

Діагностика та радіонуклідне лікування тиреоїдного раку у хворих молодого віку

М.Д. Тронько,
С.В. Гулеватий*,
Т.К. Совенко,
С.І. Матящук,
В.В. Марков,
Ю.М. Божок,
Г.В. Зелінська

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

Резюме. У роботі наведені результати післяопераційної радіоїодтерапії та радіоїоддіагностики трьох груп обстежених: 1944 осіб молодого віку 1968-1986 рр. народження; 306 молодих людей, які народились після 1986 року; 550 дорослих людей, народжених до 1968 року. У третини пацієнтів кожної з вікових груп виявлені метастази в лімфатичні вузли шиї, у 191 хворого (6,8%) – віддалені метастази в легені. Проведене діагностичне сканування та повторні курси радіоїодтерапії дали змогу у 86-74,2% випадків досягти повної ремісії.

Ключові слова: щитоподібна залоза, рак, морфометрія, цитокератин-17, радіоїоддіагностика, радіоїодтерапія.

До аварії на Чорнобильській АЕС у дітей допубертатного віку карцинома щитоподібної залози (ЩЗ) зустрічалась рідко (1-2 випадки на мільйон жителів), а в підлітків, як правило, не перевищувала 4-6 випадків на мільйон жителів [1].

В післячорнобильський період із метою поліпшення діагностики та лікування ЩЗ в осіб, які на момент Чорнобильської катастрофи перебували в дитячому або підлітковому віці (1968-1986 роки народження), за наказами МОЗ України проводились щорічні медогляди з обов'язковим ультразвуковим обстеженням ЩЗ. Комплексний моніторинг у цьому напрямку був відображений у загальному наказі МОЗ, НАМН та МНС України №62/45 від 29.01.2010 року.

Із 2000 р. були започатковані Українсько-Американська та Білорусько-Американська наукові тиреоїдні програми з цілеспрямованого обстеження великих когорт молодих пацієнтів, які проживають на забруднених територіях України і яким в травні-червні 1986 р. було проведено радіометричне дослідження ЩЗ та була зафіксована розрахункова доза ^{131}I на ЩЗ [2].

Ультразвукові дослідження та тонкогілкова аспіраційна пункційна біопсія (ТАПБ) із наступним цитологічним та імуноцитохімічним аналізом є найважливішими способами диференційної діагностики новоутворень ЩЗ [3]. Практичним розділом об'єктивізації вузлової патології ЩЗ є ультразвукові дослідження.

Існують три групи основних категорій проспективних діагнозів ультразвукового дослідження: доброякісна, невизначена та злоякісна. Разом із тим, нами була встановлена переважна відповідність деяких ультразвукових моделей певним

* 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

Оригінальні дослідження

морфологічним типам новоутворень [4]. Так, згідно з доброякісними ультразвуковими моделями (I група), вузли ЩЗ оцінювалися нами як «вузловий зоб», «проста аденома», «аденоматозний вузловий зоб» та «гіперцелюлярна аденома»; згідно зі злякисними ультразвуковими моделями (III група) – як «папілярна карцинома», яка, у свою чергу, була розподілена на 4 види: «фолікулярний варіант», «солідний варіант», «типовий папілярний варіант» та «змішаної будови». Невизначену категорію (II група – «фолікулярні неоплазії») склали утворення, які відповідають окремим ультразвуковим моделям. Вузли правильної форми з наявністю «периферичної» кістозної порожнини також оцінювалися як невизначені.

У цитологічній діагностиці папілярних карцином найчастішою морфологічною ознакою малігнізації фолікулярного епітелію є поява так званих «псевдовключень цитоплазми в ядро», обумовлених порушеннями форми ядерної мембрани. Давно помічено, що ядра нормальних тиреоцитів мають більш-менш правильну кулеподібну або еліпсоїдну форму, тоді як ядра клітин папілярних карцином відрізняються «нерегулярною» поверхнею або асиметричною формою [5].

Сучасні методи комп'ютерного морфометричного аналізу цифрових зображень клітин дозволяють досягти бажаної об'єктивізації цитоморфологічних критеріїв малігнізації [6].

Нами розроблено два способи ефективного виділення площі ядер тиреоцитів для подальшого планіметричного аналізу. Розроблено два варіанти алгоритму такого виділення. Перший варіант включає в себе попереднє зменшення деталізації цифрових зображень розмиванням по Гаусу з наступним виділенням контуру ядра в програмі FastStone Image Viewer 4.0. Другий варіант – виділення площі ядра за допомогою опції «Threshold color» у програмі ImageJ.

