tissue in patients with thyrotoxicosis syndrome. Klinichna endokrynologhiia ta endokrynna khirurgiia. 2016;53(1):34-40).

(Надійшла до редакції 02.07.2018 р.)

Профилактика послеоперационной гипокальциемии у пациентов с тиреотоксикозом

С.А. Шептуха

ГНУ «Научно-практический центр профилактической и клинической медицины» ГУД

Резюме. Значительный рост количества случаев заболевания диффузным токсическим зобом (ДТЗ) в Украине приводит к увеличению количества операций на щитовидной железе. Одним из вероятных осложнений тиреоидных операций является послеоперационная гипокальциемия. Сейчас четких рекомендаций по профилактике послеоперационной гипокальциемии у пациентов, прооперированных по поводу ДТЗ, нет. В связи с этим остается актуальным вопрос изучения методов ее профилактики. **Цель** — разработка и внедрение в клиническую практику средств предупреждения послеоперационной гипокальциемии среди пациентов, прооперированных по поводу ДТЗ. **Материалы и методы.** Представлены результаты лечения 27 больных ДТЗ, прооперированных за период с декабря 2016 года по февраль 2018 года. На момент оперативного вмешательства все пациенты были в эутиреоидном состоянии на фоне приема тиамазола в дозе от 5 мг/сут до 30 мг/сут. **Результаты.** По результатам определения уровня АТ к рецепторам ТТГ пациентов распределили на 2 группы: I — 17 лиц с болезнью Грейвса, II — 10 лиц с болезнью Пламмера. В I группе всем выполнена тиреоидэктомия, во II — 7 тиреоидэктомий и 3 гемитиреоидэктомии. Оперативные вмешательства выполняли по экстрафасциальной методике с использованием аппарата высокочастотной сварки живых тканей «ПАТОНМЕД». Благодаря использованной методике визуализация паращитовидных желез значительно упростилась, а вероятность их случайного удаления значительно уменьшилась. Пациенты обеих групп в течение 10-14 дней до операции принимали препараты кальция в дозе 1 г/день. За 7 дней до операции дозу увеличивали до 2 г/день. После окончания оперативного вмешательства внутривенно капельно вводили 60 мл (600 мг) кальция глюканата на 400 мл физиологического раствора, а на следующее утро — 40 мл (400 мг) на 400 мл физиологического раствора. На следующий день после операции пациенты начинали прием препаратов кальция в дозе 3 г/день с постепенным уменьшением дозы. Скорость снижения дозы корректировали на основании жалоб пациента, наличия или отсутствия клинических признаков гипокальциемии и уровня кальция ионизированного в крови (при необходимости). Обязательным этапом исследования было определение уровня кальция ионизированного в крови на дооперационном этапе и через 2 дня после операции. Показатели кальция ионизированного на дооперационном этапе были на уровне верхней границы нормы, а в некоторых случаях и выше нее. В послеоперационный период отмечена четкая тенденция к снижению уровня кальция, несмотря на профилактические меры. Лабораторно подтверждено снижение уровня кальция ниже референтных значений в 5 случаях. Клинические проявления гипокальциемии выявлены у 2 пациентов. Стойкого гиперпаратиреоза в исследуемых группах выявлено не было. **Выводы.** Назначение препаратов кальция пациентам с диффузным токсическим зобом с профилактической целью на до- и послеоперационном этапах значительно уменьшает частоту развития явлений послеоперационной гипокальциемии.

Ключевые слова: диффузный токсический зоб, кальций ионизированный, гипокальциемия, ПАТОНМЕД.

Prevention of postoperative hypocalcemia in patients with thyrotoxicosis

S.A. Sheptukha

Scientific and Practical Center for Preventive and Clinical Medicine

Abstract. A significant increase in the cases of diffuse toxic goiter (DTG) in Ukraine leads to the increased number of surgical interventions for the thyroid gland. One of the probable thyroid operation complications is postoperative hypocalcemia. At present, there are no clear recommendations for preventing the development of postoperative hypocalcemia in patients undergoing surgery for DTG. In this regard, the issue of studying the methods of its prevention remains of current interest. **The purpose** of this study was to develop and introduce the tools for preventing postoperative hypocalcemia among patients operated for DTG into the clinical practice. **Materials and methods.** The paper presents the results of 27 examined patients with DTG that were operated from December 2016 to February 2018. At the time of surgery, all patients were in euthyroid state on the background of taking thiamazole at a dose of 5 mg/day to 30 mg/day. **Results** According to the results of determining the level of AT to the TTG receptors, the patients were divided into 2 groups: group I — patients with Graves' disease (17 people), group II — patients with Plummer's disease (10 people). In group I, thyroidectomy was performed in all patients, in group II thyroidectomy — in 7 patients and hemithyroidectomy — in 3 patients. The surgical interventions were performed according to the extrafascial technique using the device of high frequency welding of living tissues PATONMED. Due to the technique used, the visualization of the parathyroid glands has been greatly simplified and the probability of their accidental removal has significantly decreased. Patients of both groups received calcium preparations at a dose of 1 g/day for 10-14 days before surgery. 7 days before the operation, the dose was increased to 2 g/day. After finishing the surgical intervention, 60 ml (600 mg) of calcium gluconate was injected intravenously drip with 400 ml of physiological solution, and the next morning — 40 ml (400 mg) per 400 ml of physiological solution. The next day after the surgery, patients started taking calcium preparations at a dose of 3 g/day with a gradual decrease in the dose. The rate of dose reduction was corrected on the basis of patient complaints, the presence or absence of clinical signs of hypocalcemia and the level of calcium ionized in the blood (if necessary). An obligatory stage of the study was to determine the level of calcium ionized in the blood at the preoperative stage and 2 days after surgery. The indices of calcium ionized at the preoperative stage were at the upper limit of the norm, and in some cases even higher. In the postoperative period, there was a clear tendency to decrease in the level of calcium in the blood despite the preventive measures. Laboratory data confirmed the decrease in calcium levels below the reference values in 5 cases. Clinical manifestations of hypocalcemia are found in 2 patients. Persistent hyperparathyroidism was not detected in the studied groups. **Conclusions.** The prescription of calcium preparations to patients with diffuse toxic goiter as a preventive measure at the pre- and postoperative stages significantly reduces the incidence of postoperative hypocalcemia.

Keywords: diffuse toxic goiter, calcium ionized, hypocalcemia, PATONMED.

Соціальні аспекти ведення пацієнтів із синдромом діабетичної стопи

О.В. Марченко¹,
М.Б. Горобейко¹,
Т.Ю. Юзвенко¹,
З.Г. Крушинська¹,
О.Я. Гирявенко²

¹Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України

²ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Сьогодні одним із найбільш соціально значущих в усьому світі ускладнень цукрового діабету (ЦД) є синдром діабетичної стопи (СДС). Майже в кожного шостого пацієнта із ЦД розвивається це вкрай небезпечне ускладнення. Догляд за такими хворими складний і вимагає багатофакторного підходу як з боку фахівців, так і щодо навчання пацієнтів і членів їх сімей. У сучасній літературі відсутні статистичні дані щодо впливу сім'ї та оточення на перебіг СДС. **Мета** — оцінка впливу соціального статусу хворих із СДС (мешкання з родиною, часткове перебування під наглядом родичів, самотність) на перебіг хвороби. **Матеріали та методи.** Під спостереженням перебували 198 хворих на ЦД 2-го типу (ЦД2). Вік пацієнтів становив від 39 до 76 років. Хворих розподілили на три групи: ті, які мешкали з родиною; ті, які перебували частково під наглядом родичів; самотні. Протягом 12 місяців вивчали роль сім'ї в їх лікуванні. Проведено подвійний аналіз — залежно від типу мешкання та від того, з родичами або самотійно пацієнти відвідували лікаря. **Результати.** Через 6 і 12 місяців у пацієнтів, які мешкали з родиною, відзначено помітне зменшення кількості рецидивів СДС. У самотніх у ці терміни зафіксовано вірогідне зростання кількості виразкових дефектів стоп. У групі «часткового нагляду» зменшення кількості рецидивів СДС набуло статистичної значущості лише через 1 рік. Також відзначено вірогідне зменшення частоти розвитку гнійно-некротичних ускладнень серед пацієнтів, які відвідували лікаря в супроводі рідних. **Висновки.** Кількість рецидивів СДС можна значно зменшити завдяки родичам, вдається мінімізувати наслідки та ускладнення основного захворювання за рахунок контролю виконання призначень і вчасного звернення до лікаря — щойно по виникненні перших проявів погіршення стану.

Ключові слова: цукровий діабет, синдром діабетичної стопи.

Вступ. В усьому світі поширеність цукрового діабету (ЦД) постійно зростає. Фахівці ВООЗ 2014 року у світі нараховували 422 мільйони людей, хворих на ЦД [1]. Лише

* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна. E-mail: zdovado@ukr.net

© О.В. Марченко, М.Б. Горобейко, Т.Ю. Юзвенко, З.Г. Крушинська, О.Я. Гирявенко

в 14,3% із них показники добового глікемічного контролю відповідають цільовим рівням, тоді як у 85,7% рівень глікованого гемоглобіну (HbA1c) перевищує 7%, що вважається неконтрольованою глікемією [2].

ЦД пов'язано із серйозними численними тривалими ускладненнями, включаючи ангіо-

Оригінальні дослідження

патію, нефропатію та ретинопатію, периферичну невропатію та проблеми серцево-судинної системи. Чинники неконтрольованої глікемії в пацієнтів із ЦД включають нездорові харчові звички, фізичну бездіяльність, недотримання рекомендацій лікаря та відсутність регулярного моніторингу рівня глюкози в крові [3].

З усіх ускладнень, що уражають людину із ЦД, найбільш руйнівним є синдром діабетичної стопи (СДС). За класифікацією ВООЗ СДС – це дефект та/або інфекція м'яких тканин нижніх кінцівок у хворих на ЦД, що виникають на тлі діабетичної полінейропатії (ДПН) та/або ангіопатії. СДС залишається найчастішою причиною госпіталізації хворих на ЦД, а діабет є основною причиною понад половини нетравматичних ампутацій нижніх кінцівок [4]. Фактично кожні 20 секунд у світі проводиться ампутація нижніх кінцівок у зв'язку із ЦД, і доведено, що виконання ампутацій збільшує смертність [5].

У близько 15-25% хворих на ЦД упродовж життя розвивається СДС [6]. Ризик розвитку рецидиву СДС у пацієнтів із ЦД упродовж трьох років збільшується на 17-60% [7]. Натомість оцінити вірогідність інформації стосовно реальної кількості таких хворих неможливо, статистичний звіт може відображати хибне значення [8].

СДС викликає значні проблеми зі здоров'ям, соціальним та економічним становищем, що негативно впливає на якість життя пацієнта та накладає важкий економічний тягар на сім'ю пацієнта. Крім того, відсутність знань, низький рівень життя, недостатня соціальна підтримка членів сім'ї пов'язані з поганим самовідновленням. Деякі дослідження показали, що підтримка сім'ї позитивно впливає на результати лікування СДС, проте ці дослідження не мали чітких доказових критеріїв [9, 10].

Відомо, що на ефективність лікування пацієнтів із СДС впливає кілька чинників, включаючи вік хворого, соціальний статус, фізичні, психологічні аспекти та рівень самостійності пацієнта [10]. Утім немає чіткого висвітлення ролі сім'ї, оточення пацієнтів у запобіганні розвитку та лікуванні СДС.

Метою даного дослідження була оцінка реального впливу соціального статусу пацієнтів із СДС (мешкання з родиною, часткове перебування під наглядом родичів, самотність) на перебіг хвороби.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на базі Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України (УНПЦЕХ, ТЕОіТ). До дослідження було включено 198 хворих на ЦД2 із СДС, які спостерігаються в УНПЦЕХ, ТЕОіТ. Пацієнтів розподілили на три групи: хворі, які мешкають із родиною – 77 осіб (38,0%); пацієнти, які періодично перебувають під наглядом родичів – 66 (33,3%) осіб; пацієнти самотні – 55 (28,6%) осіб.

Середній вік пацієнтів становив $59,2 \pm 2,7$ року (39-76 років), серед них було 107 (54,0%) жінок і 97 (49,0%) чоловіків. Тривалість ЦД становила в середньому $11,8 \pm 1,9$ року, а середній рівень HbA1c – $8,7 \pm 1,7\%$. У 28 хворих спостерігалася компенсація ЦД, 42 (14,1%) пацієнти (21,2%) мали показник HbA1c 7-8%, а 128 (64,6%) – декомпенсацію.

Заповнювали розроблену карту пацієнта, що містила такі дані: вік, стать, артеріальний тиск, сімейний стан, рівень освіти, індекс маси тіла (ІМТ), тривалість куріння тютюну, тип та тривалість ЦД, отримуване лікування (пероральні гіпоглікемічні препарати або інсулінотерапія; лікування супутньої патології), наявність ускладнень ЦД (діабетичних ретинопатії, нефропатії, СДС, ампутацій, виразок), наявність супутніх захворювань. Усі хворі відвідали кабінет діабетичної стопи.

Пацієнтам здійснювалося комплексне клінічне обстеження з оцінкою всіх ускладнень. Лабораторні методи обстеження включали загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, розгорнутий біохімічний аналіз крові з використанням стандартних методів лабораторної діагностики. Компенсацію вуглеводного обміну оцінювали за допомогою визначення HbA1c і систематичного контролю глікемії.

Для оцінки стану кровообігу в артеріях нижніх кінцівок проводили дуплексне сканування на апараті ALOCA prosound A-6, у частини хворих проведено рентгеноконтрастну артеріографію.

Принципи комплексної терапії включали в себе стандартне лікування згідно з міжнародними настановами [11] – компенсацію вуглеводного обміну, корекцію реологічних змін крові, хірургічну санацію гнійно-некротичних

уражень, антибактеріальну, детоксикаційну терапію, розвантаження кінцівки тощо.

У дослідженні проводили оцінку впливу соціального статусу хворих із виразками та гнійно-некротичними ураженнями стоп, що їх було виявлено під час першого візиту до лікаря, через 6 і 12 місяців. Аналіз проводили залежно від способу мешкання (спільно з родичами, частковий нагляд, самотні) та від того, чи відвідував пацієнт лікаря разом із близькими та родичами або самостійно.

Результати та їх обговорення

Пацієнтам під час першого огляду та їх родичам, якщо ті були присутніми, пояснювали небезпеку виникнення виразок, іноді зі «згущенням фарб». Слід зазначити, що емоційна реакція самотніх пацієнтів проявлялася меншою мірою, часто вони реагували скептично. Реакція родичів, навпаки, була більш продуктивною, з масою деталей для уточнення.

Динаміку виявлення наявних виразкових дефектів на стопах обстежених упродовж дослідження наведено в **таблиці 1**.

Під час повторного огляду через 6 місяців відзначено деяке зростання кількості пацієнтів із виразками в групі тих, хто мешкає з родиною, проте ця динаміка не була вірогідною ($p=0,078$). Дуже стрімке зростання кількості таких хворих спостерігали в групі пацієнтів, які частково перебували під наглядом родичів ($p<0,05$). Серед самотніх пацієнтів частота виявлення виразок мала сталий характер.

Дуже цікавий результат отримано в 2-й групі, де пацієнти перебували під частковим на-

Таблиця 1. Динаміка кількості пацієнтів із виразками впродовж дослідження

Група спостереження	n	%	Перший візит		Другий візит (через 6 міс.)		Третій візит (через 12 міс.)	
			n	%	n	%	n	%
Проживають із родиною	77	38,9	10	13,0	12	15,9	8	10,4
Частково під наглядом	66	33,3	5	7,6*	9	13,6*	15	22,4*
Самотні	55	27,8	10	18,1**	11	20,0**	16	28,5**
Всього	198	100	25	12,6	32	16,2	39	19,7

Примітка: * — вірогідна різниця з показником пацієнтів, які мешкають із родиною ($p<0,05$); # — вірогідна різниця з показником пацієнтів, які перебувають під частковим наглядом ($p<0,05$).

глядом родичів, — відносна кількість хворих із виразками становила 22,4%, але слід відзначити, що нові виразки виявлено в 7 пацієнтів, які приходили на перші 2 візити без супроводу родичів. У групі самотніх пацієнтів відбулося різке зростання кількості виразок ($p<0,05$), причому двох пацієнтів було направлено на проведення ампутації: одного — на рівні гомілки, одного — у межах стопи. Наприкінці дослідження визначено чітку вірогідну різницю в результатах в усіх трьох групах ($p<0,05$).

Для чіткішого розуміння впливу спілкування близьких людей із лікарем на перебіг захворювання пацієнтів розподілили на 2 групи. До першої включили хворих, які приходили на прийом у супроводі родичів, до другої — тих, хто відвідував лікаря самостійно (**табл. 2**).

Слід зазначити, що на 2-й візит максимальна кількість пацієнтів прийшли до лікаря разом із родичами, яких занепокоїло погіршення стану пацієнтів. Із 17 родичів, які прийшли на другий візит, 14 прийшли вперше. Через рік спостереження відбулося вірогідне зменшення частоти виразкових змін у хворих, які мешкають із родиною ($p<0,05$).

Виявлено вірогідну різницю в частоті виразкових дефектів між початком і кінцем спостереження, кількість пацієнтів із наявністю виразок на стопах наприкінці дослідження була значно більшою в групі осіб, які відвідували лікаря без супроводу родичів.

Процедура догляду за пацієнтами із СДС є дійсно складною та часто ігнорується самими пацієнтами. Як переконливо довело дане дослідження, недостатній контроль дотримання лікарських рекомендацій призводить до збільшення кількості рецидивів СДС у пацієнтів із ЦД через недостатнє дотримання ними лікарських призначень і рекомендацій щодо догля-

Таблиця 2. Кількість пацієнтів із виразковими дефектами стоп залежно від присутності родичів на прийомі в лікаря

Група спостереження	n	Перший візит		Другий візит (через 6 міс.)		Третій візит (через 12 міс.)	
		n	%	n	%	n	%
Прийшли з родичем	82	14	17,1	30	36,6	16	19,5
Прийшли самостійно	116	10	8,6	42	36,2	36	31,0
Всього	198						

Примітка: $p=0,173$ через 6 міс.; $p<0,05$ через 12 міс.; $p<0,05$ у динаміці між I та II візитом, між I та III візитом.

Оригінальні дослідження

ду. Попри звичайний негативізм в усіх хворих з усіх груп, саме турбота родичів позитивно впливає на результати лікування. Ретельний нагляд родичів за пацієнтами із СДС знижує ризик рецидиву СДС. Інакше кажучи, родичі, які мали інформацію про хворобу, усвідомлювали ризики неконтрольованого перебігу СДС, мали досвід щодо догляду за стопами та дотримували всіх лікувальних і профілактичних рекомендацій, що значно поліпшило прогноз для хворих.

Тривале та вартісне лікування хворих на ЦД 2-го типу (іноді препаратами без достатньої доказової бази) без істотного поліпшення призводить до зневіри хворих та зменшення комплаєнсу. Необхідним є подальше дослідження цієї проблеми для визначення оптимальних алгоритмів профілактики. Також окремо необхідно дослідити соціально-психологічні аспекти тривалого лікування пацієнтів із ЦД 2-го типу та його ускладненнями.

Висновки

1. Мешкання з родиною найліпше впливає на результати лікування хворих із СДС і зменшує ризик виникнення рецидивів завдяки тому, що родичі, які були присутні на прийомі в лікаря та чули його рекомендації, контролюють прийом препаратів, проводять огляд нижніх кінцівок і за появи перших симптомів негайно звертаються по допомогу.
2. Навіть часткова допомога близьких людей зменшує кількість ускладнень, проте не настільки ефективно, як у групі, де пацієнти перебувають під постійним контролем родичів.
3. У самотніх пацієнтів виявлено більше ускладнень і більший відсоток ампутацій нижніх кінцівок на різних рівнях.

Список використаної літератури

1. American Diabetes Association Foundations of care: Education, nutrition, physical activity, smoking cessation, psychosocial care, and immunization // *Diabetes Care*. — 2015. — Vol. 38. — P. 20-30.
2. American Diabetes Association Standards of medical care in diabetes — 2014 // *Diabetes Care*. — 2014. — Vol. 37, Suppl. 1. — P. 14-80.
3. Zulman D.M., Rosland A.M., Choi H. et al. The influence of diabetes psychosocial attributes and self-management practices on change in diabetes status // *Patient Educ. Cons.* — 2012. — Vol. 87. — P. 74-80.
4. Wild S.H., Hanley J., Lewis S.C. et al. Supported telemonitoring

and glycemic control in people with type 2 diabetes: The Telescot Diabetes Pragmatic Multicenter Randomized Controlled Trial // *PLoS Med.* — 2016. — Vol. 13. — A1002098.

5. Gershtater M.A., Londahl M., Nyberg P. et al. Complexity of factors related to outcome of neuropathic and neuroischaemic/ischaemic diabetic foot ulcers: a cohort study // *Diabetologia*. — 2009. — Vol. 52, N3. — P. 398-407.
6. Yazdanpanah L., Nasiri M., Adarvishi S. Literature review on the management of diabetic foot ulcer // *Wld J. Diabetes*. 2015. — Vol. 6, N1. — P. 37-53.
7. McEwen L.N., Ylitalo K.R., Herman W.H., Wrobel J.S. Prevalence and risk factors for diabetes-related foot complications in Translating Research Into Action for Diabetes (TRIAD) // *J. Diabetes and its Complications*. 2013. — Vol. 27, N6. — P. 588-592.
8. Yotsu R.R., Pham N.M., Oe M. et al. Comparison of characteristics and healing course of diabetic foot ulcers by etiological classification: neuropathic, ischemic, and neuro-ischemic type // *J. Diabetes and its Complications*. — 2014. — Vol. 28, N4. — P. 528-535.
9. Miller T.A., Dimatteo M.R. Importance of family/social support and impact on adherence to diabetic therapy // *Diabetes Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.* — 2013. — Vol. 6. — P. 421-426.
10. Wong-Rieger D., Rieger F.P. Health coaching in diabetes: Empowering patients to self-manage // *Can. J. Diabetes*. 2013. — Vol. 37. — P. 41-44.
11. IDF Clinical Practice Recommendations on the Diabetic Foot — 2017 // *Diabetes Res. Clin. Pract.* — 2017. — Vol. 127. — P. 285-287.

(Надійшла до редакції 27.06.2018 р.)

Социальные аспекты ведения пациентов с синдромом диабетической стопы

О.В. Марченко¹, М.Б. Горобейко¹, Т.Ю. Юзвенко¹, З.Г. Крушинская¹, Е.Я. Гирявенко²

¹ Украинский научно-практический центр эндокринной хирургии, трансплантации эндокринных органов и тканей МЗ Украины

² ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»

Резюме. Сегодня одним из наиболее социально значимых во всем мире осложнений сахарного диабета (СД) является синдром диабетической стопы (СДС). Почти у каждого шестого пациента с СД развивается это крайне опасное осложнение. Уход за такими больными сложен и требует многофакторного подхода как со стороны специалистов, так и в плане обучения пациентов и членов их семей. В современной литературе отсутствуют статистические данные о влиянии семьи и окружения на течение СДС. **Цель** — оценка влияния социального статуса больных с СДС (проживание с семьей, частичное нахождение под наблюдением родственников, одиночество) на течение болезни. **Материалы и методы.** Под наблюдением находились 198 больных СД 2-го типа (ЦД2). Возраст пациентов составлял от 39 до 76 лет. Больных распределили на три группы: проживающие с семьей; находящиеся под частичным наблюдением родственников; одинокие. В течение 12 месяцев изучали роль семьи в их лечении. Проведен двойной анализ — в зависимости от типа проживания и от того, с родственниками или самостоятельно пациенты посещали врача. **Результаты.** Через 6 и 12 месяцев у пациентов, проживающих с семьей, отмечено заметное уменьшение количества рецидивов

СДС. У одиноких в эти же сроки зафиксировано достоверное увеличение количества язвенных дефектов стоп. В группе «частичного ухода» уменьшение количества рецидивов СДС достигло статистической значимости только через 1 год. Также отмечено достоверное уменьшение частоты развития гнойно-некротических осложнений среди пациентов, которые посещали врача в сопровождении родственников. **Выводы.** Количество рецидивов СДС можно значительно уменьшить благодаря родственникам, удается минимизировать последствия и осложнения основного заболевания за счет контроля выполнения назначений и своевременного обращения к врачу — немедленно после возникновения первых проявлений ухудшения состояния.

Ключевые слова: сахарный диабет, синдром диабетической стопы.

Social aspects of management of patients with diabetic foot syndrome

O.V. Marchenko¹, M.B. Gorobeiko¹, T.Yu. Yuzvenko¹, Z.G. Krushynska¹, O.Ya. Giryavenko²

¹ Ukrainian Scientific and Practical Center of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine organs and tissues of the Ministry of Health of Ukraine

² State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Natl. Acad. Med. Sci. of Ukraine»

Abstract. Today, Syndrome of Diabetic foot (SDF) is one of the most socially significant complication of diabetes mellitus over the world. This extremely dangerous complication develops in 15-50% patient

with diabetes mellitus. Care for such patients is complex and requires a multifactor approach, both from the side of specialists, and training of patients and their family members. **Objective of study.** Our goal was to estimate the impact of social status among patients with diabetes complicated by SDF, who are living with family, partially under supervision or single, for their prescription fulfilment, duration of recovery period, relapse of the disease. **Materials and methods.** There were 198 patients with diabetes mellitus (DM with type 2 diabetes mellitus). The age of patients ranged from 39 to 76 years. The patients were divided into three groups: those who lived with the family, those who were partially under the supervision of relatives and lonely patients. The family role in the treatment of patients with DFS has been studied within 12 months. **Results.** After 12 months, patients living with their family the number of relapses is much less, those who were partially under the supervision of relatives, and by lonely patients. Consequently, the number of DFS relapses among the patients who lived with the family the number of relapses of DFS is significantly lower than patients who are partially under supervision or living alone. **Conclusions.** Living with family leads to the best and most influential affects the outcome of the treatment of SDF and reduce the risk of recurrence, because of control by the relatives the using of drugs, examination of lower extremities and for the first symptoms are being asked for help. Even the partial help of relatives reduces the number of complications, but not as effectively as in the group where patients are under constant control of relatives. There are more complications in single patients, and a higher percentage of lower limb amputations at different levels

Keywords: diabetes mellitus, diabetic foot syndrome.

В.П. Чижова

Роль чинників кардіоваскулярного ризику — ожиріння та дисліпідемії в розвитку предіабетичних порушень в осіб різного віку

ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України»

Резюме. Мета — вивчити зв'язок між такими чинниками ризику, як ожиріння та порушення толерантності до глюкози в осіб різного віку. **Матеріали та методи.** Обстежено 299 осіб різного віку. За ІМТ їх розподілили на групи — без ожиріння: 20-39 років — 43 особи, 40-59 років — 52 особи, 60 років і старше — 102 особи; з ожирінням: 40-59 років — 35 осіб, 60 років і старше — 67 осіб. Усім проведено стандартний глюкозотолерантний тест. Крім ІМТ, визначали обвід талії та стегон, індекс інсулінорезистентності (НОМА-ІР) і показники ліпідного спектра крові. **Результати та їх обговорення.** Показано, що з віком збільшується частота розвитку предіабетичних порушень. Комбіноване порушення толерантності до глюкози (ПТГ) відсутнє у віці 20-39 років, відзначається в 5,6% випадків у віці 40-59 і досягає 15,0% у людей віком 60 років і старше. У людей з ожирінням комбіноване ПТГ у середньому віці виявлено в 17,7% випадків, а у віці 60 років і старше — у 41,33%. За наявності комбінованого ПТГ відзначено більший НОМА-ІР ($p < 0,05$) порівняно з показниками людей як молодого та середнього віку, так і літніх, без ПТГ. У групі людей похилого віку з ПТГ порівняно з групою людей того самого віку без ПТГ також відзначено вірогідно більші показники глікемії, НОМА-ІР, ЗХС, ТГ, ХС ЛПНЩ і низький рівень ХС ЛПВЩ. **Висновки.** Виявлені зміни свідчать про атерогенну дисліпідемію, що асоціюється з наявністю інсулінорезистентності, ожиріння та ПТГ у людей похилого віку (виявлено в людей середнього віку та має більш виражений характер у людей, старших за 60 років), які можна віднести до провідних чинників кардіометаболічного ризику в осіб із предіабетом.

Ключові слова: інсулінорезистентність, предіабет, стандартний глюкозотолерантний тест, НОМА-ІР, дисліпідемія.

Багатьма дослідженнями показано тісний зв'язок між такими чинниками ризику, як надмірна маса тіла й ожиріння та наявністю по-

* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», вул. Вишгородська, 67, м. Київ, 04114, Україна. E-mail: vchizhova@ukr.net

© В.П. Чижова

рушень толерантності до глюкози [1, 2]. Стан порушеної толерантності до глюкози Експертний комітет із діагностики та класифікації цукрового діабету визначив як предіабет і відокремив у цю групу людей із рівнями глюкози, які не відповідають критеріям діабету, проте

перевищують нормативні показники. Ці особи мають як ізольоване порушення глікемії натще (ПГН), коли рівень глюкози в крові натще становить 6,1-6,9 ммоль/л, ізольоване порушення толерантності до глюкози (ПТГ), коли через 2 години стандартного глюкозотолерантного тесту (СГТТ) рівень глюкози становить 7,8-11,0 ммоль/л, або поєднання порушень. Такі порушення свідчать про відносно високий ризик розвитку цукрового діабету (ЦД) 2-го типу, поширеність якого в усьому світі зростає, і до 2030 року вона може сягати понад 470 мільйонів людей [3, 4]. Крім того, ПТГ є значущим чинником ризику серцево-судинних захворювань (ССЗ) [7]. Тому **метою** роботи стало визначення особливостей розвитку предіабету в осіб різного віку, з'ясування впливу деяких чинників ризику та їх зв'язок із предіабетом.

Матеріали та методи

Клінічне дослідження проведено відповідно до законодавства України та принципів Гельсінської Декларації з прав людини. Програму дослідження, інформацію для пацієнта та форму інформованої згоди на участь у дослідженні розглянуто й ухвалено на засіданні комісії з питань етики клінічного відділу ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України» (протокол № 9 від 11.06.2013). Своє добровільне рішення про участь у дослідженні пацієнт підтверджував підписом у формі інформованої згоди.

У процесі відбору здорових людей за допомогою клінічних та інструментальних методів виключали патологію серцево-судинної, дихальної, ендокринної та інших систем організму, які могли б вплинути на результати дослідження. Усього було відібрано та проведено комплексне обстеження 299 осіб різного віку.

Обстеження включало: антропометричні вимірювання; проведення стандартного орального глюкозотолерантного тесту (СГТТ); вивчення індексу інсулінорезистентності НОМА-IR; визначення показників ліпідного спектра крові.

Антропометричні вимірювання включали визначення маси тіла, зросту, індексу маси тіла (ІМТ), обводу талії (ОТ) та обводу стегон (ОС). Масу тіла визначали медичними вагами РП-150МГ із точністю до 0,1 кг в осіб у легкому

одязі без взуття. Зріст вимірювали з точністю до 0,5 см в осіб без взуття. ІМТ розраховували як відношення маси тіла до квадрату зросту ($\text{кг}/\text{м}^2$). Сантиметровою стрічкою ОТ вимірювали в обстежуваній особі в положенні стоячи без одягу на талії після звичайного видиху — посередині між задньою частиною бічної реберної дуги та гребенем клубової кістки (стандарт ВООЗ).

Глюкозу в сироватці крові визначали глюкозооксидазним методом на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі BTS-330, використовуючи реагенти «Глюкоза» набору Bio LATEST Lachema Diagnostica в лабораторії клініки ДУ «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України».

Для виявлення прихованих порушень вуглеводного обміну всім обстежуваним проводили СГТТ за методикою ВООЗ (WHO Consultation, 1999) та Американської діабетичної асоціації (American Diabetes Association — ADA, 1997) [8]. Тест проводили на тлі щонайменше 3-денної звичайної (лікарняної) дієти (вміст вуглеводів близько 250-300 г, але не менше від 150 г) і звичайної фізичної активності. Перше забирання венозної крові для визначення базальних рівнів глюкози, інсуліну та С-пептиду проводили вранці натще після 10-14 годин нічного голодування. Потім обстежуваний випивав 75 г глюкози, розчиненої у 250-300 мл води, протягом 2-5 хвилин. Після вживання глюкози забирали крові через 30, 60 і 120 хв, оскільки саме ці періоди найбільш показові для характеристики функціонального стану інсулярного апарату підшлункової залози. Під час проби та напередодні забороняли куріння тютюну та фізичні навантаження.

Відповідно до рекомендацій ADA (1997) толерантність до глюкози вважали нормальною, якщо рівень глюкози в плазмі венозної крові через 2 години після навантаження глюкозою був меншим від 7,8 ммоль/л. Якщо рівень глюкози натще був меншим від 7,0 ммоль/л, але через 2 години переходив у межі від 7,8 до 11,1 ммоль/л, цей стан класифікували як порушену толерантність до глюкози (ПТГ) незалежно від віку обстежених [3].

Дослідження крові з використанням імуноферментних методик проводили в лабораторії патофізіології та імунології ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН Украї-

Оригінальні дослідження

ни» (керівник — акад. НАМНУ Г.М. Бутенко, виконавець — д.мед.н. І.М. Пишель). Рівень інсуліну в плазмі крові визначали імуноферментним методом, використовуючи набір DRG Insulin ELISA (DRG Instruments GmbH, Німеччина). Для визначення інсулінорезистентності (ІР) використовували метод вираховування індексу інсулінорезистентності НОМА-ІР (Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance) за формулою [9]:

$$\text{НОМА-ІР} = (\text{глюкоза плазми натще, ммоль/л} \times \text{інсулін плазми натще, мкМО/мл}) / 22,5.$$

Для оцінки ліпідного обміну визначали рівні загального холестерину (ЗХС), холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ), низької (ХС ЛПНЩ) і дуже низької щільності (ХС ЛПДНЩ), тригліцеридів (ТГ) за стандартними біохімічними методиками в сироватці венозної крові натще на автоматичному біохімічному аналізаторі Autolab фірми Boehringer Mannheim із використанням реагентів компанії BIO SYSTEMS (Іспанія). Рівні ЗХС і ТГ визначали ферментативно-колориметричним методом, ХС ЛПВЩ — методом преципітації з фосфорно-вольфрамовою кислотою, а вміст ХС ЛПНЩ розраховували за формулою Фрідвальда: $\text{ХС ЛПНЩ} = \text{ЗХС} - (\text{ХС ЛПВЩ} + \text{ТГ} / 2,2)$ (ммоль/л) [13]. Рівні ліпідів у сироватці крові оцінювали, ґрунтуючись на рекомендаціях NCEP ATP III (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, Третій звіт групи експертів із виявлення, оцінки й лікування гіперхолестеринемії в дорослих у рамках Національної освітньої програми США з холестерину) [10].

Крім розрахунку класичного «холестеринового коефіцієнта атерогенності» А.Н. Климова (відношення різниці між ЗХС і ХС ЛПВЩ до ХС ЛПНЩ), визначали індекс атерогенності як співвідношення ЗХС до ХС ЛПВЩ [11, 12].

Таблиця 1. Частота предіабету в осіб без ожиріння різного віку

Групи обстежених	20-39 років (28,4±0,9) (I) n=43		40-59 років (50,6±0,7) (II) n=52		60 років і старше (68,7±0,7) (III) n=102		Вірогідність
	n	%	n	%	n	%	
Без порушень СГТТ	35	81,4	35	67,3	53	52,0	$\chi^2=2,41, p_{I-II}>0,05$ $\chi^2=2,45, p_{II-III}>0,05$ $\chi^2=9,5, p_{I-III}<0,01$
Предіабет	8	18,6	17	32,7	49	48,0	$\chi^2=2,41, p_{I-II}>0,05$ $\chi^2=3,31, p_{II-III}>0,05$ $\chi^2=11,00, p_{I-III}<0,01$

Аби визначити наявність ризику розвитку серцево-судинних захворювань, розраховували індекс Каstellі як співвідношення ТГ/ХС ЛПВЩ і співвідношення ЗХС/ХС ЛПВЩ>3, що також корелює з розвитком гострих коронарних ускладнень [14].

З огляду на те, що показники мали наближений до нормального розподіл, дані наведено у форматі $M \pm m$. Статистичну обробку результатів виконано за допомогою програми Statistica 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, США). Вірогідність різниці між групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Різницю вважали значущою за $p < 0,05$. Для порівняння частоти якісних показників застосовували критерій χ^2 Пірсона для таблиць сполученості з поправкою Йейтса.

Результати та їх обговорення

З урахуванням ІМТ обстежених розподілили на 5 груп: практично здорові особи різного віку з ІМТ<30 кг/м² молодого (20-39 років), середнього (40-59 років) і похилого віку (60-74 роки) та осіб середнього та похилого віку з ІМТ>30 кг/м². ІМТ>30 кг/м² вважали ознакою загального ожиріння [5]. Показники ОТ у чоловіків понад 102 см, а у жінок понад 88 см розглядали як ознаки вісцерального ожиріння [6].

За результатами СГТТ в осіб з ІМТ<30 кг/м² виявлено, що з віком збільшується частота предіабетичних порушень вуглеводного обміну, яка досягає 48% в осіб похилого віку ($p < 0,01$; **табл. 1**).

За наявності ожиріння частота предіабетичних порушень вуглеводного обміну зростала на 15,9% в осіб середнього віку та досягала максимуму в осіб похилого віку — на 20,4% ($p < 0,05$; **табл. 2**).

З метою визначення структури предіабетичних порушень вуглеводного обміну за 100% брали всі предіабетичні порушення окремо в кожній групі обстежених (молодий, середній, літній вік), що відображено в **таблиці 3**.

У віковій групі 20-39 років серед 8 з 43 обстежених із предіабетичними порушеннями без ожиріння в 5 (62,5%) осіб виявлено підвищену глікемію натще (ПГН, 6,1-6,9 ммоль/л), у 3 (37,5%) — ізольоване ПТГ, але не виявлено випадків поєднання ПГН і ПТГ.

У середньому віці (40-59 років) предіабетич-

Таблиця 2. Частота предіабету в осіб з ожирінням різного віку

Групи обстежених	(I) 40-59 років (50,6±1,0) n=35		(II) 60 років і старше (68,0±0,7) n=67		Вірогідність
	n	%	n	%	
	Без порушень СГТТ	18	51,4	21	
Предіабет	17	48,6	46	68,6	$\chi^2=3,93$, $p_{II-I}<0,05$

Таблиця 3. Структура предіабетичних порушень вуглеводного обміну за результатами СГТТ в осіб без ожиріння залежно від віку

Групи обстежених	(I) 20-39 років (28,0±2,0) n=8		(II) 40-59 років (48,8±1,5) n=17		(III) 60 років і старше (68,8±0,8) n=49		Вірогідність
	n	%	n	%	n	%	
	3 предіабетом:	8	100	17	100	49	
- з ПГН	5	62,5	12	70,6	22	44,9	$\chi^2=2,1$, $p_{II-I}>0,05$ $\chi^2=0,05$, $p_{III-II}>0,05$ $\chi^2=2,0$, $p_{III-I}>0,05$
- з ПТГ	3	37,5	2	11,8	12	24,5	$\chi^2=0,46$, $p_{II-I}>0,05$ $\chi^2=2,61$, $p_{III-II}>0,05$ $\chi^2=0,74$, $p_{III-I}>0,05$
- з ПГН і ПТГ	0	0	3	17,6	15	30,6	$\chi^2=2,56$, $p_{II-I}>0,05$ $\chi^2=2,66$, $p_{III-II}>0,05$ $\chi^2=7,05$, $p_{III-I}<0,05$

ні порушення за відсутності критеріїв ожиріння діагностовано у 17 (32,7%) з 52 обстежених, структура цих порушень була такою: ПГН виявлено у 12 (70,6%), ізольоване ПТГ — у 2 (11,8%), поєднання ПГН і ПТГ — у 3 (17,6%) осіб.

В осіб віком 60 років і більше предіабетичні порушення вуглеводного обміну без ожиріння визначено в 49 (48,0%) зі 102 обстежених, у тому числі 22 (44,9%) особи мали ПГН, 12 (24,5%) — ізольоване ПТГ і 15 (30,6%) — поєднання ПГН і ПТГ. Отже, в обстежених без ожиріння в структурі предіабетичних порушень вуглеводного обміну превалює поєднання ПГН і ПТГ у групі осіб віком 60 років і старше ($p<0,05$).

Що стосується осіб, які мали ожиріння (**табл. 4**), то в них теж зафіксовано зростання з віком частоти предіабетичних порушень вуглеводного обміну (48,6% у групі 40-59 років порівняно з 68,6% у групі 60 років і старше, $p<0,05$). З іншого боку, відсоток осіб з ожирінням без предіабетичних порушень був значуще меншим у старшій віковій групі.

У структурі предіабетичних порушень вуглеводного обміну, як свідчать дані **табл. 4**, у хворих з ожирінням простежувалася тенденція до зменшення з віком частоти ПГН і зростання частоти ізольованого ПТГ ($p>0,05$), водночас спостерігалася значуще збільшення частоти поєднання ПГН і ПТГ в осіб віком 60 років і старше ($p<0,05$).

Порівнюючи структуру предіабетичних порушень в осіб без ожиріння та з ожирінням (**табл. 5**), можна констатувати, що у віці 40-59 років в осіб без ожиріння випадки ПГН ста-

Таблиця 4. Структура предіабетичних порушень вуглеводного обміну за результатами СГТТ в осіб з ожирінням залежно від віку

Групи обстежених з ІМТ>30 кг/м ²	(I) 40-59 років (51,3±1,5) n=17		(II) 60 років і старше (68,2±0,9) n=46		Вірогідність
	n	%	n	%	
	3 предіабетом:	17	100	46	
- з ПГН	9	52,9	12	26,1	$\chi^2=0,86$, $p_{II-I}>0,05$
- з ПТГ	5	29,4	15	32,6	$\chi^2=0,96$, $p_{II-I}>0,05$
- з ПГН і ПТГ	3	17,7	19	41,3	$\chi^2=5,32$, $p_{II-I}<0,05$

Оригінальні дослідження

новили 70,6%, а у хворих з ожирінням — 52,9% ($p>0,05$). Частота ізольованої ПТГ становила відповідно 11,8% і 29,4% ($p>0,05$), а поєднання ПГН і ПТГ — 17,6% і 17,7% ($p>0,05$). У віковій групі 60 років і старше в структурі предіабетичних порушень був більшим відсоток осіб з ізольованим ПТГ (24,5% і 32,6% за ожиріння, $p>0,05$) та поєднанням порушень (30,6% і 41,3% за ожиріння, $p>0,05$). Отже, з віком та за наявності загального ожиріння виявлено більш виражене зростання частоти поєднання ПГН і ПТГ в осіб віком 60 років і старше ($p<0,05$).

Часто загальне ожиріння асоціюється з ознаками вісцерального ожиріння. Тому було проаналізовано отримані в ході дослідження показники антропометричних вимірювань.

Так, у практично здорових обстежених та осіб із предіабетичними порушеннями з ІМТ <30 кг/м² із віком значуще зростали індекс маси тіла, обвід талії, обвід стегон і співвідношення ОТ/ОС (табл. 6). У практично

Таблиця 5. Порівняння структури предіабетичних порушень вуглеводного обміну в осіб без ожиріння та з ожирінням залежно від віку

Групи обстежених	(I) 48,8±1,5 р.		(II) 50,6±1,0 р.		(III) 68,8±0,8 р.		(IV) 68,0±0,7 р.		Вірогідність
	ІМТ <30 кг/м ²		ІМТ >30 кг/м ²		ІМТ <30 кг/м ²		ІМТ >30 кг/м ²		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
ПГН	12	70,6	9	52,9	22	44,9	12	26,1	$\chi^2=1,12$, $p_{I-II}>0,05$ $\chi^2=3,65$, $p_{III-IV}>0,05$ $\chi^2=3,33$, $p_{III-I}>0,05$ $\chi^2=4,03$, $p_{II-IV}>0,05$
ПТГ	2	11,8	5	29,4	12	24,5	15	32,6	$\chi^2=1,62$, $p_{I-II}>0,05$ $\chi^2=0,77$, $p_{III-IV}>0,05$ $\chi^2=1,22$, $p_{III-I}>0,05$ $\chi^2=0,06$, $p_{II-IV}>0,05$
ПГН+ ПТГ	3	17,6	3	17,7	15	30,6	19	41,3	$\chi^2=0,01$, $p_{I-II}>0,05$ $\chi^2=1,18$, $p_{III-IV}>0,05$ $\chi^2=1,07$, $p_{III-I}>0,05$ $\chi^2=5,03$, $p_{II-IV}<0,05$

здорових обстежених середнього та похилого віку ІМТ свідчив про надмірну масу тіла (25-29,9 кг/м²), але вони не мали загального ожиріння. Показники ОТ і співвідношення ОТ/ОС (менше від 0,85) свідчать про відсутність абдомінального типу ожиріння, що підтверджує правильність відбору та формування груп практично здорових людей молодого, середнього та похилого віку.

За результатами зіставлення даних таблиць 6 і 7 виявлено більші показники ІМТ, ОТ, ОС і співвідношення ОТ/ОС у групі осіб середнього віку з ІМТ >30 кг/м² навіть без порушень вуглеводного обміну, але за наявності предіабетичних порушень ця тенденція була більш помітною. Ознаки вісцерального ожиріння в групі осіб з ожирінням були більше вираженими в осіб середнього віку порівняно з особами без ожиріння, навіть за відсутності предіабетичних порушень.

В осіб віком 60 років і старше з ожирінням також більшими були показники як абдомінального (вісцерального), так і загального ожиріння порівняно як із групами практично здорових осіб молодого та середнього віку, так і з групами з предіабетом без ожиріння ($p<0,05$).

Така динаміка виявлених змін дозволяє припустити, що в осіб середнього віку з ожирінням однією з причин розвитку предіабету може бути наявність надмірної маси тіла, а в осіб старшої вікової групи (60 років і старше) без ожиріння — вікових змін.

Відомо, що надмірна маса тіла та ожиріння асоціюються не лише з порушенням толерантності до глюкози, а й з високим ризиком розвитку атеросклерозу та дисліпідемії. Поруч із цим, одним із найважливіших чинників прогресування ожиріння та розвитку ЦД2 є ІР, яка, у свою чергу, призводить до збільшення вмісту та окислювання вільних жирних кислот. Через цикл «глюкоза — жирні кислоти» це зумовлює порушення метаболізму глюкози та її утилізації. У свою чергу, циркулюючі вільні жирні кислоти, конкуруючи за субстрат, можуть збільшувати продукцію глюкози печінкою та порушувати поглинання глюкози периферичними тканинами, що також підсилює прояви ІР.

В усіх обстежених було визначено індекс НОМА-ІР, після чого перерозподілено їх на групи залежно від ІМТ, індексу НОМА-ІР і віку. Після такого перерозподілу в усіх обстежених

Таблиця 6. Антропометричні показники в здорових людей і осіб із предіабетичними порушеннями без ожиріння

Показник	Практично здорові особи			Особі з предіабетичними порушеннями без ожиріння			
	без порушень вуглеводного обміну			ПГН	ПТГ		ПГН+ПТГ
	20-39 років (n=35)	40-59 років (n=35)	≥60 років (n=53)	40-59 років (n=12)	≥60 років (n=15)	≥60 років (n=13)	≥60 років (n=14)
Вік, роки	27,9±1,1	50,7±1,1	68,6±0,9	49,7±1,9	67,5±1,1	68,9±1,8	67,8±1,8***αα
ОТ, см	76,3±1,9	85,2±2,2**	88,5±1,5**	88,2±2,7*	91,1±2,7***§	88,1±2,5**	90,2±3,0**
ОС, см	93,4±1,6	100,8±1,5**	102,5±1,1**	100,4±9,6	102,7±2,5**	98,9±2,2	105,7±1,9**
ОТ/ОС	0,8±0,01	0,80±0,01	0,90±0,01**	0,9±0,7	0,9±0,1**	0,9±0,01**	0,9±0,01**
ІМТ, кг/м ²	22,5±0,5	26,0±0,7**	26,5±0,5**	26,4±1,0**	27,0±0,9**	26,1±0,7*	26,7±0,5**

Примітка: вірогідна різниця з показником: осіб 20-39 років без порушень вуглеводного обміну (* — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$); осіб 40-59 років без порушень вуглеводного обміну (* — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$); осіб 60 років і старше без порушень вуглеводного обміну (§ — $p < 0,05$, §§ — $p < 0,01$); осіб 40-59 років із ПГН (α — $p < 0,05$; αα — $p < 0,01$); осіб 60 років і старше з ПГН (∧ — $p < 0,05$; ∨ — $p < 0,01$); осіб 60 років і старше з ПТГ (∫ — $p < 0,05$; ∫∫ — $p < 0,01$).

Таблиця 7. Антропометричні показники в осіб з ожирінням середнього та літнього віку з різним станом вуглеводного обміну

Показник	Особі з ожирінням					
	без порушень вуглеводного обміну		ПГН		ПТГ	ПГН+ПТГ
	40-59 років (n=30)	≥60 років (n=31)	40-59 років (n=13)	≥60 років (n=17)	≥60 років (n=15)	≥60 років (n=21)
Вік, роки	50,6±0,9	67,0±0,8**	48,7±1,7	68,5±1,9***§	68,3±1,5***§	68,8±1,3***§
ОТ, см	99,5±1,8	106,6±2,0**	107,0±4,4*	103,3±2,3	98,3±2,5§	103,5±2,6§∧
Обвід стегон (ОС), см	112,2±1,9	115,3±1,8	119,0±3,5	113,0±2,0	110,7±0,9	115,7±2,1
ОТ/ОС	0,9±0,01	0,9±0,01	0,9±0,01	0,9±0,01	0,9±0,01	0,9±0,01
Індекс маси тіла, кг/м ²	32,5±0,7	34,2±0,8	36,1±1,7	32,3±1,1	33,0±1,6	33,0±1,3§

Примітка: вірогідна різниця з показником: осіб 20-39 років без порушень вуглеводного обміну (* — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$); осіб 60 років і старше без порушень вуглеводного обміну (§ — $p < 0,05$; §§ — $p < 0,01$); осіб 40-59 років із ПГН (∫ — $p < 0,05$; ∫∫ — $p < 0,01$); осіб 60 років і старше з ПГН (α — $p < 0,05$; αα — $p < 0,01$); осіб 60 років і старше з ПТГ (∧ — $p < 0,05$; ∨ — $p < 0,01$).