Крім того, було розроблено алгоритм оцінки асиметрії ядер, що дозволяє відрізнити еліпсоїдні та круглі ядра клітин аденом та вузлових зобів від асиметричних ядер (ядер «нерегулярної форми») клітин папілярних карцином.

Комп'ютерний морфометричний аналіз клітин із пунктів тонкогілкових біопсій ЩЗ має певні переваги над імуноцитохімічними методами цитологічної діагностики. Він не вимагає особливого обладнання та дорогих реактивів, базується на використанні комп'ютерних програм, що вільно розповсюджуються, і може бути відносно легко переведений у напівавтоматичний режим [7].

Найбільш тяжким медичним наслідком Чор-

нобильської катастрофи стало значне збільшення захворюваності на рак ЩЗ у дитячому та підлітковому віці. Кількість випадків раку ЩЗ була прямо пропорційною ступеню радіоактивного забруднення територій північних областей України: Київської, Житомирської та Чернігівської. Подібна тенденція простежувалась і в Білорусії та в деяких областях Росії. Проведений порівняльний аналіз спорадичного раку ЩЗ нерадіаційного генезу (Франція, Німеччина) з раком ЩЗ у дітей та підлітків, які проживають на забруднених після аварії на ЧАЕС територіях, засвідчив, що найвища захворюваність на рак ЩЗ простежується серед жінок. Співвідношення хворих жінок і чоловіків коливається і становить: в Україні – 4:1; у Білорусії 3:1; у Росії – 2,8:1; у Франції – 2,5:1; в Англії – 2,8:1; у Німеччині – 2,5:1.

Важливою особливістю клінічних проявів раку ЩЗ у дитячому та підлітковому віці є підвищена агресивність протікання захворювання порівняно з дорослими через його екстратиреоїдну інвазивність (більше 40%). Це призводить до розширення регіонарного метастазування (від 45 до 90%), та до високої частоти віддаленого метастазування (16-26%) [8].

За даними Mazzeterrі E.L. (1997), Родичева А.А. та Дроздовського Б.Я. (2006), у 20-40% хворих на рак ЩЗ, яким була проведена тільки тиреоїдектомія без курсу радіоїодтерапії, продовжувався ріст пухлини, підвищувалась частота рецидивів із виникненням метастазів. Ми не змогли підібрати таку групу хворих, оскільки молоді люди після хірургічного лікування в першому півріччі проходять обов'язкову радіоїодтерапію.

Матеріали та методи

В Україні, на відміну від інших країн СНД, ще за радянських часів була організована мережа спеціалізованих радіологічних відділень для лікування відкритими джерелами випромінювання (Na^{131}I) (у Києві – 3 центри і по одному в Харкові, Дніпропетровську, Одесі, Симферополі, Львові).

У 2009 р. в Інституті ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка було відкрито спеціалізоване відділення радіонуклідної діагностики та терапії з блоком для лікування відкритими ізотопами ^{131}I на 10 ліжок. Раніше, з 1996 р., в інституті працювало 5-ліжкове радіологічне відділення, організоване проф. О.В. Епштейном.

Радіоїодтерапія проводиться згідно із загальноприйнятим Європейським протоколом з особливою умовою: якщо хворі в анамнезі підлягали

дії іонізуючого опромінення, всім їм без винятку призначали радіоіодабляцію. Початковою да-тою підготовки для прийняття лікувальних доз радіоактивного йоду є тотальна тиреоїдектомія. Близько 6 тижнів хворі не отримували тиреоїдні гормони, у них визначали рівень ТТГ у крові, про-водили УЗД операційного поля ший. Хворі повин-ні були суворо дотримуватися безйодної дієти. Курс абляційної радіоїодтерапії призначали про-тягом півроку після тиреоїдектомії.

Хворі отримують радіоактивний йод ^{131}I в дозі 80-100 мКи (абляційна доза), розрахованій на лік-відацію залишкової тканини ЩЗ (ЗТЩЗ) після тиреоїдектомії. Хворий перебуває в умовах закрит-тої спеціалізованої палати, яка забезпечена систе-мою сигналізації з відеонаглядом, автоматичним дозиметричним контролем та індивідуальною спецканалізацією. На 4-6 добу після прийому лікувальної дози ^{131}I на залишковій дозі про-водиться сцинтиграфія всього тіла (СВТ) з метою визначення залишкової тканини, можливих регіо-нарних метастазів у лімфатичні вузли ший та від-далених метастазів (у легені, кістки).