оцінювали показники ліпідного спектра крові.

У більшості практично здорових обстежених спостерігалися нормальні та на межі з високими (4,66-6,19 ммоль/л) рівні ЗХС [15, 16]. Характерно, що серед людей середнього віку з ІР і предіабетичними порушеннями без ожиріння частка осіб із високим рівнем ЗХС вища, ніж серед людей похилого віку ($p < 0,05$).

Як видно з **рисунка**, у групі молодих людей переважали особи зі зниженим рівнем ЗХС ($\leq 4,65$ ммоль/л 43% — 15 осіб із 35), серед осіб середнього та літнього віку більшість мали нормальні та на межі з високими (4,66-6,19 ммоль/л) рівні ЗХС (у середньому віці — 43% — 15 осіб із 35, у літньому — 40% — 21 із 53 осіб).

В осіб похилого віку на тлі ІР і предіабетичних порушень без ожиріння рівень ЗХС у межах 4,66-6,19 ммоль/л виявлено в 54% випадків, на тлі ожиріння в більшості осіб рівень ЗХС становив $\geq 6,2$ ммоль/л. Проте серед осіб середнього та літнього віку з ІР без ожиріння вірогідно меншою була частка осіб із рівнем ЗХС у межах 4,66-6,19 ммоль. В обстежених з ожирінням се-

реднього та літнього віку більшою була частка осіб із більшими показниками ЗХС порівняно з практично здоровими особами молодого віку ($p < 0,05$) та особами без ожиріння.

Підвищений рівень ТГ ($> 1,7$ ммоль/л) не виявлено в жодній особі молодого та середнього віку, що становили групи практично здорових осіб. Серед осіб похилого віку в 11 з 53 (20,8%) виявлено підвищений рівень ТГ.

Підвищені рівні ТГ відзначено (**табл. 8 і 9**) в осіб з ознаками ожиріння та ІР середнього та похилого віку ($p < 0,05$), причому максимальні значення зафіксовано в групі осіб середнього віку з ожирінням та ІР ($p < 0,05$). Це знову дозволяє припуститися думки, що ожиріння та ІР із наявністю предіабету можуть розглядатися як чинники прискореного старіння в осіб середнього віку. Також із **рисунка** можна побачити, що особи з ІР та предіабетичними порушеннями середнього віку як без ожиріння, так і з ожирінням мають односпрямований характер змін у бік зростання частки осіб із високими рівнями ЗХС, що теж можна розглядати як підтвердження нашого припущення.

Оригінальні дослідження

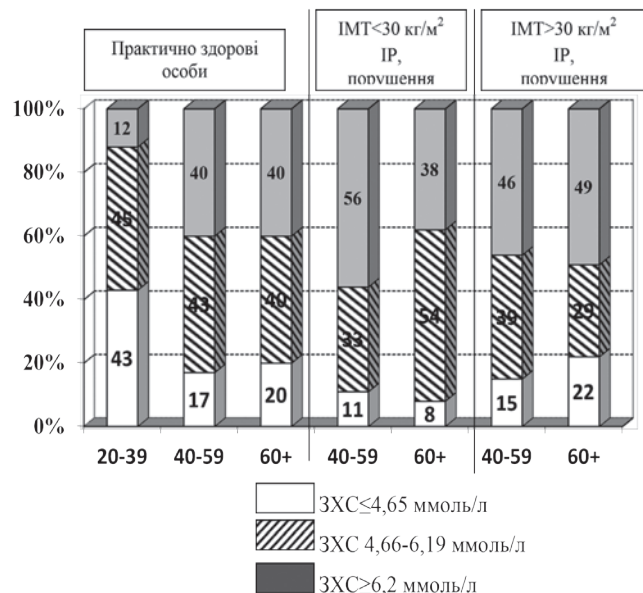


Рис. Частота виявлення різних концентрацій ЗХС в осіб різного віку.

Доведеним фактом є те, що підвищена концентрація ТГ асоціюється зі зниженою концентрацією ХС ЛПВЩ [16]. Також показники ХС ЛПВЩ і ТГ є чинниками (критеріями) розвитку метаболічного синдрому (МС), що розглядаються окремо в жінок і чоловіків (знижена концентрація <1,03 ммоль/л у чоловіків і <1,29 ммоль/л у жінок). Як показано в таблицях 8 і 9, показник ХС ЛПВЩ був вірогідно меншим в осіб середнього віку з ознаками ожиріння, та ця тенденція притаманна також і особам 60 років і старше.

Таблиця 8. Показники ліпідного профілю в обстежених молодого та середнього віку залежно від НОМА-ІР

Показники	Групи 20-39 років (практично здорові) (n=35)	40-59 років					
		ІМТ<30 кг/м²			ІМТ>30 кг/м²		
		без ІР	з ІР	з ІР	без ІР	з ІР	з ІР
		без передіабету (практично здорові) (n=35)	із передіабетом (n=8)	із передіабетом (n=9)	без передіабету (n=12)	без передіабету (n=18)	із передіабетом (n=13)
ЗХС, ммоль/л	4,7±0,2	5,7±0,2**	5,7±0,5	7,2±1,2 [#]	6,7±0,4	5,6±0,2	6,0±0,4
ЛПНЩ, ммоль/л	2,8±0,2	3,8±0,2**	3,7±0,4	3,7±0,4	4,5±0,4	3,4±0,2	3,7±0,3
ЛПВЩ, ммоль/л	1,5±0,1	1,6±0,1	1,3±0,1	1,9±0,5	1,3±0,1	1,3±0,1 [#]	1,3±0,1
ТГ, ммоль/л	0,8±0,1	1,2±0,1**	1,3±0,2	1,4±0,2	1,9±0,3 [#]	2,0±0,3 [#]	2,2±0,4 ^{##}
Коефіцієнт атерогенності	2,4±0,2	3,1±0,2*	3,5±0,5	3,5±0,2	4,4±0,5 ^{##}	3,6±0,3	3,8±0,3 [#]
Індекс Castelli (ЗХС/ХС ЛПВЩ)	3,1±0,1	3,8±0,2**	4,4±0,6	4,3±0,3	5,4±0,5 ^{##}	4,6±0,3 [#]	4,8±0,3 [#]
Індекс Boizel (ТГ/ХС ЛПВЩ)	0,5±0,1	0,8±0,1*	1,1±0,2	1,0±0,2	1,6±0,3 ^{##}	1,7±0,3 ^{##}	1,8±0,4 [#]

Примітка: вірогідна різниця з показником практично здорових осіб 20-39 років: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$; вірогідна різниця з показником практично здорових осіб 40-59 років: [#] — $p < 0,05$, ^{##} — $p < 0,01$.

В осіб з ІР і предіабетом вже в середньому віці виявлено поєднання підвищених концентрацій ТГ і знижених концентрацій ХС ЛПВЩ.

Можна думати, що не лише поєднання порушень ліпідного обміну, а й кожен компонент окремо відіграють важливу роль у розвитку патологічного каскаду в осіб із предіабетом та ІР. Ці зміни ліпідного профілю дозволяють висловити думку, що особи середнього віку мають односпрямовані зсуви з особами похилого віку та, імовірно за все, різні чинники впливають на розвиток предіабету в різному віці.

Також було оцінено показники, що відображають кардіоваскулярний ризик, з урахуванням концентрації в сироватці крові ТГ, ЗХС і ХС ЛПВЩ – кардіоваскулярний індекс Castelli (ЗХС/ХС ЛПВЩ) та індекс, описаний Boizel et al. (ТГ/ХС ЛПВЩ).

Аналіз даних, наведених у таблицях 8 і 9, показує, що з віком ці показники збільшуються, проте лишаються в межах нормативних значень. На тлі ІР та предіабетичних порушень в осіб середнього віку без ожиріння показники кардіоваскулярних індексів зростають удвічі порівняно з особами молодого віку ($p < 0,05$). На тлі ожиріння зростання цих індексів набуває ще більш вираженого характеру, максимальні значення відзначено в осіб середнього віку ($p < 0,05$) з ознаками ожиріння. У цих осіб, як було зазначено вище, простежується віро-

Таблиця 9. Показники ліпідного профілю в обстежених віком 60 років і старше залежно від HOMA-IR

Показники	Групи 60 років і старше							
	IMT < 30 кг/м ²				IMT > 30 кг/м ²			
	без IP		з IP		без IP		з IP	
	без предіабету (практично здорові) (n=53)	із пре-діабетом (n=26)	без пре-діабету (n=12)	із пре-діабетом (n=13)	без пре-діабету (n=17)	із пре-діабетом (n=25)	без пре-діабету (n=14)	із пре-діабетом (n=31)
ЗХС, ммоль/л	5,8±0,2	5,8±0,2	6,4±0,5	6,0±0,2	5,6±0,2	6,2±0,2	5,4±0,4	5,8±0,3
ЛПНЩ, ммоль/л	3,5±0,2	3,7±0,2	4,3±0,5	4,0±0,2	3,7±0,2	3,9±0,2	3,3±0,3	3,6±0,2
ЛПВЩ, ммоль/л	1,6±0,1	1,4±0,1	1,5±0,1	1,4±0,1	1,2±0,1	1,3±0,1	1,4±0,1	1,3±0,1
ТГ, ммоль/л	1,5±0,2	1,6±0,1	1,4±0,1	1,5±0,1	1,6±0,2	2,3±0,2	1,6±0,1	1,9±0,1
Коефіцієнт атерогенності	3,0±0,2	3,2±0,2	3,0±0,3	3,6±0,3	3,8±0,2	3,8±0,2	3,0±0,4	3,3±0,2
Індекс Castelli (ЗХС/ХС ЛПВЩ)	3,9±0,2	4,3±0,2	4,4±0,4	4,6±0,3	4,8±0,2	4,8±0,2	4,0±0,4	4,4±0,2
Індекс Voizel (ТГ/ХС ЛПВЩ)	1,0±0,1	1,2±0,1	0,9±0,1	1,1±0,1	1,4±0,2	1,8±0,2	1,2±0,1	1,5±0,2

Примітка: вірогідна різниця з показником практично здорових осіб 60 років і старше: * — $p < 0,05$; вірогідна різниця між підгрупами з IP: # — $p < 0,05$.

гідне зростання рівнів ЗХС, ТГ, ХС ЛПНЩ, індексу атерогенності та зниження показника ХС ЛПВЩ, що в цілому свідчить про атерогенну спрямованість змін ліпідного обміну. Це дозволяє стверджувати, що такий тип дисліпопротеїнемії є патоморфологічним субстратом розвитку ССЗ, ішемічної хвороби серця та їх ускладнень.

Висновки

- З віком частота предіабетичних порушень вуглеводного обміну зростає в 2,5 раза, надто за наявності ожиріння (додатково ще в 1,4 раза). У структурі предіабетичних порушень у молодому та середньому віці превалює ізольоване порушення глікемії натще, тоді як серед людей літнього віку зростає відсоток осіб з ізольованим порушенням толерантності до глюкози та з поєднанням порушених глікемії натще та толерантності до глюкози. Отже, після 60 років зростає не лише частота виявлення предіабету, а й тяжчих предіабетичних порушень як в осіб з ожирінням, так і за його відсутності.
- У середньому та літньому віці за наявності IP зростає частка осіб із високим рівнем ЗХС ($p < 0,05$). На тлі ожиріння відзначено вірогідне зростання показників ЗХС, ТГ, ХС ЛПНЩ, індексу атерогенності та зниження ХС ЛПВЩ, що відображають кардіоваскулярний ризик.

- Зміни ліпідного спектра крові асоціюються з наявністю IP та ожиріння. Отримані дані дають підстави стверджувати, що інсулінорезистентність, ожиріння та порушення вуглеводного обміну є взаємопов'язаними чинниками розвитку порушень ліпідного спектра крові в людей літнього віку.

Список використаної літератури

- Rivers K, Hanna-Mahase C, Frankson M, Smith F, Peter S. Association between obesity and impaired glucose tolerance in new providence adolescents as demonstrated by the HbA1c test. *Wes Indian Med J.* 2013; 62(8):705-10.
- Aldossari KK, Aldiab A, Al-Zahrani JM, Al-Ghamdi SH, Abdelrazik M, Batais MA, Javad S, et al. Prevalence of prediabetes, diabetes, and its associated risk factors among males in Saudi Arabia: a population-based survey. *J Diabetes Res.* 2018; Article ID2194604,12 p.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2011;34(Suppl 1):62-9.
- Gossain VV, Aldasouqi S. The challenge of undiagnosed prediabetes, diabetes and associated cardiovascular disease. *Intern J Diabetes Mellitus.* 2010;2(1):43-6.
- World Health Organization. Waist circumference and waist-hip ratio report of a WHO expert consultation Geneva, 8-11 December 2008.
- American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care.* 2016;39(Suppl 1):13-22.
- King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes 1995-2025. Prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care.* 1998;21:1414-31.
- Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J.* 2007;28(1):88-136.
- Vogesser M, König D, Frey I, Predel HG, Parhofer KG, Berg A. Fasting serum insulin and the homeostasis model of insulin resistance (HOMA-IR) in the monitoring of lifestyle interventions in obese person. *Clin Biochem.* 2007;40(13-14):964-8.
- Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of

Оригінальні дослідження

- high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002 Decemb;106(25).
11. Климов АН. Причины и условия развития атеросклероза. Превентивная кардиология. Под ред. ГИ Косицкого. Москва: Медицина, 1977; 260-321. (Klimov AN. Causes and conditions for the development of atherosclerosis. *Preventivnaya kardiologiya*. Pod red. GI Kositskogo. Moskva: Meditsina, 1977; 260-321).
 12. Климов АН, Никульчева НГ. Обмен липидов и липопротеинов и его нарушения. СПб: Питер Ком, 1999;512 с. (Klimov AN, Nikul'cheva NG. Metabolism of lipids and lipoproteins and its disorders. St. Petersburg: Piter Kom, 1999;512 p.)
 13. Friedewald WT, Kevy IR, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18:499-502.
 14. Baez-Duarte BG, Sánchez-Guillén M del C, Pérez-Fuentes R, Zamora-Gínez I, Leon-Chavez BA, Revilla-Monsalve C, Islas-Andrade S. β -cell function is associated with metabolic syndrome in Mexican subjects. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2010;3:301-9.
 15. Iribarren C, Reed DM, Burchfiel CM, Dwyer JH. Serum total cholesterol and mortality. Confounding factors and risk, modification in Japanese-American men. *JAMA*. 1995 Jun;273(24):1926-32.
 16. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Cokkinos DV. Pathophysiology of dyslipidaemia in the metabolic syndrome. *Postgrad Med J*. 2005;81:358-66.

(Надійшла до редакції 28.06.2018 р.)

Роль факторов кардиометаболического риска — ожирения и дислипидемии в развитии предиабетических нарушений у лиц разного возраста

В.П. Чижова

ГУ «Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины»

Резюме. Цель — изучить связь между такими факторами риска, как ожирение и нарушение толерантности к глюкозе, у лиц разного возраста. **Материалы и методы.** Обследованы 299 человек разного возраста. По ИМТ их распределили на группы — без ожирения: 20-39 лет — 43 человека, 40-59 лет — 52 человека, 60 лет и старше — 102 человека; с ожирением: 40-59 лет — 35 человек, 60 лет и старше — 67 человек. Всем проведен стандартный глюкозотолерантный тест. Кроме ИМТ? определяли окружности талии и бедер, индекс инсулинорезистентности (НОМА-IR) и показатели липидного спектра крови. **Результаты.** Показано, что с возрастом увеличивается частота предиабетических изменений. Комбинированное нарушение толерантности к глюкозе (НТГ) отсутствует в возрасте 20-39 лет, отмечается в 5,6% случаев в возрасте 40-59 и достигает 15,0% в возрасте 60 лет и старше. У людей с ожирением комбинированное НТГ в среднем возрасте встречается в 17,7% случаев, а в возрасте 60 лет и старше возрастает до 41,33%. При комбинированном НТГ отмечен больший НОМА-IR ($p < 0,05$) по сравнению как с людьми молодого и среднего возраста, так и с людьми в возрасте 60 лет и старше без нарушений толерантности к глюкозе. В группе людей пожилого возраста с НТГ по сравнению с группой людей того же возраста без НТГ также отмечены достоверно большие показатели гликемии, НОМА-IR, ОХС, ТГ, ХС ЛПНП и низкий уровень ХС ЛПВП. **Вы-**

воды. Выявленные изменения свидетельствуют об атерогенной дислипидемии, которая ассоциируется с наличием инсулинорезистентности, ожирения и НТГ у людей пожилого возраста (выявлена у людей среднего возраста и носит более выраженный характер у людей старше 60 лет), которые могут рассматриваться одними из ведущих причин кардиометаболического риска.

Ключевые слова: инсулинорезистентность, предиабет, стандартный глюкозотолерантный тест, НОМА-IR, дислипидемия.

The role of factors of cardiometabolic risk — obesity and dyslipidemia in the development of pre-diabetic disorders in people of different ages

V.P. Chyzhova

«D.F. Chebotarev Institute of Gerontology National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Abstract. Purpose. Study the relationship between risk factors such as obesity and impaired glucose tolerance in people of different ages. **Materials and methods.** Were examined 299 people of different ages. According to the BMI they were divided into groups of people without obesity: 20-39 years old — 43 people, 40-59 years — 52 people and 102 people at the age of 60 years and with obesity — at the age of 40-59 years — 35 and 67 people in aged 60 and over. A standard glucose-tolerant test was conducted for all subjects. In addition to the definition of BMI, waist and hip sizes, insulin resistance index (HOMA-IR) and were determined lipid blood spectrum too. **Results.** In this work it is shown that with the age the frequency of development of pre-diabetic disorders increases. The incidence of pre-diabetic changes increases with age: an increase of impaired fasting glucose (IFG) 11.6% of people aged 20-39, 23% in people aged 40-59 and increases at the age of 60 and older than 22.0% in humans without obesity; a combined disorder of glucose tolerance is absent in the age group of 20-39 years, it is noted in 5.6% at the age of 40-59 and reaches 15.0% in people 60 years of age and older. In people with obesity, a combined impairment of middle-aged glucose tolerance occurs in 17.7% of the subjects, and at the age of 60 and older it increases to 41.33%. HOMA-IR ($p < 0.05$) has a higher level of glucose tolerance in comparison with both young and middle-aged people and people over the age of 60 years and older without impairment of glucose tolerance. In the elderly group with NTG, a higher level of glucose, HOMA-IR, total cholesterol levels, triglycerides, LDL cholesterol and low LDL cholesterol. **Conclusion.** These changes suggest that there is an atherogenic dyslipidemia, which is associated with insulin resistance, obesity and impaired glucose tolerance in older people (found in people of middle age and more pronounced in people over the age of 60), which may be considered as one of the leading causes of cardiometabolic risk.

Keywords: insulin resistance, pre-diabetic states, standard glucose tolerant test, HOMA-IR, dyslipidemia.

Вплив продукту з чорниці на метаболічний профіль у хворих на цукровий діабет 2-го типу

М.С. Романенко^{1,2},
Ю.В. Гавалко¹,
Л.Л. Синьок¹,
І.М. Шаповал¹,
І.А. Коруля²

¹ ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України»

² Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика

Резюме. Мета — оцінити вплив чорничної пасту Liqberry на метаболічний профіль у людей середнього віку з метаболічним синдромом (МС) і цукровим діабетом 2-го типу (ЦД2). **Матеріали та методи.** Обстежено 35 хворих із МС і ЦД2 (25 жінок і 10 чоловіків) віком 45-59 років. Пацієнти основної групи (17 осіб) додатково до цукрознижувальних препаратів отримували чорничну пасту (Liqberry, Україна) у дозі 0,5 г/кг маси тіла на добу протягом трьох місяців. Хворі контрольної групи (18 осіб) продовжували приймання лише раніше призначених препаратів. Вивчали антропометричні характеристики, показники складу тіла, ліпідного та вуглеводного обміну. **Результати.** На тлі вживання пасту у хворих вірогідно знизилася маса тіла з 90,5 (85,0;104,0) кг до 87,9 (85,4;101,8) кг ($p=0,03$) і, відповідно, ІМТ ($p=0,03$). Крім того, у них вірогідно зменшився обвід стегон зі 111 (105;118) см до 108 (102;118) см ($p=0,07$). Позитивний вплив на ліпідний обмін виявлено в збільшенні рівня ХС ЛПВЩ ($p=0,04$). Про збільшення чутливості тканин до інсуліну на тлі вживання пасту свідчить зниження рівня інсуліну з 9,8 (6,3;11,6) мкМО/мл до 6,0 (5,0;10,2) мкМО/мл ($p=0,03$) та індексу НОМА з 3,2 (2,1;4,0) до 2,3 (1,7;3,4) ($p=0,04$). У контрольній групі, навпаки, маса тіла та ІМТ наприкінці періоду дослідження збільшилися ($p=0,01$), підвищився рівень вісцерального жиру ($p=0,04$). Крім того, у контрольній групі збільшився індекс НОМА з 2,1 (1,7;2,4) до 3,3 (1,5;4,5) ($p=0,03$), що пов'язано з підвищенням рівня інсуліну. **Висновки.** Додаткове вживання чорничної пасту поліпшувало показники метаболічного профілю у хворих із метаболічним синдромом і цукровим діабетом 2-го типу, у тому числі сприяло зменшенню маси тіла та інсулінорезистентності.

Ключові слова: метаболічний синдром, цукровий діабет 2-го типу, чорнична паста Liqberry, метаболічний профіль.

Протягом останніх десятиліть в Україні, як і у світі в цілому, невпинно зростає чисельність хворих на цукровий діабет 2-го типу (ЦД2). Сьогодні захворюваність на ЦД2 по-

* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», вул. Вишгородська, 67, м. Київ, 04114, Україна.
E-mail: maryanar@ukr.net

© М.С. Романенко, Ю.В. Гавалко, Л.Л. Синьок, І.М. Шаповал, І.А. Коруля

сідає друге місце в структурі ендокринної захворюваності в країні [1]. Цукровий діабет є незалежним чинником ризику серцево-судинної патології та її ускладнень [2-4], а отже, призводить до прискореного старіння населення. Нутритивна корекція є одним із базисних засобів комплексного лікування пацієнтів

Оригінальні дослідження

із ЦД2. На тлі збільшення поширеності метаболічного синдрому (МС) і ЦД2 актуальним залишається пошук ефективних нутритивних підходів до поліпшення метаболічного профілю в комплексному лікуванні хворих.

Дослідження останніх десятиліть демонструють цукрознижувальні властивості продуктів, багатих на фенольні речовини та антоціани. Серед таких продуктів на особливу увагу заслуговує ягода чорниці. Відомо, що антоціани чорниці здатні впливати на вуглеводний обмін, запобігати виникненню судинних і неврологічних ускладнень ЦД. Так, результати епідеміологічних досліджень показали, що збільшене споживання антоціанів (у тому числі чорниці) асоціюється з нижчим ризиком розвитку ЦД2 незалежно від віку, індексу маси тіла (ІМТ), а також способу життя та харчування [5].

В експерименті на тваринах показано, що додавання ягід до високожирового раціону зменшувало в мишей приріст маси та вісцерального жиру, а також інсулінорезистентність порівняно з контрольною групою [6]. В іншому дослідженні додавання порошку ліофілізованої чорниці до корму щурам з експериментальним ЦД2 поліпшувало ліпідний профіль і чутливість гепатоцитів до інсуліну [7].

Клінічні дослідження підтвердили ефективність чорниці на тлі інсулінорезистентності. Одноразове приймання капсули з екстрактом чорниці, еквівалентним 50 г свіжих ягід, зменшувало площу під кривою для глюкози та інсуліну після тестового навантаження, еквівалентного пероральному глюкозотолерантному тесту, у хворих із компенсованим за допомогою модифікації способу життя перебігом ЦД2 [8]. За даними D. Li et al., вживання капсул із сумішшю антоціанів чорниці та чорної смородини протягом 24 тижнів поліпшувало вуглеводний і ліпідний обмін у хворих на ЦД2. Поліпшення полягало в зменшенні рівня глюкози на 8%, зниженні індексу НОМА, підвищенні рівня адипонектину, а також зниженні вмісту тригліцеридів, холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ХС ЛПНЩ) і підвищенні рівня холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ) [9]. Водночас показано, що в людей із МС без ЦД2 споживання ягід, у тому числі чорниці, не супроводжувалося відмінностями в масі тіла, рівнях

глюкози, інсуліну та глікованого гемоглобіну (HbA1c), а також показниках ліпідограми, натомість поліпшувало функціональний стан печінки [10].

До механізмів, що становлять підґрунтя ефектів чорниці, належать посилення антиоксидантного захисту, зменшення експресії прозапальних цитокінів, посилення експресії адипонектину, вплив на експресію генів, які регулюють вуглеводний і ліпідний обмін [9, 11, 12].

В Україні розроблено інноваційну технологію виготовлення чорничної пасти Liqberry, яка за допомогою кавітаційного методу переробки дозволяє підвищити в продукті концентрацію корисних мікронутрієнтів зі шкірки та зернят ягоди та, відповідно, збільшити їх біодоступність. Насамперед це стосується альфа-токоферолу та альфа-ліноленової кислоти, яка належить до класу омега-3 поліненасичених жирних кислот. Завдяки даній технології в чорничній пасті зростає масова концентрація загальних поліфенолів, антоціанів, каротиноїдів (представлених переважно лютеїном і зеаксантином). Так, завдяки кавітаційному методу переробки загальна кількість поліфенолів зростає на 14%, антоціанів – на 30%, каротиноїдів – на 81% та альфа-токоферолу – на 76%. Завдяки запатентованій технології вміст альфа-ліноленової кислоти класу омега-3 в чорничній пасті підвищено втричі.

Особливістю технології приготування пасти є відсутність консервантів, барвників, підсилювачів смаку, цукру, загущувачів. Крім того, паста не проходить термічної обробки, що дозволяє зберегти вихідну концентрацію нутрієнтів, досягнуту на етапі переробки. Через особливості технології приготування чорничної пасти Liqberry вміст у ній нутрієнтів із доведеними позитивними властивостями перевищує відповідний вміст у свіжій ягоді.

Для зазначеної чорничної пасти вже доведено гепатопротекторні властивості, про що свідчать результати експериментальних досліджень [13]. Це узгоджується з даними, які показали, що вживання ягід, у тому числі чорниці, зменшує рівень АЛТ та АСТ у крові людей із МС [10]. Таку властивість даної чорничної пасти може бути зумовлено високою кількістю поліфенольних сполук, які поліпшують антиоксидантний захист клітин [13].

Метою даного дослідження була оцінка впливу чорничної пасти Liqberry на метаболічний профіль у людей середнього віку з МС і ЦД2.

Матеріали та методи

Дослідження проведено згідно з принципами Гельсінської декларації. Програму дослідження, інформацію для пацієнта та форму інформованої згоди на участь у дослідженні розглянуто та ухвалено на засіданні комітету з медичної етики ДУ «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», протокол № 17 від 21.03.2016. Після підписання інформованої згоди та проведення скринінгових обстежень до дослідження включено 35 хворих із МС та ЦД2. Наявність МС встановлювали за критеріями IDF (2005 р.) [14]. Пацієнтів розподілили на дві групи: I група – хворі отримували чорничну пасту Liqberry додатково до цукрознижувальних препаратів (17 осіб), II група – контрольна, пацієнти продовжували приймання раніше призначених препаратів, але не вживали чорничної пасти (18 осіб). Вік обстежених становив 57,0 (51,0; 59,0) року для групи чорничної пасти та 57,5 (55,8; 59,0) року для контрольної групи.

Антропометричні обстеження включали виміри маси тіла, зросту, обводу шиї, обводу галії (ОТ), обводу стегон (ОС). ІМТ та індекс ожиріння тіла (ІОТ) розраховували за формулами:

$$\text{ІМТ} = \text{маса тіла, кг} / (\text{зріст, м})^2$$

$$\text{ІОТ} = (\text{обвід стегон, см} / \text{зріст, м} \times \sqrt{\text{зріст, м}}) - 18.$$

Склад тіла оцінювали методом біоімпедансу за допомогою електронних ваг Tanita BC-545N. Отримували такі показники: знежирена маса (%), вміст води (%), м'язова маса (кг), кісткова маса (кг), основний обмін (ккал), вісцеральний жир (одиниці) та метаболічний вік (роки). Знежирена маса включала масу скелетних м'язів, м'язів внутрішніх органів і рідини в них.

Лабораторні дослідження включали: загальний клінічний аналіз крові, біохімічний аналіз крові, вимірювання рівнів HbA1c, інсуліну та розрахунок індексу НОМА. Показники біохімічного аналізу крові та ліпидограми визначали з використанням комерційних

тестових систем (Biosystems, Іспанія) за допомогою біохімічного аналізатора Avtolab 18 (Mannheim Boehringer, Німеччина). Рівень глюкози в плазмі крові визначали глюкозооксидазним методом із використанням тестової системи (Human, Німеччина). Рівень інсуліну вимірювали імуноферментним методом (DRG, Німеччина). Індекс інсулінорезистентності НОМА розраховували із сироваткових концентрацій глюкози та інсуліну натще з використанням стандартної формули: $\text{НОМА-IR} = \text{концентрація інсуліну (мкМО/мл)} \times \text{концентрація глюкози (ммоль/л)} / 22,5$. Рівень HbA1c визначали імунотурбодиметричним методом.

Усі обстежені вели малорухомий спосіб життя та впродовж дослідження дотримували звичної повсякденної активності. Протягом дослідження пацієнти не отримували жодних харчових інтервенцій (наприклад, гіпокалорійного харчування). Після проведених вихідних обстежень пацієнти I групи отримували чорничну пасту Liqberry для щоденного вживання протягом 3 місяців у дозі 0,5 г/кг маси тіла на день у три приймання. Наприкінці трьох місяців проводили 2-й візит із повторними антропометричними вимірами, лабораторними та інструментальними обстеженнями.

Статистичну обробку даних проводили з використанням непараметричних критеріїв. Розраховували медіани (Me) та міжквартильні інтервали (Q1; Q3). Відмінності показників перед початком і після вживання чорничної пасти оцінювали за критерієм Вілкоксона – Манна – Уїтні. За рівень статистичної значущості прийнято значення $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Вихідні вікові, антропометричні характеристики та показники складу тіла в обстежених дослідної та контрольної групи не різнилися. Приймання чорничної пасти добре переносили всі пацієнти. Усі пацієнти успішно завершили дослідження. За період дослідження не відзначено небажаних явищ, пов'язаних із вживанням продукту.

По завершенні дослідження виявлено вірогідні відмінності для динаміки антропометричних характеристик і показників складу тіла. У хворих, які вживали пасту, вірогідно знизилася маса тіла та ІМТ. Крім того, у них

Оригінальні дослідження

вірогідно зменшились ОС і, відповідно, ІОТ (табл. 1). Показники складу тіла — відсоток жирової маси, відсоток води, м'язова маса (дані не наведено) та рівень вісцерального жиру в пацієнтів залишилися без змін.

На відміну від групи чорничної пасти, у контрольній групі маса тіла та ІМТ хворих протягом періоду дослідження вірогідно збільшились (табл. 2). Крім того, у пацієнтів контрольної групи значуще підвищився рівень вісцерального жиру.

Слід нагадати, що вживання чорничної пасти відбувалось на тлі звичного стилю харчування та рівня щоденної фізичної активності. Харчування пацієнтів із МС, у т.ч. із ЦД2, має недосконалу структуру та підвищений вміст аліментарних чинників ризику. Зокрема, воно характеризується підвищеним вмістом жирів, простих вуглеводів, низьким вмістом харчових волокон і недостатнім вмістом вітамінів і мінералів [15, 16]. Більшість показників складу тіла в пацієнтів обох груп залишилася без змін, за винятком рівня вісцерального жиру, який підвищився в групі контролю. Збільшення рівня вісцерального жиру та наведені вище зміни маси тіла, ІМТ, ОТ свідчать про прогресування метаболічних порушень у пацієнтів із ЦД2, які не отримували чорничної пасти. Натомість включення чорничної пасти в раціон дозволило сповільнити прогресування метаболічних порушень у хворих на ЦД2. Це узгоджується з експериментальними даними про менший приріст маси та вісцерального жиру в лабораторних тварин, які додатково до високожирової дієти отримували ягоди чорниці [6].

Аналіз різниці (Δ) показників під час 2-го візиту з вихідними підтвердив наведену вище динаміку. Так, у групі пацієнтів, які пройшли курс вживання чорничної пасти, зменшувалися маса тіла, ІМТ, ОС та ІОТ. У пацієнтів контрольної групи за період спостереження, навпаки, маса тіла та ІМТ зростали, збільшувався ОТ (табл. 3).

Результати біохімічного аналізу показали, що рівні АЛТ, АСТ, білірубину, сечовини та креатиніну, сечової кислоти в пацієнтів, які вживали чорничну пасту перед початком та по завершенні дослідження, були в межах норми, відмінностей між показниками не виявлено (дані не наведено). У показниках ліпідограми привертає увагу вірогідне збільшення рівня

ХС ЛПВЩ ($p=0,04$), що свідчить про позитивний вплив чорничної пасти на ліпідний обмін (табл. 4). Підвищення вмісту ХС ЛПВЩ узго-

Таблиця 1. Антропометричні характеристики та показники складу тіла в групі чорничної пасти, Ме (Q1; Q3)

Показник	Вихідний рівень	2-й візит	p
Маса тіла, кг	90,5 (85,0; 104,0)	87,9 (85,4; 101,8)	0,03
ІМТ, кг/м ²	33,6 (33,0; 37,0)	33,2 (31,6; 37,1)	0,03
ІОТ	34,4 (30,9; 42,3)	33,4 (31,7; 38,3)	0,007
Обвід шиї, см	40,0 (37,0; 42,0)	40,5 (36,0; 43,0)	0,34
Обвід талії, см	109,0 (104,0; 115,0)	106,0 (103,0; 116,0)	0,20
Обвід стегон, см	111,0 (105,0; 118,0)	108,0 (102,0; 118,0)	0,007
Рівень вісцерального жиру	12,5 (11,5; 15,5)	12,0 (11,5; 15,5)	0,27

Таблиця 2. Антропометричні характеристики та показники складу тіла в контрольній групі, Ме (Q1; Q3)

Показник	Вихідний рівень	2-й візит	p
Маса тіла, кг	94,9 (83,8; 105,1)	95,4 (84,8; 108,2)	0,01
ІМТ, кг/м ²	32,2 (29,7; 36,4)	32,4 (30,3; 37,1)	0,01
ІОТ	30,7 (29,2; 38,3)	31,0 (29,2; 39,0)	0,35
Обвід шиї, см	39,5 (37,8; 44,1)	39,0 (38,2; 42,5)	0,37
Обвід талії, см	105,0 (96,3; 116,0)	110,5 (98,0; 116,1)	0,07
Обвід стегон, см	110,0 (103,0; 117,6)	108,5 (105,8; 115,3)	0,37
Рівень вісцерального жиру	12,8 (11,4; 16,5)	13,5 (11,0; 16,2)	0,04

Таблиця 3. Різниця (Δ) антропометричних характеристик під час 2-го візиту з вихідними, Ме (Q1; Q3)

Показник	Чорнична паста	Контрольна група	p
Маса тіла, кг	-1,0 (-1,5; 0,5)	1,3 (-0,1; 2,7)	0,001
ІМТ, кг/м ²	-0,4 (-0,6; 0,2)	0,4 (-0,1; 0,9)	0,002
ІОТ	-1,4 (-2,8; 0,0)	0,0 (-0,4; 0,6)	0,01
Обвід шиї, см	0,0 (-1,0; 0,5)	0,0 (-0,5; 0,6)	0,41
Обвід талії, см	0,0 (-1,0; 1,0)	0,8 (-1,3; 3,3)	0,04
Обвід стегон, см	-3,0 (-6,0; 0,0)	0,0 (-1,0; 1,3)	0,01

Таблиця 4. Показники ліпідного профілю обстежених, Ме (Q1; Q3)

Показник	Чорнична паста		Контрольна група		p
	Вихідний рівень	2-й візит	Вихідний рівень	2-й візит	
Загальний холестерин, ммоль/л	5,4 (5,0; 6,3)	5,5 (4,7; 6,3)	5,6 (4,7; 6,8)	6,0 (5,2; 6,9)	0,22
Тригліцериди, ммоль/л	1,6 (1,0; 1,7)	1,5 (1,0; 1,8)	1,7 (1,1; 2,0)	1,7 (1,3; 2,0)	0,09
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,3 (1,2; 1,4)	1,4 (1,3; 1,5)	1,4 (1,3; 1,6)	1,4 (1,3; 1,6)	0,38
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	3,5 (2,3; 4,1)	3,4 (2,7; 3,9)	3,4 (2,4; 4,5)	3,5 (3,1; 4,7)	0,14

джується з даними інших авторів [9]. Слід зазначити, що позитивний вплив ягоди чорниці на ліпідний обмін продемонстровано навіть за умов високожирового навантаження. Так, в експерименті із застосуванням високожирової дієти показано поліпшення на тлі вживання ягоди ліпідного обміну на місцевому, органному рівні — зниження рівня холестерину та тригліцеридів у печінці за відсутності значущих змін у крові [6].

У контрольній групі показники біохімічного аналізу крові не різнилися на початку та по завершенні дослідження (дані не наведено). Усі показники ліпідного профілю також залишились без змін, на відміну від таких у хворих, які вживали чорничну пасту (табл. 4).

На тлі тримісячного вживання чорничної пасти в дозі 0,5 г/кг маси тіла на день рівень HbA1c та глікемія натще у хворих не погіршувалися. Так, рівень HbA1c у групі чорничної пасти становив 6,8 (6,4; 8,8)% на початку дослідження та 6,7 (6,1; 7,7)% на 2-му візиті ($p=0,40$). Рівень глюкози становив 7,2 (6,4; 8,6) ммоль/л і 7,6 (7,2; 8,5) ммоль/л відповідно по візитах ($p=0,18$). Рівні HbA1c та глікемія натще у хворих контрольної групи впродовж дослідження залишались без змін. У контрольній групі показник HbA1c становив 6,0 (5,8; 8,2)% і 6,4 (6,0; 7,1)% відповідно по візитах ($p=0,47$), а рівень глюкози натще — 6,5 (5,8; 7,4) ммоль/л і 6,2 (5,5; 7,5) ммоль/л відповідно по візитах ($p=0,24$).

Водночас привертає увагу вірогідне зниження рівня інсуліну (рис. 1) та, відповідно, зменшення індексу НОМА (рис. 2), що свідчить про поліпшення чутливості тканин до інсуліну. У групі контролю, навпаки, зростали рівень інсуліну та, відповідно, індекс НОМА, що вказує на погіршення чутливості до інсуліну.

Подібні дані отримано в експерименті на лабораторних тваринах, які отримували високожирову дієту. За умов додавання чорниці до харчування в дослідних мишей зменшувалися рівень інсуліну та індекс НОМА порівняно з контролем, а рівень глюкози мав тенденцію до зниження [6]. В іншому дослідженні, на експериментальній моделі ЦД2 у щурів, показано ліпшу чутливість до інсуліну на рівні гепатоцитів на тлі додавання порошку ліофілізованої чорниці до корму за відсутності відмінностей у рівнях глюкози, інсуліну, індексу НОМА та HbA1c у крові [7].

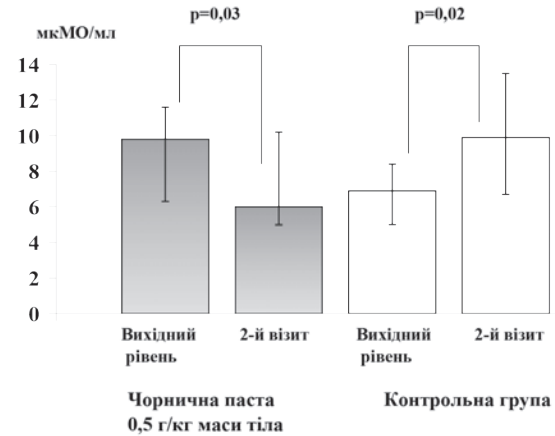


Рис. 1. Динаміка вмісту інсуліну в сироватці крові у хворих із МС і ЦД2 на тлі додаткового вживання чорничної пасти, Ме (Q1; Q3).

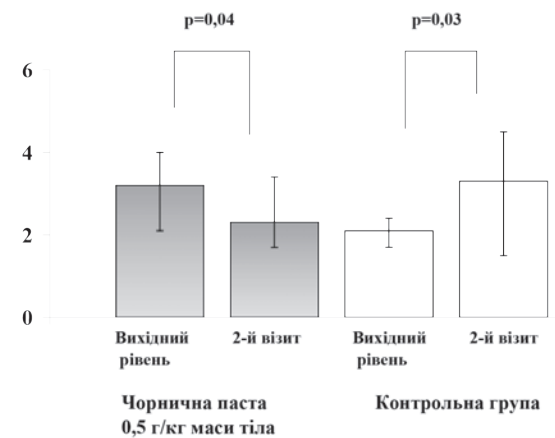


Рис. 2. Динаміка індексу НОМА у хворих із МС і ЦД2 на тлі додаткового вживання чорничної пасти, Ме (Q1; Q3).

Поліпшення чутливості тканин до інсуліну на тлі вживання ягоди чорниці пояснюють здатністю антоціанів підсилювати антиоксидантний захист і впливати на гени — регулятори метаболізму. Так, вважається, що антоціани можуть змінювати активність АМР-активованих протеїнкіназ (АМРК). Зокрема, показано, що вживання чорниці підвищувало активність АМРК у скелетних м'язах, білій жировій тканині та печінці щурів з експериментальним ЦД2 [12], що сприяє катаболічній спрямованості обміну речовин та послабленню глюконеогенезу. Активізація АМРК на тлі додавання чорниці супроводжувалася посиленням експресії *PPARα* та *CPT 1* в експериментальних тварин, що поліпшувало окислення жирних кислот [12]. У хворих на ЦД2 на тлі приймання окремих цукрознижувальних препаратів відзначено підвищення активності АМРК у клітинах крові, що зумовлює поліпшення чутливості тканин до інсуліну [17].

Оригінальні дослідження

Властивість ягід чорниці активувати АМРК певною мірою пояснює отримане нами поліпшення чутливості до інсуліну у хворих на ЦД2, які вживали чорничну пасту.

Отримані результати вказують на необхідність подальших досліджень впливу чорничної пасти на вуглеводний, ліпідний обмін і метаболічний профіль у цілому з використанням більших добових доз продукту.

Отже, враховуючи позитивний вплив вживання досліджуваного продукту на антропометричні показники, рівні ХС ЛПВЩ та інсуліну, індекс НОМА, можна рекомендувати додавання чорничної пасти Liqberry до раціону хворих на МС і ЦД2 для поліпшення показників метаболічного профілю, у тому числі для зменшення вних інсулінорезистентності.

Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

Висновки

1. У хворих на ЦД2, які додатково до стандартної схеми лікування вживали чорничну пасту Liqberry в дозі 0,5 г/кг маси тіла на день, спостерігалось поліпшення антропометричних показників — зниження маси тіла ($p=0,03$), індексу маси тіла ($p=0,03$), зменшення обводу стегон ($p=0,007$) і, відповідно, індексу ожиріння тіла ($p=0,007$), що свідчить про сповільнення прогресування метаболічних порушень.
2. Вживання чорничної пасти сприяло підвищенню вмісту в крові ХС ЛПВЩ у хворих на ЦД2 ($p=0,04$).
3. У хворих на ЦД2, які вживали чорничну пасту, вірогідно знизився рівень інсуліну ($p=0,03$) і, відповідно, зменшився індекс НОМА ($p=0,04$), що свідчить про поліпшення чутливості тканин до інсуліну.
4. Рекомендовано додавання чорничної пасти Liqberry до раціону хворих на ЦД2 для поліпшення в них показників метаболічного профілю.

Список використаної літератури

1. Тронько МД. Сучасний стан і перспективи розвитку фундаментальної та клінічної ендокринології на 2015-2020 роки. Ендокринологія. 2015;20(1):373-80. (Tron'ko MD. Current state and prospects for the development of fundamental and clinical endocrinology for 2015-2020. Endokrynolohiya. 2015;20(1):373-80).

2. Соколова ЛК. Сахарный диабет 2-го типа. Роль семейного врача. Укр мед часопис. 2012; 87(1):70-4. (Sokolova LK. Type 2 diabetes mellitus. The role of family doctor. Ukr med chasopys. 2012; 87(1):70-4).
3. Сергієнко ВО. Ригідність артерій, серцевосудинні захворювання і цукровий діабет (огляд літератури і власні дані). Ендокринологія. 2013;18(3):40-52. (Serhiyenko VO. Rigidity of arteries, cardiovascular diseases and diabetes mellitus (review of literature and own data). Endocrinolohiya. 2013;18(3):40-52).
4. Чернявська ІВ. Поєднання цукрового діабету 2 типу та серцево-судинної патології: структура, особливості клінічного профілю і зміни метаболізму. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2015; 52(4):31-6. (Chernyavs'kyu IV. The combination of type 2 diabetes and cardiovascular pathology: structure, features of the clinical profile and metabolic changes. Klinichna endokrynolohiya ta endokryna khirurgiya. 2015;52(4):31-6).
5. Wedick NM, Pan A, Cassidy A, Rimm EB, Sampson L, Rosner B et al. Dietary flavonoid intakes and risk of type 2 diabetes in US men and women. Am J Clin Nutr. 2012; 95(4):925-33.
6. Heyman L, Axling U, Blanco N, Sterner O, Holm C, Berger H. Evaluation of beneficial metabolic effects of berries in high-fat fed C57BL/6J mice. J Nutr Metabol. 2014; 2014, Article ID403041:12 p.
7. Brader L, Overgaard A, Christensen LP, Jeppesen PB, Hermansen K. Polyphenol-rich bilberry ameliorates total cholesterol and LDL-cholesterol when implemented in the diet of Zucker diabetic fatty rats. Rev Diabet Stud. 2013;10(4):270-82.
8. Hoggard N, Cruickshank M, Moar K-M, Bestwick C, Holst JJ, Russell W et al. A single supplement of a standardised bilberry (Vaccinium myrtillus L.) extract (36% wet weight anthocyanins) modifies glycaemic response in individuals with type 2 diabetes controlled by diet and life style. J Nutr Sci. 2013;2:e22.
9. Li D, Zhang Y, Liu Y, Sun R, Xia M. Purified anthocyanin supplementation reduces dyslipidemia, enhances antioxidant capacity, and prevents insulin resistance in diabetic patients. J Nutr. 2015;145(4):742-8.
10. Lehtonen H-M, Suomela J-P, Tahvonen R, Vaarno J, Venojärvi M, Viikari J et al. Berry meals and risk factors associated with metabolic syndrome. Eur J Clin Nutr. 2010;64:614-21.
11. Шафран ЛМ, Самохіна НА. Дослідження нефропротекторної дії чорниці при експериментальних металонефропатіях. Буковинський медичний вісник. 2012;16(3):235-8. Shafran LM, Samokhina NA. Investigation of nephroprotective action of blueberries in experimental metallic nephropathies. Bukovinsky Medical Bulletin. 2012;16(3):235-238. Bukovyns'kyu medychnyy visnyk. 2012;16(3):235-8.
12. Takikawa M, Inoue S, Horio F, Tsuda T. Dietary anthocyanin-rich bilberry extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice. J Nutr. 2010;140:527-33.
13. Левицький АП, Осипенко СБ, Цисельський ЮВ, Дем'яненко СА, Макаренко ОА, Селиванская ІА. Гепатопротекторные свойства пасты из плодов черники при экспериментальном токсическом гепатите и кишечном дисбиозе. Фітотерапія. Часопис. 2009;3:26-30. (Levits'kiy AP, Osipenko SB, Tsel'skiy YUV, Dem'yanenko SA, Makarenko OA, Selivanskaya IA. Hepatoprotective properties of pasta from the fruits of blueberries in experimental toxic hepatitis and intestinal dysbiosis. Fitoterapiya. Chasopis. 2009;3:26-30).
14. The IDF consensus world wide definition of the metabolic syndrome. International Diabetes Federation. 2006. URL: http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf
15. Синеок ЛЛ, Гавалко ЮВ, Романенко МС, Мельничук НО, Сапожніков ІВ. Харчування при метаболічному синдромі в літньому віці. Проблеми старения и долголетия. 2013;22(4):407-18. (Synyeok LL, Havalko YuV, Romanenko MS, Mel'nychuk NO, Sapozhnikov IV. Nutrition in metabolic syndrome in the elderly. Problemy starenyya y dolholetyya. 2013;22(4):407-18).
16. Романенко МС, Синеок ЛЛ, Наумчук НС, Сапожніков ІВ, Іваненко ЛД. Особливості харчування людей різного віку з метаболічним синдромом та їх зв'язок з антропометричними показниками ожиріння. Проблеми старения и долголетия. 2017;26(1-2):158-68. (Romanenko MS, Synyeok LL,

Naumchuk NS, Sapozhnikov IV, Ivanenko LD. Nutritional food features in patients with metabolic syndrome in different ages. *Problemy starennya u dololetyua*. 2017;26(1-2):158-68).

17. Соколова ЛК, Пушкарев ВМ, Бельчина ЮБ, Пушкарев ВВ, Гончар ИВ, Тронько НД. Активность АМРК в лимфоцитах больных сахарным диабетом при действии сахароснижающих препаратов. *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія*. 2017;58(2):82-90. (Sokolova LK, Pushkarev VM, Belchina YuB, Pushkarev VV, Gonchar IV, Tron'ko ND. AMPK activity in the lymphocytes of patients with diabetes mellitus during the action of hypoglycemic drugs. *Klinichna endokrynolohiya ta endokrynna khirurhiya*. 2017;58(2):82-90).

(Надійшла до редакції 24.06.2018 р.)

Влияние продукта из черники на метаболический профиль у больных сахарным диабетом 2-го типа

М.С. Романенко, Ю.В. Гавалко, Л.Л. Синюк, И.М. Шаповал

ГУ «Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины»

Резюме. Цель — оценить влияние черничной пасты Liqberry на метаболический профиль у людей среднего возраста с метаболическим синдромом (МС) и сахарным диабетом 2-го типа (СД2).

Материалы и методы. Обследованы 35 больных с МС и СД2 (25 женщин и 10 мужчин) в возрасте 45-59 лет. Пациенты основной группы (17 человек) получали черничную пасту (Liqberry, Украина) в дозе 0,5 г/кг массы тела в сутки в течение трех месяцев дополнительно к сахароснижающим препаратам. Больные контрольной группы (18 человек) продолжали прием ранее назначенных препаратов, но не принимали черничную пасту. Изучали антропометрические характеристики, показатели состава тела, липидного и углеводного обмена. **Результаты.** На фоне употребления пасты у больных достоверно снизилась масса тела с 90,5 (85,0;104,0) кг до 87,9 (85,4;101,8) кг ($p=0,03$) и, соответственно, ИМТ ($p=0,03$). Кроме того, у них достоверно уменьшилась окружность бедер со 111 (105;118) см до 108 (102;118) см ($p=0,07$). Положительное влияние на липидный обмен обнаружено в увеличении уровня ХС ЛПВП ($p=0,04$). Об улучшении чувствительности тканей к инсулину на фоне употребления пасты свидетельствует снижение уровня инсулина с 9,8 (6,3;11,6) мкМО/мл до 6,0 (5,0;10,2) мкМО/мл ($p=0,03$) и индекса НОМА с 3,2 (2,1;4,0) до 2,3 (1,7;3,4) ($p=0,04$). В контрольной группе, наоборот, масса тела и ИМТ в конце периода исследования увеличились ($p=0,01$), вырос уровень висцерального жира ($p=0,04$). Кроме того, в контрольной группе увеличился индекс НОМА с 2,1 (1,7;2,4) до 3,3 (1,5;4,5) ($p=0,03$), что связано с повышением уровня инсулина. **Выводы.** Дополнитель-

ный прием черничной пасты улучшал показатели метаболического профиля у больных с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2-го типа, в том числе способствовал уменьшению массы тела и инсулинорезистентности.

Ключевые слова: метаболический синдром, сахарный диабет 2-го типа, черничная паста Liqberry, метаболический профиль.

Effect of products from blackberry on metabolic profile in patients with type 2 diabetes

M.S. Romanenko, Yu.V. Havalko, L.L. Synyok, I.M. Shapoval

State Institute «D.F. Chebotarev Institute of Gerontology, Natl. Acad. Med. Sci. of Ukraine»

Abstract. Aim is to evaluate the effect of blueberry paste on metabolic profile of middle-aged patients with metabolic syndrome and type 2 diabetes. **Materials and methods.** 35 patients with metabolic syndrome (MS) and type 2 diabetes (25 women and 10 men) aged 45-59 years were included into the study. The main group of 17 patients received blueberry paste (Liqberry, Ukraine) at a dose of 0.5 g/kg/body weight per day for three months additionally to pharmacotherapy for type 2 diabetes. Control group (18 patients) received only pharmacotherapy for type 2 diabetes. Anthropometric characteristics, indices of body composition, lipid and glucose profiles were measured. **Results.** A significant weight lost from 90.5 (85.0;104.0) kg to 87.9 (85.4;101.8) kg ($p=0.03$), and a decrease in BMI, $p=0.03$, respectively was revealed in patients against the background of paste application. Additionally, a significant decrease in hip circumference from 111 (105;118) cm to 108 (102;118) cm, $p=0.07$ was noted. A positive effect on lipid metabolism was expressed by increased HDL cholesterol levels ($p=0.04$). The decrease in insulin level from 9.8 (6.3;11.6) to 6.0 (5.0;10.2) $\mu\text{U/ml}$ ($p=0.03$) and in HOMA-IR from 3.2 (2.1;4.0) to 2.3 (1.7;3.4) ($p=0.04$) demonstrate an improvement of insulin sensitivity in patients taking bilberry paste. On the contrary, the body weight and BMI were increased ($p=0.01$) at the end of the study period and visceral fat level was also increased ($p=0.04$) in the control group. Moreover, HOMA-IR increased from 2.1 (1.7;2.4) to 3.3 (1.5;4.5), $p=0.03$, due to insulin level rise in control group. **Conclusions.** Indices of metabolic profile in patients with metabolic syndrome and type II diabetes, including reduction of body weight and insulin resistance, were improved by additional bilberry paste supplementation.

Keywords: metabolic syndrome, type 2 diabetes, bilberry paste Liqberry, metabolic profile.

Вплив метанандаміду на рівень експресії мітоген-активованої протеїнкінази р38 у тканині надниркових залоз щурів

Н.І. Левчук,
О.І. Ковзун,
О.С. Микоша

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Мета — дослідити вплив різних концентрацій метанандаміду *in vitro* на рівень експресії мітоген-активованої протеїнкінази р38 (р38МАРК) у тканині надниркових залоз щурів. **Матеріали та методи.** Матеріалом для досліджень слугувала тканина надниркових залоз статевозрілих самок щурів лінії Вістар. Детекцію р38МАРК проводили імуноблот-аналізом із використанням моноклональних антитіл. **Результати.** Встановлено, що метанандамід підвищував рівень експресії р38МАРК лише в концентрації 10^{-8} моль/л. **Висновок.** Метанандамід за умов низьких концентрацій (коли він активує апоптоз у клітинах кори надниркових залоз самок щурів) може справляти цей ефект через залучення р38МАРК.

Ключові слова: метанандамід, р38МАРК, надниркові залози.

Ендоканабіноїди давно привернули увагу дослідників-ендокринологів, але основні роботи присвячено центральним механізмам регуляції ендокринних функцій.

Раніше нами було показано, що метанандамід, який є метаболічно стійким похідним ендогенного канабіноїду анандаміду та зберігає його біологічні властивості як в адренкортикоцитах інтактних самок щурів, так і в позапухлинній тканині від хворих жінок із гормонально неактивними пухлинами кори

надниркових залоз, може підвищувати інтенсивність фрагментації ДНК *in vitro* [1, 2]. Проте внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, які опосередковують проапоптозні ефекти метанандаміду в адренкортикальній тканині, залишаються майже не дослідженими.

Отримані *in vitro* дані свідчать, що реалізація проапоптозних ефектів ендоканабіноїдів у переважній більшості випадків опосередковується через активацію р38МАРК. Це фермент, який належить до родини серин/треонінових протеїнкіназ, що активується мітогенами та залучений до багатьох сигнальних механізмів, які регулюють процеси

* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна. E-mail: zdovado@ukr.net

© Н.І. Левчук, О.І. Ковзун, О.С. Микоша

проліферації, диференціації та апоптозу [3, 4]. Порушення її функції призводить до розвитку запальних процесів [5] і виникнення низки захворювань [6], у тому числі й канцерогенезу [7]. Натомість участь цієї кінази в опосередкуванні ефектів ендоканабіноїдів, зокрема метанандаміду, в адренкортикальній тканині залишається недослідженою.

З огляду на вищезазначене метою роботи було дослідження впливу метанандаміду *in vitro* на рівень експресії p38MAPK в адренкортикоцитах самиць щурів.

Матеріали та методи

Досліди проведено на статевозрілих щурах-самицях лінії Вістар масою 180-220 г, які перебували в стандартних умовах віварію ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України». Усі експерименти та евтаназію тварин здійснювали згідно з положеннями «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом із біоетики (Київ, 2001).

Після декапітації тварин надниркові залози видаляли, переносили на лід, очищали від сполучної та жирової тканини, готували зрізи тканини (завтовшки ~0,5 мм) та інкубували їх на водяній бані за 37 °С упродовж 3 год із постійним струшуванням в 1 мл живильного середовища RPMI-1640 (20 ммоль/л NEPEP і L-glutamine, Sigma, США), що містило 5% бичачої сироватки (Sigma, США). У дослідні проби перед початком інкубації вносили спиртовий розчин R-(+)-метанандаміду (Sigma, США) до кінцевих концентрацій 10⁻⁸ моль/л, 10⁻⁷ моль/л і 10⁻⁶ моль/л. Контрольні проби містили розчинник у відповідній концентрації.

Після закінчення інкубації зрізи тканини гомогенізували в скляному гомогенізаторі з додаванням охолодженого лізис-буфера (Sigma, США) (1:3 – вага:об'єм), що містив суміш інгібіторів протеаз і фосфатаз для збереження інтактності та активності білків. Отриманий гомогенат тканини центрифугували за 24100 g упродовж 10 хв. Супернатант відбирали та заморожували за мінус 60 °С для подальшого аналізу.

Вміст загального білка в лізатах (мкг/мкл) визначали спектрофотометрично за методом Бредфорда [8]. Розділення суміші білків у поліакриламідному гелі в присутності додецилсульфату натрію проводили за методом Леммлі [9]. Для визначення рівня експресії p38MAPK використовували метод Вестерн-блотинг. Детальний опис даних методик наведено в нашій попередній статті [10].

У ході Вестерн-блотингу використовували первинні моноклональні антитіла до p38MAPK (1:1000, Sigma, США) та вторинні антикролячі антитіла, сполучені з пероксидазою хрому (1:2000, Sigma, США). З метою додаткового контролю рівномірності нанесення білка після їх перенесення на нітроцелюлозну мембрану щоразу їх забарвлювали барвником Понсо С (Reanal, Угорщина). Денситометричний аналіз інтенсивності смуг проводили з використанням комп'ютерної програми GelPro Analyzer v. 4.0. Отримані дані виражали в умовних одиницях.

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за непараметричним U-тестом Вілкоксона – Манна – Уїтні. Критичний рівень значущості приймали за 0,05.

Результати та їх обговорення

Інкубація зрізів тканини надниркових залоз самиць щурів продовж трьох годин із метанандамідом у концентрації 10⁻⁸ моль/л виявляла статистично значуще посилення рівня експресії p38MAPK (на 44%), тоді як у концентраціях 10⁻⁷-10⁻⁶ моль/л сполука не викликала вірогідних змін кількості цієї кінази (**рис.**). У попередній роботі з дослідження міжнуклеосомної фрагментації ДНК у самиць кількість мононуклеосом зростала за концентрації 10⁻⁸-10⁻⁷ моль/л метанандаміду та залишалася незмінною за концентрації 10⁻⁶ моль/л. Причому суттєвіший ефект препарат справляв у концентрації 10⁻⁸ моль/л [1]. У позапухлинній тканині, отриманій від хворих жінок із гормонально неактивними пухлинами, підвищення вмісту фрагментів ДНК 200-400 пар основ і загального їх вмісту відзначено також за умов найнижчої концентрації сполуки [2]. Отже, отримані дані свідчать про індукцію апоптозу в адренкортикальній тканині самиць щурів лише за найнижчої з досліджених концентрацій метанандаміду.

Оригінальні дослідження

У літературі існують дані щодо участі р38МАРК в опосередкуванні апоптозу, який індукується ендоканабіноїдами в клітинах різного типу *in vitro*. Важливо відзначити, що активацію р38МАРК у переважній більшості випадків виявлено в клітинах, які характеризуються наявністю СВ₁-рецепторів. Так, показано, що анандамід і 2-арахідоноїлгліцерол у гіпокампі щурів і мишей впливали на фосфорилування р38МАРК через активацію СВ₁-рецепторів [11]. Індуковану анандамідом клітинну смерть у децидуальних клітинах щурів також було пов'язано із СВ₁-рецепторами з подальшою активацією р38МАРК, продукцією кераміду *de novo* та ROS [12].

Враховуючи дані літератури та власні результати, можна припустити, що стимульована метанандамідом активація р38МАРК в адренкортикальній тканині може опосередковуватися через СВ₁-рецептори, експресію яких було виявлено в клітинах надниркових залоз людини [13]. З іншого боку, встановлено, що ендоканабіноїди проявляють високу мембранотропну активність, легко вбудовуються в мембранні структури, де можуть справляти безпосередню дію, що не опосередковується рецепторами. Такий позарецепторний ефект відомий навіть для анандаміду [14]. Встановлено, що стимульована анандамідом активність р38МАРК у гепатоцитах не залежить від активації канабіноїдних рецепторів, а зале-

жить від вмісту холестерину в мембрані. Авторами висловлено припущення, що холестерин мембрани може функціонувати як своєрідний ліганд для анандаміду [14]. Раніше нами було показано, що метанандамід *in vitro* підвищує рівень загального холестерину в тканині надниркових залоз самиць щурів, проте це збільшення було виявлено лише за концентрацій 10^{-7} - 10^{-6} моль/л [15]. Тому з'ясування механізмів активації р38МАРК, що індукуються метанандамідом у тканині надниркових залоз самиць щурів, вимагає подальших досліджень.

Висновок

Ґрунтуючись на отриманих результатах і попередніх даних, можна стверджувати, що метанандамід у низьких концентраціях справляє проапоптозний вплив на клітини кори надниркових залоз самиць щурів, який може бути опосередкований через залучення р38МАРК.

Список використаної літератури

1. Левчук Н.І. Вплив різних концентрацій метанандаміду на інтенсивність міжнуклеосомної фрагментації ДНК в адренкортикоцитах щурів *in vitro*. Ендокринологія. 2013;22(4):60-4. (Levchuk N.I. Effect of different methanandamide concentrations on the intensity of internucleosomal DNA fragmentation in adrenocorticoocytes of rats *in vitro*. Endocrinologia. 2013;22(4):60-4).
2. Левчук Н.І. Ковзун О.І., Тронько М.Д. Статеві відмінності впливу метанандаміду *in vitro* на інтенсивність міжнуклеосомної фрагментації ДНК в позапухлинній тканині кори надниркових залоз від хворих з гормонально неактивними пухлинами. Журн. НАМН України. 2014;20(2):252-6. (Levchuk N.I., Kovzun O.I., Tronko M.D. Gender differences of methanandamide effects *in vitro* on intensity of internucleosome DNA fragmentation in extratumor adrenal cortex tissue from patients with hormonally inactive tumours. Zhurn. NAMN Ukrainy. 2014;20(2):252-6).
3. Osaki L.H, Gama P. MAPKs and signal transduction in the control of gastrointestinal epithelial cell proliferation and differentiation. Int. J. Mol. Sci. 2013 May;14(5):10143-61.
4. Lenassi M., Plemenitas A. The role of p38 MAP kinase in cancer cell apoptosis. Radiol. Oncol. 2006;40(1):51-6.
5. Соловьева И.А., Демко И.В., Собко Е.А., Крапошина А.Ю., Чубарова С.В., Салмина А.Б. Роль р38 MAPK в развитии иммунного воспаления. Бюллетень. 2013;49:105-14. (L.A. Solv'eva, I.V. Demko, E.A. Sobko, A. Yu. Kraposhina, S.V. Chubarova, A.B. Salmina. The role of p38 MARK in the development of immune inflammation. Buluten' 2013;49:105-14).
6. Fadaka A.O., Ojo O.A., Osukoya O.A., Akuboh O., Ajiboye B.O. Role of p38 MAPK Signaling in Neurodegenerative Diseases: A Mechanistic Perspective. Ann Neurodegener. Dis. 2017 Dec;2(1):1026.
7. Song W.J., Dong Y., Luo C., Chen Y.Y. p38MAPK family isoform p38 α and activating transcription factor 2 are associated with the malignant phenotypes and poor prognosis of patients with ovarian adenocarcinoma. Pathol. Res. Pract. 2017 Oct;213(10):1282-8.
8. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 1976 May;72:248-54.
9. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 1970 Aug;227(5259):680-5.

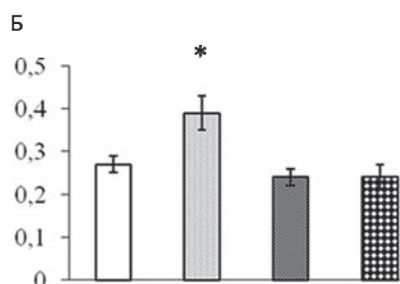
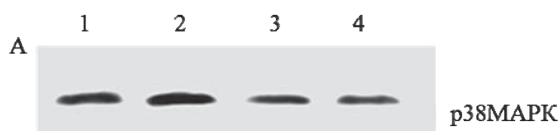


Рис. Вплив різних концентрацій метанандаміду на рівень експресії р38МАРКу тканині надниркових залоз самиць щурів: А — електрофореграма (1 — контроль, 2 — 10^{-8} , 3 — 10^{-7} , 4 — 10^{-6} моль/л метанандаміду); Б — кількісна оцінка рівня експресії р38МАРК в ум. од. * — вірогідна різниця з контрольною пробєю без метанандаміду ($p=0,05$). На рисунку наведено результат типового досліду з трьох.

10. Левчук Н.І., Лукашеня О.С., Микоша О.С., Ковзун О.І. Статеві відмінності експресії ERK в надниркових залозах щурів. Ендокринологія. 2015;20(4):706-9. (Levchuk N.I., Lukashenia O.S., Mikosha O.S., Kovzun O.I. Sex differences of expression ERK in rat adrenal gland. *Endocrinologia*. 2015;20(4):706-9).
11. Derkinderen P., Ledent C., Parmentier M., Girault J.A. Cannabinoids activate p38 mitogen-activated protein kinases through CB1 receptors in hippocampus. *J. Neurochem*. 2001 May;77(3):957-60.
12. Fonseca V.M., Correia-da-Silva G., Teixeira N.A. The endocannabinoid anandamide induces apoptosis of rat decidual cells through a mechanism involving ceramide synthesis and p38 MAPK activation. *Apoptosis*. 2013 Dec;18(12):1526-35.
13. Ziegler C.G., Mohn C., Lamounier-Zepter V., Rettori V., Bornstein S.R., Krug A.W., Ehrhart-Bornstein M. Expression and function of endocannabinoid receptors in the human adrenal cortex. *Horm. Metab. Res*. 2010 Feb;42(2):88-92.
14. Biswas K.K., Sarker K.P., Abeyama K., Kawahara K., Iino S., Otsubo Y., Saigo K., Izumi H., Hashiguchi T., Yamakuchi M., Yamaji K., Endo R., Suzuki K., Imaizumi H., Maruyama I. Membrane cholesterol but not putative receptors mediates anandamide-induced hepatocyte apoptosis. *Hepatology*. 2003 Nov;38(5):1167-77.
15. Левчук Н.І., Калініченко О.В., Ковзун О.І., Микоша О.С. Зміни рівня холестерину в надниркових залозах щурів, викликані метанандамідом, залежні від статевих гормонів. Ендокринологія. 2015;20(2):506-9. (Levchuk N.I., Kalinichenko O.V., Kovzun O.I., Mikosha O.S. Changes in cholesterol levels of rat adrenals, induced by methanandamide, depending on sex hormones *Endocrinologia*. 2015;20(2):506-9).

(Надійшла до редакції 02.07.2018 р.)

Влияние метанандамида на уровень экспрессии митоген-активируемой протеинкиназы p38 в ткани надпочечников крыс

Н.И. Левчук, Е.И. Ковзун, А.С. Микоша

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»

Резюме. Цель — исследовать влияние различных концентраций метанандамида *in vitro* на уровень экспрессии мито-

ген-активированной протеинкиназы p38 (p38MAPK) в ткани надпочечников крыс. **Материалы и методы.** Материалом для исследований служила ткань надпочечников половозрелых самок крыс линии Вистар. Детекцию p38MAPK проводили иммуноблот-анализом с использованием моноклональных антител.

Результаты. Установлено, что метанандамид повышает уровень экспрессии p38MAPK лишь при концентрации 10^{-8} моль/л.

Вывод. Метанандамид в низких концентрациях (в которых он активирует апоптоз в клетках коры надпочечников самок крыс) может осуществлять этот эффект через привлечение p38MAPK.

Ключевые слова: метанандамид, p38MAPK, надпочечники.

Effect of methanandamide on expression level of mitogen-activated protein kinase p38 in the tissue of adrenal gland rats

N.I. Levchuk, O.I. Kovzun, O.S. Mikosha

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Natl. Acad. Med. Sci. of Ukraine»

Abstract. The aim — the effect of various concentrations of methanandamide *in vitro* on the expression level of mitogen-activated protein kinase p38 (p38MAPK) in the adrenal tissue of rats was studied. **Materials and methods.** The material for examination was the tissue of the adrenal glands of matured male female rats in the Wistar line. The detection of p38MAPK was performed by immunoblotting assay using monoclonal antibodies. **Results.** It was found that the level of p38MAPK expression was only increased at methanandamide concentration of 10^{-8} mol/l. **Conclusion.** Methanandamide under low concentrations (when apoptosis is activated in the cells of the adrenal cortex in female rats) can effect through the involvement of p38MAPK.

Keywords: methanandamide, p38MAPK, adrenal glands.

Investigation of the influence of magnesium ions on the morphofunctional state of the thyroid gland of adult rats

R.V. Yanko

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, Nat. Acad. Sci. of Ukraine

Abstract. Purpose — to investigate the effect of magnesium chloride on the morphometric parameters of the thyroid gland functional state of the adult rats. **Materials and methods.** The study was conducted on 24 male Wistar rats at the age of 15 months. Experimental rats orally received magnesium chloride daily at a dose of 50 mg/kg body weight. Duration of experiment was 21 days. From thyroid tissue preparations were made according to standard histological methods. Gland morphometry was performed on digital images using a computer program «Image J». **Results.** The data indicate that the 21 daily administration of magnesium chloride adult rats increases the area and height of the follicular epithelium, increased follicular-colloidal index, number thyrocytes in the follicle, resorption vacuoles in the colloid, increase the number interfollicular islets, decrease the relative area of connective tissue in the gland. **Conclusions.** The influence of magnesium chloride (at a dose of 50 mg/kg) increases the signs of the thyroid gland synthetic activity. This may be of practical interest in the use of magnesium-containing compounds in persons with thyroid dysfunction.

Keywords: magnesium, thyroid gland, morphometric parameters.

Thyroid disease (TD) is an important medical and social problem all over the world, due to the high prevalence of the pathology that affects the most able-bodied population and children [1]. The spectrum of etiological factors that lead to a thyroid dysfunction can be attributed to: genetic factors, autoimmune diseases, infectious diseases, pernicious habits, radiation damage, etc. [2]. A

special place among the thyroid pathology is an imbalance of macro- and microelements in the body. Deficiency or excess of such elements as iodine, selenium, magnesium, lithium, calcium, cobalt, copper, iron, etc. affect the thyroid, breaking the synthesis and increasing the body's need for thyroid hormones [3].

Magnesium is one of the 12 structural elements that make up 99% of the elemental content of the human body. It is the main intracellular ion involved in carbohydrate, protein and lipid

* Адреса для листування (Correspondence): Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, вул. Богомольця, 4, м. Київ, 01024, Україна.
E-mail: biolag@ukr.net

metabolism, regulates the storage and release of energy in ATP. Magnesium is involved in the functions control of many organs and systems: the nervous, endocrine, cardiovascular, musculoskeletal, digestive tract, and others [4]. Magnesium deficiency in human body is a common phenomenon, which may lead to: a decrease in its content in food, gastrointestinal tract pathology, TD (hyperthyroidism), excessive physical activity, stress, alcohol abuse, etc. [5].

Literary data about magnesium ions influence on the thyroid gland are small and ambiguous. This may be due to the use of various sources of magnesium in experiments, differences in the dosage of magnesium compounds, use in experiments of animals of different species and age, seasonality and duration of experiments, etc. [6-8]. It is known from literature that magnesium deficiency leads to a decrease in thyroid function (hypothyroidism) due to parathyroid gland synergistic function, which regulates the absorption of magnesium. Magnesium stimulates the thyroid gland to produce thyroxine, as well as it is directly involved in the transformation of thyroxin into triiodothyronine. Magnesium also has a direct role in the absorption of iodine by the thyroid [9].

The purpose of the work is to investigate the effect of magnesium chloride on the morphofunctional state of the thyroid gland in adult rats.

Materials and methods

The study was conducted in the spring period (March) of the year on 24 Wistar male rats at the age of 15 months old. The source of magnesium ions was magnesium chloride ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$ Germany) that rats received daily orally at a dose 50 mg/kg body weight. The animals, both the control and the experimental group, were in unified conditions with a standard diet. Duration of experiment was 21 days. The rats were decapitated under a slight, ethereal anesthetic. Studies were performed according to the national «General ethical principles of experiments on animals» (Ukraine, 2001) that are conformed with the regulations of the «European Convention for the Protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes» (Strasbourg, 1985).

Histological medical preparations were made from the thyroid tissue according to the standard method: fixed in a Buena liquid, dehydrated in alcohols of increasing concentration (70-96 °C), and dioxanes. The received samples were poured into paraffin. Paraffin sections, 5-6 mcm thick, were made on a sliding microtome, painted with Bemer hematoxylin and eosin. Two- and three-color methods were used for Van Gyason and Masson for connective tissue elements visualization [10]. Using a digital camera, microdrugs were photographed on a microscope called «Nicon» (Japan). Morphometry was carried out using the computer program «Image J» [11].

The cross-sectional area of the follicles, colloids and follicular epithelium; effective, external and internal diameters of the follicles; height of the follicular epithelium was measured on the thyroid gland histological sections. An average number of thyrocytes in the follicles was calculated. The follicular-colloidal index and colloid accumulation index were determined. Using the method of imposing point morphometric nets, the relative area of the connective tissue, parenchyma of the gland (%) and the index of sclerotization were measured. Layers width of interparticle, interlobular and interfollicular connective tissue were measured [12-14].

Statistical processing was carried out with statistics variation methods using the computer program Statistica 6.0. The normal distribution of digital arrays was checked with the Pearson criterion. With normality of distribution, to estimate the dissimilarity factor in the reliability of the differences between control and experimental groups, Student t-criterion was used. Differences were considered reliable at $p < 0.05$.

Results and discussion

It was found that thyroid gland of rats receiving magnesium chloride has an unchanged structure with preservation of its main structural elements. The structure of the thyroid parenchyma is divided into central and peripheral zones. Yes, animals' thyroid gland contains follicles of oval and elongated shape of different sizes. Follicles of small and medium size are localized in the central part of the gland, and large in size — in the

Оригінальні дослідження

periphery. In the intact animals' thyroid colloid in follicles stains uniform pink color, moderate or dense consistency with resorptive vacuoles. Follicles colloid of experimental animals has moderate density, less foamy with numerous resorptive vacuoles, indicating the release of hormones (**Fig.**).

In animals that received magnesium chloride, the relative area of thyroid gland parenchyma tended to increase (by 5%) compared to control. The cross-sectional area of the follicles and colloids in the experimental rats' thyroid gland remained at the control level, while the area of the follicular epithelium increased in 11% (**Table 1**).

The external, internal and effective diameters of the follicles in the thyroid of rats, after magnesium chloride administration, had no significant deviations from the control parameters. The thyrocytes' average number in the follicle of the

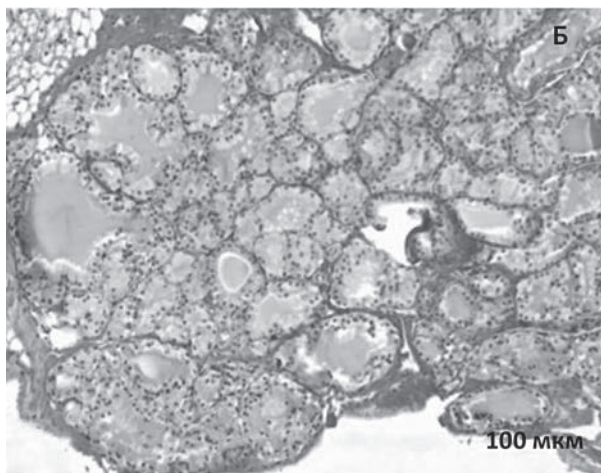
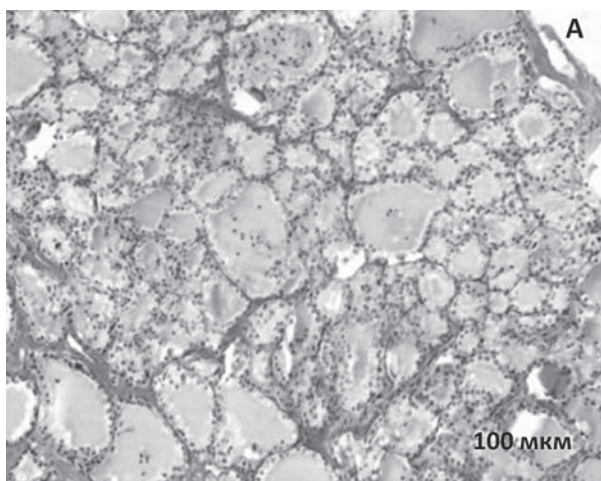


Fig. Microphotography of the thyroid gland of the intact animal (A) and the rat receiving magnesium chloride (B). Stained by the Van Gyason method. $\times 200$.

Table 1. Morphometric indicators of the thyroid gland condition of control and experimental rats ($M \pm m$, $n=12$)

Indicators	Control	Experimental
Relative area of parenchyma, %	77.8 \pm 1.69	81.5 \pm 1.62
Area, mcm ²	3576 \pm 107	3700 \pm 108
of follicle	1605 \pm 96	1517 \pm 85
of colloid	1971 \pm 80	2183 \pm 84
of follicular epithelium	62.9 \pm 2.28	68.0 \pm 1.93
Diameter of follicle, mcm	40.5 \pm 2.14	42.8 \pm 1.39
external	74.1 \pm 2.50	80.6 \pm 2.17
internal	11.2 \pm 0.11	12.6 \pm 0.21 *
effective	20.4 \pm 0.36	23.9 \pm 0.83 *
Height of thyrocytes, mcm	1.23 \pm 0.04	1.44 \pm 0.03 *
Number of thyrocytes in the follicle, units	1.81 \pm 0.17	1.70 \pm 0.37 *
Follicular-colloidal index, units		
Colloid accumulation index, units		

Note: here and in tabl. 2 * — significant difference with control ($p < 0.05$).

experimental rats was more than 17% ($p < 0.05$) compared to the control. Thyrocytes of cubic and prismatic form are a significantly higher than 13% of the control (**Table 1**). The shape of the thyrocytes depends on the functional state of the thyroid. With normal function, they have a cubic form, with hypofunction they become flat, and with hyperfunction they acquire the prismatic form. Thyrocytes of the prismatic form actively resorb thyroglobulin, discharge active hormones and secrete them in the bloodstream [12].

The follicular-colloidal index (the ratio of cross-sectional area of the follicular epithelium to colloid area) in the experimental rats was significantly higher by 17% compared to the control. Then, as the accumulation index of the colloid (the ratio of the internal diameter of the follicle to the double height of the follicular epithelium), on the contrary is tended to decrease by 6% compared with the control (**Table 1**). The growth of the follicular-colloidal index and the decrease of the colloid accumulation index indicate an increase in the secretion of thyroid hormones in the bloodstream [13].

In experimental rats there was a tendency to increase the number of interfollicular islets, which can be considered as a sign of thyroid regeneration processes activation. Interfollicular islets contain small differentiated cells, which can be a source for the new follicles formation [12].

The structure of the thyroid skeleton connective tissue includes a capsule and stroma. In the latter one, it is distinguished interparticle, interlobular and interfollicular and paravasal

connective tissue (CT). Interparticle CT surrounds the lobe of thyroid from the exterior. Interlobular CT divides thyroid parenchyma into lobes. It consists of thin bundles of collagen fibers, interlacing in different directions. Interfollicular CT consists of reticular and collagen fibers, which intertwine in the follicular membranes, linking the follicles among themselves. Paravasal CT surrounds the blood vessels of the thyroid. It is represented mainly by elastin fibers and to a lesser extent, by collagen ones. In addition to thyroid parenchyma cells, in the interfollicular connective tissue layers, CT cells are present, namely: lymphocytes, plasma cells and tissue basophils [15].

It was found that in animals, after magnesium chloride administration, the relative area of stroma in the thyroid gland was lower by 17% ($p < 0.05$) compared to the control group. This led to a significant increase in the index of sclerotization (relative ratio of the thyroid parenchyma to the relative stroma area) by 26%, which may indicate a relative decrease in the CT mass in the thyroid. It was shown that in the experimental animals' thyroid gland, the number of CT elements, depending on the localization, varied in different ways. Thus, in the thyroid gland of the experimental rats, the width of the interparticle CT remained at the control level, interlobular is increased by 24% ($p < 0.05$), and interfollicular, on the contrary, decreased by 12% ($p < 0.05$) compared with the control parameters (**Table 2**). That is, the width of the CT that breaks the lobe in the middle of the thyroid gland increases, and the number of ST elements placed between the follicles themselves, is reduced, which improves the interfollicular metabolism.

The study of magnesium compounds influence on the thyroid condition was carried out by other researchers. It was found that the effect of magnesium sulfate in various doses (0.5; 1

Table 2. Morphometric indicators of connective tissue condition in the thyroid gland of control and experimental rats ($M \pm m$, $n=12$)

Indicators	Control	Experimental
Relative stroma area, %	22.2±0.89	18.5±0.36 *
Sclerotization index, units	3.50±0.21	4.41±0.09 *
Layers width of connective tissue, mcm		
interparticle	24.5±1.36	23.9±1.27
interlobular	9.10±1.09	11.3±0.36 *
interfollicular	1.77±0.03	1.56±0.08 *

and 1.5 g/kg) on Wistar rat lines stimulated thyroid-like peroxidase and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPases}$ for 60 days, modified type I iodine thyronin, increased thyroxin content in the serum, led to hypertrophy of the follicular epithelium, that is, caused hyperthyroidism [7]. In another work, the deficiency and excess of magnesium on C-thyroid cells were investigated. It was shown that magnesium deficiency led to C-cells hypertrophy and hyperplasia, ribosomes hyperplasia and endoplasmic net in them. All this was accompanied by a reduced activity of cholinesterase, an increase in the synthesis and secretion of calcitonin. With a magnesium excess, thyroid C-cells did not increase in size, however, the cholinesterase activity, dopamine synthesis and storage are increased [8].

Conclusions

21-day magnesium chloride administration (at a dose of 50 mg/kg) in adult rats increases the functional activity of the thyroid gland. This is indicated by an increase in the area and height of the follicular epithelium, an increase in the follicular-colloidal index, the number of thyrocytes in the follicle, the presence of numerous resorptive vacuoles in the follicles colloid, an increase in the number of interfollicular islets, and a decrease in the relative area of stroma in the thyroid gland. These data may have not only a theoretical value, but also some practical interest in the magnesium compounds use in persons with impaired function (hypothyroidism) of the thyroid gland.

References

1. Vanderpump MP. The epidemiology of thyroid disease. *Br Med Bull.* 2011 Sept; 99:39-51.
2. Antonelli A, Ferrari SM, Corrado A, Di Domenicantonio A, Fallahi P. Autoimmune thyroid disorders. *Autoimmun Rev.* 2015 Feb;14(2):174-80
3. Moncayo R, Moncayo H. The WOMED model of benign thyroid disease: Acquired magnesium deficiency due to physical and psychological stressors relates to dysfunction of oxidative phosphorylation. *BBA Clin.* 2015 Jun; 3:44-64.
4. Andrea MP. Chapter 3. Magnesium in health and disease. In Sigel A, Sigel H, Roland KO. Sigel. Interrelations between essential metal ions and human diseases. *Metal ions in life sciences.* 2013. Springer. 49-79.
5. Fox C, Ramsoomair D, Carter C. Magnesium: its proven and potential clinical significance. *Southern Med J.* 2003;94(12):1195-201.
6. Tossion R, Brandt G. Magnesium, zinc and copper concentrations in the normal and diseased thyroid gland. *Mag-Bull.* 1988;10:87-90.
7. Chandra AK, Goswami H, Sengupta P. Effects of magnesium on

Оригінальні дослідження

- cytomorphology and enzyme activities in thyroid of rats. *Indian J Exp Biol.* 2014 Aug;52(8):787-92.
8. Stachura JA, Pearse AG. Thyroid C cells in experimental hyper and hypomagnesaemia. *Virchows Archiv B.* 1970;5:173.
 9. Jones JE, Desper PC, Shane SR, Flink EB. Magnesium metabolism in hyperthyroidism and hypothyroidism. *J Clin Invest.* 1966 Jun;45(6):891-900.
 10. Danilov RK. Guide to histology. St. Petersburg. Spec Lith. 2011; II.
 11. Nikonenko AG. Introduction to quantitative histology. Kyiv: Knihga-Plus. 2013.
 12. Zabrodin VA. Morphology of thyroid and methods of its study: methodical recommendations. Smolensk: SGMA. 2005.
 13. Nikishin DV. Morphology and methods of thyroid research: methodical recommendations. Penza: Inf. of publ. center PGU. 2008.
 14. Yanko RV. Morphofunctional state of the thyroid gland after exposure to normobaric hypoxic gas mixtures. *Endokrinolohiya.* 2016;21(1):33-7.
 15. Ludwig KS. Structure of the thyroid gland; I. Structure of connective tissue. *Acta Anat (Basel).* 1952;15(3):300-8.

(Надійшла до редакції 19.06.2018 р.)

Дослідження впливу іонів магнію на морфо-функціональний стан щитоподібної залози дорослих щурів

Р.В. Янко

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

Резюме. Мета роботи — дослідити вплив магнію хлориду на морфометричні показники функціонального стану щитоподібної залози дорослих щурів. **Матеріали та методи.** Дослідження проведено на 24 щурах-самцях лінії Wistar віком 15 місяців. Дослідні щури щодня перорально отримували магнію хлорид у дозі 50 мг/кг маси тіла. Тривалість експерименту становила 21 добу. З тканини щитоподібної залози виготовляли гістологічні препарати за стандартною методикою. Морфометрію залози здійснювали на цифрових зображеннях за допомогою комп'ютерної програми Image J. **Результати.** Отримані дані свідчать, що 21-добове введення магнію хлориду дорослим щурам призводить до збільшення площі та висоти фолікулярного епітелію, зростання фолікулярно-колоїдного індексу, кількості тиреоцитів у фолікулі, резорбційних вакуолей у колоїді, чисельності інтерфолікулярних

острівців, зменшення відносної площі стромы в залозі. **Висновки.** Введення магнію хлориду (у дозі 50 мг/кг) посилює ознаки синтетичної активності щитоподібної залози. Це може мати практичне значення щодо використання магнієвмісних сполук в осіб із порушенням функції щитоподібної залози.

Ключові слова: магній, щитоподібна залоза, морфометричні показники.

Исследование влияния ионов магния на морфо-функциональное состояние щитовидной железы взрослых крыс

Р.В. Янко

Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины

Резюме. Цель — исследовать влияние магния хлорида на морфометрические показатели функционального состояния щитовидной железы взрослых крыс. **Материалы и методы.** Исследование проведено на 24 крысах-самцах линии Wistar в возрасте 15 месяцев. Подопытные крысы ежедневно перорально получали магния хлорид в дозе 50 мг/кг массы тела. Продолжительность эксперимента составляла 21 сутки. Из ткани щитовидной железы изготавливали гистологические препараты по стандартной методике. Морфометрию железы осуществляли на цифровых изображениях с помощью компьютерной программы Image J. **Результаты.** Полученные данные свидетельствуют, что 21-суточное введение магния хлорида взрослым крысам приводит к увеличению площади и высоты фолликулярного эпителия, росту фолликулярно-коллоидного индекса, количества тиреоцитов в фолликулах, резорбционных вакуолей в коллоиде, увеличению численности интерфолликулярных островков, уменьшению относительной площади стромы в железе. **Выводы.** Введение магния хлорида (в дозе 50 мг/кг) усиливает признаки синтетической активности щитовидной железы. Это может иметь практический интерес относительно использования магнийсодержащих соединений у лиц с нарушением функции щитовидной железы.

Ключевые слова: магний, щитовидная железа, морфометрические показатели.



Реєструйтеся на сайті:
www.chil.com.ua

“ЛЮДИНА ТА ЛІКИ” - УКРАЇНА 2018

РЕГІОНАЛЬНИЙ КОНГРЕС

12 вересня, м. Дніпро

КДЦ "Менора"

вул. Шолом-Алейхема, 4/26

4-5 жовтня м. Одеса
Медичний Дім Odrex,
вул.Розкидайлівська, 69/71

19 жовтня м. Львів
готель "Супутник", вул. Княгині Ольги, 116

9 листопада м. Запоріжжя

23 листопада м. Харків

Дивіться пряму інтернет-трансляцію
обраних лекцій на головній сторінці порталу
www.chil.com.ua

Оргкомітет: ТОВ «Нью Віво»
Адреса: м. Київ.
вул. С. Петлюри. 13/135, офіс 23 (2 поверх)
Тел./факс: +38 044 287 07 20
e-mail: office@newvivo.com.ua

International Exhibition



27-а Міжнародна медична виставка «ОХОРОНА ЗДОРОВ'Я»

2-4 **ЖОВТНЯ** **2018**

Київ, МВЦ, Броварський пр-т, 15
Ⓜ Лівобережна



У рамках виставки відбудеться:

Всеукраїнська відзнака

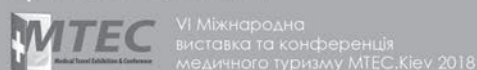
«ГОЛОВНИЙ ЛІКАР РОКУ – 2018»

Організатори:



Прем'єр Експо
Тел: +38 (044) 496 86 45
E-mail: ph@pe.com.ua

Проходить одночасно:



www.publichealth.com.ua

Современные подходы к лечению трофических язв нижних конечностей

С.А. Мунтян¹,
И.В. Носенко¹,
О.В. Лященко²

¹ Днепропетровская клиническая больница на железнодорожном транспорте филиала «ЦОЗ»

ПАО «Укрзалізниця», г. Днепр

² ФПО ГУ «ДМА» МЗ Украины, г. Днепр

Резюме. Синдром диабетической стопы (СДС) объединяет патологические изменения периферической нервной системы, артериального и микроциркуляторного русла, явления остеоартропатии, представляющие непосредственную угрозу развития язвенно-некротических процессов и гангрены стопы. Поражение нижних конечностей в большинстве случаев ведет к инвалидизации пациента. Частота ампутаций конечностей у больных СД составляет 50-70% общего количества всех нетравматических ампутаций. Увеличение количества людей, болеющих СД 5 лет и более, которые имеют высокий риск развития СДС, обуславливает необходимость оптимизации терапии, разработки новых комбинаций и методик лечения таких пациентов. Применение препарата на основе гиалуроновой кислоты — Лацерта в комплексном лечении пациентов с СДС позволило сократить сроки госпитализации, увеличить время ремиссии, стабилизировать течение заболевания, значительно улучшить качество жизни пациента.

Ключевые слова: сахарный диабет, синдром диабетической стопы, трофические язвы, пролежни, некрэктомия, гиалуроновая кислота, Лацерта.

Синдром диабетической стопы (СДС) объединяет патологические изменения периферической нервной системы, артериального и микроциркуляторного русла, явления остеоартропатии, представляющие непосредственную угрозу развития язвенно-некротических процессов и гангрены стопы. СДС — одно из наиболее грозных осложнений сахарного диабета (СД), развивающееся более чем у 70% боль-

ных. Хотя поражение нижних конечностей достаточно редко является непосредственной причиной смерти пациентов, оно в большинстве случаев ведет к инвалидизации. Частота ампутаций конечностей у больных СД в 15-30 раз превышает данный показатель в общей популяции и составляет 50-70% общего количества всех нетравматических ампутаций. Однако следует особо отметить, что при СД 2-го типа уже на момент постановки диагноза от 30% до 50% больных имеют признаки поражения нижних конечностей той или иной

* Адреса для листування (Correspondence): Дніпропетровська клінічна лікарня на залізничному транспорті філії «ЦОЗ» ПАТ «Укрзалізниця», вул. Кедріна, 55, м. Дніпро, 49047, Україна. E-mail: igornose1977@gmail.com

Клінічні спостереження

степени. Течение раневого процесса у больных СД имеет свои особенности: более низкая скорость эпителизации, склонность к генерализации инфекционного процесса, отрицательное влияние на репаративные процессы хронической почечной недостаточности.

Достаточно велики и экономические затраты, необходимые для проведения адекватного лечения этой большой категории пациентов, и следует помнить, что при использовании оперативных методов эти затраты возрастают в 2-4 раза. Это связано как с более высокой стоимостью самого хирургического лечения, так и с увеличением затрат на последующую реабилитацию (протезирование, полная потеря трудоспособности). Ампутация одной конечности ведет к возрастанию нагрузки на другую, и вследствие этого многократно увеличивается риск развития язвенных дефектов и на контралатеральной конечности. Выделяют три клинические формы поражения нижних конечностей при СД:

1. Нейропатическая стопа. При осмотре подошвенной части стопы можно выявить язву, окруженную валиком ороговелости. Классическая локализация язвы — под головками плюсневых костей. Интенсивное вертикальное и боковое давление на подошвенную поверхность приводит к образованию мозоли. Ороговелости безболезненны. Внутри мозоли развиваются воспалительный аутолиз и подкожные гематомы, под мозолью образуется тканевой некроз в виде небольшой полости, наполненной жидкостью, при распространении процесса до поверхности кожи формируется язва. При механической и химической травме, а реже — спонтанно — возможно образование волдырей. Глубокие волдыри заживают медленно, часто рецидивируют и приводят к некрозу кожи. Некротические участки отделяются медленно, превращаются в гранулирующие язвы. Часто язва инфицируется. Пульс на стопе хорошо пальпируется, кожа розовая, теплая, стопа нередко отекает. Из-за отека пульс на пораженной стопе в отдельных случаях может не определяться, но на другой стопе он обычно хорошо выражен. Характерны большая длительность заболевания, плохая компенсация углеводного обмена, наличие других осложнений СД.

2. Ишемическая стопа. Развивается при облитерирующих заболеваниях артерий и характеризуется некрозами кончиков пальцев, краевых поверхностей стопы. Стопа холодная, бледная, цианотичная, пульсация ослаблена или отсутствует на обеих стопах. Язвы на ишемической стопе образуются без предшествующих ороговелостей. Ишемические язвы болезненны. Существенного нарушения чувствительности может не быть. Боли уменьшаются, если ноги в опущенном состоянии. Выявляют факторы риска атеросклероза и атеросклеротическое поражение других органов.

3. Смешанная форма. Данный тип поражения особенно опасен, поскольку боли, наблюдающиеся при ишемическом поражении нижних конечностей, длительное время остаются маловыраженными. В результате могут образовываться большие язвы, плохо поддающиеся лечению. Язва может быть болезненной или безболезненной, края эритематозные, ороговелостей мало или они отсутствуют, имеется сероватый налет без или с малым количеством отделяемого. Язва углубленная, часто присутствует анаэробная инфекция.

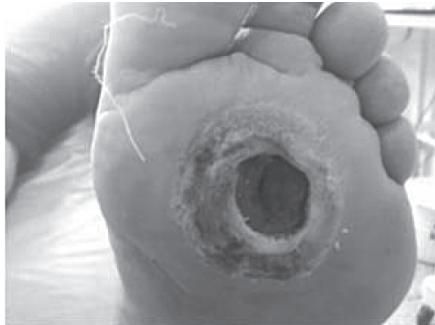
Во всем мире наблюдается тенденция к увеличению заболеваемости СД, поэтому количество людей, болеющих диабетом 5 и более лет, которые имеют высокий риск развития СДС, будет и дальше возрастать. Это обуславливает необходимость оптимизации терапии, разработки новых комбинаций и методик лечения больных с СДС.

С учетом изложенного выше особый интерес представляет применение препарата на основе гиалуроновой кислоты — Лацерта («Юрия-Фарм», Украина). Лацерта активирует миграцию и пролиферацию фибробластов, ускоряет их метаболическую активность, усиливает ангиогенез, способствует заживлению ран в условиях нарушенной трофики. Предназначен для использования в FTR-методике (Fast Tissue Regeneration) в лечении длительно существующих дефектов покровных тканей (трофических язв, пролежней, свищей). Может применяться как самостоятельно, так и в комплексе с другими методами лечения.

Следует отметить, что, хотя препараты и биоматериалы на основе гиалуроновой кис-

лоты разрабатываются сейчас во всем мире, клинических исследований по изучению их эффективности пока немного. Что касается Лацерты, то украинские специалисты уже накопили некоторый опыт использования этого препарата.

В своей практике мы применяли Лацерту в сочетании с парциальными некрэктомиями при трофических язвах нижних конечностей на фоне СД у 27 больных.



до лечения

через 2 недели,
после 3 уколовчерез 1,5 месяца,
после 7 уколовчерез 5 недель,
после 6 уколовчерез два месяца
от начала лечения

Рис. 1. Пациент Т, мужчина, 51 год. Диагноз СДС, трофическая язва 1,5 год.

Введение Лацерты выполняли в разовой дозе 1 мл, интервал между введениями — 7-10 суток. Как правило, курс лечения состоял из 2-3 инъекций, 2 больным потребовалось 6-7 инъекций.

Ниже предлагаем несколько клинических случаев использования Лацерты у пациентов.

В результате применения Лацерты отмечено следующее:

- процессы эпителизации в ране начинаются на 4-5-е сутки после первой инъекции (от 1 мм до 3 мм по периметру раны);
- выраженное уменьшение болевого синдрома происходит после 2-3 инъекций;
- средняя длительность госпитализации сокращается на 8,4 дня (первые 2-3 инъекции проводили в стационаре, остальные — амбулаторно);
- хороший результат (полное закрытие дефекта, исчезновение боли, курс лечения —



до лечения

через 5 недель,
после 6 уколовчерез 2 недели,
после 3 уколовчерез 1,5 месяца
от начала лечения

Рис. 2. Пациент Р, мужчина, 48 лет. Диагноз СДС, трофическая язва 6 месяцев.

Клінічні спостереження



Рис. 3. Пациент Ф., мужчина, 54 года. Диагноз СДС, трофическая язва 3 месяца.

3 инъекции) был достигнут у 20 больных, 2 больным потребовался курс из 6-7 инъекций для достижения хорошего результата.

Выводы

Применение препарата на основе гиалуроновой кислоты — Лацерта в комплексном лечении трофических язв позволяет значительно сократить сроки госпитализации, увеличить время ремиссии, стабилизировать течение заболевания, значительно улучшить качество жизни пациента.

Список использованной литературы

1. Анциферов МБ, Галстян ГР, Токмакова АЮ. Диагностика диабетической нейропатии (Методические рекомендации). Москва: Федеральный диabetологический центр МЗ РФ, 1998.

2. Токмакова АЮ. Принципы местного лечения трофических язв стоп у больных сахарным диабетом. Москва, 2001. (Tokmakova AYU. Principles of local treatment of trophic foot ulcers in patients with diabetes mellitus. Moskva, 2001).
3. Григорьева ЮФ, Балтрушевич ОА. Актуальные вопросы преемственности диагностики и комплексного лечения больных с синдромом диабетической стопы. М., 2000. (Grigor'yeva YuF, Baltrushevich OA. Actual questions of continuity of diagnostics and complex treatment of patients with diabetic foot syndrome. Moskva, 2000).
4. Гурьева ИВ. Профилактика, лечение, медико-социальная реабилитация и организация междисциплинарной помощи больным с синдромом диабетической стопы. Дис. докт. мед. наук. Москва, 2001. (Gur'yeva IV. Prevention, treatment, medical and social rehabilitation and organization of interdisciplinary care for patients with diabetic foot syndrome. Dis. dokt. med. nauk. Moskva, 2001).
5. Гладун НВ, Кириак СЕ, Васкан АТ, Кучейник СВ, Берназ ИЛ, Берназ ЭЛ. Хирургическое лечение трофических язв и гангрены у больных сахарным диабетом. Москва, 2000. (Gladun NV, Kiriyak SYe, Vaskan AT, Kucheynik SV, Bernaz IL, Bernaz EL. Surgical treatment of trophic ulcers and gangrene in patients with diabetes mellitus. Moskva, 2000).
6. Панько СВ, Окулич ВК, Булавкин ВП, Оладько АА, Карпицкий АС. Характер микрофлоры и особенности антибактериальной терапии у больных с гнойно-некротическими поражениями мягких тканей с синдромом диабетической стопы. Москва, 2000. (Pan'ko SV, Okulich VK, Bulavkin VP, Olad'ko AA, Karpitskiy AS. The nature of microflora and features of antibacterial therapy in patients with purulent necrotic lesions of soft tissues with the syndrome of the diabetic foot. Moskva, 2000).
7. Храмылин ВН, Демидова ИЮ, Рагозин АК. Перспективы клинического применения альфа-липоевой кислоты. Москва, 2001. (Khramilin VN, Demidova IYu, Ragozin AK. Perspectives of clinical use of alpha-lipoic acid. Moskva, 2001).
8. International Consensus on the Diabetic Foot (by the International Working Group on the Diabetic Foot). 1999.
9. Boulton A, Connor H, Cavanagh P. The foot in diabetes. UK, Wiley, 1994.
10. European Diabetes Policy Group 1998-1999: Guidelines for diabetes care: A desktop guide to type 2 diabetes mellitus. International Diabetes Federation. European Region, 1999:1-22.
11. Осложнения сахарного диабета (клиника, диагностика, лечение, профилактика). Под ред. ИИ Дедова. Москва, 1995:42 с. (Complications of diabetes mellitus (clinic, diagnosis, treatment, prevention). II Dedov (ed). Moskva, 1995:42 p.).
12. Батрашов ВА, Сидоров АК. Частота возникновения облитерирующего атеросклероза нижних конечностей у больных сахарным диабетом 1 и 2 типа. В кн.: Современные аспекты диагностики, лечения, профилактики поражений нижних конечностей у больных сахарным диабетом. Труды научно-практической конференции. Москва, 1996:38-41. (Batrashov VA, Sidorov AK. The incidence of obliterating atherosclerosis of the lower limbs in patients with type 1 and type 2 diabetes. In the book: Modern aspects of diagnosis, treatment, prevention the lower extremities lesions in patients with diabetes mellitus. Proceedings of the scientific-practical conference. Moskva, 1996:38-41).
13. Брискин БС, Сакунова ТИ, Якобишвили ЯИ. Роль препарата мидокалм в комплексном лечении больных с синдромом «диабетической стопы», нейропатическая форма поражения. Хирургия. 2000;5:52-5. (Briskin BS, Sakunova TI, Yakobishvili YaI. The role of the drug midokalm in the complex treatment of patients with the syndrome of «diabetic foot», a neuropathic form of lesion. Khirurgiya. 2000;5:52-5).
14. Брискин БС, Тартаковский ЕА, Гвоздев НА. Лечение осложненных форм синдрома диабетической стопы в условиях специализированного хирургического отделения. Хирургия. 1999;10:53-6. (Briskin BS, Tartakovskiy YeA, Gvozdev NA. Treatment of complicated forms of the diabetic foot syndrome in the conditions of a specialized surgical department. Khirurgiya. 1999;10:53-6).

15. Бесман БМ, Галенко-Ярошевский ПА, Мехта СК, Тралдафиров КВ. Предотвращение ампутаций конечности у больных с осложнением «диабетической стопы». Хирургия. 1999;10:49-52. (Besman BM, Galenko-Yaroshevskiy PA, Mekhta SK, Traldafirov KV. Prevention of limb amputations in patients with complications of the «diabetic foot». Khirurgiya. 1999;10:49-52).

(Надійшла до редакції 20.06.2018 р.)

Сучасні підходи до лікування трофічних виразок нижніх кінцівок

С.О. Мунтян, І.В. Носенко, О.В. Лященко

Дніпропетровська клінічна лікарня на залізничному транспорті філії «ЦОЗ» ПАТ «Укрзалізниця»
ФПО ДУ «ДМА» МОЗ України

Резюме. Синдром діабетичної стопи (СДС) об'єднує патологічні зміни периферичної нервової системи, артеріального та мікроциркуляторного русла, явища остеоартропатії, що становлять безпосередню загрозу розвитку виразково-некротичних процесів і гангрені стопи. Ураження нижніх кінцівок у більшості випадків веде до інвалідизації пацієнта. Частота ампутацій кінцівок у хворих на ЦД становить 50-70% загальної кількості всіх нетравматичних ампутацій. Зростання кількості людей, які хворіють на ЦД 5 років і більше, що мають високий ризик розвитку СДС, зумовлює необхідність оптимізації терапії, розробки нових комбінацій і методик лікування таких пацієнтів. Застосування препарату на основі гіалуронової кислоти — Лацерта в комплексному лікуванні пацієнтів із СДС дозволило скоротити термін госпіталізації, збільшити час ремісії, стабілізувати перебіг захворювання, значно поліпшити якість життя пацієнта.

Ключові слова: цукровий діабет, синдром діабетичної стопи, трофічні виразки, пролежні, некректомія, гіалуронова кислота, Лацерта.

Modern approaches to treating trophic ulcers of lower extremities

S.A. Muntyan, I.V. Nosenko, O.V. Lyashchenko

Dnepropetrovsk Clinical Hospital on railway transport of the branch «PIC» PAT «Ukrzaliznytsia»
Intensive Care and Medicine of Emergency Conditions DMA, Ministry of Health of Ukraine

Abstract. The diabetic foot syndrome combines pathological changes in the peripheral nervous system, arterial and microcirculatory bed, and the phenomena of osteoarthropathy, which directly threaten the development of ulcerative necrotic processes and gangrene of the foot. The defeat of the lower limbs in most cases leads to disability of the patient. The frequency of limb amputations in patients with diabetes is 50-70% of the total number of all non-traumatic amputations. As the number of people with diabetes is increasing for 5 years or more, who have a high risk of developing VTS, there is a need to optimize therapy, develop new combinations and methods for treating patients with VTS. The use of the drug on the basis of hyaluronic acid — Lacerta in the complex treatment of SDS allowed to shorten the periods of hospitalization, increase the time of remission, stabilize the course of the disease, significantly improve the patient's quality of life.

Keywords: diabetes mellitus, diabetic foot syndrome, trophic ulcers, pressure ulcers, necrectomy, hyaluronic acid, Lacerta.

Українсько-Американський тиреоїдний проект: огляд наукових публікацій з питань клінічної патології

М.Д. Тронько,
І.П. Пастер,
Г.А. Замотаєва

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Представлено огляд наукових публікацій з питань клінічної патології за результатами виконання Українсько-Американського тиреоїдного проекту.

Ключові слова: аварія на Чорнобильській АЕС, Українсько-Американський тиреоїдний проект, наукові публікації, огляд.

26 квітня 1986 року внаслідок аварії на четвертому реакторі Чорнобильської атомної електростанції (ЧАЕС) стався викид величезної кількості радіоактивних речовин у довкілля, які у вигляді радіоактивних опадів осіли на великих територіях України та Білорусі. Особливу небезпеку для організму людини становить радіоактивний йод, який надходить аліментарним або інгаляційним шляхом та інтенсивно накопичується в щитоподібній залозі (ЩЗ), викликаючи порушення в її роботі.

Головним медичним наслідком аварії на ЧАЕС, визнаним провідними науковими та медичними установами світу, є значне зростання захворюваності на рак ЩЗ серед осіб, яким на момент аварії було менше від 18 років. У низці

епідеміологічних досліджень продемонстровано зв'язок між зовнішнім рентгенівським або гамма-опроміненням і непухлинною патологією ЩЗ (зокрема, автоімунним тиреоїдитом, дифузним токсичним зобом і гіпотиреозом).

На сьогодні вірогідні епідеміологічні докази наявності зв'язку між опроміненням радіоактивними ізотопами йоду та ризиком розвитку злоякісних пухлин ЩЗ у дитячому віці є значно обмеженими, а вплив інших чинників (зокрема, йододефіциту в районах мешкання постраждалих, скринінгових програм із виявлення тиреоїдного раку в населення тощо) на зростання цього показника недостатньо враховано.

Для детального вивчення медичних наслідків впливу іонізуючого опромінення ЩЗ унаслідок аварії на ЧАЕС проводяться широкомасштабні дослідження, а їх результати публікуються в провідних наукових журналах. Так, аналіз публіка-

* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна. E-mail: pasteur@ukr.net

цій в електронно-пошуковій системі PubMed, що її розроблено Національною медичною бібліотекою США (National Library of Medicine), дав 3592 записи під ключові слова «Chernobyl/Chornobyl» and «radiation» і 947 записів під ключові слова «Chernobyl/Chornobyl» and «thyroid» станом на 01.02.2018 року.

Виконання спільного Українсько-Американського проекту «Науковий проект дослідження раку та інших захворювань щитоподібної залози в Україні в результаті аварії на Чорнобильській АЕС» (Проект), що передбачав обстеження мешканців України: а) які на момент аварії на ЧАЕС постійно мешкали або тимчасово перебували в найбільш радіаційно забруднених районах Житомирської, Київської та Чернігівської областей, б) яким на момент аварії було до 18 років, в) яким у перші тижні після аварії було проведено радіометрію ЩЗ, г) яких було відібрано згідно з методом випадкової вибірки, було започатковано 1998 року.

Детальну інформацію про Проект (порядок формування когорти потенційних членів когорти, визначення їх теперішнього місця постійного мешкання або тимчасового перебування, запрошення на перше скринінгове обстеження та процедура його проведення, характеристика членів когорти та результатів їх обстеження та низка інших питань) наведено в попередній публікації [1].

Виконавцями Проекту з українського боку є ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В.П. Комісаренка НАМН України» (головна установа-виконавець від України, далі – Інститут), ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», Управління охорони здоров'я Житомирської, Київської та Чернігівської обласних державних адміністрацій, з американського боку – National Cancer Institute (головна установа-виконавець від Сполучених Штатів Америки), Columbia University і U.S. Department of Energy.

Основна мета виконання Проекту передбачає проведення медичного обстеження стану ЩЗ в осіб, які постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС, вчасне виявлення тиреоїдної патології, надання необхідної медичної допомоги та оцінка ролі радіації у виникненні захворювань ЩЗ, у тому числі злоякісних пухлин залози.

Згідно з протоколом Проекту один раз на два роки всі члени когорти мали проходити обсте-

ження, яке складалося з реєстрації, ультразвукового обстеження ЩЗ, аналізу крові (визначення рівнів тиреотропного гормону, вільного тироксину, тиреоглобуліну, іонізованого кальцію, антитіл до тиреопероксидази та тиреоглобуліну) та визначення рівня йоду в сечі, консультації лікаря-ендокринолога з пальпацією ЩЗ, а також опитування з метою реконструкції доз опромінення ЩЗ. За необхідності призначали додаткове поглиблене обстеження в клініці Інституту (зокрема, тонкогловку аспіраційну пункційну біопсію ЩЗ) і відповідне лікування.

Обстеження проводили протягом 5 циклів: квітень 1998 р. – грудень 2000 р., березень 2001 р. – грудень 2003 р., травень 2003 р. – квітень 2005 р., травень 2005 р. – квітень 2007 р., квітень 2012 р. – грудень 2015 р.

Раніше нами було опубліковано огляд наукових публікацій із питань епідеміології, дозиметрії та йодного забезпечення за результатами виконання Проекту [1].

Предметом цього огляду є інформація про наукові публікації з питань клінічної патології за результатами виконання Проекту. За весь період виконання Проекту (1998-2017 рр.) опубліковано 18 наукових праць із цієї проблематики.

ПУБЛІКАЦІЇ ЩОДО НОВОУТВОРЕНЬ ЩЗ

Bogdanova TI, Zurnadzhy LY, Greenebaum E, McConnell RJ, Robbins J, Epstein OV, et al. A cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the Chernobyl accident: pathology analysis of thyroid cancer cases in Ukraine detected during the first screening (1998-2000) // Cancer. 2006 Dec;107(11):2559-66.

З 1998 до 2004 р. 80 членам когорти провели операцію на ЩЗ. За результатами інтраопераційного та поопераційного патогістологічного аналізу виявлено 45 карцином ЩЗ, у тому числі 43 папілярні (95,6%) і 2 фолікулярні (4,4%).

За класифікацією TNM (5-е видання) папілярні карциноми включали 8 пухлин T1 (18,6%), 16 пухлин T2 (37,2%) і 19 пухлин T4 (44,2%). 15 папілярних карцином (34,9%) були N1a, N1b і 3 ПТК (7,0%) – M1. Серед папілярних карцином розподіл гістологічної картини такий: 8 – класична папілярна (18,6%), 14 – фолікулярна (32,6%), 5 – солідна (11,6%) і 16 – мішана (37,2%). Обидві фолікулярні карциноми мали мікрофолікулярну солідну структуру.

Огляди

Одинадцять із 20 членів когорти, які перенесли операцію перед першим скринінгом, мали папілярну карциному. У цій групі було більше поширено регіонарні (63,6%) та віддалені (18,2%) метастази. У цілому мультифокальний ріст, інвазії лімфатичних і кровоносних судин, екстра-тиреоїдне поширення, регіональне та віддалене метастазування частіше спостерігали в менш диференційованих папілярних карциномах (>30% солідної структури).

Малі карциноми (≤ 10 мм) становили 23,3% папілярних карцином, і більшість із них (80%) мали папілярно-фолікулярний підтип, а тому були більш диференційованими. Солідний підтип папілярних карцином було пов'язано з меншою латентністю, надто в осіб, у яких захворювання було діагностовано перед першим скринінгом. Загалом гістологія післячорнобильських раків змінюється з часом.

Tronko MD, Howe GR, Bogdanova TI, Bouville AC, Epstein OV, Brill AB, et al. A cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the chornobyl accident: thyroid cancer in Ukraine detected during first screening // J Natl Cancer Inst. 2006 Jul;98(13):897-903.

1998-2000 роками із 32385 мешканців найбільш радіоактивно забруднених районів України, яким на момент аварії на ЧАЕС було <18 років і які були запрошеними для обстеження ЩЗ за допомогою ультразвуку та пальпації, пройшли процедуру 13127 осіб.

Виявлено 45 патогістологічно підтверджених випадків раку ЩЗ, який виявив сильний, монотонний і приблизно лінійний зв'язок з індивідуальними оцінками дози ЩЗ ($p < 0,001$), що дало оцінку ексцесу відносного ризику 5,25 на Гр (95% довірчий інтервал, 1,70-27,5). Більший на час опромінення було пов'язано зі зниженням ризику радіаційного раку ЩЗ, хоча цей ефект взаємодії не був статистично значущим.

За відсутності Чорнобильського опромінення очікували би 11,2 випадку раку ЩЗ порівняно з 45 спостереженими, тобто зменшення становило би 75% (95% довірчий інтервал, 50-93%). Дослідження також забезпечує кількісну оцінку ризику, мінімально обмежену будь-якими ефектами скринінгу. Обережно слід вживати заходів з узагальнення цих результатів на будь-які подібні аварії в майбутньому через можливі розбіжності в характері задіяних радіоактивних йодів, тривалості та часовій структурі опромінення й радіочутливості опроміненої популяції.

Zablotska LB, Bogdanova TI, Ron E, Epstein OV, Robbins J, Likhtarev IA, et al. A cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the Chornobyl accident: dose-response analysis of thyroid follicular adenomas detected during first screening in Ukraine (1998-2000) // Am J Epidemiol. 2008 Feb;167(3):305-12.

Протягом 20 років після аварії на ЧАЕС було діагностовано та проліковано близько 5000 випадків диференційованого раку ЩЗ у молодих людей, які в дитинстві зазнали дії радіоактивних викидів унаслідок аварії на ЧАЕС. На момент встановлення діагнозу в 60-70% випадків було клінічно виявлено метастази в шийних лімфатичних вузлах (N1) і в 10-15% випадків — віддалені метастази (M1).

Незважаючи на ранні повідомлення про особливу агресивність післячорнобильського раку ЩЗ у дітей, наразі вважають, що початкові прояви та ранній клінічний перебіг більшості цих випадків дуже подібні як до неасоційованих із радіацією педіатричних раків ЩЗ, так і до тироїдних карцином, що виникли після дії зовнішнього опромінення.

Для середнього періоду клінічного спостереження близько 10 років рівень смертності від раку ЩЗ у дітей, що розвинувся після аварії на ЧАЕС, є досить низьким (1% або менше). Як і очікувалося, короточасні показники рецидивів раку ЩЗ у дітей коливаються в діапазоні від 7% до 28% в опублікованих звітах (у середньому — 17%).

Проте довгострокові дослідження раку ЩЗ у дітей показують, що, хоча 30-річна смертність від захворювань має становити близько 1%, ризик розвитку рецидиву структурних захворювань становить близько 30% (серед яких 80%, як очікується, будуть регіональними рецидивами та 20%, імовірно, — новими віддаленими метастазами).

Прогнозується, що за 30 років спостереження смертність в 1% від захворювань у групі з 5000 осіб дасть приблизно 50 смертей, безпосередньо пов'язаних із раком ЩЗ. Водночас показник рецидивів 30% також означає, що майже в 1500 пацієнтів можуть розвинутися клінічно значущі рецидиви, які необхідно буде діагностувати та лікувати. Надзвичайно важливо забезпечити вчасне діагностування та лікування цих пацієнтів.

Bozhok Y, Greenebaum E, Bogdanova TI, McConnell RJ, Zelinskaya A, Brenner AV, et al.

NA cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the Chernobyl accident: cytohistopathologic correlation and accuracy of fine-needle aspiration biopsy in nodules detected during the first screening in Ukraine (1998-2000) // Cancer Cytopathol. 2009 Apr;117(2):73-81.

Члени когорти із середньою арифметичною дозою на ЩЗ 0,79 Гр обстежуються шляхом пальпації та УЗД ЩЗ і направляються на хірургічне лікування за результатами ТАПБ ЩЗ. Проте невідомою є точність цитологічних висновків для виявлення гістопатологічно підтвердженої злоякісності після такого рівня внутрішнього опромінення радіоїодом.

Протягом першого скринінгового циклу (1998-2000 рр.) 356 членів когорти з вузлами ЩЗ отримали направлення на ТАПБ ЩЗ, і 288 осіб пройшли обстеження, 85 осіб було направлено на хірургічне лікування, з яких 82 хворих прооперовано, а 78 особам було виконано передопераційне цитологічне дослідження.

Як результат, усі 24 цитологічні висновки з діагнозом «папілярний рак ЩЗ» підтверджено патогістологічно (позитивне прогностичне значення, 100%); з 11 цитологічних висновків із підозрою на папілярний рак було підтверджено 10 (позитивне прогностичне значення, 90,9%). Десять із 41 пункції, які інтерпретувалися як визначені або підозрілі на фолікулярні новоутворення, було підтверджено як злоякісні (позитивне прогностичне значення, 24,4%), включаючи 2 фолікулярних раки ЩЗ і 8 папілярних карцином (усі, за винятком 1, – фолікулярного або мішаного підтипу).

Залежно від того, чи вважається цитологічна інтерпретація фолікулярних новоутворень «позитивною» або «негативною», чутливість пункції становить 100% і 77,3% відповідно; специфічність – 17,6% і 97,1% відповідно; позитивне прогностичне значення – 61,1% і 97,1%, а негативне прогностичне значення – 100% і 76,7%. У цілому чутливість і прогностична цінність ТАПБ ЩЗ у членів когорти були подібними до тих, що спостерігалися в звичайних популяціях.

Brenner AV, Tronko MD, Hatch M, Bogdanova TI, Oliynik VA, Lubin JH, et al. I-131 dose response for incident thyroid cancers in Ukraine related to the Chernobyl accident // Environ Health Perspect. 2011 Jul;119(7):933-9.

Протягом другого-четвертого скринінгів Проекту та 73 004 людино-років спостереження

в членів когорти було виявлено 65 випадків раку ЩЗ. У відносній та абсолютній моделях ризику співвідношення «доза-ефект» узгоджується з лінійним, хоча модель відносного ризику описує дані краще, ніж модель абсолютного ризику.

Експес відносного ризику в перерахунку на Гр становив 1,91 (95% довірчий інтервал, 0,43-6,34), а експес абсолютного ризику в перерахунку на 10(4) людино-років/Гр – 2,21 (95% довірчий інтервал, 0,04-5,78). Експес відносного ризику в перерахунку на Гр значною мірою залежав від області мешкання, але не залежав від часу після виявлення, йодної профілактики, йодного статусу, статі, віку члена когорти або розміру його пухлини.

Ризик раку ЩЗ, пов'язаний із радіоїодом, зберігався протягом двох десятиліть після опромінення, без ознак зменшення протягом періоду спостереження. Радіаційні ризики, хоча й менші, є порівнянними з ретроспективними та екологічними дослідженнями після аварії на ЧАЕС.

Tronko M, Mabuchi K, Bogdanova T, Hatch M, Likhtarev I, Bouville A, et al. Thyroid cancer in Ukraine after the Chernobyl accident (in the framework of the Ukraine-US Thyroid Project) // J Radiol Prot. 2012 Mar;32(1):N65-9.

З 1998 до 2007 року серед членів когорти проведено 4 дворічні скринінги для вивчення ризиків розвитку раку ЩЗ унаслідок впливу радіоїоду. Серед 110 випадків раку ЩЗ виявлено 104 (94,5%) випадки папілярних карцином, 5 (4,6%) випадків фолікулярних карцином і 1 (0,9%) випадок медулярної карциноми.

Bogdanova TI, Zurnadzhly LY, Nikiforov YE, Leeman-Neill RJ, Tronko MD, Chanock S, et al. Histopathological features of papillary thyroid carcinomas detected during four screening examinations of a Ukrainian-American cohort // Br J Cancer. 2015 Dec;113(11):1556-64.

За результатами аналізу 115 папілярних карцином, діагностованих у членів когорти перед початком Проекту та під час чотирьох послідовних скринінгів ЩЗ, виявлено граничну вірогідність лінійно-квадратичного зв'язку ($p=0,063$) між поглинутою ЩЗ дозою йоду-131 і загальною інвазійністю пухлини (наявність екстратиреоїдного розростання, лімфатичної/судинної інвазії, регіональних або віддалених метастазів).

Незалежно від дози опромінення, пухлини з хромосомними перебудовами частіше мали лімфатичні/судинні інвазії, ніж пухлини без

Огляди

хромосомних перебудов ($p=0,020$) або пухлини з точковими мутаціями BRAF або RAS ($p=0,008$). З поправкою на вік виявлено вірогідний часовий тренд зменшення розміру пухлини ($p<0,001$), ступеня лімфатичної/судинної інвазії ($p=0,005$) і загальної інвазійності ($p=0,026$).

У цілому пухлини з перебудовами хромосом, мабуть, мають більш інвазійний фенотип, а збільшення з часом числа малих, менш інвазійних папілярних карцином є наслідком повторних скринінгових обстежень.

Tronko M, Brenner A, Bogdanova T, Shpak V, Hatch M, Likhtarev I, et al. Thyroid cancer risk in Ukraine following the Chernobyl accident (The Ukrainian-American cohort thyroid study) // Thyroid cancer and nuclear accidents long-term aftereffects of Chernobyl and Fukushima. Chapter 8. Publisher: Elsevier, Editors: Shunichi Yamashita, Gerry Thomas. 2017, 67-76.

Проаналізовано захворюваність і патогістологічні характеристики раку ЩЗ у членів когорти, які досягли дорослого віку на час операції. Значне збільшення захворюваності на рак ЩЗ у цій віковій групі зберігається до 2014 року, а рівень захворюваності в шести найбільш забруднених радіоїодом регіонах перевищує показник у 21 менш забрудненій області.

Патогістологічний аналіз 2634 карцином ЩЗ дорослих віком від 19 до 46 років на момент операції показав, що папілярна карцинома ЩЗ є найбільш поширеним типом раку ЩЗ в усі досліджені періоди. Зі збільшенням часу після аварії папілярні карциноми з домінуючою папілярною структурою росту мають більш виражені інвазійні властивості, але, як правило, пухлини явно стають менш агресивними, що є важливим і сприятливим для поопераційного прогнозу.

Tronko M, Brenner AV, Bogdanova T, Shpak V, Olijnyk V, Cahoon EK, et al. Thyroid neoplasia risk is increased nearly 30 years after the Chernobyl accident // Int J Cancer. 2017 Oct;141(8):1585-8.

2012-2015 роками під час п'ятого скринінгу серед 10 073 членів когорти, які мали середню дозу опромінення ЩЗ радіоїодом 0,62 Гр, виявлено 47 раків ЩЗ і 33 фолікулярні аденоми.

Встановлено вірогідну залежність «доза-ефект» радіоїоду як для раків ЩЗ, так і для фолікулярних аденом, з ексцесом співвідношення шансів на Гр 1,36 (95% довірчий інтервал, 0,39-4,15) та 2,03 (95% довірчий інтервал, 0,55-6,69) відповідно.

Ексцес ризику виникнення злоякісної та доброякісної неоплазії ЩЗ зберігається майже через три десятиліття після опромінення, що підкреслює важливість подальшого спостереження цієї групи для характеристики довгострокової моделі ризику від радіоїоду.

Efanov AA, Brenner AV, Bogdanova TI, Kelly LM, Liu P, Little MP, et al. Investigation of the relationship between radiation dose and gene mutations and fusions in post-Chernobyl thyroid cancer // J Natl Cancer Inst. 2017 Nov 18; doi: 10.1093/jnci/djx209.

Використання таргетного секвенування нового покоління та секвенування РНК для вивчення 65 папілярних карцином ЩЗ у членів когорти дозволило ідентифікувати кермові мутації в 96,9% карцином, включно з точковими мутаціями у 26,2% випадків і злиттям генів у 70,8% випадків. Виявлено нові кермові злиття генів, такі як POR-BRAF, а також STRN-ALK, які раніше не виявляли в карциномах, асоційованих із радіацією. Середня доза радіоїоду у випадках із точковими мутаціями становила 0,2 Гр (діапазон = 0,013-1,05 Гр), що є статистично значно нижчим порівняно з 1,4 Гр (діапазон = 0,009-6,15 Гр) для випадків зі злиттям генів ($p<0,001$).

У пухлинах осіб, які отримали радіаційне опромінення вище за 1,1 Гр, кермові точкові мутації виявлено не було. Порівняно з пухлинами з точковими мутаціями, частка пухлин зі злиттями генів зростала разом із дозою опромінення, досягнувши 87,8% серед осіб, які отримали 0,3 Гр і більше. Через обмежену кількість зразків встановлений коефіцієнт ризику для 1 Гр становив 20,01 (95% довірчий інтервал, 2,57-653,02, $p<0,001$). Крім цього, після перевірки доз радіоїоду виявили підвищення коефіцієнта ризику для злиття генів — позитивну асоціацію характеристик ЩЗ із деякими демографічними та географічними особливостями.

Отже, підтверджено зв'язок між дозою радіоїоду на ЩЗ і генерацією канцерогенних злиттів генів, що є переважаючим механізмом розвитку раку ЩЗ, асоційованого з радіаційним опроміненням унаслідок аварії на ЧАЕС.

ПУБЛІКАЦІЇ ЩОДО ДОБРОЯКІСНОЇ ПАТОЛОГІЇ ЩЗ

Tronko MD, Brenner AV, Olijnyk VA, Robbins J, Epstein OV, McConnell RJ, et al. Autoimmune thyroiditis and exposure to iodine 131 in the

Ukrainian cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the Chernobyl accident: results from the first screening cycle (1998-2000) // J Clin Endocrinol Metab. 2006 Nov;91(11):4344-51.

Метою дослідження була оцінка ризику аутоімунного тиреоїдиту після опромінення радіоїодом на підставі даних, зібраних у 12240 членів когорти під час першого скринінгу 1998-2000 роками. Аутоімунний тиреоїдит апріорі визначали, спираючись на різні комбінації підвищених рівнів антитіл до тиреоїдної пероксидази, тиреотропного гормону та клінічних проявів. Підвищений рівень антитіл вважали показником захворювання.

Не було виявлено вірогідного зв'язку між дозою опромінення ЩЗ радіоїодом та аутоімунним тиреоїдитом, проте поширеність підвищеного вмісту антитіл виявила незначний вірогідний зв'язок із дозою радіоїоду на ЩЗ, що добре описується кількома нелінійними моделями. Це співвідношення було очевидним в осіб із дещо підвищеним вмістом антитіл та евтореозом, а також в осіб без захворювань ЩЗ.

У цілому припускається ймовірність клінічно значущих змін у майбутньому, що свідчить про необхідність подальшого спостереження та аналізу проспективних даних у цій когорті.

McConnell RJ, Brenner AV, Oliynyk VA, Robbins J, Terekhova GM, Fink DJ, et al. Factors associated with elevated serum concentrations of anti-TPO antibodies in subjects with and without diffuse goitre. Results from the Ukrainian-American Cohort Study of thyroid cancer and other thyroid diseases following the Chernobyl accident // Clin Endocrinol (Oxf). 2007 Dec;67(6):879-90.

Проведено оцінку чинників, асоційованих із підвищеним вмістом антитіл до тиреоїдної пероксидази в членів когорти з дозою радіоїоду на ЩЗ менше від 0,2 Гр. Відношення шансів для тиреоїдної пероксидази понад 60 Од/мл оцінювали за допомогою моделей логістичної регресії, яка враховувала низку чинників для всієї популяції (n=5133) та окремо для осіб без тиреоїдної патології (n=3875), осіб із дифузним зобом (n=921) і осіб із дифузним зобом без аутоімунного тиреоїдиту (n=883).

Підвищення титру антитіл виявлено в 9,9% випадків від загальної кількості членів когорти, а відношення шансів були значно вищими в жінок, осіб похилого віку, осіб, які проходили обстеження по-

передніми календарними роками, мешканців Київської та Чернігівської областей, осіб із родинною історією захворювань ЩЗ, більшим об'ємом ЩЗ за даними ультразвукового дослідження, зниженим або підвищеним рівнем тиреотропного гормону, за умов забирання крові з березня по травень, дуже низького рівня тиреоглобуліну та коротшого періоду зберігання сироватки.

За результатами порівняння даних осіб без тиреоїдної патології та осіб із дифузним зобом виявлено мало відмінностей у поширеності підвищеного титру антитіл, а після виключення осіб з аутоімунним тиреоїдитом єдиною відмінністю було збільшення поширеності підвищеного титру антитіл на тлі низького рівня екскреції йоду із сечею в тих, хто має лише зоб.

Загалом визначено, що відмінності між членами когорти без тиреоїдної патології та членами когорти з дифузним зобом значною мірою пов'язано з аутоімунним тиреоїдитом.

Ostroumova E, Brenner A, Oliynyk V, McConnell R, Robbins J, Terekhova G, et al. Subclinical hypothyroidism after radioiodine exposure: Ukrainian-American cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the Chernobyl accident (1998-2000) // Environ Health Perspect. 2009 May;117(5):745-50.

1998-2000 роками за результатами обстеження 11853 членів когорти із середнім віком 21,6 року (діапазон: 12,2-32,5 року), серед яких 49% становили жінки, а середня доза радіоїоду на ЩЗ становила 0,79 Гр (діапазон: 0-40,7 Гр), виявлено 719 випадків гіпотиреозу (ТТГ >4 мМОд/л), у тому числі 14 – з явним гіпотиреозом.

Виявлено вірогідний невеликий зв'язок між дозами радіоїоду та поширеністю гіпотиреозу, з ексцесом співвідношення шансів на Гр 0,10 (95% довірчий інтервал, 0,03-0,21). Ексцес співвідношення шансів на Гр був вищим в осіб із рівнем антитіл до тиреоїдної пероксидази ≤ 60 Од/мл, ніж в осіб із показником >60 Од/мл (p<0,001).

Це перше дослідження, яке виявило суттєвий зв'язок між поширеністю гіпотиреозу та індивідуальними дозами радіоїоду на ЩЗ. Підвищення частоти гіпотиреозу було невеликим (10% на Гр) і обмежувалося в основному субклінічним гіпотиреозом.

Hatch M, Furukawa K, Brenner A, Olinjyk V, Ron E, Zablotska L, et al. Prevalence of hyperthyroidism after exposure during childhood or adolescence to radioiodines from the chernobyl

nuclear accident: dose-response results from the Ukrainian-American Cohort Study // Radiat Res. 2010 Dec;174(6):763-72.

Через 12-14 років після аварії на ЧАЕС досліджували взаємозв'язок між дозою радіоїоду та поширеністю гіпертиреозу серед 11 853 членів когорти (середня та медіанна дози опромінення ЩЗ становили відповідно 0,6 Гр і 0,2 Гр) шляхом проведення поглибленого, стандартизованого дослідження стану ЩЗ.

Виявлено 76 випадків гіпертиреозу (11 явного та 65 субклінічного). Використання логістичної регресії для перевірки різноманітних безперервних моделей ризику та проведення категоріального аналізу як для всіх суб'єктів, так і окремо для жінок (53 випадки, $n=5767$) і чоловіків (23 випадки, $n=6086$) не дозволило знайти переконливих доказів існування залежності «доза-ефект» між йодом-131 і гіпертиреозом.

В аналізі, що ґрунтувався на бінарній дозовій моделі з емпірично встановленим рівнем відсічення в 0,5 Гр, був натяк на збільшення ризику серед осіб жіночої статі (співвідношення шансів 1,86, $p=0,06$), але рівень статистичної значущості знизився ($p=0,13$) за результатами формального аналізу з оцінкою рівня відсікання.

Peters KO, Tronko M, Hatch M, Olynyk V, Terekhova G, Pfeiffer RM, et al. Factors associated with serum thyroglobulin in a Ukrainian cohort exposed to iodine-131 from the accident at the Chernobyl Nuclear Plant // Environ Res. 2017 Jul;156:801-9.

З 2001 по 2003 рік проведено оцінку відсотка зміни рівня тиреоглобуліну в сироватці, пов'язану з демографічними чинниками, дозою радіоїоду на ЩЗ, показниками структури та функції ЩЗ для 10 000 членів когорти з використанням лінійної регресії.

Показано, що середнє значення та медіана рівня тиреоглобуліну в сироватці були більшими серед членів когорти з аномальною структурою/функцією ЩЗ. Відсоток змін рівня тиреоглобуліну в сироватці крові був більшим серед жінок, курців та осіб старшого віку ($p<0,001$), а рівень тиреоглобуліну зростав зі збільшенням об'єму ЩЗ і рівня тиреотропного гормону ($p<0,001$).

Не знайдено жодних доказів значних зв'язків між дозою опромінення ЩЗ радіоїодом і тиреоглобуліном. Рівні тиреоглобуліну в сироватці було обернено пов'язано зі споживанням йодованої солі (відсоток зміни — 7,90, 95% довірчий

інтервал, $-12,08$, $-3,52$), а в діапазоні концентрації йоду в сечі шанси на підвищення вмісту тиреоглобуліну в сироватці показали U-подібну криву з підвищеним вмістом тиреоглобуліну на тлі низьких і високих концентрацій йоду в сечі.

Отже, рівень тиреоглобуліну в сироватці крові може бути корисним показником стану йодного забезпечення населення та неспецифічним біомаркером структурних і функціональних аномалій ЩЗ в епідеміологічних дослідженнях.

ПУБЛІКАЦІЇ ЩОДО КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ВИКОНАННЯ ПРОЕКТУ

O'Kane P, Shelkova E, McConnell RJ, Shpak V, Parker L, Bogdanova TI, et al. Differences in sonographic conspicuity according to papillary thyroid cancer subtype: results of the Ukrainian-American cohort study after the Chernobyl accident // AJR Am J Roentgenol. 2008 Dec;191(6): W293-8.

Мета дослідження — визначити наявність зв'язку між ультразвуковою візуалізацією папілярних раків ЩЗ та їх гістологічним підтипом. Проведено оцінку чіткості візуалізації сонографічних зображень 84 папілярних раків ЩЗ у членів когорти з чотирма незалежними експертами, яким був невідомий гістологічний підтип. Використовували суб'єктивну шкалу від 1 до 5.

Показано, що підтип раку пов'язано із ступенем сонографічної візуалізації ($p<0,01$). Відносно агресивний солідний підтип папілярної карциноми візуалізувався чіткіше, ніж папілярний, фолікулярний і змішаний підтипи ($p<0,05$). Інші підтипи суттєво не різнилися між собою. Чіткість візуалізації не було суттєво пов'язано з розміром вузликів, ступенем інкапсуляції, віком і статтю особи або типом ультразвукового апарата.

Незважаючи на те, що середня оцінка балів для кожного експерта суттєво відрізнялася, надійність висновків про чіткість візуалізації серед експертів була досить доброю. Зроблено висновок, що відмінності в ступені візуалізації вузлів можуть впливати на зміни в підтипі пухлин ЩЗ, що спостерігаються з часом у цій багаторазово обстежуваній популяції.

O'Kane P, Shelkova E, McConnell RJ, Shpak V, Parker L, Brenner A, et al. Frequency of undetected thyroid nodules in a large I-131-exposed population repeatedly screened by

ultrasonography: results from the Ukrainian-American cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases following the Chernobyl accident // Thyroid. 2010 Sep;20(9):959-64.

Метою роботи була ретроспективна оцінка показників виявлення вузлів ЩЗ під час ультразвукового дослідження. В аналіз було включено 48 раків і 92 доброякісних вузли, виявлені після одного або кількох попередніх обстежень із негативним результатом. Для кожного із цих 140 досліджень було створено комплект для порівняння, який містив усі наявні попередні ультразвукові зображення плюс негативні дослідження членів контрольної групи (для тестування на упередженість). Три незалежні експерти в порівняльному аналізі вибраних досліджень підраховували наявність та розміри попередньо виявлених вузлів. Показники виявлення порівнювали для попередньо виявлених вузлів проти контрольних, для раку порівняно з доброякісними вузлами, а також для різних гістологічних підтипів папілярної карциноми.

Попередньо існуючий вузол був ідентифікований принаймні одним рецензентом у 24,0% випадків проти 8,3% у контролі, а всіма трьома рецензентами — в 11% проти 1% (точний тест Фішера, $p < 0,0001$). Не було суттєвої різниці в рівнях виявлення раку та доброякісних вузлів (22,4% проти 24,7%, $p = 0,411$). Відсутня кореляція між часом від початку індексації та зміною розміру вузлів як для злоякісних, так і для доброякісних новоутворень ($r = 0,01$, НД). Не виявлено відмінностей у показниках виявлення або розмірах серед підтипів папілярного раку. Експерти не могли розрізнити досліджувані та контрольні випадки.

Ці результати демонструють значну частоту невиявлених доброякісних і злоякісних вузлів, а також відсутність доказів швидкого росту. Припускаємо, що висновки, зроблені на підставі результатів скринінгових досліджень, про частоту вузлів ЩЗ, що пізно виникають і швидко зростають у віддалений період спостереження після радіаційного опромінення, слід інтерпретувати з обережністю.

ПУБЛІКАЦІЇ ЩОДО НЕТИРЕОЇДНОЇ ПАТОЛОГІЇ

Hatch M, Ostroumova E, Brenner A, Federenko Z, Gorokh Y, Zvinchuk O, et al. Non-thyroid

cancer in Northern Ukraine in the post-Chernobyl period: Short report // Cancer Epidemiol. 2015 Jun;39(3):279-83.

Аналіз стандартизованого показника захворюваності для 43 випадків раку нетиреоїдної природи, виявлених у період з 1998 по 2009 рік у членів когорти з 13 203 осіб шляхом лінкейджу баз даних Проекту та Національного канцер-реєстру України в трьох групах раку (усі солідні раки, за винятком раку ЩЗ, лейкемія і лімфома), не виявив жодних доказів вірогідного підвищення ризику нетиреоїдного раку в цій когорті. Проте є доцільним і надалі проводити моніторинг захворюваності на рак, надто на лейкемію (стандартизований показник захворюваності — 1,92, 95% довірчий інтервал, 0,69, 4,13).

Обговорення

Одним із найважливіших питань радіаційної медицини та епідеміології є встановлення кількісних оцінок ризику розвитку злоякісних новоутворень ЩЗ унаслідок опромінення радіоактивними ізотопами йоду, оскільки багато осіб зазнають опромінення радіоїодом із діагностичною або лікувальною метою, а радіоїод є одним із найзначніших компонентів викидів унаслідок ядерних аварій.

Аварія на ЧАЕС надала можливість безпосереднього вивчення наслідків опромінення молодих людей радіоїодом. Дослідження за Проектом дозволить наблизитись до отримання оцінок прямо виміряного ризику розвитку злоякісних новоутворень ЩЗ від опромінення радіоїодом.

Акумуляовані в рамках Проекту персональна епідеміологічна та клінічна інформація та уточнені індивідуальні оцінки доз опромінення ЩЗ членів когорти становитимуть підґрунтя для моделювання залежностей «доза-ефект» і впливу модифікуючих чинників на ризик виникнення основних нозологічних одиниць тиреоїдної патології.

Висновки

Виконання спільного наукового Українсько-Американського тиреоїдного проекту дозволило охопити комплексним обстеженням стану щитоподібної залози значну частину мешканців найбільш постраждалих унаслідок аварії на Чорнобильській АЕС районів Житомирської, Київської та Чернігівської областей, надати їм висококвалі-

Огляди

фіковану консультативну та медичну допомогу, а також сформувати когорту, тривале спостереження за членами якої дозволить отримати наукові дані про залежність захворювань щитоподібної залози (насамперед злоякісних новоутворень) від рівня опромінення радіоїодом.

Подяка

Автори висловлюють щирю подяку провідному науковому співробітникові лабораторії морфології ендокринної системи Інституту, доктору біологічних наук Воскобойник Л.Г. і лікарю з ультразвукової діагностики кабінету ультразвукової діагностики консультативно-діагностичного відділення Інституту Шелковому Є.А. за допомогу в підготовці рукопису.

Список використаної літератури

1. Тронько МД, Пастер ІП, Замотаєва ГА, Масюк СВ. Українсько-американський тиреоїдний проект: огляд наукових публікацій з питань епідеміології, дозиметрії та йодного забезпечення // Ендокринологія. 2018;23(2):154-166 (Tronko MD, Pasteur IP, Zamotayeva GA, Masiuk SV. Ukrainian-American Thyroid Project. Review of scientific publication on epidemiology, dosimetry and iodine protection // Endokrynologia. 2018;23(2):154-166).

(Надійшла 06.02.2018)

Українсько-Американський тиреоїдний проект: огляд наукових публікацій по вопросам клинической патологии

Н.Д. Тронько, И.П. Пастер, Г.А. Замотаева

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В.П. Комиссаренко НАМН Украины»

Резюме. Представлен обзор научных публикаций по вопросам клинической патологии по результатам выполнения Украинско-Американского тиреоидного проекта.

Ключевые слова: авария на Чернобыльской АЭС, Украинско-Американский тиреоидный проект, научные публикации, обзор.

Ukrainian-American thyroid project: review of scientific publication on clinical pathology

M.D. Tronko, I.P. Pasteur, G.A. Zamotayeva

State institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Nat. Acad. Med. Sci. of Ukraine»

Abstract. The authors present a review of scientific publications on clinical pathology in the framework of the Ukrainian-American thyroid project.

Keywords: accident at the Chornobyl NPP, Ukrainian-American thyroid project, scientific publication, review.

Інноваційне використання стовбурових клітин у комплексному лікуванні пацієнтів із синдромом діабетичної стопи

М.Д. Тронько¹,
Г.М. Бутенко²,
С.В. Болгарська¹,
О.І. Ковзун¹,
П.І. Немтінов⁴,
В.Л. Орленко¹,
І.П. Пастер¹,
Л.К. Соколова¹,
Р.В. Салютін³,
А.М. Устименко²

¹ Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

² Державна установа «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України»

³ Державна установа «Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України»

⁴ Інститут клітинної терапії

Резюме. Представлено огляд наукових публікацій із питань інноваційного використання стовбурових клітин у комплексному лікуванні пацієнтів із синдромом діабетичної стопи.

Ключові слова: синдром діабетичної стопи, стовбурові клітини, інноваційне використання, наукові публікації, огляд.

Актуальність проблеми цукрового діабету та його ускладнень

Проблема цукрового діабету (ЦД) є однією з найактуальніших медико-соціальних проблем світу. За даними ВООЗ, кількість хворих на ЦД у світі сягає близько 0,5 млрд [1]. Кожні 15-20 років кількість хворих на ЦД збільшується вдвічі.

* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна. E-mail: zdovado@ukr.net

© М.Д. Тронько, Г.М. Бутенко, С.В. Болгарська, О.І. Ковзун, П.І. Немтінов, В.Л. Орленко, І.П. Пастер, Л.К. Соколова, Р.В. Салютін, А.М. Устименко

В Україні офіційно зареєстровано понад 1,3 млн пацієнтів із ЦД. Утім за оцінками клініко-епідеміологічних досліджень, реальна кількість хворих в Україні становить близько 2,5-3 млн осіб, серед яких близько 15-20% працездатного населення [2].

Однією з найбільш пріоритетних проблем клінічної діабетології є ускладнення ЦД, зокрема — синдром діабетичної стопи (СДС), який призводить до ранньої інвалідності, а нерідко й до смерті хворого. В Україні кількість ампу-

Огляди

тацій нижніх кінцівок значно перевищує такий показник у розвинутих країнах світу. Загальноприйняті світові епідеміологічні показники свідчать, що поширеність трофічних виразкових уражень нижніх кінцівок серед хворих на ЦД становить 4-12%.

За даними статистики, у 50% випадків високі ампутації нижніх кінцівок унаслідок виразкових уражень хворі помирають упродовж 1 року після операції. За оцінками західних епідеміологів, смертність від СДС є еквівалентною смертності від деяких форм онкопатології, що зумовлює надзвичайне медико-соціальне значення цього ускладнення. Розвиток ускладнень ЦД, у тому числі СДС, насамперед залежить від ступеня компенсації діабету, тому впровадження інноваційних методів лікування ЦД є пріоритетним у сучасній діабетології.

Інноваційні методи лікування пацієнтів із цукровим діабетом і його ускладненнями

Сучасні дослідження з терапії ЦД спрямовано на пошук засобів (препаратів), дію яких максимально наближено до фізіологічних умов динаміки секреції інсуліну [3]. Основні розробки ведуться фактично за трьома напрямками: а) вдосконалення препаратів інсуліну шляхом створення їх аналогів за допомогою генно-інженерної технології; б) вдосконалення способів доправлення інсуліну шляхом розробки аерозольних форм для введення за допомогою спеціальних інгаляторів або пероральних форм, попередньо іммобілізованих у полімерному гідрогелі; в) вдосконалення методів трансплантації підшлункової залози (ПШЗ), острівців Лангерганса і β -клітин шляхом інкапсулювання трансплантата або використання отриманих за допомогою генно-інженерної технології псевдо- β -клітин.

Мета регенеративної медицини для терапії хворих на ЦД полягає в пошуках доступних і безпечних джерел клітин для β -клітинної замісної терапії як аутологічного, так і алогенного походження, здатних продукувати та секретувати інсулін відповідно фізіологічним потребам організму [4].

Сьогодні за допомогою трансплантації стовбурових клітин (СК) можна поліпшити дедалі зростаюче число захворювань, таких як вроджена катаракта, діабетичні ретинопатія та кератопатія, інфаркт міокарда, опіки очей і шкіри, хвороба Паркінсона, хвороба Хантінгтона та діабетичні виразки стоп [5].

Вельми перспективним методом терапії хворих на ЦД є також використання СК як практично необмеженого джерела фізіологічно компетентного замітника первинних острівців Лангерганса [6].

Біологія стовбурових клітин

Ідентифіковано головні чинники транскрипції, що визначають ембріональний розвиток острівців ПШЗ, це може дозволити маніпулювати диференціюванням ембріональних СК з утворенням інсулінопродукуючих клітин. Головну роль у розвитку ПШЗ та експресії генів у зрілих β -клітинах відіграє рівень експресії транскрипційного чинника Pdx1 — панкреатичного дуоденального хомеобоксу 1. Нобелівську премію з фізіології та медицини 2012 року отримали Джон Гардон (John B. Gurdon) та Шинья Яманака (Shinya Yamanaka) за встановлення факту, що зрілі клітини можуть бути перепрограмованими в плюрипотентні клітини завдяки використанню невеликої кількості транскрипційних чинників. Отримані в такий спосіб клітини є індукованими плюрипотентними СК, що відкриває великі перспективи для використання таких клітин у лікуванні пацієнтів із ЦД 1-го типу.

Основною проблемою в спробах використати клітини-попередники для замісної терапії β -клітинами є регуляція секреторної активності пересаджених клітин. Диференціювання клітин-попередників у клітини, що продукують інсулін, має супроводжуватися індукцією секреторного шляху, забезпечуючи тим самим накопичення інсуліну та його швидке виділення у відповідь на низку фізіологічних сигналів. Для досягнення цього в клітинах необхідно активізувати складну систему месенджерних шляхів (із залученням аденілатциклази та протеїнкінази А, діацилгліцеролу та протеїнкінази С, Са-кальмодулінового сигнального шляху) та експресії генів, яка дуже нагадує таку в нормальних β -клітинах. Нарешті, СК потрібно уникнути деструкції імунною системою реципієнта.

Перспективи застосування стовбурових клітин у лікуванні пацієнтів із синдромом діабетичної стопи

Базове лікування хворих із СДС включає: адекватну антибактеріальну терапію, відновлення магістрального кровобігу, розвантаження ураженої кінцівки та методи стимуляції загоювання виразкових уражень.

Одним із пріоритетних напрямів лікування пацієнтів із СДС є застосування СК.

Незважаючи на той факт, що СК виділяють та застосовують вже понад 40 років, насправді існує відносно невелика кількість клінічних випробувань із дослідженням впливу мезенхімальних СК (МСК) на загоєння хронічних ран. Пошук на ClinicalTrials.gov по ключових словах «мезенхімальні стовбурові клітини та рани» показав лише 50 випробувань, 29 з яких було відкрито на кінець 2014 року.

МСК знайдено в різних нішах організму людини, таких як кістковий мозок, вартонові драгли, жирова тканина, пульпа зуба, м'язи та шкіра [7]. Для підтвердження фенотипу МСК мають відповідати таким критеріям, як: адгезія до пластику *in vitro*, експресія на поверхні клітинних маркерів CD73, CD105 і CD90 і відсутність експресії CD45, CD34, CD14 або CD11b, CD79α або CD19 і людського лейкоцитарного антигену DR (HLA-DR) [8].

Першими, хто застосував МСК для лікування хронічних ран, були E.V. Badiavas і V. Falanga, які показали, що всі рани, які не вдавалося залікувати протягом понад 1 року, загоювалися після застосування МСК кісткового мозку [9]. Позитивний ефект від застосування МСК кісткового мозку отримано в багатьох дослідженнях [10, 11]. Утім немає опублікованих даних рандомізованих досліджень із порівнянням застосування МСК кісткового мозку зі стандартним лікуванням, оскільки досить складно стандартизувати методи отримання й обробки аспірату кісткового мозку, а їх отримання є інвазійною та не завжди безпечною хірургічною процедурою [12]. Тому з метою уникнення можливих ускладнень як джерела СК дорослого організму для поліпшення загоєння виразок у хворих із СДС найчастіше використовують пуповинну кров, плаценту та амніотичну мембрану, які є доступними, а їх отримання — неінвазійним і недорогим [13].

Коротко зазначимо, що МСК здатні мігрувати до травмованих/уражених ділянок, впливаючи на регенерацію тканин як завдяки секретії трофічних чинників, так і паракринним медіаторам; мають імуносупресивні властивості завдяки цитокінам та імуномодуючим речовинам, що виділяють. Доправлення СК у тканини-мішені може бути здійснено шляхом безпосереднього нанесення на рану, внутрішньом'язової або внутрішньоартеріальної ін'єкцій [14, 15].

Експериментальні дослідження з використанням стовбурових клітин

Наразі експерименти на тваринах зі стрептозотоциніндукованим діабетом відіграють важливу роль для детальної характеристики СК, демонстрації їх біологічних ефектів і прогнозування важливих клінічних результатів. Мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини (ММСК) виступають одним із перспективних терапевтичних інструментів, які можуть не лише сповільнити процеси мікро- та макросудинних ушкоджень у хворих із таким поширеним ускладненням ЦД, як виразка на стопі, а й запобігти (віддалити) ампутації кінцівки. Серед багатьох джерел СК (як аутологічного, так і алогенного походження) особливий інтерес становить плацента людини як легко доступне, безпечне джерело СК, що мають високий проліферативний і регенеративний потенціал, отримання їх не пов'язано з порушенням етичних норм та юридичних аспектів, є можливість негайного застосування «за вимогою». Сприятливу активність МСК плаценти в загоєнні ран зумовлено чинниками росту та позаклітинним матриксом, які продукуються клітинами тканини плаценти [16, 17].

В експериментальній роботі [18] проведено дослідження ефективності застосування МСК плаценти людини (МСК-ПЛ) у загоєнні ран шкіри в щурів Goto-Kakizaki (GK) із діабетом. Для цього кожному щуру зі змодельованим стрептозотоцином діабетом створювали ексцизійні рани із середнім діаметром 8 мм на всю товщину шкіри спини; через шість годин проводили підшкірну трансплантацію МСК-ПЛ навколо рани. Початковий розмір ран був однаковим в усіх експериментальних групах. Рани, які були обколоті МСК-ПЛ, загоювалися значно швидше, ніж у контрольних щурів. Так, цілковите закриття ран, які обколювали МСК-ПЛ, відбувалося в тварин на 15-у добу, водночас рани в тварин контрольної групи були значно вираженими, зі слабкою тенденцією до загоєння. За результатами гістохімічного аналізу показано приживлення трансплантованих МСК-ПЛ в ушкоджених ділянках шкіри з утворенням товстого прошарку грануляційної тканини та включеннями колагену. На 15-й день після введення МСК-ПЛ навколо рани товщина новосформованого епідермального шару в тварин цієї групи була значно більшою, ніж у тварин конт-

Огляди

рольної групи, без введення клітин. Крім того, розташування волокон у тканині загоєних ран шкіри виявилось більш впорядкованим у групі з введенням МСК-ПЛ. І, нарешті, з'явилися волосяні фолікули в процесі регенерації тканин шкіри в тварин із МСК-ПЛ, чого не відбувалося в контрольній групі.

Дослідження впливу МСК-ПЛ *in vivo* на локальну продукцію запальних цитокінів у ранах шкіри показало, що в ранах, обколотих МСК-ПЛ, значно зменшувалися рівні локальних прозапальних цитокінів, таких як TNF- α , IL-6 і IL-1, а також збільшувався рівень протизапального цитокіну IL-10. Ці результати свідчать, що лікування МСК-ПЛ сприяє загоєнню ран шкіри за рахунок пригнічення секреції прозапальних цитокінів і збільшення продукції IL-10 у зоні ушкодження.

Отже, показано, що МСК-ПЛ можуть сприяти загоєнню ран шляхом імуномодуляції через NF- κ B і IL-10, а функціональна взаємодія між імплантованими МСК-ПЛ та імунними клітинами рани може бути використаною як потенційна можливість лікування різних захворювань [18].

Аналогічні результати отримано й іншими дослідниками. Показано, що загоєння ран у щурів із трансплантованими МСК-ПЛ було значно швидшим, ніж у контрольній групі, а гістологічний аналіз зразків загоєних ран показав більшу щільність мікросудин у біопсійному матеріалі, ніж у необколотих МСК-ПЛ ранах. До того ж імуногістохімічне дослідження підтвердило наявність і приживлення трансплантованих МСК-ПЛ у тканині рани, їх диференціацію в рані *de novo* та включення в судинну систему реципієнта з поліпшенням ангиогенезу, що можна пояснити секрецією МСК-ПЛ таких проангіогенних молекул, як VEGF, HGF, bFGF, TGF- β і IGF-1 на біоактивних рівнях. Отже, МСК-ПЛ можуть бути потенційними кандидатами для застосування в лікуванні резистентних хронічних ран у хворих на ЦД [19].

Ще в одному дослідженні доведено перспективність застосування адгерентних МСК плаценти людини як джерела клітин для лікування ЦД [20]. Показано, що МСК-ПЛ можуть утворювати кластери острівцеподібних клітин під час культивування в безсироватковому середовищі, яке містить специфічні чинники росту та диференціювання, а після трансплан-

тації вони можуть сприяти відновленню острівцевих клітин ПШЗ в експериментальних мишей зі стрептозотоциніндукованим діабетом. Також завдяки qRT-PCR показано експресію інсуліну, глюкагону та соматостатину в недиференційованих МСК-ПЛ і в кластерах острівцеподібних клітин, а імуноцитохімічне дослідження продемонструвало здатність диференційованих кластерів острівцеподібних клітин експресувати людський інсулін, глюкагон і соматостатин. Крім того, у кластерах острівцеподібних клітин виявлено велику кількість підшлункових транскрипційних чинників *ngn3* і *Isl1*.

Як недиференційовані МСК-ПЛ (трансплантували під капсулу нирки мишей із діабетом), так і кластери острівцеподібних клітин (трансплантували в перитонеальну порожнину в біосумісних поліуретан-полівінілпіролідонних макрокапсулах) проявляли здатність до секреції інсуліну у відповідь на глюкозу, що підтверджено відновленням гіперглікемії після видалення трансплантатів. Крім того, оцінка сироваткового інсуліну в мишей після введення їм клітин людини продемонструвала збільшення рівня саме людського інсуліну. Водночас рівень мишачого інсуліну був незначним, що може свідчити про відсутність ендогенної регенерації ПШЗ, а підтримка гомеостазу глюкози відбувалася за рахунок секреції інсуліну трансплантованими клітинами. Проте трансплантація як МСК-ПЛ, так і кластерів острівцеподібних клітин, отриманих із МСК-ПЛ, мишам зі стрептозотоциніндукованим діабетом приводила до відновлення нормальних показників глюкози на 15-й день після трансплантації. На 3-й день після видалення трансплантатів майже всі миші загинули від гіперглікемії. Слід зазначити, що трансплантація як недиференційованих МСК-ПЛ, так і кластерів острівцеподібних клітин мишам зі стрептозотоциніндукованим діабетом не призводила до появи ознак імунного відторгнення, що підтверджено гістологічними дослідженнями та відсутністю HLA-DR маркерів на клітинній поверхні.

Оскільки попередні дослідження з недиференційованими МСК із пуповини та амніотичної мембрани показали їх неспроможність до продукції та секреції інсуліну, а як трансплантати не були здатними відновлювати нормоглі-

кемію в тварин зі стрептозотоциніндукованим діабетом, застосування МСК-ПЛ можуть бути гідною альтернативою для клітинної замісної терапії пацієнтів із ЦД [20-22].

Отже, наведені дані свідчать про перспективність застосування СК, отриманих із плаценти людини, як невичерпного джерела алогенних СК для клітинної замісної терапії хворих на ЦД завдяки неінвазійності, необмеженій кількості та відсутності етичних проблем, пов'язаних з їх отриманням.

Іншим джерелом для швидкого отримання популяції СК є пуповинна (кордова) кров людини (ПКЛ), яка є легко доступною та збирається без жодного ризику для немовля-донора [23]. ПКЛ містить СК у більшій кількості, ніж кістковий мозок, а реакція «трансплантат проти хазяїна» після її застосування є найслабшою серед таких після застосування інших алогенних клітин [24]. Отже, ПКЛ є альтернативним джерелом гемопоетичних СК для клітинної терапії пацієнтів із різними захворюваннями, у тому числі ЦД [24].

У дослідженні [25] вивчали ефективність застосування мононуклеарних клітин пуповинної крові людини (МНК-ПКЛ) у лікуванні ран кінцівок у щурів зі стрептозотоциніндукованим діабетом. Показано, що розміри рани зменшувалися швидше в групах тварин, яким вводили одноразово МНК-ПКЛ у хвостову вену, ніж у діабетичних і недіабетичних контрольних тварин. Встановлено, що місцеве застосування гемодіалізату кордової крові людини теж сприяло швидшому загоєнню ран, ніж застосування свіжоприготованого телячого гемодіалізату та солкосерилу окремо (рис. 1) [25].

Також встановлено, що внутрішньовенне введення МНК-ПКЛ сприяло нормалізації рівня глюкози в крові діабетичних щурів завдяки продукції інсуліну інсулінпродукуючими клітинами — похідними від трансплантованих МНК-ПКЛ [26]. Також після застосування МНК-ПКЛ відбувається послаблення окисного стресу в щурів зі стрептозотоциновим діабетом і діабетичними ранами (рис. 2) [27].

Дослідження гістологічних препаратів показало, що в зразках ран щурів із діабетом, оброблених МНК-ПКЛ, відбувається зменшення інфільтрації запальними клітинами, прискорюються ангиогенез та процес грануляції. Імовірно, цей ефект пов'язано із самовідновлюваль-

ними та мультипотентними властивостями СК (рис. 3) [28]. Оскільки відомо, що дорослі СК можуть модулювати імунну та запальну відповідь для сприяння загоєнню ран, цілком логічно, що трансплантація аутологічних та алогенних МСК на поверхню ран у щурів сприяє утворенню нових кров'яних судин і формуванню грануляційної тканини завдяки вивільненню низки цитокінів і молекул позаклітинного матриксу, включаючи IL-3, IL-6, IL-15, VEGF, PDGF, HGF, TGF- β , ICAM-1, VCAM-1, а також фібронектину, який тісно пов'язаний із кровотворенням і загоєнням ран [29, 30].

В іншому дослідженні в щурів зі стрептозотоциніндукованим діабетом і запаленням на дорсальному боці кінцівки показано, що МНК-ПКЛ частково відновлюють дегенеровані нейрони та функцію стегового нерва [31]. На 3, 7, 14-й день після введення в ліву стегову артерію МНК-ПКЛ або фосфатний буферний розчин (ФБР) досліджували рівень сироваткового чинника росту нервів (nerve growth factor — NGF) за допомогою ELISA; експресію NF-200 у стеговому нерві (СН) визначали за допомогою імуногістохімії; визначали діаметр та округлість СН; розраховували співвідношення капілярів і м'язових волокон у литковому м'язі світловою мікроскопією; визначали нейронну дегенерацію (дем'єлінізація, атрофія аксонів, розріджене розташування нервових волокон) електронною мікроскопією. У групі щурів, яким вводили в стегову артерію МНК-ПКЛ, показник сироваткового NGF збільшувався нарівні з NF-200. Хоча різницю в діаметрах СН не встановлено, виявлено поліпшення округлості СН, що пов'язано зі збільшенням числа капілярів в іннервованому литковому м'язі, а також зменшення проявів нейрональної дегенерації. Важливо відзначити, що за допомогою електронейрографії показано значне відновлення провідності СН у щурів, яким вводили МНК-ПКЛ [31].

Ці дані доводять, що МНК-ПКЛ частково зменшують прояви нейрональної дегенерації та поліпшують функцію СН і можуть бути корисними як для профілактики, так і для лікування виразок на ногах.

В іншому дослідженні наведено метод культивування клітин із заморожених зразків кордової крові в середовищі, збагаченому FGF4, SCF і FLT3-лігандом, який дозволив отримати клітини з потужним паракринним ефектом,

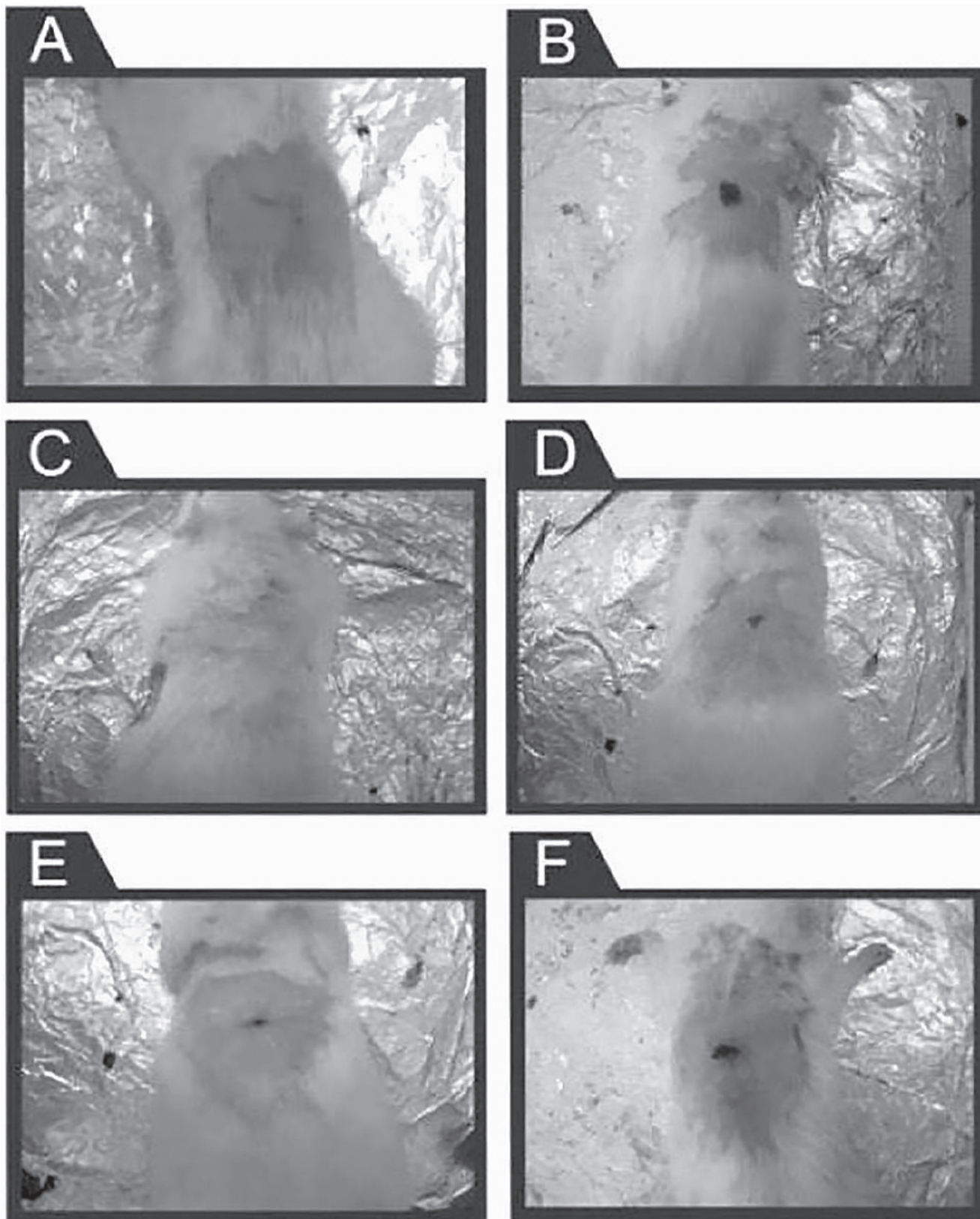


Рис. 1. Зовнішній вигляд ран на 16-у добу після обробки: А — МНК-ПКЛ; В — фосфатним буферним розчином в/в (ФБР); С — гемодіалізатом кордової крові людини; D — гемодіалізатом із телячої крові; E — солкосерилем (контроль); F — ФБР місцево (контроль) [25].

що сприяло істотному відновленню тканини задньої кінцівки в мишей із діабетом зі змодельованою ішемією та доведено приживлення й диференціювання культивованих клітин у нову судинну мережу та м'язи. Спостерігалось поліпшення кровотоку та значне зменшення некрозу кінцівки в мишей. Побічних ефектів, пов'язаних з ін'єкцією культивованих клітин, не спостерігалось [32].

Подібні дані отримано в іншому експерименті з дослідження ефективності застосування МНК-ПКЛ у загоєнні діабетичних ран у щурів-альбіносів: лікування субкультивованими CD34⁺ клітинами сприяло зменшенню розмірів ран, прискоренню загоєння епідермісу та значному прискоренню ревазуляризації порівняно з контрольною діабетичною групою. Внутрішньоартеріальна трансплантація МСК-ПКЛ

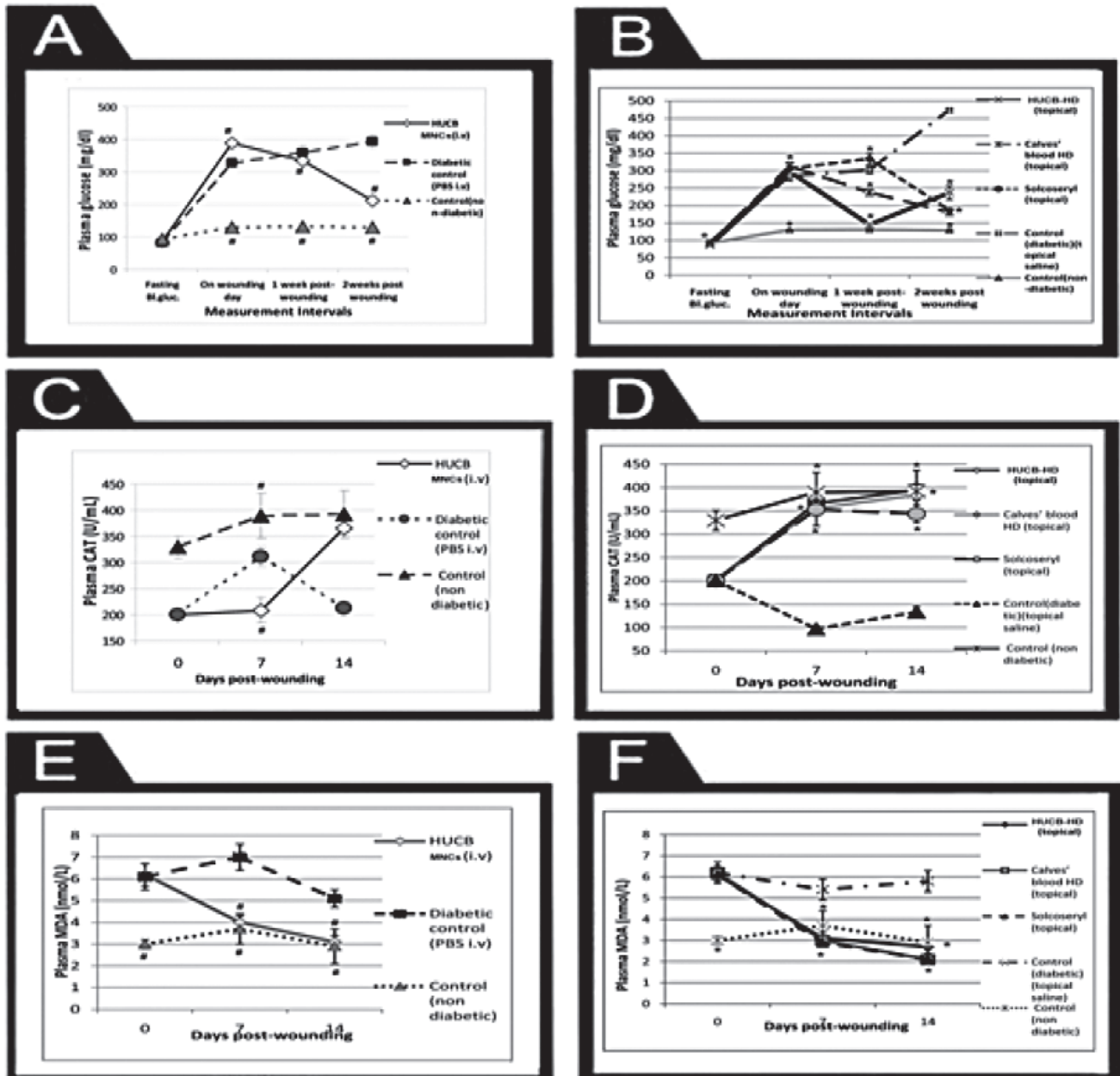


Рис. 2. Рівні в плазмі глюкози (мг/дл), каталази (Од/мл) і малонового діальдегіду (нмоль/мл) у різних групах (n=6 у групі). Колонки ліворуч — 1-й експеримент (в/в введення МНК-ПКЛ); колонки праворуч — 2-й експеримент (місцеве застосування) із застосуванням ГД-ПКЛ, ГД-КТ і солкосерилу: глікемія (А, В) натще в день обробки рани, потім — щотижня двічі; каталаза (С, D) і малоновий діальдегід (Е, F) у день обробки рани, на 7-й і 14-й дні після обробки; # — вірогідна різниця з діабетичною контрольною групою (ФБР в/в, $p \leq 0,001$); * — вірогідна різниця з діабетичною контрольною групою (ФБР місцево, $p \leq 0,001$) [27].

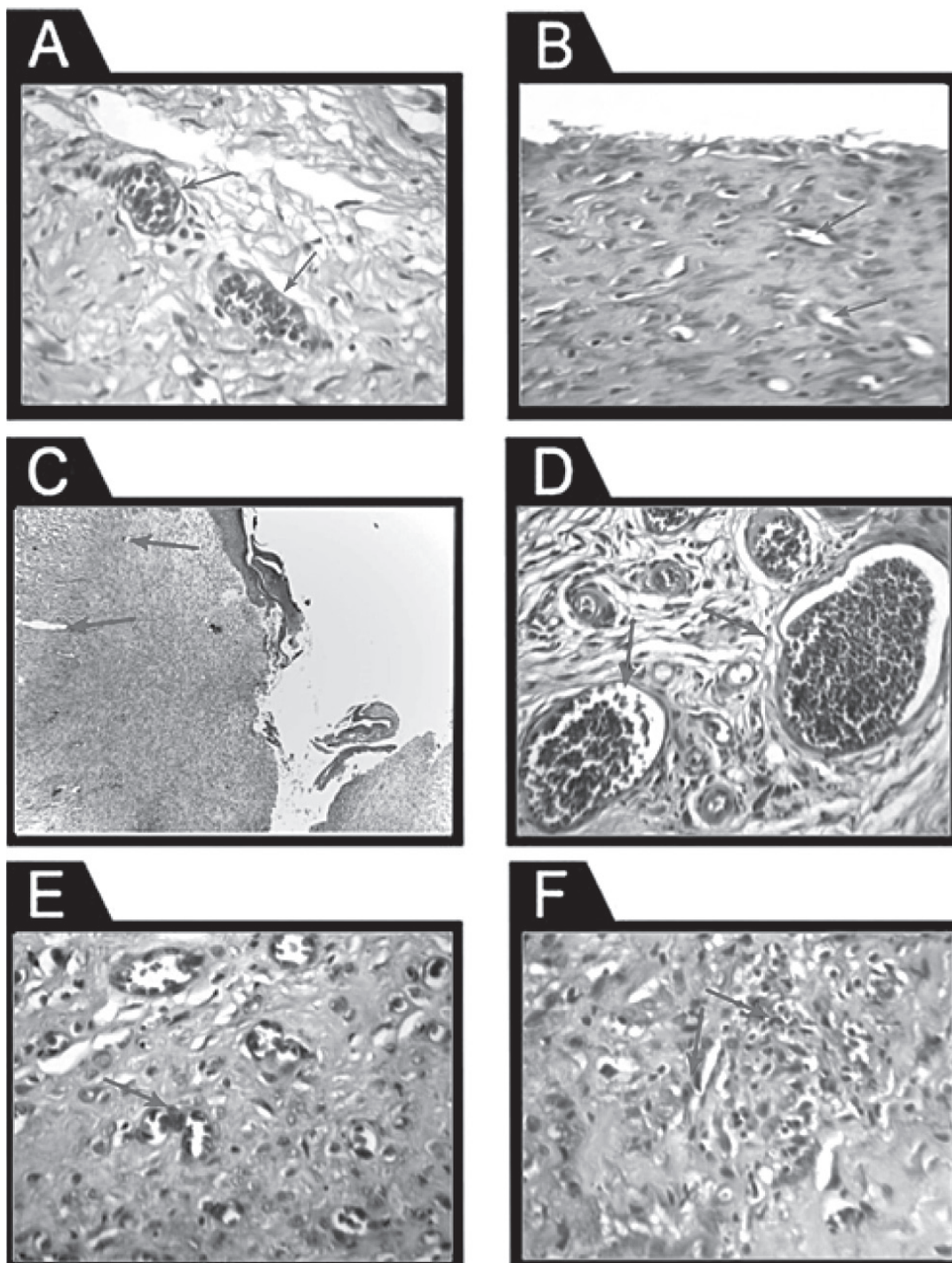


Рис. 3. Мікрофотографії тканини діабетичної рани на 14-й день після обробки (забарвлення гематоксилін-еозин): А — в/в МНК-ПКЛ — судинна проліферація (стрілки) та фіброплазія з посиленою реепітелізацією (×400); В — в/в ФБР — рани залишаються відкритими із субепітеліальним ексудатом із нейтрофілів у верхній частині поля, кров'яні судини незрілі (стрілки), з мінімальною проліферацією (×200); С — солкосерил — трапляється м'яка ангиоплазія, але кровоносні судини ще не зрілі, зі звуженим просвітом, помітна фіброзно-колагенова реакція (стрілки) та мінімальна проліферація епітелію (×100); D — ГД-ПКЛ — судинна проліферація (стрілки) та фіброплазія, епітелізація із субепітеліальною ангиоплазією (×200); E — ГД-КТ — судинна проліферація (стрілки), помірна ексудація макрофагами, поверхнева епітелізація з помірним запаленням, в основному за рахунок макрофагів (×400); F — місцево ФБР — відсутність закриття у верхній частині поля, субепітеліальний ексудат нейтрофілів, велика кількість нейтрофілів із низьким рівнем фіброзної проліферації, мала кількість кровоносних судин, незрілих і розташованих неправильно (стрілки) (×200) [28].

Таблиця 1. Площа рани, період епітелізації, волога та суха грануляції, кількість гідроксипроліну в лікованих і нелікованих щурів із діабетом і нормальних щурів [25]

Параметр	1-й експеримент (в/в)			2-й експеримент (місцево)				
	Мононуклеарні клітини кордової крові людини	Контроль діабету (ФБР)	Контроль (не діабет)	Гемодіалізат кордової крові людини	Гемодіалізат крові теляти	Солкосерил	Контроль діабету (фізрозчин)	Контроль (не діабет)
Площа рани (см ²)								
0-й день	1,85±0,2	1,87±0,09	1,85±0,1	1,87±0,1	1,85±0,1	1,85±0,1	1,86±0,1	1,85±0,1
4-й день	0,94±0,2 ^a	1,53±0,1	1,52±0,1	0,92±0,3 ^b	1,35±0,1	1,47±0,3	1,52±0,3	1,52±0,1
8-й день	0,43±0,1 ^a	1,36±0,08	1,15±0,2	0,3±0,1 ^b	0,69±0,3 ^b	0,96±0,3	1,18±0,2	1,15±0,2
12-й день	0,03±0,03 ^a	0,87±0,3	0,56±0,1	0,02±0,02 ^b	0,12±0,1 ^b	0,4±0,3	0,54±0,4	0,56±0,1
16-й день	0,01±0,01 ^a	0,6±0,4	0,04±0,02	0±0	0,01±0,02	0,07±0,1	0,12±0,04	0,04±0,02
20-й день	0±0	0,31±0,4	0,006±0,008	0±0	0±0	0,002±0,004	0,04±0,04	0,006±0,008
Епітелізація (дні)	15,7±1,2 ^a	22,8±2,2	19,7±1,8	13,5±1,4 ^b	16,8±1,8 ^b	18,2±2,3 ^b	23,5±2,1	19,7±1,8
Вага вологої грануляції (мг/100 г маси тіла)	163±7,2 ^a	110±6,3	120±3,5	168±10 ^b	130±2,2 ^b	119±2,7	113±2,7	120±3,5
Вага сухої грануляції (мг/100 г маси тіла)	66±9,1 ^a	28±3,1	33±3,7	72±6,7 ^b	38±2,6 ^b	31±3,5	29±2,9	33±3,7
Гідроксипролін (мг/г тканини)								
0-й день	118,3±1	117,9±2,4	133±1,4	119±1,6	119,2±2,1	117,6±2,7	119,5±2	133±1,4
15-й день	133,6±0,6 ^a	38,3±2,1	90,2±0,8 ^b	87,6±2 ^b	81,1±3 ^b	78,5±1,6 ^b	37,6±1,1	90,2±0,8 ^b

Примітка: показники наведено як середнє±SD від 6 щурів/група; ^a — вірогідна різниця з показником групи контролю діабету (ФБР) ($p < 0,01$); ^b — вірогідна різниця з показником групи контролю діабету (фізрозчин) ($p < 0,01$).

щурам із діабетичними виразками шкіри показала, що кількість новоутворених кровоносних судин у зоні виразок значно збільшується на 3-й день, утворення грануляційної тканини активується на 7-й день, а багатошаровий плоский епітелій формується вже на 14-й день. Стан зони виразки шкіри також значно поліпшувався на 7-й і 14-й дні, що можна пояснити секрецією епітеліальними кератиноцитами кератину-19 і його участю у формуванні позаклітинного матриксу (табл. 1) [33, 34].

Інше дослідження вказує на те, що СК, виділені з вартонового студня й трансплантовані мишам із діабетом і лігуванням судин нижніх кінцівок, сприяють значному поліпшенню кровобігу, підвищенню щільності капілярів, зменшенню апоптозу в ендотеліальних клітинах і збільшенню експресії гіпоксія-індукованого чинника 1 α (hypoxia-inducible factor — HIF-1) і IL-8 [35].

Отже, пуповина — багате джерело СК, які легко виділяються, зберігаються, мають слабку імуногенність та високу ефективність у лікуванні хронічних ран [36]. Тому МСК-ПКЛ є перспективним інструментом для ефективного лікування пацієнтів із діабетичною периферичною нейропатією, периферичним ураженням артерій і трофічними виразками нижніх кінцівок.

Достатня кількість даних вказують на важливу роль плацентарних чинників росту в процесі загоєння ран. Цей список включає (але не обмежується лише ними) епідермальний чинник росту (EGF), основний чинник росту фібробластів (bFGF), чинник росту тромбоцитів (PGF), чинник росту ендотелію судин (VEGF), чинник росту гепатоцитів (HGF), трансформуючий чинник росту- β (TGF- β), чинник росту кератиноцитів (KGF). Вказані мультифункціональні чинники росту підтримують міграцію, проліферацію та диференціацію фібробластів, ендотеліальні клітини, а також епітеліальні клітини, задіяні у формуванні грануляційної тканини, утворенні нових кровоносних судин і реепітелізації ран. Крім того, амніотичною мембраною секретуються протизапальні чинники (IL-10, антагоніст рецептора IL-1, PGE2) і антибактеріальні пептиди (дефенсини, нейтрофільний желатиназа-асоційований ліпокалін і кателіцидин) [37-39]. Завдяки продукції багатьох чинників, зокрема TGF- β 3, HGF і IL-10, амніотична мембрана має протирубцеві властивості [40, 41] (табл. 2) [78].

Амніон містить неонатальні фібробласти, епітеліальні та мезенхімальні клітини з низькою імуногенністю, що спрощує його використання в клініці. Попри те, що тканинні макрофаги

Огляди

Таблиця 2. Властивості амніону і хоріона людини [78]

Властивості	Амніон	Хоріон
Фізичні		
Товщина	111±78 мкм	431±113 мкм
Максимальна сила натягіння	0,166 (0,15-0,25 кг/см)	0,117 (0,05-0,1 кг/см)
Максимальне напруження	30,2 кг/см ²	5,9 кг/см ²
Шари	Епітеліальний, базальна мембрана, компактний, мезодермальний, губчастий	Мезодермальний, псевдобазальна мембрана, трофобласт
Клітини тканини	Епітеліальні клітини, фібробласти, мезенхімальні стовбурові клітини, макрофаги	Фібробласти, мезенхімальні стовбурові клітини, макрофаги, клітини-трофобласти
Кількість клітин (у середньому на плаценту)	~20 мільйонів стромальних клітин ^a 50-70 мільйонів епітеліальних клітин	25-40 мільйонів стромальних клітин ^a
Функція <i>in utero</i>	Бар'єрна, захисна	Стромальний бар'єрний шар, захисна; обмін трофобластів, секреторна
Позаклітинний матрикс		
Структурний матрикс	Колагени I, III, IV, V, VI, еластин	Колагени I, III, IV, V, VI, тропоеластин
Глікопротеїни	Фібронектин, ламініни, нідоген	Фібронектин, ламініни, нідоген
Протеоглікани	Хондроїтин, дерматану сульфат, гіалуронан, декорин, біглікан	Хондроїтин, дерматану сульфат, гіалуронан, декорин, біглікан, версикан, перлікан
Вибрані чинники росту ^b	EGF, HGF, TGF- β (1, 3), bFGF, KGF, NGF, VEGF, PDGF, PIGF, TGF- α Муцин Дефензини TIMPS, CTGF, IL-1RA Gro α , sICAM, IL-6, IL-8, MCP-1, MIF, serpin E1, SDF-1 α , IL-10, IL-4, G-CSF	HGF, TGF- β 1, TGF- α , bFGF, VEGF, PDGF, PIGF Інтерферон α Дефензини TIMP-1 IL-6, IL-8, IL-4, SDF-1 α , IL-10, G-CSF

Примітка: а — оцінка ґрунтується на 20 г і 25-40 г ваги вологого амніону та хоріона відповідно; б — основні амніотичні чинники росту також присутні в хоріоні; EGF — епідермальний чинник росту; HGF — чинник росту гепатоцитів; TGF- β (1, 3) — трансформуючий чинник росту бета 1, 3; bFGF — основний чинник росту фібробластів; KGF — чинник росту кератиноцитів; NGF — чинник росту нервів; VEGF — чинник росту ендотелію судин; PDGF — чинник росту тромбоцитів; PIGF — плацентарний чинник росту; TGF- α — трансформуючий чинник росту альфа; TIMPS — тканинні інгібітори металопротеїназ; TIMP1 — тканинний інгібітор металопротеїнази 1; CTGF — чинник росту сполучної тканини; IL-1RA — антагоніст рецептора інтерлейкіну 1; Gro α — ріст-регулюючий онкоген альфа; sICAM — молекула міжклітинної адгезії; IL — інтерлейкін; MCP-1 — хемоатрактантний білок моноцитів 1, MIF — чинник пригнічення міграції макрофагів; serpin E1 — інгібітор активатора плазміногену E1; SDF-1 α — стромальний клітинний чинник 1 α , G-CSF — гранулоцитарний колонієстимулюючий чинник.

потенційно можуть викликати імунну реакцію, кількість резидентних макрофагів у тканині є заниженою, і немає жодних повідомлень про побічні ефекти, пов'язані з наявністю тканинних макрофагів в амніотичних мембранах [42].

Хоріон має два шари: мезенхімальний і трофобластний. Структурний і клітинний склад мезенхімального шару хоріона подібний до такого мезенхімального шару амніону (рис. 4). Фібробласти, МСК, поодинокі макрофаги присутні в мезенхімальному шарі хоріона. Трофобластний шар хоріона має інший склад структурного матриксу — основною клітинною популяцією його є клітини трофобласта, імуногенність яких залишається невизначеною. Це може пояснити широке клінічне застосування амніону та нечас- те використання хоріона [43].

Амніотична мембрана (АМ) і пуповинна тка- нина використовуються протягом багатьох ро- ків для лікування виразок рогівки, опікових ран

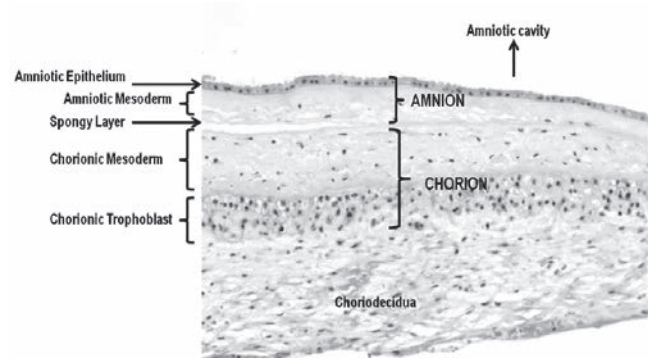


Рис. 4. Мікроскопічна структура амніону та хоріона людини. Амніон складається з одного шару епітеліальних клітин і мезодермального шару (стромальний або фібробластний). Губчастий шар позаклітинного матриксу відокремлює амніон від хоріона. Хоріон складається з мезодермального (стромальний, фібробластний) шару та шару трофобласта, який тісно пов'язано з материнською децидуальною оболонкою. Мезодерма амніону та хоріона містить фібробласти, мезенхімальні стовбурові клітини та тканинні макрофаги. Амніон і хоріон є безсудинними тканинами (забарвлення гематоксилін-еозином) [43].

та є біоматеріалом, який раніше за всі використовувався для загоєння ран [44-47].

Останніми роками спостерігається значна зацікавленість у цих тканинах для лікування хронічних ран через широку доступність плацентарних тканин після кесаревого розтину. Нативна АМ містить низку цитокінів і чинників росту, що сприяють продукції позаклітинного матриксу, завдяки чому посилюється ангиогенез і відновлення ушкоджених тканин [48-50]. Як у досліджах на тваринах [51], так і в клінічних випробуваннях показано високу ефективність екзогенного використання АМ для лікування ран, що не загоюються, оскільки вона є джерелом молодих МСК [52].

Клінічні дослідження з використанням стовбурових клітин крові людини

Одним з аргументів на користь застосування клітинної терапії, зокрема ендотеліальних клітин-попередників (ЕКП), є результати клінічних досліджень, в яких показано зворотню залежність між кількістю цих клітин і частотою розвитку кардіоваскулярних захворювань [53].

У пацієнтів із СДС і критичною ішемією кінцівок транскутанний тиск кисню, безрецидивне виживання та швидкість загоєння ран через 6 і 12 місяців були значно вищими за умов використання автологічних СК порівняно з контролем [54].

Вже через 3 місяці після внутрішньом'язових ін'єкцій мононуклеарних клітин периферичної крові хворим на ЦД із критичною ішемією кінцівок і вираженим больовим синдромом відбувалося як зменшення болю, так і цілковите загоєння ран стопи (у 14 з 18 пацієнтів) [55]. За даними лазерної доплерографії, перфузія крові в нижніх кінцівках збільшилася з $0,44 \pm 0,11$ до $0,57 \pm 0,14$ одиниці перфузії ($p < 0,001$). Середнє значення індексу гомілково-стопного тиску збільшилось з $0,50 \pm 0,21$ до $0,63 \pm 0,25$ ($p < 0,001$). Ангіографічні показники значно поліпшилися після трансплантації клітин ($p = 0,003$). У цілому 14 із 18 виразок кінцівки (77,8%) було цілком виліковано після трансплантації клітин, тоді як лише 38,9% виразок кінцівки (7 із 18) було виліковано в пацієнтів без трансплантації ($p = 0,016$). Завдяки застосуванню клітинного препарату вдалося уникнути ампутацій нижніх кінцівок.

Клітинна терапія з використанням дорослих СК може бути ефективним способом терапевтичної неоваскуляризації у хворих на ЦД. Так,

ЕКП і МСК здатні відновлювати фізіологічні рівні ангиогенних чинників (зокрема, VEGF і HIF1), а також диференціюватися в клітини периферичних судин у процесі відновлення кровотоку в нижніх кінцівках пацієнтів з ішемічними захворюваннями [56].

Трансплантація МСК хворим на ЦД із гангrenoю обох верхніх кінцівок із метою терапевтичної неоваскуляризації показала поліпшення артеріальної перфузії, добре загоєння всіх ран і зникнення болю [57].

МСК прискорюють загоєння шляхом диференціації у фібробласти та кератиноцити, а також сприяють неоваскуляризації, регенерації та переміщенню клітин запалення в рани [58]. Трансплантація ЕКП підвищує загоєння ран у мишей через паракринні чинники. За допомогою цих же механізмів ЕКП і МСК прискорюють загоєння ран і можуть бути ефективним способом лікування виразки стопи в пацієнтів із СДС.

Клінічні дослідження з використанням стовбурових клітин кісткового мозку людини

Згідно з протоколом дослідження NCT00872326 неоваскулогенез, індукований терапією СК, може бути корисним підходом у хворих на ЦД з обмеженим судинним гомеостазом [59]. Неоваскулогенез і клінічне поліпшення оцінювали на початку дослідження та через 3 і 12 місяців після внутрішньоартеріального введення автологічних одноподібних клітин кістковомозкового походження («VMMNC») ($100-400 \times 10^6$ клітин) 20 хворим на ЦД із тяжкою артеріальною ішемією нижче коліна. Хоча час настання клінічного ефекту різнився серед пацієнтів, після 12 місяців спостереження в усіх мало місце помітне поліпшення згідно з класифікацією Резерфорда – Беккера шкали діабетичних ран Техаського університету та кісточно-плечового індексу в кінцівці, яка піддавалась терапевтичній процедурі. Клінічний результат узгоджувався з неоваскулогенезом, який оцінювали через 3 місяці візуально за допомогою цифрової субтракційної ангіографії та кількісно за допомогою програмного забезпечення MetaMorph. На жаль, місцева клітинна терапія не дозволила знизити високий рівень смертності серед цих пацієнтів. Автори дійшли висновку, що в пацієнтів із ЦД і критичною ішемією кінцівки внутрішньоартеріальна перфузія автологічних одноподібних клітин кісткового мозку є безпечною процедурою,

Огляди

яка приводить до значного збільшення судинної мережі в ішемічних ділянках і сприяє помітному клінічному поліпшенню.

Метою авторів дослідження NCT01065337 була оцінка безпеки й ефективності трансплантації кісткомозкових клітинних продуктів із точки зору поліпшення мікроциркуляції та зниження показника ампутації у 24 пацієнтів із СДС і критичною ішемією кінцівок [60]. Для лікування діабетичних виразок індукуванням ревазуляризації 24 пацієнти були рандомізовані для отримання моноклеарних клітин кісткового мозку («ВМС») або клітин кісткового мозку, збагачених CD90⁺-клітинами («клітинами репарації тканин», «TRC»). У результаті 22 пацієнти включили в дослідження; в одного пацієнта з групи «TRC» і двох із групи «ВМС» у ході спостереження не відзначено загоєння ран. По одному пацієнту з кожної групи померли до завершення дослідження: один після досягнення загоєння ран (група «ВМС»), інший — не досягнувши загоєння ран (група «TRC»). Отже, у 18 пацієнтів показано загоєння ран після 45 тижнів. Загальна кількість застосованих клітин була в 3,8 раза нижчою в групі «TRC», але пацієнти цієї групи отримували значно більші кількості CD90⁺-клітин. За даними ангіографії поліпшення мікровазуляризації відзначено в деяких пацієнтів; транскутанний тиск кисню значно поліпшився в обох групах лікування. Автори роблять висновок, що трансплантація обох видів клітин є безпечним і здійсненим методом, який дозволяє поліпшити мікроциркуляцію та цілком загоїти рани.

Метою дослідження NCT01232673 було місцеве застосування концентрату аутологічних СК кісткового мозку для запобігання ампутації кінцівки в пацієнтів із ЦД та оклюзією периферичних артерій [61]. 96 пацієнтів із критичною ішемією кінцівок і виразкою стопи було рандомізовано на 2 групи. Пацієнти групи I (n=42, 36 чоловіків і 6 жінок, 66,2±10,6 року) пройшли місцеве лікування концентратом аутологічних СК кісткового мозку, а пацієнти групи II (n=54, 42 чоловіки та 12 жінок, 64,1±8,6 року) отримували стандартну медичну допомогу. Протягом 120 днів спостереження частота ампутації кінцівок у групах I і II становила 21% і 44% відповідно (p<0,05). Кількість CD34⁺-клітин у концентраті кісткового мозку знизилася з віком (p=0,024), хоча не було кореляції між віком та одужанням.

Було зроблено несподіване відкриття відносної лімфопенії кісткового мозку в початкових концентраціях кісткового мозку в пацієнтів, у яких не вдалося терапія концентратом аутологічних СК кісткового мозку (21% ампутацій кінцівки, p<0,040). Автори дійшли висновку, що така терапія приводить до збереження кінцівки в пацієнтів, які мають критичну ішемію кінцівок і виразки стопи, у 79% випадків. У решті 21% випадків лімфопенії та тромбоцитопенія було ідентифіковано як потенційні причинні чинники, що змушує вважати, що принаймні часткова корекція з додаванням тромбоцитів може давати позитивний ефект.

Терапія моноклеарними клітинами кісткового мозку та периферичної крові у 28 пацієнтів із СДС і критичною ішемією кінцівки, що не реагує на консервативну терапію, показала значне збільшення транскутанного тиску кисню (p<0,05) і значне зниження частоти ампутацій (11,1% проти 50%, p=0,0032) порівняно з результатами 22 пацієнтів контрольної групи без клітинної терапії [62].

Згідно з результатами клінічних досліджень, аутологічна трансплантація МСК кісткового мозку дозволяє істотно пом'якшити клінічні прояви СДС, зокрема зменшити розмір рани та збільшити дистанцію гарантованої прогулянки [63]. Також досить поліпшується перфузія ноги, що зводить до мінімуму необхідність ампутації [64]. Показано, що аутологічний біографт у комбінації з МСК кісткового мозку зменшує розмір рани, збільшує товщину та васкуляризацію шкіри в пацієнтів із виразками нижніх кінцівок [65].

За 6 тижнів після внутрішньом'язової ін'єкції аутологічних МСК кісткового мозку значно збільшилася частота загоєння виразок у пацієнтів із ЦД 2-го типу та двобічною ішемією нижніх кінцівок [66]. За 24 тижні також значно збільшувалися час безболісної ходьби, перфузія кінцівок, індекс гомілково-стопного тиску, транскутанний тиск кисню та поліпшувалися результати магнітно-резонансної ангіографії.

Клінічні дослідження з використанням стовбурових клітин пуповинної крові людини

За останнє десятиріччя у світі різко зросла кількість кріобанків пуповинної крові та плаценти, що пояснюється активним інтересом дослідників і клініцистів до цих джерел СК. Вказані тканини, які отримують у результаті пологів без шкоди для здоров'я новонародженого та по-

роділлі, містять популяції гемопоетичних і мезенхімальних прогеніторів із високим регенеративним потенціалом [67]. Надто актуальними ці джерела можуть бути за неможливості за станом здоров'я або високої вартості отримання власних СК різного походження для потреб конкретного пацієнта в умовах країни його проживання та лікування. З огляду на пов'язані зі станом пацієнта протипоказання до забирання матеріалу та необхідність якомога більш раннього початку терапії виникає об'єктивна потреба в готовому до застосування клітинному препараті, який не вимагає часу для нарощування. СК плаценти та пуповинної крові стають кандидатами для регенеративної терапії хворих на ЦД 1-го та 2-го типів із діабетичною периферичною нейропатією, периферичним ураженням артерій та/або трофічними виразками нижніх кінцівок, оскільки можуть бути виділеними в значних кількостях, легко культивуються та кріоконсервуються для тривалого зберігання та подальшого застосування за потреби, а також характеризуються високим потенціалом мультипотентного диференціювання та низькою імуногенністю [68]. Враховуючи їх додаткові протизапальні та антифібротичні ефекти, СК плаценти розглядають як унікальне джерело цитокінів і ростових чинників, здатних зменшувати наслідки ішемії.

Так, дослідження ефективності застосування клітин пуповинної крові в лікуванні хворих на ЦД 2-го типу з ураженням нижніх кінцівок показало переконливий ефект від їх внутрішньом'язового введення в литковий м'яз ураженої кінцівки, що, можливо, пов'язано з підтриманням функції β-клітин, субпопуляцій Т-клітин і здатності ендотеліальних клітин судин до секреції VEGF [10, 69].

Подальше вивчення механізму дії СК наводить учених на думку про необхідність використання комбінації СК та інших клітин або тканин різного походження для лікування хворих на ЦД із периферичним ураженням артерій і виразками нижніх кінцівок, де останнім методом лікування залишається ампутація. У дослідженні із залученням 5 хворих було використано комбінацію МСК із матриксу пупкового канатика та гемопоетичні СК пуповинної крові CD34⁺ (ГСК), які вводилися внутрішньом'язово в литковий м'яз, а також у тканини навколо виразки та у її дно, також застосовувались соматичні клітини (алогенні неонатальні фібробласти), апліковані безпосередньо на рану. Усі пацієнти мали принаймні один рівень

клінічного поліпшення після імплантації СК. Це свідчить, що досягнення терапевтичної мети поліпшення перфузії кінцівки є дійсно можливим. Цілковите загоєння рани було досягнуто впродовж трьох місяців у декількох пацієнтів. Ці короткострокові результати вказують на потужний потенціал комбінації МСК+ГСК з алогенними фібробластами для локального відновлення ураженої кінцівки. У світлі цих обнадійливих спостережень і на підставі результатів, описаних у літературі, автори вказують на необхідність більш раннього початку процедури застосування СК у лікуванні хворих із тяжкою ішемією або з виразками, що не загоюються, для досягнення найліпших результатів [69].

Трансплантація МСК пуповини людини шляхом ендоваскулярної інфузії та ін'єкції навколо виразки стопи 53 пацієнтам із тяжкими симптомами СДС Fontaine II-IV показала значно вищі та стабільніші поліпшення температури шкіри, індексу гомілково-стопного тиску, транскутанного тиску кисню та максимальної відстані ходьби порівняно з пацієнтами контрольної групи [70].

Клінічні дослідження з використанням стовбурових клітин плаценти людини

У дослідженні із застосуванням МСК-ПЛ у лікуванні хворих на ЦД із периферичним ураженням артерій і діабетичною виразкою стопи показано, що з 15 пацієнтів, які брали участь у дослідженні, у 7 відбулося загоєння виразок (у 5 — цілковите та у 2 — часткове) протягом 3 місяців лікування клітинним препаратом; рівень циркулюючих ендотеліальних клітин (маркер ураження судин для периферичного ураження артерій) знизився протягом одного місяця. Препарат добре переносився пацієнтами [79].

Дуже важливими є дані про безпечність та ефективність внутрішньовенного застосування МСК-ПЛ у лікуванні пацієнтів із ЦД 2-го типу. Пацієнти отримували клітини плаценти шляхом внутрішньовенної інфузії тричі з інтервалом в один місяць у дозі $(1,22-1,51) \times 10^6$ на кг маси тіла та продовжували отримувати інсулін і терапію, спрямовану на ліквідацію ускладнень, пов'язаних із ЦД. Введення клітин, отриманих із плаценти, привело до вірогідного майже двократного зниження потреби в інсуліні — з $67,3 \pm 18,7$ МО до $34,7 \pm 13,4$ МО ($p < 0,01$), а також до зниження показників глікованого гемоглобіну та підвищення рівня ендогенно-

Огляди

го інсуліну в крові. Внутрішньовенне введення МСК-ПЛ добре переносилось і не призводило до серйозних небажаних явищ [71]. Слід зазначити, що про безпечність та ефективність внутрішньовенного введення МСК-ПЛ свідчать і дослідження їх застосування в пацієнтів із хворобою Крона середнього та важкого ступенів [80] і хронічним легенеvim саркоїдозом [81].

Клінічні дослідження з використанням комерційних продуктів

Завдяки прогресу в галузі методів обробки тканин та їх консервації наразі доступно понад 25 комерційних продуктів із плацентарної мембрани для лікування хронічних ран. Вони доступні як у кріоконсервованому стані, так і у вигляді зневодненого продукту.

На сьогодні плацентарними мембранними продуктами, які зберігають як структурну, так і клітинну цілісність, є Grafix Prime® (амніон) і Core® (мезенхіма хоріона) (Osiris Therapeutics, Inc., Columbia, MD), що можуть бути розглянуті безсумнівною альтернативою свіжим плацен-

тарним мембранам. Короткий опис основних комерційних продуктів плацентарних мембран наведено в **таблиці 3**.

Опубліковано дані дослідження двох комерційних продуктів: EpiFix® (MiMedx Group, Marietta, GA) і Grafix (Osiris Therapeutics, Inc.).

EpiFix® (MiMedx Group, Marietta, GA)

Досліджували вплив зневодненого амніохоріона (дегідратована мембрана амніохоріона — ДГМАХ) у 12 пацієнтів із хронічними ранами різної етіології (>4 тижні). У 4 із 12 пацієнтів спостерігалась хірургічна розбіжність країв, 3 пацієнти мали діабетичні нейропатичні виразки стопи, а решта 5 — венозні виразки ноги, склеродермію, травматичні рани або артеріальну недостатність [72-74]. Початкові розміри ран становили 0,42 см², 3,42 см² і 1,32 см², тривалість ранового процесу — 4, 7-8 і 3 місяці відповідно. Стандартна терапія не мала успіху до моменту застосування EpiFix. Після одноразового застосування EpiFix у двох із трьох пацієнтів (66,7%) відбулося цілковите закриття ран через 4 і 5,5 тижня після аплі-

Таблиця 3. Класифікація комерційних продуктів плацентарних мембран

Опис	Зберігання	Назва продукту	Джерело тканини	Виробник	Веб-сайт компанії
Життєздатна тканина плаценти	Кріоконсервація	Grafix Prime	Амніон	Osiris Therapeutics	www.osiris.com/grafix
		Grafix Core	Хоріонічна мезенхіма		
Нежиттєздатна тканина плаценти	Кріоконсервація	Neox	Амніон	Amnio Medical	www.amniomedical.com/
		Clarix			
		Neox Cord	Амніон і пуповина		
		Clarix Cord			
	Дегідратація	Amnio Graft	Амніон	BioTissue	www.biotissue.com/products/amniograft.aspx
		Amnio Guard			
		XWRAP	Амніон	Applied Biologics	www.appliedbiologics.com/
		BioDFence		BioD, LLC	http://biologics.com/index.php/products/biodfence
		AmnioExcel		Derma Sciences	www.dermasciences.com/
		AmnioClear		Liventa Biosciences	www.liventabioscience.com/difference.html
Безклітинна тканина плаценти	Дегідратація	EpiFix	Амніон і хоріон (із трофобластом)	MiMedx	www.mimedx.com/products?qt-product-tabs=2#qt-product-tabs
		Revitalon		Medline	www.medline.com/products/wound-and-skin-care/revitalon
		ASGBarrier	Амніон	AlonSource Group (ASG)	www.alonsourcegroup.com/about-us/
		Biovance	Амніон	Alliqua (Celgene)	www.alliqua.com/products/biovance/

кації. У пацієнта з раною розміром 3,42 см² розмір рани зменшився на 4-му тижні лікування на 50% після застосування препарату.

Grafix (Osiris Therapeutics, Inc.)

Дані про застосування Grafix отримано в ретроспективному одноцентровому дослідженні [75]. Аналіз включав 66 пацієнтів із 67 ранами, серед них 27 пацієнтів із хронічними виразками СДС, 34 — із діабетичними нейропатичними виразками стопи та 6 — із іншими типами хронічних ран (хірургічними, травматичними). У 23 із 27 пацієнтів із хронічними язвами СДС (85,2%) досягнуто цілковитого закриття рани (табл. 4).

Амніотична мембрана ефективно застосовується в клінічній практиці вже понад 100 років як у нативному, так і у відновленому (після ліофілізації або кріоконсервування) стані. Вона показала високу ефективність для різ-

них патологій, у тому числі в офтальмології для опіків рогівки та кератитів різної етіології, а також для довго незагойних ран, у тому числі діабетичних виразок стопи [82]. Так, у пацієнтів, які отримували амніотичну мембрану у вигляді розмороженого кріоконсервованого препарату тканини з життєздатними клітинами — Grafix, вірогідно частіше загоювалися виразки — 62% проти 21% у групі стандартного лікування ($p=0,0001$), швидше — 42 дні проти 69,5 ($p=0,019$), рідше траплялися небажані явища, а саме — ранова інфекція. Загоєння виразки зберігалось в більшій кількості пацієнтів, які отримували Grafix, що дозволило авторам дослідження дійти висновку, що лікування кріоконсервованою амніотичною мембраною, яка зберігає після розморожування життєздатні клітини, є добре контрольованим та ефективнішим за стандартне лікування методом [82].

Отже, рановий процес хронічної виразки СДС часто затримується в запальній фазі та характеризується надмірним вмістом прозапальних цитокінів, вільних радикалів кисню та протеаз, що запобігають загоєнню ран. Накопичені дані вказують, що плацентарні мембрани, у тому числі амніону та хоріона, мають склад і властивості, корисні для лікування хронічних ран. Протизапальна активність плацентарних мембран має вирішальне значення в сприянні переходу ранового процесу від запальної до регенеративної фази.

Досягнення в галузі методів консервації тканин дозволили розробити комерційні продукти плацентарних мембран — багатообіцяючу перспективу для лікування ран.

Клінічні дослідження згідно з базою даних ClinicalTrials.gov

Аналіз клінічних досліджень щодо застосування СК для лікування хворих на ЦД 1-го типу проведено по базі даних сайту ClinicalTrials.gov [76].

ClinicalTrials.gov — це веб-ресурс, розроблений під егідою Міністерства охорони здоров'я та соціальних служб США (US Department of Health and Human Services) спільно з Національним інститутом здоров'я (National Institute of Health) та Управлінням з продовольчих продуктів і медикаментів (Food and Drug Administration). Наразі веб-сайт ClinicalTrials.gov підтримує Національна медична бібліотека (National Library of Medicine) Національного інституту здоров'я без залучення коштів від комерційних організацій.

Таблиця 4. Характеристика випадків із ВДС, оброблених EpiFix і Grafix [75]

	EpiFix (MiMedx)	Grafix (Osiris)
Кількість пацієнтів	3	27
Розмір виразки	Випадок 1: 0,7×0,6=0,42 см ² Випадок 2: 1,9×1,8=3,42 см ² Випадок 3: 1,2×1,1=1,32 см ²	3,97±3,08 см ² (середнє±SD)
Тривалість виразки (тижні)	Випадок 1: 16 Випадок 2: 28-32 Випадок 3: 12	24,5±49,2 (середнє±SD)
Критерії виключення	Кінцева стадія ураження нирок, попередня невдала трансплантація, інфекція, автоімунні захворювання	Інфекція; ішемія та недоїдання перед застосуванням
Частота негативного результату попередньої терапії, невдачі/всього (%)	0/3 (0)	23/27 (85,2)
Цілковите загоєння виразки, закрито/всього (%)	2/3 (66,7)	23/27 (85,2), на 12-й тиждень
Термін закриття виразки	Випадок 1: 4 тижні Випадок 2: не повідомляється Випадок 3: 5,5 тижня	6,2±2,6 тижня (середнє±SD)
Кількість аплікацій	1	3,8 (середнє)
Посилання	64	65

Огляди

Станом на 13 грудня 2017 року на офіційному сайті www.ClinicalTrials.gov після пошуку за ключовою фразою «Diabetic foot AND stem cells» виявлено інформацію про 21 клінічне дослідження щодо застосування СК для лікування такого ускладнення ЦД, як СДС [76].

Висновки та перспективи подальших досліджень

Попередні дослідження на моделях ЦД із периферичною нейропатією, периферичним ураженням артерій і трофічними виразками нижніх кінцівок у тварин продемонстрували безпеку та високий регенеративний потенціал трансплантації алогенних СК пуповинної крові, плаценти, трансплантації на діабетичну виразку амніотичної мембрани та їх комбінації, що підтверджено морфологічними та функціональними показниками. Ліпші результати отримано від комбінації клітинної та тканинної терапії та повторних трансплантацій, але остаточний вибір дизайну дослідження має залежати від діагнозу, тяжкості перебігу захворювання та врахувати індивідуальні чинники ризику в реципієнта.

МСК є ідеальним джерелом клітин для регенеративної терапії й відіграють важливу роль у лікуванні пацієнтів із СДС [5]. Збільшується кількість доказів того, що трансплантація МСК може прискорити загоєння рани, поліпшити клінічні параметри й запобігти ампутації.

Наразі проводяться передклінічні дослідження ефективності застосування МСК, отриманих із жирової тканини, пуповинної крові, пуповини, плаценти й амніотичної рідини людини, у загоєнні діабетичних ран, проте повідомлення про клінічні випробування відсутні [5].

Отже, клітинна терапія має великі перспективи для лікування хворих на ЦД 1-го типу та його ускладнення. Натомість подальший розвиток регенеративної медицини вимагає вирішення багатьох складних завдань, насамперед впровадження доволі вартісних методів обробки клітинного матеріалу згідно з вимогами належної виробничої практики, дотримання стандартних протоколів усіх процедур і жорстких критеріїв випуску продукції, а також забезпечення спеціалізованими установами та високопрофесійним персоналом [77]. Дуже важливим є контроль дотримання протоколу клінічних випробувань щодо використання СК у лікуванні пацієнтів із ЦД 1-го типу, який можуть проводити комітети з етики та незалежні клінічні науково-дослідні організації.

Крім того, дуже важливим є стандартне визначення клітинної ідентичності, життєздатності, гормонального потенціалу та фенотипових характеристик для кожного клітинного продукту перед його трансплантацією. Теперішні та майбутні дослідження з використанням СК допоможуть оцінити безпеку та ефективність застосування відповідних клінічних протоколів, зокрема оптимальний тип клітин або їх комбінацій для конкретних умов, оптимальні маркери клітин для визначення їх характеристик, а також оптимальні схеми лікування для пацієнтів [77].

Найбільш раціональним є проведення багатоцентрових рандомізованих клінічних досліджень із дотриманням умов стандартизації обробки клітинного матеріалу та клінічних протоколів, заснованих на результатах пілотних досліджень. У реєстри клінічних випробувань необхідно вносити дані лише тих досліджень, які відповідають міжнародним етичним стандартам, дозволяють чітко інтерпретувати результати, оцінювати безпеку та ефективність запропонованого способу лікування. Виконання всіх цих положень, безсумнівно, забезпечить прискорення прогресу в цій галузі медичної науки.

Список використаної літератури

1. <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/134-idf-diabetes-2016>.
2. Довідник основних показників діяльності ендокринологічної служби України за 2016 рік. Ендокринологія. 2017;22(1) додаток 1 (Directory of main indicators of the endocrinology service activity of Ukraine for 2016. Endokrynologia. 2017;22(1) suppl 1).
3. Аметов АС. Перспективы развития диабетологии. Тер архив. 2005;(10):5-9 (Ametov AS. Perspectives of development of diabetology. Therapeutic archive. 2005;(10):5-9).
4. Yechoor V, Chan L. Minireview: beta-cell replacement therapy for diabetes in the 21st century: manipulation of cell fate by directed differentiation. Mol Endocrinol. 2010 Aug; 24(8):1501-11.
5. Cao Y, Gang X, Sun C, Wang G. Mesenchymal stem cells improve healing of diabetic foot ulcer. J Diabetes Res. 2017;2017:9328347.
6. Тронько НД, Соколова ЛК, Ковзун ЕИ, Пастер ІП. Інсулінотерапія: вчора, сьогодні, завтра // Київ: Медкнига, 2014. — 192 с. (Tronko ND, Sokolova LK, Kovzun EI, Pasteur IP. Insulinotherapy: yesterday, today, tomorrow // Kyiv: Medbook, 2014. — 192 p.).
7. da Silva Meirelles L, Caplan AI, Nardi NB. In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells. Stem Cells. 2008 Sep;26(9):2287-99.
8. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 2006;8(4):315-7.
9. Badiavas EV, Falanga V. Treatment of chronic wounds with bone marrow-derived cells. Arch Dermatol. 2003 Apr;139(4):510-6.
10. Wu SC, Marston W, Armstrong DG. Wound care: the role of advanced wound healing technologies. J Vasc Surg. 2010 Sep;52(3 Suppl):59S-66S.
11. Yamaguchi Y, Yoshida S, Sumikawa Y, Kubo T, Hosokawa K, Ozawa K, et al. Rapid healing of intractable diabetic foot ulcers with exposed bones following a novel therapy of exposing bone marrow cells and then grafting epidermal sheets. Br J Dermatol. 2004 Nov;151(5):1019-28.

12. Gu C, Huang S, Gao D, Wu Y, Li J, Ma K, et al. Angiogenic effect of mesenchymal stem cells as a therapeutic target for enhancing diabetic wound healing. *Int J Low Extrem Wounds*. 2014 Jun;13(2):88-93.
13. Wu Q, Chen B, Liang Z. Mesenchymal stem cells as a prospective therapy for the diabetic foot. *Stem Cells Int*. 2016;2016:4612167.
14. Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol*. 2007 Nov;213(2):341-7.
15. Shin L, Peterson DA. Human mesenchymal stem cell grafts enhance normal and impaired wound healing by recruiting existing endogenous tissue stem/progenitor cells. *Stem Cells Transl Med*. 2013 Jan;2(1):33-42.
16. Miao Z, Jin J, Chen L, Zhu J, Huang W, Zhao J, et al. Isolation of mesenchymal stem cells from human placenta: comparison with human bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Biol Int*. 2006 Sep;30(9):681-7.
17. Toda A, Okabe M, Yoshida T, Nikaido T. The potential of amniotic membrane/amnion-derived cells for regeneration of various tissues. *J Pharmacol Sci*. 2007 Nov;105(3):215-28.
18. Wang H, Chen L, Liu Y, Luo B, Xie N, Tan T, et al. Implantation of placenta-derived mesenchymal stem cells accelerates murine dermal wound closure through immunomodulation. *Am J Transl Res*. 2016 Nov;8(11):4912-4921.
19. Kong P, Xie X, Li F, Liu Y, Lu Y. Placenta mesenchymal stem cell accelerates wound healing by enhancing angiogenesis in diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Aug;438(2):410-9.
20. Kadam S, Muthyala S, Nair P, Bhonde R. Human placenta-derived mesenchymal stem cells and islet-like cell clusters generated from these cells as a novel source for stem cell therapy in diabetes. *Rev Diabet Stud*. 2010 Summer;7(2):168-82.
21. Kadam SS, Bhonde RR. Islet neogenesis from the constitutively nestin expressing human umbilical cord matrix derived mesenchymal stem cells. *Islets* 2010 Mar-Apr;2(2):112-20.
22. Kadam S, Sudhakar M, Nair PD, Bhonde RR. Reversal of experimental diabetes in mice by transplantation of neoislets generated from human amnion derived mesenchymal stem cells using immunoislet macrocapsules. *Cytotherapy* 2010 Dec;12(8):982-91.
23. Koblas T, Harman SM, Saudek F. The application of umbilical cord blood cells in the treatment of diabetes mellitus. *Rev Diabet Stud*. 2005 Winter;2(4):228-34.
24. Grewal SS, Barker JN, Davies SM, Wagner JE. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? *Blood*. 2003 Jun;101(11):4233-44.
25. El-Mesallamy HO, Diab MR, Hamdy NM, Dardir SM. Cell-based regenerative strategies for treatment of diabetic skin wounds, a comparative study between human umbilical cord blood-mononuclear cells and calves' blood haemodialysate. *PLoS One*. 2014 Mar;9(3):e89853.
26. Pessina A, Eletti B, Croera C, Savalli N, Diodovich C, Gribaldo L. Pancreas developing markers expressed on human mononucleated umbilical cord blood cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004 Oct;323(1):315-22.
27. Nwanjo H, Oze G, Okafor M, Nwosu D, Nwankpa P. Protective role of phyllanthus niuri extract on serum lipid profiles and oxidative stress in hepatocytes of diabetic rats. *Afr J Biotech*. 2007;6:1744-1749. Available from: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/57772>.
28. Yoshikawa T, Mitsuno H, Nonaka I, Sen Y, Kawanishi K, Inada Y, et al. Wound therapy by marrow mesenchymal cell transplantation. *Plast Reconstr Surg*. 2008 Mar;121(3):860-77.
29. Chen HK, Hung HF, Shyu KG, Wang BW, Sheu JR, Liang YJ, et al. Combined cord blood stem cells and gene therapy enhances angiogenesis and improves cardiac performance in mouse after acute myocardial infarction. *Eur J Clin Invest*. 2005 Nov;35(11):677-86.
30. Shi C, Cheng T, Su Y, Mai Y, Qu J, Lou S, et al. Transplantation of dermal multipotent cells promotes survival and wound healing in rats with combined radiation and wound injury. *Radiat Res*. 2004 Jul;162(1):56-63.
31. Xia N, Xu JM, Zhao N, Zhao QS, Li M, Cheng ZF. Human mesenchymal stem cells improve the neurodegeneration of femoral nerve in a diabetic foot ulceration rats. *Neurosci Lett* 2015 Jun;597:84-9.
32. Whiteley J, Bielecki R, Li M, Chua S, Ward MR, Yamanaka N, et al. An expanded population of CD34+ cells from frozen banked umbilical cord blood demonstrate tissue repair mechanisms of mesenchymal stromal cells and circulating angiogenic cells in an ischemic hind limb model. *Stem Cell Rev*. 2014 Jun;10(3):338-50.
33. Elsharawy MA, Naim M, Greish S. Human CD34+ stem cells promote healing of diabetic foot ulcers in rats. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2012 Mar;14(3):288-93.
34. Zhao QS, Xia N, Zhao N, Li M, Bi CL, Zhu Q, et al. Localization of human mesenchymal stem cells from umbilical cord blood and their role in repair of diabetic foot ulcers in rats. *Int J Biol Sci*. 2013 Dec;10(1):80-9.
35. Shen WC, Liang CJ, Wu VC, Wang SH, Young GH, Lai IR, et al. Endothelial progenitor cells derived from Wharton's jelly of the umbilical cord reduces ischemia-induced hind limb injury in diabetic mice by inducing HIF-1 α /IL-8 expression. *Stem Cells Dev*. 2013 May;22(9):1408-18.
36. Bongso A, Fong CY. The therapeutic potential, challenges and future clinical directions of stem cells from the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cell Rev*. 2013 Apr;9(2):226-40.
37. Rossi D, Pianta S, Magatti M, Sedlmayr P, Parolini O. Characterization of the conditioned medium from amniotic membrane cells: prostaglandins as key effectors of its immunomodulatory activity. *PLoS One*. 2012;7(10):e46956.
38. Maxson S, Lopez EA, Yoo D, Danilkovitch-Miagkova A, Leroux MA. Concise review: role of mesenchymal stem cells in wound repair. *Stem Cells Transl Med*. 2012 Feb;1(2):142-9.
39. Mamede AC, Carvalho MJ, Abrantes AM, Laranjo M, Maia CJ, Botelho MF. Amniotic membrane: from structure and functions to clinical applications. *Cell Tissue Res*. 2012 Aug;349(2):447-58.
40. Ferguson MW, O'Kane S. Scar-free healing: from embryonic mechanisms to adult therapeutic intervention. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2004 May;359(1445):839-50.
41. Jackson WM, Nesti LJ, Tuan RS. Mesenchymal stem cell therapy for attenuation of scar formation during wound healing. *Stem Cell Res Ther*. 2012 May;3(3):20.
42. Banas RA, Trumpower C, Bentlejewski C, Marshall V, Sing G, Zeevi A. Immunogenicity and immunomodulatory effects of amnion-derived multipotent progenitor cells. *Hum Immunol*. 2008 Jun;69(6):321-8.
43. Carr MC. Biology of human trophoblast. *Calif Med*. 1967 Oct;107(4):338-43.
44. Davis JW. Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital. *Johns Hopkins Med J* 1910;15:307. Available from: <https://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=mdp.39015035863417;view=1up;seq=327>.
45. Kesting MR, Wolff KD, Hohlweg-Majert B, Steinstraesser L. The role of allogenic amniotic membrane in burn treatment. *J Burn Care Res*. 2008 Nov-Dec;29(6):907-16.
46. Gruss JS, Jirsch DW. Human amniotic membrane: a versatile wound dressing. *Can Med Assoc J*. 1978 May;118(10):1237-46.
47. Singh R, Chouhan US, Purohit S, Gupta P, Kumar P, Kumar A, et al. Radiation processed amniotic membranes in the treatment of non-healing ulcers of different etiologies. *Cell Tissue Bank*. 2004;5(2):129-34.
48. Litwiniuk M, Grzela T. Amniotic membrane: new concepts for an old dressing. *Wound Repair Regen*. 2014 Jul-Aug;22(4):451-6.
49. Koob TJ, Lim JJ, Masee M, Zabeck N, Rennert R, Gurtner G, et al. Angiogenic properties of dehydrated human amnion/chorion allografts: therapeutic potential for soft tissue repair and regeneration. *Vasc Cell*. 2014 May;6:10.
50. Koob TJ, Rennert R, Zabeck N, Masee M, Lim JJ, Temenoff JS, et al. Biological properties of dehydrated human amnion/chorion composite graft: implications for chronic wound healing. *Int Wound J* 2013 Oct;10(5):493-500.
51. Qingling Zhong, Dewu Liu, Fanrong Liu. Amniotic membrane loading epidermal stem cells accelerate impaired wound healing in diabetic rats. *Advanced Material Research*. Vol 214, P 455-460 Available from: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.214.455>.
52. Ilancheran S, Moodley Y, Manuelpillai U. Human fetal membranes: a source of stem cells for tissue regeneration and repair? *Placenta* 2009 Jan;30(1):2-10.
53. Bernardi S, Severini GM, Zauli G, Secchiero P. Cell-based therapies for diabetic complications. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:872504.
54. Dubský M, Jirkovská A, Bem R, Fejfarova V, Pagacova L, Nemcova A, et al. Comparison of the effect of stem cell therapy and percutaneous transluminal angioplasty on diabetic foot disease in patients with critical limb ischemia. *Cytotherapy*. 2014 Dec;16(12):1733-8.
55. Huang P, Li S, Han M, Xiao Z, Yang R, Han ZC. Autologous transplantation of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells improves critical limb ischemia in diabetes. *Diabetes Care*. 2005 Sep;28(9):2155-60.
56. Gehling UM, Ergün S, Schumacher U, Wagener C, Pantel K, Otte M, et al. In vitro differentiation of endothelial cells from AC133-positive progenitor cells. *Blood*. 2000 May;95(10):3106-12.

Огляди

57. Comerota AJ, Link A, Douville J, Burchardt ER. Upper extremity ischemia treated with tissue repair cells from adult bone marrow. *J Vasc Surg.* 2010 Sep;52(3):723-9.
58. Wu Y, Zhao RC, Tredget EE. Concise review: bone marrow-derived stem/progenitor cells in cutaneous repair and regeneration. *Stem Cells.* 2010 May;28(5):905-15.
59. Ruiz-Salmeron R, de la Cuesta-Diaz A, Constantino-Bermejo M, Pérez-Camacho I, Marcos-Sánchez F, Hmadcha A, et al. Angiographic demonstration of neoangiogenesis after intra-arterial infusion of autologous bone marrow mononuclear cells in diabetic patients with critical limb ischemia. *Cell Transplant.* 2011;20(10):1629-39.
60. Kirana S, Stratmann B, Prante C, Prohaska W, Koeperich H, Lammers D, et al. Autologous stem cell therapy in the treatment of limb ischaemia induced chronic tissue ulcers of diabetic foot patients. *Int J Clin Pract.* 2012 Apr;66(4):384-93.
61. Procházka V, Gumulec J, Jalůvka F, Salounová D, Jonszta T, Czerný D, et al. Cell therapy, a new standard in management of chronic critical limb ischemia and foot ulcer. *Cell Transplant.* 2010;19(11):1413-24.
62. Dubsky M, Jirkovska A, Bem R, Fejfarova V, Pagacova L, Sixta B, et al. Both autologous bone marrow mononuclear cell and peripheral blood progenitor cell therapies similarly improve ischaemia in patients with diabetic foot in comparison with control treatment. *Diabetes Metab Res Rev.* 2013 Jul;29(5):369-76.
63. Dash NR, Dash SN, Routray P, Mohapatra S, Mohapatra PC. Targeting nonhealing ulcers of lower extremity in human through autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Rejuvenation Res.* 2009 Oct;12(5):359-66.
64. Amann B, Luedemann C, Ratei R, Schmidt-Lucke JA. Autologous bone marrow cell transplantation increases leg perfusion and reduces amputations in patients with advanced critical limb ischemia due to peripheral artery disease. *Cell Transplant.* 2009;18(3):371-80.
65. Vojtassák J, Danisovic L, Kubes M, Bakos D, Jarábek L, Ulicná M, et al. Autologous biograft and mesenchymal stem cells in treatment of the diabetic foot. *Neuro Endocrinol Lett.* 2006 Dec;27 Suppl 2:134-7.
66. Lu D, Chen B, Liang Z, Deng W, Jiang Y, Li S, et al. Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells with bone marrow-derived mononuclear cells for treatment of diabetic critical limb ischemia and foot ulcer: a double-blind, randomized, controlled trial. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011 Apr;92(1):26-36.
67. Roura S, Pujal JM, Gálvez-Montón C, Bayes-Genis A. The role and potential of umbilical cord blood in an era of new therapies: a review. *Stem Cell Res Ther.* 2015 Jul;6:123.
68. Parolini O, Alviano F, Bagnara GP, Bilic G, Bühring HJ, Evangelista M, et al. Concise review: isolation and characterization of cells from human term placenta: outcome of the first international Workshop on Placenta Derived Stem Cells. *Stem Cells.* 2008 Feb;26(2):300-11.
69. Bloomgarden ZT. The diabetic foot. *Diabetes Care.* 2008 Feb;31(2):372-6.
70. Qin HL, Zhu XH, Zhang B, Zhou L, Wang WY. Clinical evaluation of human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation after angioplasty for diabetic foot. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2016 Sep;124(8):497-503.
71. Miyajima S, Shirai A, Yamamoto S, Okada N, Matsushita T. Risk factors for major limb amputations in diabetic foot gangrene patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006 Mar;71(3):272-9.
72. Forbes J, Fetterolf DE. Dehydrated amniotic membrane allografts for the treatment of chronic wounds: a case series. *J Wound Care.* 2012 Jun;21(6):290,292,294-296.
73. Sheikh ES, Sheikh ES, Fetterolf DE. Use of dehydrated human amniotic membrane allografts to promote healing in patients with refractory non healing wounds. *Int Wound J.* 2014 Dec;11(6):711-7.
74. Shah AP. Using amniotic membrane allografts in the treatment of neuropathic foot ulcers. *J Am Podiatr Med Assoc.* 2014 Mar;104(2):198-202.
75. Regulski M, Jacobstein DA, Petranto RD, Migliori VJ, Nair G, Pfeiffer D. A retrospective analysis of a human cellular repair matrix for the treatment of chronic wounds. *Ostomy Wound Manage.* 2013 Dec;59(12):38-43.
76. *ClinicalTrials.gov* / <http://www.clinicaltrials.gov>.
77. Fotino C, Ricordi C, Lauriola V, Alejandro R, Pileggi A. Bone marrow-derived stem cell transplantation for the treatment of insulin-dependent diabetes. *Rev Diabet Stud.* 2010 Summer;7(2):144-57.
78. Brantley JN, Verla TD. Use of Placental Membranes for the Treatment of Chronic Diabetic Foot Ulcers. *Advances in Wound Care, Vol. 4* (9): 545-559. DOI: 10.1089/wound.2015.0634
79. Wu SC, Pollak R, Frykberg RG, Zhou W, Karnoub M, Jankovic V, Fischkoff SA, Chitkara D. Safety and efficacy of intramuscular human placenta-derived mesenchymal stromal-like cells (cenplacel [PDA-002]) in patients who have a diabetic foot ulcer with peripheral arterial disease. *Int Wound J* 2017; doi: 10.1111/iwj.12715
80. Melmed GY, Pandak WM, Casey K, Abraham B, Valentine J, Schwartz D, Awais D, Bassan I, Lichtiger S, Sands B, Hanauer S, Richards R, Oikonomou I, Parekh N, Targan S, Johnson K, Hariri R, Fischkoff S. Human Placenta-derived Cells (PDA-001) for the Treatment of Moderate-to-severe Crohn's Disease: A Phase 1b/2a Study. *Inflamm Bowel Dis* 2015;21:1809-1816
81. Baughman RP, Culver DA, Jankovi V, Fischkoff S, Brockway G, Lower EE. Placenta-derived mesenchymal-like cells (PDA-001) as therapy for chronic pulmonary sarcoidosis: a phase 1 study. *Sarcoidosis Vasculitis And Diffuse Lung Diseases* 2015; 32; 106-114.
82. Lavery LA, Fulmer J, Shebetka KA, Regulski M, Vayser D, Fried R, Kashefsky H, Owings TM, Nadarajah J, The Grafix Diabetic Foot Ulcer Study Group. The efficacy and safety of Grafix® for the treatment of chronic diabetic foot ulcers: results of a multi-centre, controlled, randomised, blinded, clinical trial. *Int Wound J* 2014; 11:554-560.

(Надійшла до редакції 03.07.2018 р.)

Інноваційне використання стволових кліток в комплексному ліченні пацієнтів с синдромом діабетическої стопи

Н.Д. Тронько¹, Г.М. Бутенко², С.В. Болгарская¹,
Е.І. Ковзун¹, П.І. Немтинов², В.Л. Орленко¹,
І.П. Пастер¹, Л.К. Соколова¹, Р.В. Салютин³

¹ГУ «Інститут ендокринології і обміна речовин ім. В.П. Комиссаренко НАМН України»

²ГУ «Інститут генетическої і регенеративної медицини НАМН України»

³ГУ «Національний інститут хірургії і трансплантології ім. А.А. Шалимова НАМН України»

Резюме. Представлен обзор научных публикаций по вопросам инновационного использования стволовых клеток в комплексном лечении пациентов с синдромом диабетической стопы.

Ключевые слова: синдром диабетической стопы, стволовые клетки, инновационное использование, научные публикации, обзор.

Innovative use of stem cells in complex therapy of diabetic foot

M.D. Tronko¹, G.M. Butenko², S.V. Bolgarska¹,
O.I. Kovzun¹, P.I. Nemtynov², V.L. Orlenko¹, I.P. Pasteur¹,
L.K. Sokolova¹, R.V. Salutin³

¹State institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Nat. Acad. Med. Sci. of Ukraine»

²State institution «Institute of Genetic and Regenerative Medicine, Nat. Acad. Med. Sci. of Ukraine»

³State institution «O.O. Shalimov Institute of Chirurgie and Transplantology, Nat. Acad. Med. Sci. of Ukraine»

Abstract. The authors present a review of scientific publications on innovative use of stem cells in complex therapy of diabetic foot.

Keywords: diabetic foot, stem cells, innovative use, scientific publication, review.

Рецепция и внутриклеточные механизмы действия инсулина (часть 1)

Н.Д. Тронько,
Е.И. Ковзун,
В.В. Пушкарев,
Л.К. Соколова,
В.М. Пушкарев

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»

Резюме. В обзоре анализируются механизмы, участвующие в рецепции и проведении сигналов инсулина в клетках-мишенях. Описывается структура рецептора, механизм его активации и передачи сигнала гормона нижележащим звеньям инсулинового каскада. Охарактеризованы основные сигнальные пути, участвующие в трансдукции, усилении и подавлении сигнала инсулина.

Ключевые слова: рецепторы инсулина, субстраты рецептора инсулина, сигнальные пути инсулина, инсулино-резистентность.

Введение

Около четырех десятилетий назад были описаны первые схемы гормон-рецепторного взаимодействия и последующих внутриклеточных событий. В той области, которая впоследствии стала называться «молекулярной эндокринологией», усилиями ряда ученых, прежде всего группы Сазерленда, была сформулирована концепция вторичных мессенджеров, опосредующих действие гормонов. Гормон, воздействуя на рецептор, локализованный на клеточной поверхности, вызывает его активацию, которая влечет за собой усиление выработки аденилатциклазой циклического АМР (сАМР) из АТР. Этот циклический нуклеотид является специфическим активатором протеинкиназ, впоследствии обособленных в группу А (РКА). РКА

фосфорилируют клеточные белки по остаткам серина. Мессенджерная функция сАМР является следствием уникальности химического строения его молекулы, активности в очень низких концентрациях, высокой скорости образования и распада в клетке, тонкой системы регуляции его синтеза и высокой специфичности действия. Фосфорилирование клеточных белков, как вскоре выяснилось, является универсальным инструментом реализации регуляторных сигналов гормонов и прочих биорегуляторов как путем регуляции активности ферментов в клетке, так и на уровне транскрипции различных генов. Позже выяснилось, что функция сАМР в опосредовании действия гормонов является лишь частным случаем в огромном многообразии подобных механизмов. В то же время принципы, заложенные Сазерлендом в теорию вторичных мессенджеров, действительно оказались универсальными. Для того, чтобы гормон или иной

* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна. E-mail: pushkarev.vt@gmail.com

Огляди

биорегулятор подействовали на клетку, необходим специальный механизм переноса сигнала с рецептора внутрь клетки и его усиления, необходимы специальные сигнальные молекулы, протеинкиназы, истинный масштаб роли которых в клетке только в последние два десятилетия был оценен в полной мере.

Инсулин является одним из анаболических гормонов, обеспечивающих нормальный метаболизм, энергетический баланс и контролирующих вес организма. Его можно назвать «хранителем» питательных веществ для организма, и секретируется он в ответ на повышение уровня глюкозы после приема пищи. Инсулин регулирует энергетический баланс, ингибируя образование глюкозы печенью и усиливая ее поглощение мышцами и жировой тканью. При этом сахар переводится в «хранилище» в виде гликогена в печени, мышцах и адипоцитах. Кроме того, инсулин стимулирует липогенез, синтез гликогена, белка и ДНК, усиливает поглощение клетками аминокислот, экспрессию генов и работу Na^+/K^+ -насоса. Одновременно инсулин подавляет глюконеогенез, липолиз, апоптоз и аутофагию [1]. Недостаток гормона или устойчивость к его действию приводят к таким метаболическим дисфункциям, как диабет первого или второго типов, занимающим лидирующее положение среди болезней в Европе и США. Поэтому исследованию эффектов инсулина — как митогенных, так и метаболических — уделяется большое внимание [2].

Действие инсулина опосредуется тремя основными сигнальными системами, в состав которых входит большое число регуляторных факторов — PI3K/Akt; Ras/MAPK и Src/SAP [3]. На **рис. 1** приведены в обобщенном виде основные типы клеточных рецепторов, взаимодействующих с инсулином, триггерные механизмы, обеспечивающие передачу информации с активированного рецептора и ее перевод на «язык» внутриклеточных сигналов, основные типы сигнальных и адаптерных молекул, общий характер изменений физиологического состояния клетки, вызываемых всеми этими сигнальными процессами под влиянием инсулина.

Анализ результатов исследований с использованием подходов молекулярной эндокринологии и клеточной биохимии все больше убеждает нас в том, что все рецепторы, экспрессируемые в клетках, как и их агонисты, объединяются

в группы, основанные на эволюционном родстве кодирующих их генов. Как правило, генетически родственные рецепторы используют однотипные внутриклеточные сигнальные системы. Очень важным принципом является то, что любой рецептор для переноса сигнала своего агониста использует не одну сигнальную цепь или каскад, а скорее сеть сигнальных путей.

Таким образом, интерпретация действия любого гормона внутри клетки представляет собой специфическую пространственно-временную конфигурацию включения и выключения, связывания-диссоциации, синтеза-распада, фосфорилирования-дефосфорилирования и т.д. компонентов данной сети [4-6]. Важнейшими модификациями регуляторных белков являются также их метилирование, ацетилирование, фарнезилирование, изомеризация по пролину. Работа таких сетей является сложнейшим процессом не только с точки зрения химических и физико-химических процессов, протекающих при этом, но и с точки зрения проходящих информационных потоков, в чем-то сходных с компьютерными сетями.

Рецепторы с доменами тирозинкиназы

Действие инсулина на клетки-мишени начинается с его связывания со специфическими белками, относящимися к большой группе использующих общий принцип приема сигнала мембранных рецепторов — тирозинкиназных рецепторов [4, 7].

С этими рецепторами связан ряд кардинальных открытий: 1) нового класса протеинкиназ, способных фосфорилировать белки по гидроксильным группам тирозина, а не только серина или треонина; 2) новых механизмов активации рецепторов — аутофосфорилирования по остаткам тирозина в ответ на связывание рецептором агониста и димеризации молекулы рецептора как этапа ее активации. Открытие этих механизмов положило начало новой эпохе в изучении молекулярных основ клеточной регуляции и, в особенности, молекулярных механизмов онкологической трансформации клеток, поскольку стало ясно, что многие онкогены кодируют именно тирозинкиназы (ТК). Инсулин является одним из наиболее известных агонистов ТК-рецепторов [1, 4, 8].

Подсемейство рецептора инсулина, которое включает рецептор инсулина, рецептор IGF-1 (связывает инсулиноподобные факторы ро-

Огляди

ста I/II) и рецепторы, связанные с инсулиновыми орфан-рецепторами (IRRR), является исключением в надсемействе RTK, поскольку они существуют как дисульфид-ковалентно-связанные димеры с низкой базальной киназной активностью в отсутствие лиганда. Это предполагает, что активация предварительно сформированного димера является более вероятной моделью для семейства. При активации лигандом димеризованной RTK киназные домены контактируют и активируются путем трансфосфорилирования, что приводит к модификации специфических остатков тирозина во внутриклеточной части рецептора вне киназного домена. Эти фосфорилированные остатки становятся сайтами связывания для сигнальных белков-партнеров, которые содержат домены SH2 (Src homology 2), также фосфорилируются киназой или активируются конформационными изменениями и инициируют каскад трансдукции внутриклеточного сигнала [1, 9, 10]. Фосфорилирование нескольких остатков тирозина в молекуле рецептора является очень важным моментом, поскольку каждый модифицированный тирозин может давать начало отдельному пути переноса сигнала, а следовательно, сигнал с активированного рецептора может передаваться сразу по нескольким каналам. Кроме того, фосфорилирование одного тирозина может влиять на перенос сигнала с другого фосфотирозина. Данный случай является хорошей иллюстрацией к одному из важных моментов внутриклеточных механизмов действия гормонов — наличию трансрегуляторных («cross-talking») связей между различными сигнальными путями, которые играют важную роль в интегральной клеточной регуляции. Именно за счет одновременного использования различных путей переноса сигнала и трансрегуляторных связей между ними, представляющих собой разветвленную сеть, внутриклеточная система гормональной регуляции и обладает той гибкостью, которая характерна для функционирования нативной клетки.

Рецепторы инсулина

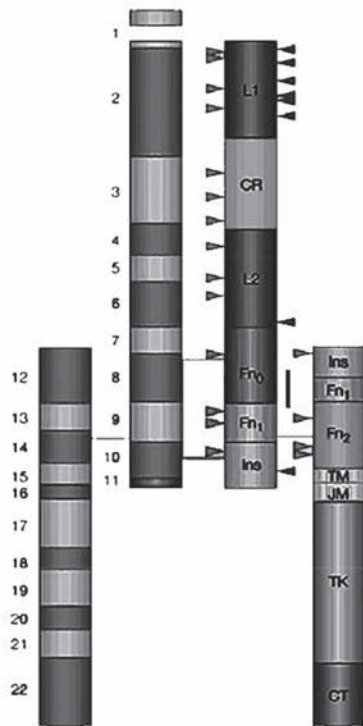
Инсулиновый ТК-рецептор (IR) представляет собой гликированный, объединенный дисульфидными связями гетеротетрамер, состоящий из двух α - (полностью внеклеточных) и двух β -субъединиц, пронизывающих мембрану. Альфа-цепь (731 аминокислотный остаток) содержит инсулин-связывающие де-

терминанты, а внутриклеточная часть β -цепи (620 аминокислот) включает ТК-домен и домены взаимодействия с факторами трансдукции сигнала. Рецептор кодируется геном с 22 экзонами, 21 интроном и существует в виде 2 изоформ, которые отличаются отсутствием (IR-A) или присутствием (IR-B) 12 аминокислот на С-конце α -субъединицы в результате альтернативного сплайсинга последовательности, кодируемой 11-м экзоном (рис. 2) [1, 2]. Изоформа В связывает IGF с по меньшей мере в 100 раз меньшей аффинностью, чем инсулин. IR-A преимущественно экспрессируется в тканях плода и в головном мозге, обладает большей аффинностью, чем IR-B для инсулина, IGF-I и, особенно, IGF-2, характеризуется большей скоростью интернализации, чем изоформа В типа, и имеет тенденцию к ап-регулированию в опухолях [11].

Рецепторы синтезируются в виде одноцепочечных пре-прорецепторов, которые процессируются фуриноподобным протеолитическим ферментом, гликируются, складываются и димеризуются, образуя зрелый рецептор $\alpha\beta_2$. В клетках, экспрессирующих как рецепторы инсулина, так и IGF-I, образуются гибридные рецепторы, состоящие из половины каждого. Их физиологическая роль пока неизвестна [1].

Структура эктодомена IR объясняет многие особенности связывания лиганда (рис. 2). Он содержит 2 больших гомологичных домена — L1 (аминокислотные остатки 1-157) и L2 (311-470), разделенных богатым цистеином доменом CR — аминокислоты 158-310. Ближе к С-концу от этих доменов расположены 3 фибронектиновых домена III типа (FnIII-1, -2, -3) — аминокислотные остатки 471-595, 596-808 и 809-906 соответственно. FnIII-2 включает вставку (аминокислоты 638-756), которая содержит сайт разрезания α/β -цепей [2]. IR эктодомен содержит одну дисульфидную связь между α - и β -цепями, соединяющую цистеиновые остатки Cys647 и Cys872. Кроме того, существуют α - α дисульфидные связи в Cys524 в домене FnIII-1 и между триплетом Cys682-Cys683 и Cys685 во вставном домене. Эктодомен находится в сложенной конформации на клеточной мембране. При этом два полурецептора расположены антипараллельно и формируют лиганд-связывающий карман [12]. Рецептор обладает четырьмя сайтами связывания лиганда и по конфигурации напоминает перевернутую V, вершину которой формируют L2

СТРУКТУРА ГЕНА РЕЦЕПТОРА ИНСУЛИНА



СТРОЕНИЕ РЕЦЕПТОРА ИНСУЛИНА

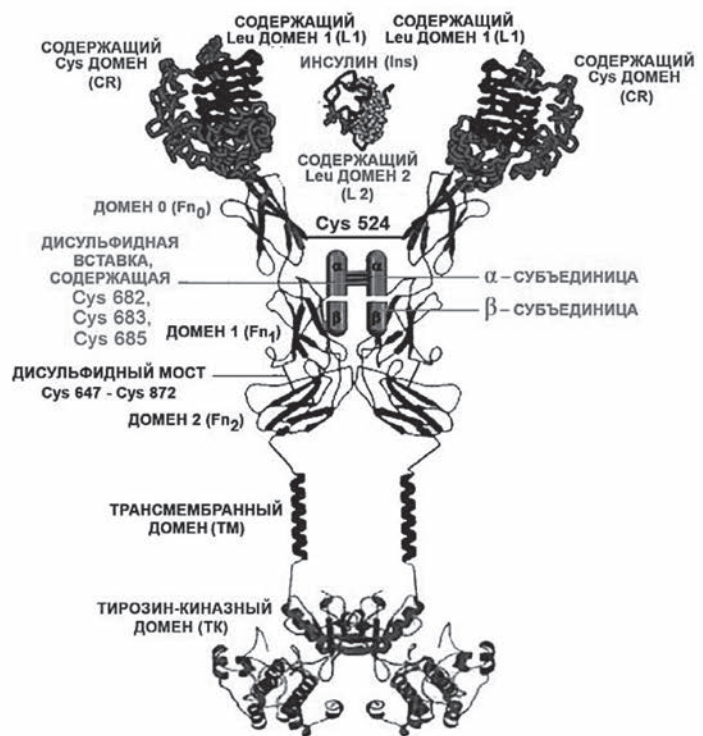


Рис. 2. Модульная структура $\alpha 2\beta 2$ рецептора инсулина: в левой половине рецептора расположены участки из последовательностей 22 экзонов и 21 интрона, в правой — участки предсказанных модулей белка; границы модулей в основном соответствуют границам экзонов; L1 и L2 — большие домены 1 и 2 (богатые лейцином повторы); CR — богатый цистеином домен; FnIII-1, FnIII-2, FnIII-3 — домены фибронектина III; ID — вставка в FnIII-2; TM — трансмембранный домен; JM — околомембранный домен; ТК — домен тирозинкиназы; C — C-концевой хвост; черный прямоугольник около FnIII-1 — основной иммуногенный регион; красные стрелки — сайты N-гликирования; темные стрелки — связывающие лиганды «горячие точки», идентифицированные с помощью сайт-направленного мутагенеза с заменами одной аминокислоты; две α -субъединицы связаны дисульфидной связью между двумя Cys524 в первом домене FnIII; от одного до трех триплетных Cys при 682, 683 и 685 во вставке во втором домене FnIII также участвуют в α - α дисульфидных мостиках; существует один дисульфидный мостик между α - и β -субъединицами между Cys647 в домене вставки и Cys 872 (номенклатура изоформы B); экзон 11 выделен [1].

и FnIII-1 домены от каждого мономера [13]. Каталитическая субъединица IR (β -субъединица), обладающая тирозинкиназной активностью, содержит короткий внеклеточный домен (O- и N-гликированный), трансмембранный домен (23 аминокислотных остатка) и большую внутриклеточную часть. В этой части имеется ряд остатков тирозина, подверженных фосфорилированию-дефосфорилированию. В позиции 1030 находится остаток лизина, входящий в каталитически активный АТФ-связывающий центр. Ниже области FnIII-3 в β -цепи находится трансмембранная спираль и околомембранная область, над внутриклеточным каталитическим тирозинкиназным доменом, фланкированным двумя регуляторными областями и ответственным за активацию внутриклеточных сигнальных путей, а также C-концевой участок [13]. Околомембранный участок стыкуется с суб-

стратами инсулиновых рецепторов (IRS)-1-6 и Shc, а также участвует в интернализации рецептора. IR человека содержит 18 вероятных сайтов гликирования — 14 на α - и 4 на β -цепи. Рецептор IGF-I имеет аналогичную модульную организацию [1].

Интересно, что IGF-1R связан с усиленной активацией Shc и Gab-1 и генами, участвующими в пролиферации клеток, тогда как IR более эффективен в регулировании фосфорилирования IRS-1 и генов, участвующих в метаболических путях. Путем точно-мутационного и структурного моделирования была идентифицирована одна аминокислота в околомембранной области рецепторов, определяющая эти различия. Замена лейцина 973 IR на фенилаланин, который присутствует в IGF-1R, имитирует многие из сигналов IGF-1R и реакции экспрессии генов [14].

Огляди

Изучение кристаллизованного лиганд-рецепторного комплекса сайта 1 показало, что вопреки предсказаниям инсулин ограниченно контактирует с доменом L1. Большинство остатков инсулина на сайте связывания 1 находятся в тесном контакте с доменом α CT, за исключением Val B12 и Tyr B16, причем последние необходимы для высокоаффинного связывания. Подтверждена критическая роль некоторых С-концевых остатков (B24-B26) В-цепи инсулина в отношении аффинности связывания [15]. Получены доказательства того, что для связывания лиганда с высокой аффинностью необходим его контакт с обоими полурецепторами. Несмотря на димерную структуру рецептора, только одна молекула лиганда может осуществить все контакты, необходимые для высокоаффинного связывания, которое таким образом демонстрирует негативную кооперативность, что соответствует модели гармонического осциллятора [16]. В этой модели постулируется, что тетрада сайтов 1 и 2 на каждой α -субъединице, расположенные антипараллельно, спонтанно осциллируют между открытой и замкнутой конформациями. Это дает возможность лиганду, связанному либо с сайтом 1, либо с сайтом 2, сшивать осциллятор, обеспечивая высокое сродство и замедляя скорость диссоциации. Альтернативное сшивание ко второму набору сайтов приведет к ускорению диссоциации лиганда от первой сшитой пары, что позволяет упростить количество задействованных промежуточных состояний [16].

Как и во всех киназах, тирозинкиназа инсулинового рецептора имеет две структурно различные доли, N-концевую и С-концевую, которые образуют каталитический сайт киназы, где АТР, ионы магния и тирозиновый остаток субстрата собираются вместе. Доли связаны линкерной областью, которая образует шарнир, позволяющий относительно движение долей. Структура обеспечивает новый механизм аутоингибирования, где активационная петля ведет себя как псевдосубстрат, блокируя активный сайт в базальном состоянии (закрытая конфигурация), и стабилизируется в открытом положении после трансфосфорилирования трех тирозинов. Позже было показано, что активированные киназы рецептора инсулина и IGF-I являются функциональными димерами, и что в дополнение к фосфорилированию активирующей петли происходит аллостерическая стаби-

лизация с обменом околосмембранных областей, близких к киназному домену [17].

Несмотря на значительный прогресс в исследовании структуры внеклеточных и киназных доменов рецепторов инсулина, структура свободных и связанных с лигандом рецепторов изучена недостаточно, и, соответственно, не хватает деталей точного механизма, посредством которого связывание внеклеточного лиганда приводит к сближению и активации доменов киназы. Предлагаются 4 модели активации, но они пока недостаточно подкреплены экспериментальными данными [1, 18-21].

Связывание инсулина с α -субъединицей вызывает усиление киназной активности β -субъединицы, что, в свою очередь, инициирует ее аутофосфорилирование [9, 22]. Бета-субъединица фосфорилируется по остаткам тирозина: Tyr960, Tyr953, Tyr972 — в трансмембранном участке, Tyr1146, Tyr1150 и Tyr1151 — в регуляторном участке, а также Tyr1316 и Tyr1322 — в СООН-концевом участке. Показано, что аутофосфорилирование трех остатков тирозина в регуляторном участке стимулирует активность эффекторных протеинкиназ в 10-20 раз [10]. Фосфорилирование рецептора вне киназного домена создает сайты связывания для сигнальных белков-партнеров, содержащих SH2 или РТВ (фосфотирозин-связывающий) домены. В отличие от других RTK, рецепторы инсулина и IGF-I напрямую не контактируют с сигнальными белками, а связывается фосфорилированный остаток Tyr960 околосмембранного домена с семейством больших докинг-белков — IRS-1–IRS-6, а также с адаптером Shc. Они образуют ядро для сборки структуры по передаче сигнала, которая является стартовым центром различных внутриклеточных сигнальных каскадов. Аутофосфорилирование не только активирует внутриклеточные сигнальные механизмы, но и инициирует интернализацию лиганд-рецепторных комплексов, что приводит к диссоциации и деградации лиганда в системе эндосомы/лизосомы и инактивации, рециклиngu рецепторов. Есть, впрочем, данные, свидетельствующие об активной роли интернализированных рецепторов в сигнальных механизмах, связанных в первую очередь с митогенным каскадом Ras/MAPK [23]. По неподтвержденным пока сведениям, IR-сигнальные комплексы могут связываться со специфическими, инсулин-

индуцибельными участками генов [24]. Интернализированные рецепторы инактивируются фосфотирозин-специфическими фосфатазами, в частности PTP1B, локализованной на поверхности эндоплазматического ретикулума, обращенной к цитозолю. Кроме того, мембранный гликопротеин PC-1, представляющий собой эктонуклеотидпиروفосфатазу, и фосфодиэстераза связываются с IR- α -субъединицей, ингибируя активность ТК. Белки SOCS, индуцированные цитокинами, ингибируют фосфорилирование тирозина IRS, конкурируя за сайт связывания с IR. Активированная mTORC1 отрицательно регулирует сигналы инсулина [25], в то время как mTORC2 способствует активации IGF-IR/IR, фосфорилируя рецепторы по Tyr1131/1136 и Tyr1146/1151 [26].

Субстраты IR

После активации рецептора адаптерные белки связываются с субстратами IR — IRS-1–IRS-6, важнейшими из которых являются IRS-1 и IRS-2 [3, 27, 28]. Хотя эти субстраты имеют сходные мотивы фосфорилирования тирозин-овых остатков, им свойственны разные функции *in vivo*. Активацию IRS-1 связывают с гомеостазом глюкозы, тогда как IRS-2 — с регуляцией метаболизма липидов, хотя механизм такой специфичности пока неясен [12]. Мыши с нокаутом IRS-1 демонстрируют замедление роста и нарушение действия инсулина, особенно в мышцах, но имеют нормальную толерантность к глюкозе. Мыши с нокаутом IRS-2 показывают снижение роста только в селективных тканях, таких как определенные типы нейронов и островковых клеток, но также характеризуются дефектным сигналингом инсулина в печени, который в сочетании с потерей β -клеток приводит к развитию диабета. На клеточном уровне преадипоциты IRS-1-/- обнаруживают дефекты в дифференцировке, тогда как преадипоциты IRS-2-/- обычно нормально дифференцируются, но характеризуются нарушением стимулированного инсулином переноса глюкозы [29]. В скелетных мышцах IRS-1 (но не IRS-2) необходим для дифференцировки миообластов и метаболизма глюкозы, тогда как IRS-2 имеет большое значение для метаболизма липидов и активации ERK [30].

Распределение IRS-3 и IRS-4 в тканях носит более ограниченный характер. У грызунов IRS-3 распространен в адипоцитах, печени и легких, тогда как у людей ген *IRS-3* является псевдоге-

ном, поэтому белок вообще не образуется. У мышей нокаут гена *IRS-3* не связан с аномалиями, но приводит к тяжелому дефекту в адипогенезе в сочетании с делецией *IRS-1*. мРНК *IRS-4* определяется в скелетных мышцах, печени, сердце, головном мозге и почках, а мыши с нокаутом *IRS-4* демонстрируют только минимальное замедление роста и непереносимость глюкозы. *IRS-5* (*DOK4*) и *IRS-6* (*DOK5*) ограничено экспрессируются в тканях и являются относительно слабыми IR-субстратами [31].

В дополнение к белкам IRS рецепторы инсулина и IGF-1 могут фосфорилировать несколько других субстратов (рис. 1) [32]. Shc-белки содержат тирозин, фосфорилируемый IR и IGF-1R, и участвуют в активации пути Ras/ERK. Белки GAB (*Grb2-associated binder*) также являются субстратами для разных рецепторов, включая IR и IGF-1R. GAB-белки напоминают белки IRS, но не содержат домена тирозинфосфатазы (PTP) и могут играть роль в передаче сигналов инсулина/IGF-1 в клетках, экспрессирующих низкие уровни белка IRS. APS (*SHB2* — SH2 domain-containing adapter protein B) и Cbl являются субстратами IR/IGF-1R, которые мобилизуют другие белки, такие как Cbl-ассоциированный белок (CAP), в инсулин-сигнальный комплекс. Последний контролирует стимулированное инсулином поглощение глюкозы. SH2B1 (*SH2B adapter protein 1*) напрямую связывается с IR и IRS и усиливает чувствительность к инсулину, стимулируя каталитическую активность IR, а также путем ингибирования дефосфорилирования тирозина белков IRS [33].

Во взаимодействии рецептора с IRS принимают участие домены PTB и PH (*Pleckstrin homology domain*). *IRS-2* дополнительно взаимодействует с доменом ТК-рецептора. Фосфорилирование тирозина IRS создает сайты связывания с белками, содержащими SH2-домен: с регуляторной субъединицей класса Ia PI3K, Grb2, а также с фосфатазой SHP2 и протеинкиназой Fyn из семейства Src. Фосфорилированные IRS являются платформой для распространения сигналов инсулина в клетке, которую он делит с другими рецепторными тирозинкиназами, такими как IGF-1R, сигнальная сеть которого практически неотличима от таковой инсулина [34].

Регуляция *IRS-1* осуществляется путем фосфорилирования по многим (более 50) серин/

Огляди

треониновым остаткам протеинкиназами, которые находятся в регуляторном ряду ниже PI3K: Akt/PKB, GSK-3 β , mTOR, p70S6K, а также киназами других сигнальных путей: AMPK, атипичными PKC, SIK2, ROCK1, JNK, IKK β [3, 35, 36]. Инсулиннезависимые киназы (AMPK, GSK3) могут фосфорилировать IRS1/2 в базальных условиях или в ответ на симпатическую активацию и липидные медиаторы воспаления, которые присутствуют в повышенных концентрациях при метаболических заболеваниях [36]. В целом такое фосфорилирование ингибирует функцию IRS-1, способствуя его деградации, ослаблению взаимодействия с IR или ассоциации с SH2-доменами, хотя фосфорилирование по некоторым специфическим сайтам может усиливать фосфорилирование некоторых специфических тирозиновых остатков и повышать чувствительность ткани к инсулину [37]. Фосфорилирование сериновых остатков IRS-2 изучено меньше, но, вероятно, является не менее сложным [38]. Обратимая модификация остатков серина и треонина IRS осуществляется путем гликирования — добавления O-N-ацетилгалактозамина, который влияет на уровень фосфорилирования, стабильность белка, его субклеточную локализацию и взаимодействие с другими белками [39]. Необходимо отметить, что устойчивость к инсулину при диабете 2-го типа также возникает вследствие фосфорилирования IRS указанными протеинкиназами, которые активируются провоспалительными цитокинами (TNF α , IL-1 β , IL-6), свободными жирными кислотами, лептином, адипонектином, эндотелином-1 и другими продуктами жировой ткани. Кроме того, длительное действие инсулина/mTORC1/p70S6K1 также приводит к деградации IRS [36].

PI3K каскад

Этот каскад является основным и опосредует следующие эффекты инсулина в клетках: стимуляцию синтеза белка и гликогена, а также липогенез *de novo* и ингибирование глюконеогенеза, липолиза, аутофагии и апоптоза [34].

PI3K состоит из двух субъединиц: p110 (каталитическая) и p85 (регуляторная). Как регуляторная, так и каталитическая субъединицы PI3K имеют несколько изоформ — p110 α , p110 β , p110 δ и p85 α /p55 α /p50 α , p85 β , p55 γ соответственно. Несколькими исследователями показано, что в переносе сигнала инсулина задей-

ствована в основном p110 α [40, 41]. Мутации в гене *PIK3R1*, кодирующем субъединицы p85 α /p55 α /p50 α , приводят к тяжелой инсулинорезистентности (ИР) и SHORT-синдрому [42]. Различные изоформы регуляторной субъединицы PI3K кодируются тремя различными генами. *PIK3R1* кодирует 65-75% всех регуляторных субъединиц, в основном в форме p85 α , а также сплайс-варианты p55 α и p50 α . *PIK3R2* кодирует p85 β , которая составляет около 20% от регуляторных субъединиц. *PIK3R3* кодирует p55 γ , которая по структуре сходна с p55 α , но экспрессируется на низком уровне в большинстве тканей [33].

Связывание регулятора с каталитической субъединицей повышает стабильность последней и поддерживает ее в ингибированном состоянии. Это состояние меняется после связывания регуляторной субъединицы со специфическими мотивами фосфотирозина в белках IRS, что приводит к ее активации [43, 44]. Аблиция p110 α и, в меньшей степени, p110 β у мышей приводит к непереносимости глюкозы и резистентности к инсулину [41].

Под воздействием инсулина PI3K индуцирует активацию каскада серин/треониновых протеинкиназ (AGC), включающего фосфоинозитид-зависимую киназу-1 (PDK1), субстратом которой, в свою очередь, являются ключевая эффекторная киназа данного каскада — Akt (**рис. 3**), глюкокортикоид-индуцируемая протеинкиназа (SGK) и несколько изоформ PKC, в первую очередь атипичные протеинкиназы $\lambda/\zeta/\iota$ [45].

Члены семейства киназ AGC имеют сходную структуру и механизмы активации посредством фосфорилирования сериновых и треониновых остатков [46]. PDK-1 представляет собой основную вышестоящую киназу, ответственную за фосфорилирование и активацию киназ AGC, контролируемых PI3K [47]. PDK-1 содержит домен PH, который связывается с мембраносвязанным PIP $_3$, инициируя активацию PDK-1. PDK-1 фосфорилирует и активирует протеинкиназы AGC по остаткам серина/треонина, таким как Thr-308 для Akt. Однако для полной активации требуется фосфорилирование Akt по Ser-473, которое осуществляется mTORC2 [36, 48]. Активность Akt регулируется путем mTORC1-зависимого фосфорилирования и стабилизации Grb10 [49], который подавляет взаимодействие IRS с ключевым фос-

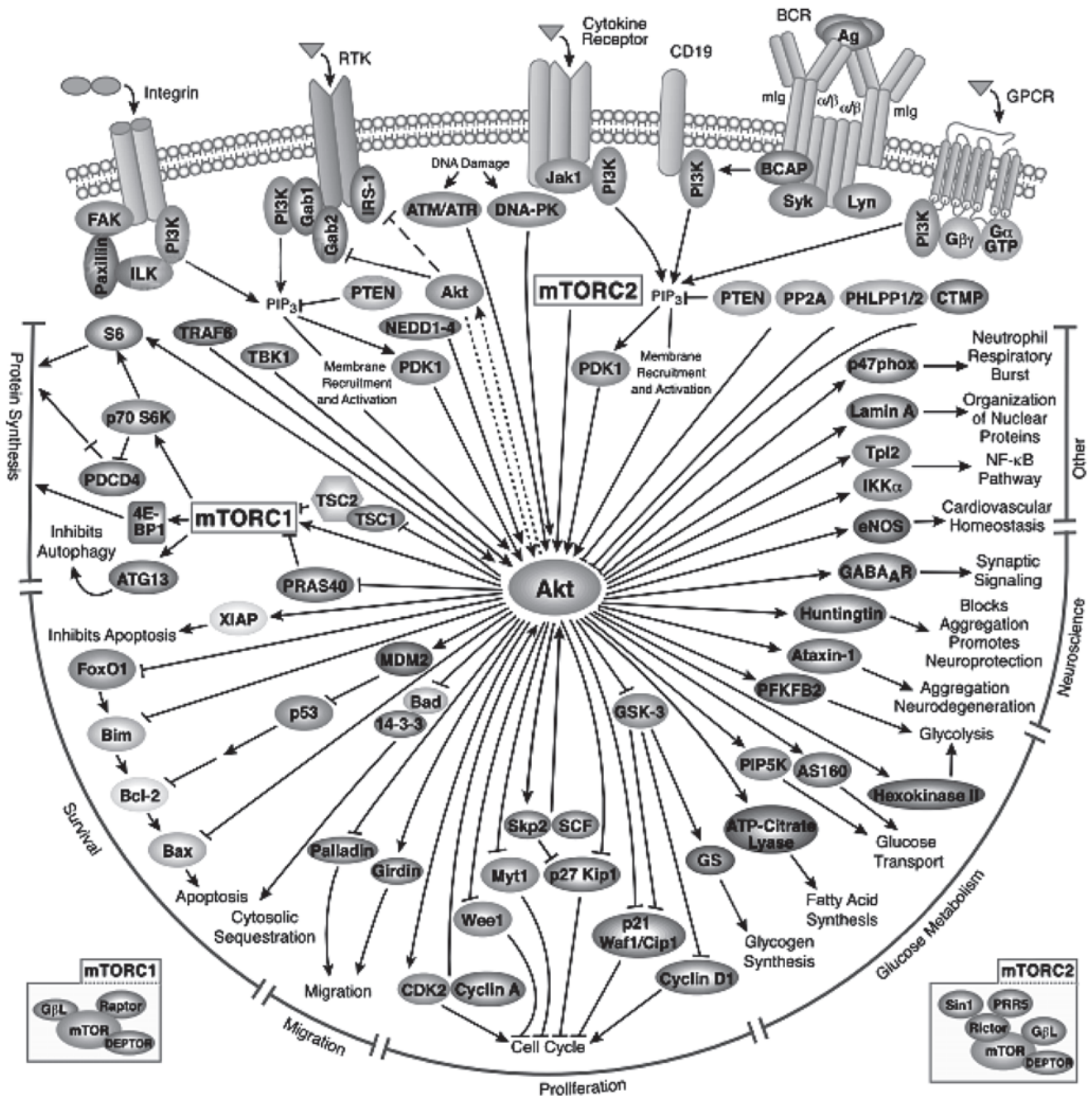


Рис. 3. Сигнальные пути основной эффекторной протеинкиназы сигнального каскада PI3K — Akt (cellsignal.com). Объяснения в тексте.

фотирозином IR; ингибированием mTORC2 через S6K1-опосредованное фосфорилирование Rictor и HIF1 α -опосредованное усиление транскрипции гена PTEN — фосфатазы, ингибирующей PI3K-каскад [36]. ДНК-зависимая протеинкиназа (DNA-PK) также фосфорилирует и активирует Akt в ответ на повреждение ДНК [50] и участвует в инсулинзависимой регуляции метаболических генов, таких как синтаза жирных кислот [51].

Мобилизация и активация PI3K зависит от связывания двух доменов SH2 в регуляторных субъединицах с фосфорилированными по тирозину белками IRS [28]. Это приводит к активации каталитической субъединицы, которая быстро фосфорилирует фосфатидинозитол-4,5-бисфосфат (PIP₂), образуя второй липидный мессенджер — фосфатидинозитол-3,4,5-трифосфат (PIP₃). Последний рекрутирует Akt на плазматическую мембрану, где она активирует-

Огляди

ся фосфорилированием и трансдуцирует сигнал нижележащим факторам.

Семейство белков Akt состоит из трех различных изоформ, кодируемых различными генами [52]. Все изоформы содержат плектриновый домен (PH), позволяющий взаимодействовать с PIP_3 и связываться с плазматической мембраной.

Основной изоформой, участвующей в передаче сигнала инсулина, является Akt2, которой обогащены ткани-мишени гормона [34]. Известно, что мыши с нокаутом Akt2 устойчивы к инсулину и развивают диабет, в отличие от мышей Akt1^{-/-} и Akt3^{-/-}. Хорошо изучены следующие субстраты Akt.

1. Киназа гликогенсинтазы-3 β (GSK-3 β) [53], регулирующая синтез гликогена (рис. 3) и активирующаяся в отсутствие ростовых факторов.
2. Rab-GTP-аза, которая активирует белок AS160/TBC1D4, контролирующий транспорт глюкозы. При мутациях гена *TBC1D4* снижается инсулинстимулированное поглощение глюкозы в мышцах, что приводит к гипергликемии после приема пищи, нарушенной толерантности к глюкозе и ИР [54].
3. Активируемый Rheb-GTP-азой комплекс TSC1/2 (tuberous sclerosis complex protein 2), регулирующий mTOR, которая контролирует p70S6 киназу (S6K) и белковый синтез (рис. 1 и 3). Активация mTORC1 также может достигаться путем фосфорилирования обогащенного пролином субстрата 40 кДа (PRAS40), ингибитора mTORC1, тем самым ослабляя ингибирование. Комплекс mTORC1 затем фосфорилирует и подавляет 4E-связывающий белок 1 (4E-BP1), активирует рибосомные S6-киназы S6K1/2 и SREBP1 (Sterol regulatory element-binding protein), что обеспечивает регуляцию сети генов, контролирующих метаболизм, синтез белка и рост клетки [55].
4. Факторы транскрипции FOXO (forkhead box protein O), влияющие на экспрессию генов ферментов глюконеогенеза, липогенеза, а также генов, контролирующих уровень проапоптотического белка Bad и апоптоз [12, 56, 57] (рис. 1 и 3). Akt фосфорилирует FOXO по нескольким сайтам, которые формируют докинг-сайты для связывания белков семейства 14-3-3. Это взаимодействие приводит к ис-

ключению FOXO из ядра, что блокирует его транскрипционную активность [58].

5. Akt-зависимое фосфорилирование PGC-1 α (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 α) ослабляет способность последнего стимулировать глюконеогенез и окисление жирных кислот [59].
6. Фосфорилирование фосфодиэстеразы 3B (PDE3B) приводит к ее активации и снижению уровня cAMP, который играет важную роль в эффектах инсулина относительно ингибирования липолиза в адипоцитах и в его секреции β -клетками [60].

Akt играет центральную роль в опосредовании многих других эффектов инсулина, регулируя экспрессию и активность широкого спектра белков, включая ферменты, факторы транскрипции, белки, регулирующие клеточный цикл, апоптоз и выживаемость [61]. Akt фосфорилирует Mdm2 (рис. 3), который ингибирует апоптоз, опосредуемый p53, и способствует канцерогенезу [62]. Akt фосфорилирует ингибиторы клеточного цикла p21^{Cip1/WAF1} и p27^{Kip1}, что приводит к их локализации в цитоплазме, росту клеток и ингибированию апоптоза. Akt также фосфорилирует и ингибирует Bax, Bad и каспазу-9, что способствует выживанию клеток. Akt может фосфорилировать и активировать киназу I κ B (IKK), что приводит к активации NF- κ B [63]. Akt фосфорилирует и активирует эндотелиальную синтазу оксида азота (eNOS) (рис. 3), которая катализирует образование вазодилатора и противовоспалительного фактора — оксида азота (NO), обеспечивая потенциальную связь между ИР и сердечно-сосудистыми заболеваниями [64]. Менее изучено при PI3K-зависимом действии инсулина семейство киназ SGK, которые гомологичны Akt и также активируются двойным фосфорилированием PDK-1 и mTORC2 [65].

В отсутствие ингибирующего фосфорилирования со стороны Akt AS160/TBC1D4 лимитирует поглощение глюкозы, GSK-3 β подавляет превращение глюкозы в гликоген, FOXO1 способствует транскрипции генов глюконеогенеза в печени, TSC2 блокирует стимуляцию белкового синтеза, ингибируя mTOR/p70S6K.

В опосредовании эффекта инсулина, помимо PI3K класса Ia, могут принимать участие PI3K классов II, III и PIKfyve. Продуктом класса II PI3K является фосфатидилинозитол-3-фосфат,

регулирующий транспорт глюкозы в мышцах и экспрессию генов в панкреатических β -клетках [12, 66]. PIKfyve, содержащая fyve-фингер-домен, активируется Akt и может участвовать в транслокации транспортера GLUT-4.

Одним из важнейших эффектов инсулина в организме является увеличение в 20-50 раз транспорта глюкозы через мембраны мышечных и жировых клеток путем облегченной диффузии по градиенту концентрации с помощью мембранных белковых переносчиков — GLUT [9, 67, 68]. В мембранах разных видов клеток выявлены 6 типов GLUT, но только один из них, GLUT-4, является инсулинзависимым и находится в мембранах клеток скелетных мышц, миокарда, жировой ткани [69, 70]. Сверхэкспрессия под действием инсулина субстрата инсулинового рецептора IRS вызывает PI3K-зависимую транслокацию GLUT-4 в мембранах адипоцитов. В регуляции транслокации белка-транспортера глюкозы важнейшую роль играют атипичные протеинкиназы PKC λ/ζ и Akt [45]. Перемещение GLUT-4 к мембране наблюдается уже через несколько минут после взаимодействия рецептора с инсулином.

Список использованной литературы

- De Meyts P. The insulin receptor and its signal transduction network. In: L.J. De Groot, G. Chrousos, K. Dungan, K.R. Feingold, A. Grossman, J.M. Hershman, et al. (eds). *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-2017.
- Sparrow LG, Macaulay SL. Insulin receptor complex and signaling by insulin. In: *Hand Book of cell signaling*. RA Bradshaw and EA Dennis (eds). Academic Press. 2004;1:293-7.
- Boura-Halfon S, Zick Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;296: E581–E91.
- Bertrand L, Horman S, Beauloye C, Vanoverschelde JL. Insulin signalling in the heart. *Cardiovasc Res*. 2008;79:238-48.
- Burnstock G, Novak I. Purinergic signalling in the pancreas in health and disease. *J Endocrinol*. 2012;213(2):123-41.
- Dumont JE, Dremier S, Pirson I, Maenhaut C. Cross signaling, cell specificity, and physiology. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2002;283: C2–C28.
- Saltiel AR, Pessin JE. Insulin signaling in microdomains of the plasma membrane. *Traffic*. 2006;4:711-6.
- Gavi S, Shumay E, Wang H, Malbon C. G-protein-coupled receptors and tyrosine kinases: crossroads in cell signaling and regulation. *Trends Endocrinol Metab*. 2006;17(2):46-52.
- Leto D, Saltiel AR. Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012;13(6):383-96.
- Youngren JF. Regulation of insulin receptor function. *Cell Mol Life Sci*. 2007;64:873-91.
- Belfiore A, Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Vigneri R. Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease. *Endocr Rev*. 2009;30:586-623.
- Siddle K. Signalling by insulin and IGF receptors: supporting acts and new players. *J Mol Endocrinol*. 2011;47(1):1-10.
- Smith BJ, Huang K. Structural resolution of a tandem hormone-binding element in the insulin receptor and its implications for design of peptide agonists. *PNAS*. 2010;107(15):6771-6.
- Cai W, Sakaguchi M, Kleinriders A, Gonzalez-Del Pino G, Dreyfuss JM, O'Neill BT, et al. Domain-dependent effects of insulin and IGF-1 receptors on signalling and gene expression. *Nat Commun*. 2017;8:14892.
- De Meyts P. Receptor tyrosine kinase signal transduction and the molecular basis of signalling specificity. In: DL Wheeler, Y. Yarden (eds.). *Receptor tyrosine kinases: structure, functions and role in human disease*. Humana Press, Springer New York Heidelberg Dordrecht London, 2015;51-76.
- Kiselyov VV, Versteyhe S, Gauguin L, De Meyts P. Harmonic oscillator model of the insulin and IGF1 receptors' allosteric binding and activation. *Mol Syst Biol*. 2009;5(243):1-12.
- Cabail MZ, Li S, Lemmon E, Bowen ME, Hubbard SR, Miller WT. The tyrosine kinase domain of the insulin and IGF1 receptors are functional dimers in the activated state. *Nat Commun*. 2015;6:6406.
- Li S, Covino ND, Stein EG, Till JH, Hubbard SR. Structural and biochemical evidence for an autoinhibitory role for tyrosine 984 in the juxtamembrane region of the insulin receptor. *J Biol Chem*. 2003;278:26007-14.
- Kavran JM, McCabe JM, Byrne PO. How IGF-1 activates its receptor. *Elife*. 2014;10:7554.
- Lee J, Miyazaki M, Romeo GR, Shoelson SE. Insulin receptor activation with transmembrane domain ligands. *J Biol Chem*. 2014;289:19769-77.
- Maruyama IN. Activation of transmembrane cell-surface receptors via a common mechanism? The «rotation model». *Bioessays*. 2015;37:959-67.
- Goldfine ID, Maddux BA, Youngren JF, Reaven G, Accili D, Trischitta V, et al. The role of membrane glycoprotein plasma cell antigen 1/ectonucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase 1 in the pathogenesis of insulin resistance and related abnormalities. *Endocr Rev*. 2008;29:62-75.
- Jensen M, De Meyts P. Molecular mechanisms of differential intracellular signaling from the insulin receptor. *Vitam Hormon*. 2009;80:51-75.
- Nelson JD, LeBoeuf RC, Bomszyk K. Direct recruitment of insulin receptor and ERK signaling cascade to insulin-inducible gene loci. *Diabetes*. 2011;60:127-37.
- Yoon MS. The role of mammalian target of rapamycin (mTOR) in insulin signaling. *Nutrients*. 2017;9(11): P. E1176.
- Yin Y, Hua H, Li M, Liu S, Kong Q, Shao T, et al. mTORC2 promotes type I insulin-like growth factor receptor and insulin receptor activation through the tyrosine kinase activity of mTOR. *Cell. Res*. 2016;26(1):46-65.
- Fritsche L, Weigert C, Häring HU, Lehmann R. How insulin receptor substrate proteins regulate the metabolic capacity of the liver – implications for health and disease. *Curr Med Chem*. 2008;15(13):1316-29.
- Shaw LM. The insulin receptor substrate (IRS) proteins: at the intersection of metabolism and cancer. *Cell. Cycle*. 2011;10(11):1750-6.
- Tseng YH, Butte AJ, Kokkotou E, Yechoor VK, Taniguchi CM, Kriauciunas KM, et al. Prediction of preadipocyte differentiation by gene expression reveals role of insulin receptor substrates and necdin. *Nat Cell Biol*. 2005;7(6):601-11.
- Bouzakri K, Zachrisson A, Al Khalili L, Zhang BB, Koistinen HA, Krook A, et al. siRNA-based gene silencing reveals specialized roles of IRS-1/Akt2 and IRS-2/Akt1 in glucose and lipid metabolism in human skeletal muscle. *Cell. Metab*. 2006;4(1):89-96.
- Versteyhe S, Blanquart C, Hampe C, Mahmood S, Christeff N, De Meyts P, et al. Insulin receptor substrates-5 and -6 are poor substrates for the insulin receptor. *Mol Med Report*. 2010;3(1):189-93.
- Siddle K. Molecular basis of signaling specificity of insulin and IGF receptors: Neglected corners and recent advances. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012;3:34.
- Boucher J, Kleinriders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6: a009191.
- Seiple RK. EJE PRIZE2016: How does insulin resistance arise, and how does it cause disease? Human genetic lessons. *Eur J Endocrinol*. 2016;174(5): R209-23.
- Sun XJ, Liu F. Phosphorylation of IRS proteins Yin-Yang regulation of insulin signaling. *Vitam Hormon*. 2009;80:351-87.
- Copps KD, White MF. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. *Diabetologia*. 2012;55(10):2565-82.

Огляди

37. Herrema H, Lee J, Zhou Y, Copps KD, White MF, Ozcan U. IRS1Ser phosphorylation does not mediate mTORC1-induced insulin resistance. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014;443(2):689-93.
38. Fritsche L, Neukamm SS, Lehmann R, Kremmer E, Hennige AM, Hunder-Gugel A, et al. Insulin-induced serine phosphorylation of IRS-2 via Erk1/2 and mTOR: studies on the function of Ser 675 and Ser 907. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;300(5):E824-E836.
39. Zeidan Q, Hart GW. The intersections between O-GlcNAcylation and phosphorylation: implications for multiple signaling pathways. *J Cell Sci.* 2010; 123:13-22.
40. Foukas LC, Claret M, Pearce W, Okkenhaug K, Meek S, Peskett E, et al. Critical role for the p110alpha phosphoinositide-3-OH kinase in growth and metabolic regulation. *Nature.* 2006;441(7091):366-70.
41. Sopsakis VR, Liu P, Suzuki R, Kondo T, Winnay J, Tran TT, et al. Specific roles of the p110alpha isoform of phosphatidylinositol 3-kinase in hepatic insulin signaling and metabolic regulation. *Cell Metab.* 2010;11(3):220-30.
42. Chudasama KK, Winnay J, Johansson S, Claudi T, König R, Haldorsen I, et al. SHORT syndrome with partial lipodystrophy due to impaired phosphatidylinositol 3 kinase signaling. *Am J Hum Genet.* 2013;93(1):150-7.
43. Burke JE, Vadas O, Berndt A. Dynamics of the phosphoinositide 3-kinase p110d interaction with p85a and membranes reveals aspects of regulation distinct from p110a. *Structure.* 2011;19(8):1127-37.
44. Zhang X, Vadas O, Perisic O, Anderson KE, Clark J, Hawkins PT, et al. Structure of lipid kinase p110b/p85b elucidates an unusual SH2-domain-mediated inhibitory mechanism. *Mol Cell.* 2011;41(5):567-78.
45. Farese RV, Sajan MP. Metabolic functions of atypical protein kinase C: «good» and «bad» as defined by nutritional status. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010;298: E385-E394.
46. Pearce LR, Komander D, Alessi DR. The nuts and bolts of AGC protein kinases. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11:9-22.
47. Bayascas JR. PDK1: The major transducer of PI 3-kinase actions. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2010;346:9-29.
48. Oh WJ, Jacinto E. mTOR complex 2 signaling and functions. *Cell Cycle.* 2011;10:2305-16.
49. Hsu PP, Kang SA, Rameseder J, Zhang Y, Ottina KA, Lim D, et al. The mTOR-regulated phosphoproteome reveals a mechanism of mTORC1-mediated inhibition of growth factor signaling. *Science.* 2011;332(6035):1317-22.
50. Bozulic L, Surucu B, Hynx D, Hemmings BA. PKBa/Akt1 acts downstream of DNA-PK in the DNA double-strand break response and promotes survival. *Mol Cell.* 2008;30:203-13.
51. Wong RH, Chang I, Hudak CS, Hyun S, Kwan HY, Sul HS. A role of DNA-PK for the metabolic gene regulation in response to insulin. *Cell.* 2009; 136(6):1056-72.
52. Schultze SM, Jensen J, Hemmings BA, Tschopp O, Niessen M. Promiscuous affairs of PKB/AKT isoforms in metabolism. *Arch Physiol Biochem.* 2011;117(2):70-7.
53. Phukan S, Babu VS, Kannoji A, Hariharan R, Balaji VN. GSK3beta: role in therapeutic landscape and development of modulators. *Br J Pharmacol.* 2010;160(1):1-19.
54. Moltke I, Grarup N, Jørgensen ME, Bjerregaard P, Treebak JT, Fumagalli M, et al. A common Greenlandic TBC1D4 variant confers muscle insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature.* 2014;512(7513):190-3.
55. Düvel K, Yécies JL, Menon S, Raman P, Lipovsky AI, Souza AL, et al. Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex 1. *Mol Cell.* 2010;39(2):171-83.
56. Kim KW, Donato JJr, Berglund ED, Choi YH, Kohno D, Elias CF, et al. FOXO1 in the ventromedial hypothalamus regulates energy balance. *Clin Invest.* 2012a;122(7):2578-89.
57. Lee S, Dong HH. FoxO integration of insulin signaling with glucose and lipid metabolism. *J Endocrinol.* 2017;233(2):R67-R79.
58. Tzivion G, Dobson M, Ramakrishnan G. FoxO transcription factors: Regulation by AKT and 14-3-3 proteins. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1813:1938-45.
59. Li X, Monks B, Ge Q, Birnbaum MJ. Akt/PKB regulates hepatic metabolism by directly inhibiting PGC-1a transcription coactivator. *Nature.* 2007; 447:1012-16.
60. Degerman E, Ahmad F, Chung YW, Guirguis E, Omar B, Stenson L, et al. From PDE3B to the regulation of energy homeostasis. *Curr Opin Pharmacol.* 2011;11(6):676-82.
61. Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: Navigating downstream. *Cell.* 2007;129:1261-74.
62. Cheng X, Xia W, Yang JY, Hsu JL, Lang JY, Chou CK, et al. Activation of murine double minute 2 by Akt in mammary epithelium delays mammary involution and accelerates mammary tumorigenesis. *Cancer Res.* 2010; 70(19):7684-9.
63. Bai D, Ueno L, Vogt PK. Akt-mediated regulation of NF-kB and the essentialness of NF-kB for the oncogenicity of PI3K and Akt. *Int J Cancer.* 2009; 125:2863-70.
64. Yu Q, Gao F, Ma XL. Insulin says NO to cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2011a;89:516-24.
65. Bruhn MA, Pearson RB, Hannan RD, Sheppard KE. Second AKT: The rise of SGK in cancer signaling. *Growth Factors.* 2010;28:394-408.
66. Leibiger B, Moede T, Uhles S, Barker CJ, Creveaux M, Domin J, et al. Insulin-feedback via PI3KC2alpha activated PKBalpha/Akt1 is required for glucose-stimulated insulin secretion. *FASEB J.* 2010;24(6):1824-37.
67. Steinbusch LK, Schwenk RW, Ouwens DM, Diamant M, Glatz JF, Luiken JJ. Subcellular trafficking of the substrate transporters GLUT4 and CD36 in cardiomyocytes. *Cell Mol Life Sci.* 2011;68(15):2525-38.
68. Zaid H, Antonescu CN, Randhawa VK, Klip A. Insulin action on glucose transporters through molecular switches, tracks and tethers. *Biochem J.* 2008;413(2):201-15.
69. Brozinick JTJr, Hawkins ED, Strawbridge AB, Elmendorf JS. Disruption of cortical actin in skeletal muscle demonstrates an essential role of the cytoskeleton in glucose transporter 4 translocation in insulin-sensitive tissues. *J Biol Chem.* 2004;279:40699-706.
70. Hoffman NJ, Elmendorf JS. Signaling, cytoskeletal and membrane mechanisms regulating GLUT4 exocytosis. *Trends Endocrinol Metab.* 2011;22(3):110-6.

(Надійшла до редакції 04.07.2018 р.)

Рецепція та внутрішньоклітинні механізми дії інсуліну

М.Д. Тронько, О.І. Ковзун, В.В. Пушкарьов, Л.К. Соколова, В.М. Пушкарьов

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. В огляді проаналізовано механізми, що беруть участь у рецепції та проведенні сигналів інсуліну в клітинах-мішенях. Описано структуру рецептора, механізм його активації та передачі сигналу гормону нижчим ланкам інсулінового каскаду. Охарактеризовано основні сигнальні шляхи, що беруть участь в трансдукції, посиленні та пригніченні сигналу інсуліну.

Ключові слова: рецептори інсуліну, субстрати рецептора інсуліну, сигнальні шляхи інсуліну, інсулінорезистентність.

Reception and intracellular mechanisms of insulin action

N.D. Tronko, E.I. Kovzun, V.V. Pushkarev, L.K. Sokolova, V.M. Pushkarev

SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Sciences of Ukraine»

Abstract. The review analyzes the mechanisms involved in the reception and transduction of insulin signals in the target cells. The structure of the receptor, the mechanism of its activation and the transduction of the hormone signal to the downstream cascades are described. The main signaling pathways involved in transduction, amplification and suppression of insulin signal are characterized.

Keywords: insulin receptors, insulin receptor substrates, insulin signaling pathways, insulin resistance.

Молекулярные и эпигенетические механизмы метаболических эффектов средств, применяемых в лечении пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и его осложнений

А.В. Гарницкая

Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика

Резюме. Растущее распространение состояний, связанных с нарушением обменных процессов (ожирение, сахарный диабет 2-го типа, сердечно-сосудистые заболевания), требует использования фармакологических средств, способствующих коррекции этих нарушений, что является задачей актуального направления в медицине — метаболической терапии. Сегодня достигнут новый уровень в понимании молекулярных механизмов действия противодиабетических средств. В частности, доказано, что многие эффекты таких широко применяемых при сахарном диабете фармакологических препаратов, как метформин, альфа-липовая кислота, мелидоний (триметазидин), осуществляются на уровне регуляции экспрессии ряда генов, играющих роль в ключевых процессах метаболизма, оптимизации нарушенных обменных процессов.

Ключевые слова: сахарный диабет, сердечно-сосудистые осложнения, метаболическая терапия, регуляция активности генов, метформин, альфа-липовая кислота, мелидоний.

Заболевание сахарным диабетом 2-го типа (СД2) в настоящее время проявляет тенденцию к неуклонному росту распространенности сре-

* Адреса для листування (Correspondence): Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112, Україна. E-mail: zdovado@ukr.net

© А.В. Гарницкая

ди населения, представляя собой значительную медико-социальную проблему для всех стран мира. По данным Всемирной организации здравоохранения (WHO) и Международной диабетической ассоциации (IDF), число больных диабетом возросло со 108 миллионов в 1980 году до

422 миллионов в 2014 году, при этом глобальная распространенность диабета среди взрослых старше 18 лет выросла с 4,7% до 8,5%. Если в 2017 г. долю людей, страдающих диабетом, оценивали в 8,8%, то к 2045 г. прогнозируется увеличение этого показателя до 9,9% [26, 29].

СД2 известен как хроническое заболевание, опасность которого заключается в развитии осложнений, среди которых особое значение имеют заболевания сердечно-сосудистой, выделительной, нервной, опорно-двигательной систем. Ведущими патофизиологическими механизмами СД2 считают снижение чувствительности тканей к инсулину (инсулинорезистентность) и дисфункцию β -клеток поджелудочной железы, в результате чего нарушается гомеостаз глюкозы в виде хронической гипергликемии. Кроме нарушений углеводного обмена, СД2 характеризуется широким спектром гормонально-метаболических нарушений, важнейшими проявлениями которых являются дислипидемия, усиление свободнорадикальных процессов (оксидативный стресс), гликирование белков (гемоглобина, рецепторных и ферментных белков), нарушение секреции и действия многих гормонов и гормоноподобных биологически активных веществ, снижение уровня оксида азота — эндогенного вазодилататора и нейротрансмиттера.

В основе этих нарушений лежат прежде всего связанные с инсулинорезистентностью патологические сдвиги в утилизации клетками основных энергетических субстратов — углеводов и липидов, поэтому коррекция углеводного и липидного обмена является краеугольным камнем в лечении СД2. Необходимо учитывать данные последних молекулярно-генетических исследований о том, что развитие патологического метаболического фенотипа при СД2 связано с устойчивыми изменениями на уровне экспрессии ключевых генов, участвующих в процессах углеводного и липидного обмена [43]. Эти изменения, называемые эпигенетическими модификациями, не затрагивая первичной структуры ДНК, могут вызывать изменения структуры хроматина и экспрессии определенных генов. Такие устойчивые модификации, в частности, обуславливают так называемый феномен «метаболической памяти», когда кардиоваскулярные и неврологические нарушения, связанные с влиянием хронической гипергликемии, продолжают прогрессировать

даже после нормализации гликемии [38]. Молекулярные механизмы эпигенетических модификаций активности генов включают метилирование/деметиляцию определенных участков ДНК (промоторов или блокаторов генов), влияние на структуру хроматина (ацетилирование) и на некодирующие микроРНК. Эти изменения регулируют активность генов на уровне транскрипции или посттранскрипционно и могут передаваться следующим поколениям [13, 23]. Показано, что ошибки метилирования генов накапливаются в организме в процессе старения, что, возможно, приводит к увеличению частоты проявления СД2 и метаболического синдрома у лиц старшего возраста [23, 25].

В течение последних десятилетий в медицине интенсивно развивается так называемое «метаболическое» направление, ставящее своей целью теоретический и прикладной анализ нарушений клеточных обменных процессов при различных видах патологии. Данные о том, что окислительный стресс и связанное с ним окисление жирных кислот приводят к повреждению клеточных мембран и гибели клеток, явились обоснованием метаболической терапии пациентов с ишемической болезнью сердца и хронической сердечной недостаточностью (ХСН). В основе этого подхода лежит цитопротекция, позволяющая нормализовать энергетический метаболизм клетки и улучшить сократительную функцию миокарда [4, 5, 24, 25].

На сегодняшний день наиболее разработанными являются способы метаболической терапии в отношении миокардиопротекции, вазопротекции и лечения сахарного диабета с использованием фармакологических средств, помогающих направить метаболические процессы на повышение эффективности энергетического обмена, экономное расходование энергосубстратов, прекондиционирование к гипоксии и ишемии, снижение образования свободных радикалов. Необходимым условием обеспечения эффективной патогенетической коррекции этих нарушений является выяснение молекулярных механизмов метаболических изменений в условиях патологии и подбор соответствующих фармакологических средств для целенаправленного воздействия. Клиническими преимуществами метаболических средств являются отсутствие нежелательного гемодинамического влияния, хорошая переносимость во всех возрастных

группах, целенаправленное влияние на метаболические механизмы развития ишемии [22, 25].

Учитывая, что связь метаболических нарушений при СД2 с эпигенетическими модификациями получает все больше доказательств, в настоящее время внимание исследователей привлекают эффекты широко используемых лекарственных препаратов, в том числе противодиабетических, на эпигенетические процессы [12, 28, 43]. В этом обзоре рассматривается влияние таких распространенных средств метаболической терапии, как мелидоний, альфалиповая кислота, метформин, на метаболические процессы и возможный вклад в эти эффекты воздействия на экспрессию генов.

Мелидоний

СД2 характеризуется хронической гипергликемией и дислипидемией, т.е. повышением концентрации глюкозы и атерогенными изменениями липидного спектра сыворотки крови. Эти факторы способствуют повышению продукции высокотоксичных свободных радикалов и липидных перекисей, оказывающих прямое разрушительное воздействие прежде всего на эндотелий мелких и крупных сосудов. Дисфункция эндотелия и развитие микро- и макроваскулярных нарушений ведут к нарушению снабжения клеток периферических тканей кислородом и энергетическими субстратами, результатом чего становится формирование целого ряда осложнений, в том числе сердечно-сосудистых заболеваний, периферической нейропатии, нефропатии, синдрома диабетической стопы.

Исходя из патофизиологии нейрососудистых осложнений СД, целью патогенетической терапии следует считать разрыв «порочного круга» взаимодействия метаболических и сосудистых механизмов прогрессирования заболевания. Одной из важнейших задач терапии пациентов с СД является коррекция энергодефицита, которая способствует оптимизации метаболических процессов, повышению антиоксидантной активности, улучшению микроциркуляции. Как известно, процессы окисления жирных кислот и глюкозы находятся в реципрокной взаимосвязи: при подавлении окисления жирных кислот увеличивается потребление глюкозы, усиливаются процессы анаэробного окисления глюкозы. Следовательно, уменьшение окисления жирных кислот поз-

воляет клеткам экономить кислород и утилизировать больше глюкозы, что особенно важно при СД [2].

Считают, что оптимальная стратегия коррекции метаболизма в условиях ишемии должна заключаться в ограничении скорости окисления свободных жирных кислот для более экономного использования кислорода, ограничении накопления недоокисленных жирных кислот в митохондриях, что позволяет восстановить внутриклеточный транспорт и использование АТФ и активизировать процессы поглощения и окисления глюкозы. Ограничение транспорта жирных кислот в митохондрии и, следовательно, их окисления способствует адаптации (прекондиционированию) клеток к кислородной недостаточности [2, 3].

В современной клинической практике получили распространение соединения, называемые миокардиальными цитопротекторами, которые оптимизируют утилизацию кислорода и обмен энергетических субстратов в кардиомиоцитах. К этой группе относятся парциальные ингибиторы β -окисления жирных кислот (partial fatty acid oxidation inhibitors — p-FOX), эффективность которых доказана многочисленными клиническими исследованиями. Представители этой группы препаратов тормозят скорость окисления жирных кислот внутри митохондрий (первое поколение — триметазидин) либо ограничивают транспорт жирных кислот через мембраны (второе поколение — милдронат). Эффект от их применения наблюдается не сразу, а спустя некоторое время, необходимое для перестройки и стабилизации метаболизма [5, 6, 19].

Первым препаратом данной группы лекарственных средств стал **триметазидин** (предуктал, тридуктан) (1-[(2,3,4-триметоксифенил)метил]пиперазин) — производное имидазола, который оказывает цитопротекторное действие на миокард и признан Европейской ассоциацией кардиологов одним из наиболее эффективных кардиопротекторов [27]. Триметазидин блокирует 3-кетоацил-КоА-тиолазу — один из ключевых ферментов окисления жирных кислот, тормозя окисление в митохондриях всех жирных кислот — как длинно-, так и короткоцепочечных, однако при этом не изменяется накопление в митохондриях активированных жирных кислот. Таким путем триметазидин предотвращает развитие внутриклеточного ацидоза

и перегрузки кальцием, восстанавливает работу ионных насосов, обеспечивает поддержание продукции АТФ и сохранение сократительной функции миоцитов [6, 19].

Еще одним популярным корректором метаболизма является парциальный ингибитор окисления жирных кислот второго поколения — **мельдоний (милдронат)** (3-(2,2,2-триметилгидразиний)). Молекулярный механизм действия мельдония как структурного аналога карнитина заключается в конкурентном ингибировании фермента γ -бутиробетаингидроксилазы, что влечет за собой снижение конверсии γ -бутиробетаина в **карнитин**. Последний служит переносчиком через мембрану митохондрий средне- и длинноцепочечных жирных кислот — основных субстратов в процессе бета-окисления. Препараты на основе мельдония, в отличие от триметазидина, не влияют на транспорт короткоцепочечных жирных кислот. Снижение под влиянием мельдония накопления в митохондриях недоокисленных жирных кислот препятствует липотоксическому действию последних, которое является одним из факторов, усугубляющих инсулинорезистентность [6, 24].

Вследствие уменьшения концентрации карнитина в клетках увеличивается содержание γ -бутиробетаина (ГББ), который, в свою очередь, способен индуцировать образование NO — одного из наиболее эффективных агентов, нейтрализующих свободные радикалы, и обуславливает снижение периферического сопротивления сосудов за счет вазодилатации [2, 3]. Представляет интерес препарат Капикор, сочетающий мельдоний и ГББ, что способствует более быстрому наступлению NO-зависимых эффектов и обуславливает церебропротективное действие, необходимое при диабетических энцефалопатиях и для предотвращения критических кардиоваскулярных событий у больных СД2 [5].

Исследования эффектов мельдония показали, что он оказывает благотворное действие на состояние углеводного обмена (стимулирует потребление глюкозы тканями и повышает их чувствительность к инсулину) посредством различных механизмов, в число которых входят усиление экспрессии генов транспортера глюкозы GLUT4, инсулинового рецептора, а также генов, вовлеченных в процесс гликолиза. Показано, что мельдоний восстанавливает чувствитель-

ность ядерных рецепторов PPAR- α , увеличивает экспрессию PPAR- α в ядре, а также увеличивает экспрессию генов, участвующих в метаболизме жирных кислот: карнитин-пальмитоил-трансферазы-1, ацил-коэнзим-А-оксидазы-1, коэнзим-А-синтетазы длинноцепочечных жирных кислот, мембранного белка пероксисом, липопротеиновой липазы. Установлено, что мельдоний повышает активность и увеличивает биосинтез двух наиболее важных ферментов аэробного гликолиза — гексокиназы и пируватдегидрогеназы, которые вовлекают образовавшийся из сахаров пируват в цикл Кребса, предотвращая образование лактата. Допускают, что эффекты триметазидина, мельдония и его предшественника ГББ могут быть связаны с их участием в качестве доноров метила в реакциях метилирования, обеспечивающих посттрансляционные модификации ДНК и изменения экспрессии различных генов. Эта гипотеза позволяет объяснить некоторые эффекты мельдония и ГББ наличием механизмов воздействия на уровне модификации активности генов [3, 24].

Альфа-липоевая кислота

Нарушение утилизации основных энергосубстратов при СД2 сопровождается снижением эффективности энергетического обмена и усилением свободнорадикальных процессов — общепризнанного патогенетического фактора СД2. Поэтому одним из направлений метаболической терапии является борьба с оксидативным стрессом с использованием лекарственных препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами. К таким препаратам относится альфа-липоевая кислота (АЛК) — мощный антиоксидант, являющийся также одним из естественных компонентов антиоксидантной защиты у растений и животных. АЛК и ее метаболит дигидролипоевая кислота (ДГЛК) связывают свободные радикалы, участвуют в регенерации витаминов С, Е, убихинона Q10 и окисленного глутатиона в клетке. АЛК уменьшает перекисное окисление липидов, снижает окислительный стресс, улучшает кровоснабжение нервов и их проводимость, проявляет антигипергликемические и противовоспалительные эффекты [1, 37, 40].

Результатами целого ряда двойных слепых плацебо-контролируемых клинических исследований доказана безопасность препаратов АЛК и их эффективность как средств, облегчающих симптомы диабетической полинейро-

патии, улучшающих электрофизиологические показатели проводимости мелких нервных волокон, снижающих уровень маркеров сердечно-сосудистого риска [11, 18, 21, 31, 32, 41]. Дополнительными преимуществами препаратов АЛК является их способность положительно влиять на уровень гликемии, массу тела и концентрацию триглицеридов у больных СД2 с ожирением [30, 34, 40].

Современными исследованиями обнаружено, что многие из плейотропных эффектов АЛК связаны с ее влиянием на экспрессию определенных генов, т.е. включают эпигенетические механизмы. Так, показано, что в нейропротекторном действии АЛК участвуют механизмы, связанные с активацией сигнальных путей инсулинового рецептора PI3K/Akt, ингибированием экспрессии и активности NADPH-оксидазы, что ведет к подавлению генерации перекисей и снижению оксидативного стресса [15].

Получены результаты, свидетельствующие о том, что противовоспалительное действие АЛК в различных клетках опосредовано влиянием на экспрессию генов цитокинов путем изменения профиля метилирования ДНК. Так, в культивируемых клетках человеческой нейробластомы инкубация в присутствии АЛК через модуляцию ядерного фактора капа-бета (NF- κ B) вызывала гиперметилирование промоторных участков генов воспалительных интерлейкинов ИЛ-1 и ИЛ-6, уменьшение экспрессии мРНК и секреции указанных цитокинов [14].

Метформин

Хотя бигуанид метформин, который успешно используется в лечении больных СД2 уже более 60 лет, в настоящее время считается препаратом первого выбора для пероральной терапии, молекулярные механизмы его действия до сих пор не полностью раскрыты. Известно, что антигипергликемический эффект метформина обусловлен снижением абсорбции глюкозы в тонком кишечнике, увеличением переноса глюкозы в клетки, снижением концентрации свободных жирных кислот в плазме и ингибированием глюконеогенеза. Важную роль в этих процессах играет активация АМФ-зависимой питектинкиназы (АМРК) — фермента, являющегося ключевым регулятором энергетического статуса клетки. При наличии «энергетического стресса» (увеличения внутриклеточного отношения АМФ/АТФ) АМРК модулирует активность ключевых

ферментов энергетического обмена, ингибируя анаболические процессы (липогенез с потреблением АТФ) и стимулируя катаболические пути (окисление глюкозы и жирных кислот с запасанием энергии в виде АТФ), тем самым направляя клеточный метаболизм в сторону продукции энергии и поддержания энергетического гомеостаза [6, 8, 16, 20, 39, 42, 45].

Показано, что метформин индуцирует геномные изменения профиля метилирования ДНК через модуляции активности АМРК, вызывающие изменения активности фермента переметилирования S-аденозилгомоцистеингидролазы (SАНН). Ингибирование метформинем анаболических процессов (включая рост опухолевых клеток) достигается за счет гиперметилирования и инактивации промоторных участков генов пролиферации. Метформин действует путем активирования микроРНК let-7, что приводит к деградации длинной некодирующей РНК H19, которая обычно связывается с АМРК и инактивирует ее [28, 44].

Влияние метформина распространяется на активность многих ферментов, участвующих в эпигенетических модификациях, главным образом через активирование АМРК. Последняя может фосфорилировать многочисленные субстраты, включая транскрипционные факторы и ферменты ацетилирования гистонов, метилирования гистонов и ДНК (гистон-ацетилтрансферазы, гистондеацетилазы класса II, ДНК-метилтрансферазы, гистон-метилтрансферазы), что обычно приводит к их ингибированию. Имеются данные, что эти изменения влияют на экспрессию генов и могут способствовать противодиабетическим эффектам метформина и потенциально защищать от рака, сердечно-сосудистых заболеваний, снижения когнитивных функций и старения. Сообщается, что лечение метформинем влияет на уровни экспрессии многочисленных микроРНК, которые могут проявлять антидиабетическую и противоопухолевую активность [12, 39].

Плейотропные эффекты метформина (антиатеросклеротический, гипотензивный и противоопухолевой) включают влияние на липидный профиль плазмы, снижение окислительного стресса и увеличение фибринолитической активности плазмы [9]. Предотвращением образования активных радикалов кислорода, повреждений и мутаций ДНК соматических кле-

Лекції

ток объясняют снижение риска канцерогенеза, ассоциированное с лечением метформином [7, 33, 35, 39].

Хотя метформин в организме не метаболизируется, последние исследования показали, что он активно переносится в гепатоциты и почечный эпителий при помощи органических катионных транспортеров OСТ1 и OСТ2 (кодируемых соответственно генами *SLC22A1* и *SLC22A2*). Другой мембранный транспортер MATE1 (multidrug and toxin extrusion 1 protein) кодируется геном *SLC47A1* и обеспечивает выделение метформина из этих клеток в желчь и мочу. Генетический полиморфизм и эпигенетические модификации генов транспортеров метформина могут быть причиной значительного изменения реакции на препарат. Выяснено, что метформин уменьшает метилирование ДНК генов транспортера метформина в печени человека, в то время как высокие уровни метилирования в этих генах ассоциируются с гипергликемией и ожирением [10, 17].

Таким образом, имеющиеся на сегодняшний день данные свидетельствуют, что метаболические эффекты метформина проявляются через влияние на экспрессию ключевых генов, вовлеченных в обмен углеводов и липидов, причем имеют в основном антианаболическую направленность: усиливают процессы аэробного окисления, снижают синтез *de novo* глюкозы, липидов, пуриновых и пиримидиновых оснований, белковый синтез. Вместе с антиоксидантной активностью метформин противодействует развитию дисметаболических нарушений, составляющих симптомокомплекс метаболического синдрома («набор» факторов риска СД, ССЗ), а также ограничивает нежелательную пролиферацию клеток при атеросклерозе и канцерогенезе [42, 45].

Список использованной литературы

1. Бондарь ИА, Королева ЕА. Альфа-липовая кислота — доказательства эффективности лечения диабетической нейропатии. *Міжнародний неврологічний журнал*. 2014;4(66):137-42. (Bondar IA, Koroleva EA. Alpha-lipoic acid — evidence of the effectiveness of diabetic neuropathy treatment. *Mizhnarodnyi nevrolohichnyi zhurnal*. 2014;4(66):137-42).
2. Верткин АЛ, Ховасова НО, Пшеничникова ВВ, Алексеев МА, Абдулаева АУ. Мельдоний: эффективные точки применения. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2013;2:94-7. (Vertkin AL, Khovasova NO, Pshenichnikova VV, Alekseev MA, Abdulaeva AU. Meldonium: effective points of application. *Kardiovaskulyarnay at erapiya i profilaktika*. 2013;2:94-7).
3. Дзерве ВЯ. Милдронат®: лечение кардио-неврологической патологии в условиях ишемии и гипоксии. *Факты доказательной медицины. Здоров'я України*. 2016;9. (Dzierwe VYa. Mildronate®: treatment of cardio-neurological pathology in conditions of ischemia and hypoxia. *Facts of Evidence-Based Medicine. Zdorov'ya Ukraini*. 2016;9).
4. Никонов ВВ, Павленко АЮ. Метаболическая терапия гипоксических состояний. *Мед. Неотл. Сост.* 2009;3-4:22-3. (Nikonov VV, Pavlenko AYU. Metabolic therapy of hypoxic conditions. *Med. Neotl. Sostoyaniy*. 2009;3-4:22-3).
5. Сьяксте НИ, Дзинтаре МЯ, Калвинш ИЯ. Роль индукции NO в механизме действия цитопротектора капикора — оригинального регулятора эндотелиальной функции. *Медицинські перспективи*. 2012; XVII(2):5-15. (Syakste NI, Dzintare MYa, Kalvinsh IYA. The role of induction of NO in the mechanism of action of the cytoprotector capicor — the original regulator of endothelial function. *Medychni perspektyvy*. 2012; XVII(2):5-15).
6. Трухан ДИ, Давыдов ЕЛ, Мазуров АЛ. Миокардиальный цитопротектор триметазидин МВ — препарат, повышающий эффективность лечения пациентов с хронической сердечной недостаточностью и ишемической болезнью сердца. *Медицинский совет*. 2017; 7:75-83. (Trukhan DI, Davydov EL, Mazurov AL. Myocardial cytoprotectortrimetazidine MB — a drug that increases the effectiveness of treatment of patients with chronic heart failure and coronary heart disease. *Meditsynskiy sovet*. 2017;7:75-83).
7. Algire C, Moiseeva O, Deschenes-Simard X, Amrein L, Petruccielli L, Viollet B, et al. Metformin reduces endogenous reactive oxygen species and associated DNA damage. *Cancer Prev Res*. 2012; 5(4):536-43.
8. An H, He L. Current understanding of metformin effect on the control of hyperglycemia in diabetes. *J Endocrinol*. 2016;228(3): R97-106.
9. Ashabi G, Khalaj L, Khodaghali F, Goudarzvand M, Sarkaki A. Pre-treatment with metformin activates Nrf2 antioxidant pathways and inhibits inflammatory responses through induction of AMPK after transient global cerebral ischemia. *Metab Brain Dis*. 2015;30(3):747-54.
10. Barajas-Olmos F, Centeno-Cruz F, Zerrweck C, Imaz-Rosshandler I³, Martínez-Hernández A, Cordova EJ, et al. Altered DNA methylation in liver and adipose tissues derived from individuals with obesity and type 2 diabetes. *BMC Med Genet*. 2018;9(1):28.
11. Bartkoski S, Day M. Alpha-lipoic acid for treatment of diabetic peripheral neuropathy. *Am Fam Physician*. 2016;93(9):786.
12. Bridgeman SC, Ellison GC, Melton PE, Newsholme P, Mamotte CDS. Epigenetic effects of metformin: From molecular mechanisms to clinical implications. *Diabetes Obes Metab*. 2018 Feb 19.
13. Cacabelos R, Torrellas C. Epigenetics of aging and Alzheimer's disease: implications for pharmacogenomics and drug response. *Int J Mol Sci*. 2015;16:30483-543.
14. Dinicola S, Proietti S, Cucina A. Alpha-lipoic acid down regulates IL-1β and IL-6 by DNA hypermethylation in SK-N-BE neuroblastoma cells. *Antioxidants (Basel)*. 2017;6(4):74.
15. Dong Y, Wang H, Chen Z. Alpha-lipoic acid attenuates cerebral ischemia and reperfusion injury via insulin receptor and PI3K/Akt-dependent inhibition of NADPH oxidase. *Int J Endocrinol*. 2015;2015,903186.
16. Galdieri L, Gatla H, Vancurova I, Vancura A. Activation of AMP-activated protein kinase by metformin induces protein acetylation in prostate and ovarian cancer cells. *J Biol Chem*. 2016;291(48):25154-66.
17. García-Calzón S, Perfilyev A, Männistö V, de Mello VD, Nilsson E, Pihlajamäki J, et al. Diabetes medication associates with DNA methylation of metformin transporter genes in the human liver. *Clin Epigenetics*. 2017;9:102.
18. Gomes M, Negrato CA. Alpha-lipoic acid as a pleiotropic compound with potential therapeutic use in diabetes and other chronic diseases. *Diab Metab Syndr*. 2014;6(1):80.
19. Grajek S, Michalak M, Frenneaux M, Anker SD. The effect of trimetazidine added to pharmacological treatment on all-cause mortality in patients with systolic heart failure. *Cardiology*. 2015;131:22-9.
20. Grzybowska M, Bober J, Olszewska M. Metformin — mechanisms of action and use for the treatment of type 2 diabetes mellitus [Article in Polish]. *Postepy Hig Med Dosw*. 2011;65:277-85.
21. Han T, Bai J, Liu W, Hu Y. A systematic review and meta-analysis of a-lipoic acid in the treatment of diabetic peripheral neuropathy. *Eur J Endocrinol*. 2012;167(4):465-71.

22. Kolwicz SC, Tian R. Metabolic therapy at the crossroad: how to optimize myocardial substrate utilization? *Trends Cardiovasc Med*. 2009;19(6):201-7.
23. Li Y, Tollefsbol T. Age-related epigenetic drift and phenotypic plasticity loss: implications in prevention of age-related human diseases. *Epigenomics*. 2016;8(12):1637-51.
24. Liepinsh E, Skapare E, Svalbe B, Makrecka M, Cirule H, Dambrova M. Antidiabetic effects of mildronate alone or in combination with metformin in obese Zucker rats. *Eur J Pharmacol*. 2011; 658(2-3):277-83.
25. Lopatin Y. Metabolic therapy in heart failure. *Cardiac Failure Review*. 2015;1(2):112-7.
26. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030 // *PLoS Med*. 2006;3(11): e442.
27. Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A, et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2013;34(38): 2949-3003.
28. Muka T, Nano J, Voortman T. The role of global and regional DNA methylation and histone modifications in glycemic traits and type 2 diabetes: A systematic review. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2016;26(7):553-66.
29. Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Cavan%20%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28437734 et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diab Res Clin Pract*. 2017;128:40-50.
30. Okanović A, Prnjavorac B, Jusufović E, Sejdinović R. Alpha-lipoic acid reduces body weight and regulates triglycerides in obese patients with diabetes mellitus. *Med Glas (Zenica)*. 2015;12(2):122-7.
31. Papanas N, Ziegler D. Efficacy of α -lipoic acid in diabetic neuropathy. *Expert Opin Pharmacother*. 2014;15(18):2721-31.
32. Porasuphatana S, Suddee S, Nartnampong A, Konsil J, Harnwong B, Santaweekus A. Glycemic and oxidative status of patients with type 2 diabetes mellitus following oral administration of alpha-lipoic acid: a randomized double-blinded placebo-controlled study. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2012;21 (1):12-21.
33. Rochette L, Ghibu S, Muresan A, Vergely C. Alpha-lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015;93(12):1021-7.
34. Saisho Y. Metformin and inflammation: its potential beyond glucose-lowering effect. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2015;15(3):196-205.
35. Salani B, Del Rio A, Marini C, Sambuceti G, Cordera R, Maggi D. Metformin, cancer and glucose metabolism. *Endocr Relat Cancer*. 2014;21(6): R461-71.
36. Salminen A, Kauppinen A, Kaarniranta K. AMPK/Snf1 signaling regulates histone acetylation: Impact on gene expression and epigenetic functions. *Cell Signal*. 2016;28(8): 887-95.
37. Sayin M, Temiz P, Var A, Temiz C. The dose-dependent neuroprotective effect of alpha-lipoic acid in experimental spinal cord injury. *Neurol Neurochir Pol*. 2013;47(4):345-51.
38. Siebel AL, Fernandez AZ, El-Osta A. Glycemic memory associated epigenetic changes. *Biochem Pharmacol*. 2010;80(12): 1853-9.
39. Sliwinska A, Drzewoski J. Molecular action of metformin in hepatocytes: an updated insight. *Curr Diabetes Rev*. 2015; 11(3):175-81.
40. Tibullo D, Li Volti G1, Giallongo C, Grasso S, Tomassoni D, Anfuso CD, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Lupo%20G%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28676917 et al. Biochemical and clinical relevance of alpha lipoic acid: antioxidant and anti-inflammatory activity, molecular pathways and therapeutic potential. *Inflamm Res*. 2017;66(11):947-59.
41. Várkonyi T, Körei A, Putz Z, Martos T, Keresztes K, Lengyel C, et al. Advances in the management of diabetic neuropathy // *Minerva Med*. 2017;108(5):419-37.
42. Viollet B, Bruno Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci (Lond)*. 2012;122(6):253-70.
43. Waki H, Yamauchi T, Kadowaki T. The epigenome and its role in diabetes. *Curr Diab Rep*. 2012;12(6):673-85.
44. Zhong T, Men Y Lu L, Geng T, Zhou J, Mitsuhashi A, et al. Metformin alters DNA methylation genome-wide via the H19/SAHH axis. *Oncogene*. 2017;36(17): 2345-54.
45. Zhou K, Bellenguez C, Sutherland C, Hardie G, Palmer C, Donnelly P, Pearson E. The role of ATM in response to metformin treatment and activation of AMPK. *Nat Genet*. 2012;44:361-2.

(Надійшла до редакції 27.06.2018 р.)

Молекулярні та епігенетичні механізми метаболічних ефектів засобів, які застосовуються в лікуванні пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу та його ускладнень

А.В. Гарницька

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика

Резюме. Зростає поширення станів, пов'язаних із порушенням обмінних процесів (ожиріння, цукровий діабет 2-го типу, серцево-судинні захворювання), вимагає використання фармакологічних засобів, які сприяють корекції цих порушень, що є завданням актуального напрямку в медицині — метаболічної терапії. Сьогодні досягнуто нового рівня в розумінні молекулярних механізмів дії протидіабетичних засобів, які викликають епігенетичні модифікації активності ключових генів — регуляторів метаболізму. Зокрема, доведено, що багато ефектів таких широко застосовуваних у лікуванні пацієнтів із цукровим діабетом фармакологічних препаратів, як метформін, альфа-ліпоєва кислота, мeldonій (триметазидин), здійснюються на рівні регуляції активності низки генів, що відіграють роль у ключових процесах метаболізму, сприяючи оптимізації порушених обмінних процесів.

Ключові слова: цукровий діабет, серцево-судинні ускладнення, метаболічна терапія, регуляція активності генів, метформін, альфа-ліпоєва кислота, мeldonій.

Molecular and epigenetic mechanisms of metabolic effects of means applied in treatment of type 2 diabetes and its complications

A.V. Garnitska

PL. Shupik National Medical Academy for Postgraduate Education, Department of Diabetology

Abstract. The growing distribution of conditions associated with metabolic disorders (obesity, type 2 diabetes, cardiovascular diseases) requires the use of pharmacological agents that contribute to the correction of these disorders, which is the task of a current trend in medicine — metabolic therapy. Today a new level has been reached in understanding of the molecular mechanisms of the action of anti-diabetics, which cause epigenetic modifications of the activity of key genes, metabolic regulators. In particular, it has been proved that many effects of pharmacological drugs widely used in diabetes mellitus such as metformin, alpha-lipoic acid, meldonium (trimetazidine) are carried out at the level of regulation of the activity of a number of genes that play a role in key metabolic processes, contributing to the optimization of disturbed metabolic processes.

Keywords: diabetes mellitus, cardiovascular complications, metabolic therapy, genes activity regulation, metformin, alpha-lipoic acid, meldonium.

www.iem.net.ua/association
www.fb.com/EndoSchool
www.lavconsult.com.ua
e-mail: endoschool@ukr.net
+38 044 33 77 951

Науково-освітній проект **ШКОЛА ЕНДОКРИНОЛОГА**

2018

Щорічний цикл регіональних заходів

НАУКОВІ ОРГАНІЗАТОРИ ПРОЕКТУ:

Асоціація ендокринологів України

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В.П.Комісаренка НАМН України» (м.Київ)

Кафедра ендокринології НМАПО ім. П.Л.Шупика

ТЕХНІЧНИЙ ОРГАНІЗАЦІЙНИЙ ПАРТНЕР:

«LAV CONSULT»

ФОРМАТ:

інтерактивні лекції, розгляд
клінічних випадків, майстер-класи

ФАХ УЧАСНИКІВ:

ендокринологи, сімейні лікарі,
неврологи, хірурги

ШКОЛА ЕНДОКРИНОЛОГА-2018:

- лютий м. Київ
- квітень м. Ужгород
- червень м. Львів
- вересень м. Вінниця
- листопад м. Одеса

EndoSchool

Решение клинической задачи «Диагностика хромаффиномы» — возможности современной лабораторной диагностики

Л.А. Луценко¹,
А.Н. Кваченюк²

¹ Киевский городской клинический эндокринологический центр

² ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»

Резюме. Актуальность своевременной диагностики гиперпродукции катехоламинов обусловлена возможными сердечно-сосудистыми и церебральными катастрофами, вплоть до смертельного исхода при отсутствии лечения; развитием компрессионного синдрома при увеличивающейся в размерах опухоли; необходимостью раннего выявления катехоламинпродуцирующих опухолей в рамках наследственных синдромов. Выбор наиболее точного и диагностически значимого лабораторного исследования на первичном этапе диагностики позволяет подтвердить или исключить гиперпродукцию катехоламинов и выбрать дальнейший путь обследования пациента.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, метоксимины, надпочечники, феохромоцитомы.

Всемирная организация здравоохранения включила сердечно-сосудистые заболевания в группу основных неинфекционных заболеваний, являющихся основной причиной смерти во всем мире. При этом указывается, что около 80% сердечно-сосудистых заболеваний возможно предотвратить, устранив основные причины и факторы риска [1]. Ведущий модифицируемый фактор риска развития сердечно-сосудистых (инфаркт миокарда, инсульт,

ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность) и cerebrovascularных (ишемический или геморрагический инсульт, транзиторная ишемическая атака) заболеваний — повышенное кровяное давление. По подсчетам исследователей, девять миллионов смертельных случаев ежегодно являются следствием гипертонии [2]. Раннее выявление и эффективное ведение случаев гипертонии является профилактикой сердечно-сосудистых катастроф.

Клинические рекомендации по ведению пациентов с артериальной гипертензией (АГ)

* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна. E-mail: zdovado@ukr.net

постоянно обновляются, при этом выявление вторичных АГ, при которых повышение кровяного давления связано с поражением различных органов и систем, часто не своевременно и вызывает затруднения, особенно на этапе лабораторной диагностики. Признаки, которые могут указывать на вторичную форму АГ, — внезапное начало АГ, резко выраженное повышение артериального давления (АД), отсутствие ответа АД (или незначительный ответ) на антигипертензивную терапию, поражение органов-мишеней, которое не соответствует длительности АГ. Одной из причин вторичной артериальной гипертензии являются опухоли клеток хромаффинной ткани мозгового слоя надпочечных желез, реже — опухоли параганглиев аорты, симпатических нервных узлов и сплетений. Распространенность феохромоцитомы/параганглиомы (ФХЦ/ПГ) среди пациентов с гипертензией составляет 0,2-0,6% [3]. При выявлении инциденталом надпочечников асимптомные ФХЦ составляют 3,1% [4]. В 30-70% случаев диагноз феохромоцитомы устанавливается посмертно [5], ФХЦ/ПГ диагностируют в 0,05-0,1% аутопсийных исследований [3].

Феохромоцитома — это опухоль мозгового слоя надпочечника, состоящая из хромаффинных клеток, параганглиома — это опухоль, состоящая из внемозгочечниковой хромаффинной ткани симпатических паравертебральных ганглиев грудной клетки, брюшной полости и таза. В основе патогенеза лежит способность данных опухолей секретировать большие количества катехоламинов (КА) — адреналин, норадреналин, дофамин. Иногда возможна секреция образованиями только норадреналина, реже — только адреналина, очень редко — дофамина. Спектр выделяющихся КА зависит от локализации опухоли и степени дифференцировки клеток. Изолированная секреция адреналина встречается редко, и в основном, при синдромах множественной эндокринной неоплазии. Продукция дофамина также встречается нечасто, но значительно повышается при феохромообластомах.

Клиническая картина катехоламинпродуцирующих опухолей характеризуется разнообразием и непостоянством проявлений [6]. Основным клиническим симптомом данного заболевания — АГ (85-95% случаев) и призна-

ки поражения сердечно-сосудистой системы [5, 7-9].

Согласно современным представлениям, различают постоянную (персистирующую) форму гипертензии при ФХЦ, которая встречается в 10-60% случаев [8, 10], пароксизмальную — в 42-87% [10]. Кроме того, достаточно распространены латентные и атипичные формы, даже нормотензивные варианты ФХЦ [11, 12].

При постоянной форме ФХЦ отмечается частое возникновение кризов с повышением АД до 280/160 мм рт. ст. Пароксизмы чаще носят кратковременный характер, но иногда продолжаются до нескольких часов (в среднем 15-20 минут), могут повторяться от одного раза в месяц до нескольких раз в день [8, 13-15] и в большинстве случаев самостоятельно купируются. Повышение АД сопровождается сильной головной болью (часто пульсирующего характера, локализующейся в лобной или затылочной областях), профузным потоотделением, тремором, учащенным сердцебиением (иногда пациент ощущает сердцебиения при отсутствии тахикардии), чувством безотчетного страха, тревоги; может сопровождаться болью в груди или животе, тошнотой, рвотой. Кожные покровы бледные или гиперемированы, за счет нарушения периферической микроциркуляции появляется «мраморность». Возможны расстройства зрения, слуха, повышение температуры тела, парестезии, судороги, нарушение мочеиспускания во время или сразу после криза (моча, как правило, светлая). У некоторых пациентов гипертонический криз может сопровождаться нарушением сердечного ритма (в виде экстрасистолии, синусовой тахикардии, мерцательной аритмии). Во время криза диагностируют гипергликемию, глюкозурию, лейкоцитоз, эозинофилию.

Малосимптомные и бессимптомные («немые») ФХЦ выявляются «случайно», при проведении визуализирующих исследований и на начальном этапе относятся к инциденталам [5, 16]. Функциональная активность данных образований проявляется во время оперативных вмешательств тяжелыми гемодинамическими нарушениями, поэтому особенно важно выявить истинный характер опухоли [17].

Необходимо помнить, что анамнестические данные о гипертонических кризах во время физических или эмоциональных нагрузок,

Актуальна інформація

общей анестезии, малоинвазивных вмешательств, применении инструментальных исследований; повышение АД после назначения медикаментозных препаратов (**таблица 1**); необъяснимая лихорадка могут свидетельствовать в пользу катехоламинпродуцирующей опухоли.

Таким образом, показаниями для диагностики ФХЦ/ПГ являются [3]:

- симптомы ФХЦ/ПГ, особенно пароксизмального типа (АГ, тахикардия, головная боль, профузная потливость);
- инциденталомы надпочечника (независимо от наличия АГ);
- симптомы ФХЦ/ПГ, спровоцированные медикаментозно (**таблица 1**) или при повышении внутрибрюшного давления (за счет пальпации, мочеиспускания, дефекации);
- отягощенный семейный анамнез (ФХЦ/ПГ, МЭН);
- наличие ФХЦ/ПГ в анамнезе у пациента;
- наличие любых компонентов наследственных синдромов, ассоциированных с ФХЦ/ПГ (медуллярный рак щитовидной железы, первичный гиперпаратиреоз, кожный нейрофиброматоз, гиперпигментация подмышечной и/или паховой области, пигментные пятна цвета «кофе с молоком», карцинома почки и др.).

Первооснова для постановки диагноза ФХЦ/ПГ — лабораторное обследование. Принципиальными при выборе любого лабораторного исследования являются чувствительность и специфичность диагностических тестов. Возможными исследованиями для выявления гиперпродукции КА являются:

- определение уровня КА в суточной моче и плазме крови (недостаточная специфичность);
- определение общих метанефринов в суточной моче;
- определение метоксиаминов в плазме крови.

Чувствительность и специфичность исследования КА низкая. Необходимо учитывать достаточно быстрый распад и выведение из плазмы данных гормонов (менее 5 мин) [16]. Кроме того, важно помнить, что экскреция КА может повышаться при заболеваниях, в патогенезе которых отмечается гиперфункция симпатoadrenalовой системы, а именно: нейрорегуляторной дистонии с симпатoadrenal-

Таблица 1. Препараты, способные спровоцировать гипертензию или тахикардию у пациентов с ФХЦ/ПГ [3]

Группа препаратов	Пример
Блокаторы дофаминовых D ₂ -рецепторов (включая некоторые противорвотные препараты и нейролептики (антипсихотические средства))	Метоклопрамид, сульпирид, амисульпирид, тиапирид, хлорпромазин, прохлорперазин, дроперидол
Блокаторы β-адренорецепторов (неселективные и в больших дозах — селективные)*	Пропранолол, соталол, тимолол, надолол, лабеталол
Симпатомиметики	Эфедрин, псевдоэфедрин, фенфлурамин, метилфенидат, фентермин, дексамфетамин
Опиоидные анальгетики	Морфин, трамадол, петидин
Ингибиторы обратного захвата норадреналина (включая трициклические антидепрессанты)	Амитриптилин, имипрамин
Ингибиторы обратного захвата серотонина	Пароксетин, флуоксетин
Ингибиторы MAO	Транилципромин, моклобемид, фенелзин
Глюкокортикостероиды	Дексаметазон, преднизолон, гидрокортизон, бетаметазон
Пептиды	Адренокортикотропный гормон, глюкагон
Миорелаксанты	Сукцинилхолин, тубокурарин, атракурий

Примечание. * — при блокаде β₂-адренорецепторов, обладающих литическим действием при сокращении гладких мышц сосудов, возникает парадоксальное повышение АД (феномен проявляется при адреналиновом типе опухолевой секреции).

ловыми кризами, тиреотоксикозе, психических расстройствах, которые сопровождаются паническими атаками [18-20], что приводит к большому количеству ложноположительных результатов. Наибольшей чувствительностью и специфичностью, а значит, и наибольшей лабораторной ценностью для выявления гиперпродукции КА обладают метанефрины [8, 11, 20]. КА внутри хромаффинных клеток метаболизируются в неактивные метилированные производные (адреналин в метанефрин, норадреналин в норметанефрин, дофамин в метокситирамин) за счет облигатной экспрессии в опухолевых клетках фермента катехоламин-О-метилтрансферазы, в норме метилирующего адреналин в норадреналин. Процесс метилирования КА внутри опухоли происходит по-

стоянно, независимо от выброса КА в кровяное русло, с последующей экскрецией в кровь. При наличии у больного ФХЦ/ПГ даже при нормальном или незначительно повышенном уровне катехоламинемии уровень метанефринов всегда повышен. Фракция метанефринов является стабильной, поэтому ее определение не зависит от времени выброса гормонов опухолью. Таким образом, определение уровня метанефрина, норметанефрина имеет более высокую чувствительность и специфичность в сравнении с определением КА [11, 15, 20]. Чувствительность и специфичность общих метанефринов суточной мочи, по данным литературы, составляют 88 и 89% соответственно [8, 20, 21]. Считается, что более чем у 95% больных с ФХЦ уровень метанефринов в моче повышен [22-24]. Но еще большей чувствительностью для выявления ФХЦ/ПГ обладает определение метоксиаминов в плазме крови — 97% [3], что дает возможность считать данное исследование методом выбора диагностики катехоламинпродуцирующих опухолей в организме. В настоящее время 15 независимых исследований подтверждают высокую точность метода определения свободных метанефринов плазмы [25]. **В МЛ «ДИЛА» исследование «Свободные метоксиамины (метанефрин+норметанефрин) в плазме»** проводится методом ЛС-МС (жидкостная хроматография с масс-спектрометрией), который обладает более высокой чувствительностью в сравнении с иммунологическими методами. Перед исследованием пациент должен находиться в положении лежа не менее 30 мин, взятие крови осуществляется в положении пациента на спине, что обусловлено выраженным влиянием активации симпатической нервной системы при вертикальном положении на стимуляцию выработки норадреналина, а значит, может привести к ложноположительному результату.

Преимущества определения свободных метоксиаминов в плазме:

- высокая чувствительность метода;
- возможность получения информации о преобладающем типе секреции опухоли, что влияет на дальнейшую тактику ведения пациента;
- возможность проведения исследования, не дожидаясь криза у пациента;

- исследование крови (менее трудоемкий процесс в сравнении со сбором суточной мочи).

При проведении исследования обязательно собрать информацию о приеме лекарственных препаратов (тетрациклиновые антибиотики, эритромицин, резерпин, транквилизаторы, адреноблокаторы, ингибиторы МАО, кофеин, никотиновая кислота, аспирин, симпатомиметики), которые принимал пациент на протяжении последнего месяца, и согласовать возможную отмену препарата. Провести беседу с больным относительно соблюдения определенных правил питания и ограничения физической активности. Пациентам запрещается употреблять пищу и напитки, которые содержат амины (ванилин, чай, кофе, какао, шоколад, кола, пиво, бананы, томаты, авокадо, алкоголь), курить.

Интерпретация результатов определения свободных метоксиаминов в плазме:

- одновременное повышение метанефрина и норметанефрина — свидетельствует в пользу наличия катехоламинпродуцирующей опухоли и редко является ложноположительным результатом;
- трехкратное (и более) повышение или метанефрина, или норметанефрина — свидетельствует в пользу наличия катехоламинпродуцирующей опухоли [4];
- незначительное (пограничное) повышение метанефрина или норметанефрина — в 25% случаев свидетельствует в пользу наличия катехоламинпродуцирующей опухоли, в 75% случаев — это нарушение преаналитического этапа, стресс на фоне интенсивной терапии и тяжелого заболевания, прием лекарственных препаратов, перечень которых указан в **таблице 2**. Ложноположительные результаты составляют 19-21% [27]. В таких случаях рекомендуется повторное тестирование с обязательным исключением всех возможных факторов влияния на показатели [4]. При получении результатов в диапазоне «серой зоны» возможна выжидательная тактика — повторное тестирование через 6 мес.

Пациентам с положительным результатом тестирования показано проведение дальнейшего обследования с целью визуализации опухоли и уточнения ее локализации. Ком-

Актуальна інформація

Таблиця 2. Перечень препаратов, влияющих на показатели метанефринов плазмы и мочи (ложноположительный результат) [27]

Препарат (группа препаратов)	Плазма		Моча	
	Норме- танеф- рин	Мета- нефрин	Норме- танеф- рин	Мета- нефрин
Ацетаминофен	++	-	++	-
Лабеталол	-	-	++	++
Соталол	-	-	++	++
α -метилдопа	++	-	++	-
Трициклические антидепрессанты	++	-	++	-
Буспирон	-	++	-	++
Феноксibenзамин	++	-	++	-
Ингибиторы MAO	++	++	++	++
Симпатомиметики	+	+	+	+
Кокаин	++	+	++	+
Сульфасалазин	++	-	++	-
Леводопа	+	+	++	+

Примечание. ++ — высокое увеличение; + — умеренное увеличение; - — без увеличения.

пьютерная или магнитно-резонансная томография органов забрюшинного пространства, брюшной полости и таза позволяют выявить до 95% феохромоцитом, так как 97% опухолей локализируются ниже диафрагмы и 90% являются внутринадпочечниковыми [22]. Чувствительность КТ с контрастированием составляет 88-100%. Возможности топической диагностики ФХЦ/ПГ расширяет применение мульти-спиральной компьютерной томографии с болюсным контрастированием.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Больная Н., 1967 г.р. впервые обратилась к эндокринологу по направлению кардиолога в связи с отсутствием ответа АД на антигипертензивную терапию. Диагноз: Гипертензивная болезнь III стадия, 3-я ст., злокачественное течение. Вторичная артериальная гипертензия?

Жалобы на постоянно высокое АД с периодическими гипертоническими кризами (подъемы АД до 200/120 мм рт. ст.), снижение веса на 8 кг за последние 2 года, ухудшение зрения, периодическое повышение температуры до 37,5 °С. Гипертонические кризы последние 6 месяцев повторяются с частотой около 1 раза в 3-4 недели, чаще купируются самостоятельно.

Анамнез заболевания. Считает себя больной \approx в течение 3 лет, когда впервые выявлена артериальная гипертензия с подъемом АД до

200/130 мм рт. ст. После первого гипертонического криза обследовалась у эндокринолога, сдавала суточную мочу на катехоламины. Результат анализа суточной мочи: адреналин — 155,4 нмоль/сут (норма < 110), норадреналин — 820,8 нмоль/сут (норма < 535). Пациентка уточнила, что была собрана не вся суточная моча. Несмотря на то, что уровни адреналина и норадреналина превышали (незначительно) референтные значения, дальнейшее обследование с целью исключения гиперпродукции катехоламинов не проводилось. Получает гипотензивные препараты, препараты постоянно меняются в связи с отсутствием или минимальным эффектом. Со слов пациентки, некоторые гипотензивные препараты (названия не помнит) способствовали повышению артериального давления.

Анамнез жизни, семейный анамнез — без особенностей.

Объективный статус: общее состояние больной удовлетворительное. Рост — 164 см, вес — 72 кг, ИМТ — 26,8. Распределение подкожной клетчатки равномерное. Кожа нормальной влажности, чистая. Патологических пигментаций и трофических изменений кожи нет. Костно-мышечная система без видимой патологии. Щитовидная железа не увеличена, диффузная. Периферические лимфоузлы пальпаторно не увеличены. Сердечные тоны приглушены. ЧСС — 100 уд/мин. АД — 190/110 мм рт. ст. (s=d). В легких везикулярное дыхание. Тремора рук нет. Живот мягкий, безболезненный. Печень не увеличена. Симптом Пастернацкого отрицательный с обеих сторон.

Результаты исследований при первичном обращении:

УЗИ щитовидной железы — без патологии.

ЭКГ: синусовая тахикардия, ЧСС — 120 уд/мин. Гипертрофия и систолическая перегрузка левого желудочка. Выраженные метаболические нарушения в миокарде.

Биохимические анализы крови: билирубин общий — 12,5 мкмоль/л; АЛТ — 26 ед/л; АСТ — 28,5 ед/л; общий холестерин — 6,4 ммоль/л; триглицериды — 1,87 ммоль/л; мочевины — 7,2 ммоль/л; креатинин — 112 мкмоль/л; калий — 4,46 ммоль/л; натрий — 140,0 ммоль/л; кальций общий — 2,2 ммоль/л; глюкоза — 6,7 ммоль/л.

Анализ крови: альдостерон — 29,4 нг/дл (норма — 7-30), ренин — 10,2 нг/л (норма — 7,54-42,3), АРС — 2,9 (норма — 3,8-7,7), АКТГ — 26 пг/мл (норма — 7-69), кортизол — 24,6 мкг/дл (норма — 4,3-22,4).

Учитывая жалобы больной, данные анамнеза заболевания, результаты предварительных исследований (незначительное повышение адреналина, норадреналина), а также нежелание пациентки собирать суточную мочу, предложено исследование крови на метоксимины. При этом учитывалась высокая чувствительность метода и возможность быстрого проведения исследования (не дожидаясь криза у пациентки).

Результат анализа крови: метанефрин — 6,3 нмоль/л (норма < 0,92), норметанефрин — 8,3 нмоль/л (норма < 1,29).

Предварительный диагноз: Феохромоцитом?

Рекомендовано: КТ забрюшинного пространства.

КТ надпочечных желез. Выявлено образование правого надпочечника 6,4 см в диаметре правильной формы с нечеткими контурами, неоднородной структуры с нативной плотностью 46 НУ, через 10 мин после введения контрастного вещества плотность составила 78 НУ, градиент плотности — 32 НУ.

Таким образом, учитывая результаты лабораторных и инструментальных (КТ) методов исследования, больной установлен диагноз: Феохромоцитомы правого надпочечника.

После обследования пациентка консультирована хирургом-эндокринологом, и в настоящее время планируется оперативное лечение.

Таким образом, своевременное и «правильное» (с использованием наиболее чувствительных и специфических исследований) лабораторное обследование пациентов с гипертензией, симпатоадреналовыми кризами имеет важное значение для раннего выявления гиперпродукции катехоламинов, раскрывает путь для дальнейшей диагностики ФХЦ/ПГ и помогает в выборе методов лечения пациента.

Список использованной литературы

1. Резолюция EUR/RC66/11 Европейского регионального комитета ВОЗ о Плана действий по профилактике и борьбе с неинфекционными заболеваниями в Европейском регионе ВОЗ. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ;

- 2016 (<http://www.euro.who.int/ru/about-us/governance/regional-committee-for-europe/past-sessions/66th-session/documentation/working-documents/eurrc6611-action-plan-for-the-prevention-and-control-of-noncommunicable-diseases-in-the-who-european-region>, по состоянию на 21 декабря 2017 г.
2. Глобальное резюме по гипертензии. WHO/DCO/WHO/2013.2 / http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/79059/WHO_DCO_WHO_2013.2_rus.pdf?sequence=5
3. Мельниченко Г. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике и лечению феохромоцитомы/параганглиомы / Г. Мельниченко, Е. Трошина, Д. Бельцевич и др. // Эндокринная хирургия. — 2015. — Т. 9, № 3. — С. 15-33.
4. Lenders J. Pheochromocytoma and paraganglioma: An endocrine society clinical practice guideline / J. Lenders WM, Q-Y. Duh, G. Eisenhofer et al. // J Clin Endocrinol Metab. — 2014. — № 99(6). — Р. 1915-1942.
5. Бельцевич Д.Г. Феохромоцитомы / Д.Г. Бельцевич, Е.А. Трошина, М.Ю. Юкина // Проблемы эндокринологии. — 2010. — № 1. — С. 63-71.
6. Тронько М.Д. Инсиденталомии надниркових залоз: посібник / М.Д. Тронько, А.М. Кваченюк, Л.А. Луценко. — Київ, 2015. — 77 с.
7. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. Российские рекомендации (четвертый пересмотр) // Системные гипертензии. — 2010. — № 3. — С. 5-26.
8. Зубкова С.Т. Особенности сердечно-сосудистых нарушений при феохромоцитоме / С.Т. Зубкова // Здоровье Украины. — 2007. — № 10/1. — С. 56-57.
9. Современные аспекты диагностики и лечения симптоматических артериальных гипертензий надпочечникового генеза / Ю.Л. Шевченко [и др.] // Терапевтический архив. — 2003. — № 4. — С. 8-15.
10. Объемные образования надпочечников (диагностика и дифференциальная диагностика): методические рекомендации для врачей, оказывающих специализированную медицинскую помощь / Е.А. Трошина [и др.]. Под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко // Consilium Medicum. — 2009. — Т. 11, № 12. — С. 76-94.
11. Трошина Е.А. Лабораторная диагностика феохромоцитомы / Е.А. Трошина, Д.Г. Бельцевич, М.Ю. Юкина // Проблемы эндокринологии. — 2010. — № 4. — С. 39-43.
12. Черенько С.М. Диагностика та лікування пухлин надниркових залоз / С.М. Черенько // Здоров'я України. — 2009. — № 1/1. — С. 36-37.
13. Довідник лікаря-ендокринолога / [Болгарська С.В. [та ін.]; за ред. члена-кор. НАН та АМН України, проф. М.Д. Тронько. [3-е вид., перероб. та доповн.] — Київ, 2010. — 460 с.
14. Современные аспекты диагностики и лечения симптоматических артериальных гипертензий надпочечникового генеза / Ю.Л. Шевченко [и др.] // Терапевтический архив. — 2003. — № 4. — С. 8-15.
15. Чачибая В.А. Клиническая картина и методы гормональной диагностики хромаффином / В.А. Чачибая, М.А. Коринтели, К.Г. Бочоришвили // Медицинские новости Грузии. — 2004. — Т. 116, № 1. — С. 43-45.
16. Трудности диагностики и особенности хирургического лечения больных с малоактивными феохромоцитомами: материалы II Украинско-Российского симпозиума [«Современные аспекты хирургической эндокринологии (с участием терапевтов-эндокринологов)»] (Харьков, 29 сентября — 1 октября 2011 г.). / М-во здравоохранения Украины, Нац Академия наук Украины [и др.]. — Х.: 2011. — 512 с.
17. Комиссаренко И.В. Хирургическое лечение злокачественных опухолей надпочечных желез / И.В. Комиссаренко, С.И. Рыбаков, А.Н. Кваченюк // Хірургія України. — 2005. — № 13 (1-С). — С. 53-57.
18. Феохромоцитомы / Д.Г. Бельцевич [и др.] // Consilium medicum. — 2007. — Т. 9, № 9. — С. 88-94.
19. Повышение уровня метилированных производных катехоламинов — патогномоничный лабораторный признак феохромоцитомы / Н.С. Кузнецов [и др.] // Проблемы эндокринологии. — 2007. — Т. 53, № 1. — С. 33-36.

Актуальна інформація

20. Феохромоцитома / [Дедов И.И., Бельцевич Д.Г., Кузнецов Н.С., Мельниченко Г.А.] — М.: Практическая медицина, — 2005. — 216 с.
21. The clinically inapparent adrenal mass: update in diagnosis and management / G. Mansmann [et al.] // Endocrine Reviews. — 2004. — Vol. 25, № 2. — P. 309-340.
22. Коваленко А.Е. Феохромоцитома: современные подходы к диагностике и лечению / А.Е. Коваленко // Здоров'я України. — 2007. — № 22/1. — С. 75-77.
23. Хирургические доступы к опухолям надпочечников / А.М. Казарян [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. — 2003. — № 9. — С. 61-67.
24. Чихладзе Н.М. Феохромоцитома / Н.М. Чихладзе, И.Е. Чазова // Consilium Medicum. — 2008. — Т. 10, № 9. — С. 92-97.
25. Lenders J. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma / J. Lenders, K. Pacak, M. Walther et al. // JAMA. — 2002. — № 287(11). — P. 1424-1424.
26. Yu R. False positive test results for pheochromocytoma from 2000 to 2008 / R. Yu, M. Wei // Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2010. — № 118. — P. 577-585.
27. Neary N. Drugs and pheochromocytoma — don't be fooled by every elevated metanephrine / N. Neary, K. King, K. Pacak // Engl J Med. — 2011. — № 364. — P. 2268-2270.

(Надійшла до редакції 02.07.2018 р.)

Solution of the clinical problem «Diagnostics of chromaffinoma» — possibilities of modern laboratory diagnostics

L. Lutsenko¹, A. Kvachenyuk²

¹Kyiv municipal clinical endocrinologic centre

²State institution «V. Komisarenko Institute of endocrinology and metabolism of NAMS of Ukraine»

Abstract. The importance of modern diagnosis of catecholamines hypersecretion is stipulated by the possible cardiovascular and cerebral diseases up to lethal outcome in case of the absence of treat-

ment; the development of nerve root syndrome with the increase of the size of tumor; the necessity of early detection of catecholamine-producing tumors within hereditary syndromes. The choice of the most precise and diagnostically meaningful laboratory test at the primary level of diagnosis allows verifying or excluding hypersecretion of catecholamines and choosing further way of patient examination.

Keywords: arterial hypertension, methoxamine, adrenal glands, pheochromocytoma.

Рішення клінічного завдання «Діагностика хромафіноми» — можливості сучасної лабораторної діагностики

Л.А. Луценко¹, А.М. Кваченюк²

¹Київський міський клінічний ендокринологічний центр

²ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Актуальність сучасної діагностики гіперпродукції катехоламінів зумовлена можливими серцево-судинними та церебральними катастрофами, аж до смертельного результату за відсутності лікування; розвитком компресійного синдрому за збільшення розмірів пухлини; необхідністю раннього виявлення катехоламінпродукуючих пухлин у межах спадкових синдромів. Вибір найбільш точного та діагностично значущого лабораторного тесту на первинному етапі діагностики дозволяє підтвердити або виключити гіперпродукцію катехоламінів та вибрати подальший шлях обстеження пацієнта.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, метоксiamiни, надниркові залози, феохромоцитома.

Олександр Сергійович Ларін

30 червня 2018 року раптово пішов із життя Олександр Сергійович Ларін – Заслужений лікар України, доктор медичних наук, професор, директор Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України.

Колектив ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» та редакція журналу «Ендокринологія» висловлюють глибокі співчуття родині, близьким і колегам з приводу передчасної смерті Ларіна О.С.

Микола Васильович Гульчий

21 серпня 2018 року раптово пішов із життя Микола Васильович Гульчий – Заслужений лікар України, доктор медичних наук, професор, головний лікар Київського міського клінічного ендокринологічного центру.

Колектив ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» та редакція журналу «Ендокринологія» висловлюють глибокі співчуття родині, близьким і колегам з приводу передчасної смерті Гульчия М.В.

Уважаемые читатели!

В предыдущем номере журнала («Ендокринологія» 2018, Т. 23, № 2) на стр. 195 допущена опечатка. В абзаце «Результаты изучения роли надпочечных желез в организме, их физиологии и патофизиологии, гормонов, механизмов их действия, регуляции секреции будут, безусловно, неполными без освещения исследований отечественных ученых – В.В. Подвысоцкого, А.В. Репрева, А.А. Богомольца, В.П. Комиссаренко, Н.Б. Медведевой, Н.А. Юдина, Е.А. Васюковой, В.Г. Баранова и др., что будет содержанием следующего сообщения.» вместо «Н.А. Юдина» следует читать «Н.А. Юдаева».

Редакция приносит свои извинения.