Через 5-6 місяців після першого курсу радіо-їодтерапії (абляційного) проводилась діагнос-тична СВТ при отриманні 5 мКи (200 МБк) ^{131}I . Хворий проходив таку ж підготовку, як і перед першим (абляційним) курсом ^{131}I (безйодна діє-та). Результати радіоїоддіагностики оцінювались залежно від хірургічного та патоморфологічного діагнозу згідно з класифікацією TNM. При цьому 67% прооперованих хворих відносились до групи «низького ризику» ($T_{1-2}N_0M_0$). Інші 33% входили в групу «високого ризику» ($T_{3-4}N_1M_{0-1}$) з можли-вими виявленими метастазами в регіонарні лім-фовузли і легені. Хворі з позитивною СВТ одразу ж отримували повторний курс радіоїодтерапії з підвищеною дозою ^{131}I (150-200 мКи). У подаль-шому на лікування хворих впливало визначення в крові рівня тиреоглобуліну (ТГ). Хворі із стиму-льованим $\text{TГ} > 2$ нг/мл спочатку проходили контр-оль ТГ, а потім їм призначали повторний курс радіоїодтерапії. Присутність залишкової ткани-ни та метастазів потребувала продовження курсу радіоїодтерапії через кожні 6 місяців до повно-го зникнення накопичення радіофармпрепарату (РФП) у тропних місцях організму. За відсут-ності накопичення ^{131}I кожні 6 місяців впродовж перших 2 років проводиться діагностична сцин-тиграфія. У подальшому планова діагностична сцинтиграфія проводилась через 12, 24, 48 міся-ців. Супресивну терапію тиреоїдними гормонами постійно призначали усім хворим на рак ЩЗ на

післяопераційному етапі під контролем рівня ТТГ у крові [1].

Результати та їх обговорення

Після тотальної тиреоїдектомії обстежено 2800 хворих на рак ЩЗ в умовах відділення радіону-клідної діагностики та терапії з блоком на 10 «ак-тивних» ліжок для лікування відкритими РФП.

Серед них було 680 чоловіків і 2120 жінок (1:3). Папілярний рак діагностовано у 2711 (96,9%), фо-лікулярний – у 89 (3,1%) хворих.

За віком було виділено три групи хворих:

I – хворі, які на момент аварії на Чорнобильській АЕС були дітьми та підлітками (1968-1986 рр. на-родження) – 1944 особи;

II – група хворих, народжених після 1986 року – 306 молодих людей;

III – група дорослих, які народились до 1968 року – 550 осіб.

Місце проживання хворих I групи на момент операції було наступним:

- Київ та Київська обл., Житомирська обл., Чер-нігівська обл., Черкаська обл. – 62,1%;
- Центр України – 9,7%;
- Східна частина України – 7,0%;
- Західна частина України – 8,6%;
- Південна частина України – 13,6%.

Більшість хворих проживали на забруднених територіях після аварії на Чорнобильській АЕС.

Результати радіоїоддіагностики (РІД) у хво-рих на рак ЩЗ після першої радіоїодтерапії (ра-діоабляції) і наступних радіоїоддіагностичних обстежень були наступними: в усіх хворих I, II та III груп лише ЗТЩЗ була виявлена у 2/3 хворих (60-63%), метастази в лімфатичні вузли ший були зафіксовані в 1/3 пацієнтів кожної із вікових груп (35,6-34,3%).

Віддалені метастази в легені були зафіксовані в 191 із 2800 обстежених пацієнтів, із них у 163 хворих I групи, у 11 – II групи, у 17 – III групи. Найбільша кількість хворих із віддаленими мета-стазами в легені, у лімфатичні вузли ший й загруд-нинно була відмічена в пацієнтів першої групи – 7,5%. У II групі ця комбінація локалізації мета-стазів спостерігалась у 5,2%, а в III – 6,1% хворих.

Проведене діагностичне сканування та повтор-ні курси радіоїодтерапії дали змогу отримати такі результати. ЗТЩЗ була ліквідована в 977 з 1178 (82,9%) хворих I групи. ЗТЩЗ та метастази в лім-фатичні вузли ший зникли в 479 з 557 (86%); ЗТЩЗ та метастази в легені були ліквідовані в 49 з 66 (74,2%) хворих; ЗТЩЗ та метастази в легені і лім-

Оригінальні дослідження

фатичні вузли ший зникли у 82 з 97 (84,5%) хворих.

У дітей, що народилися після аварії на ЧАЕС (II група), ЗТЩЗ була ліквідована в 154 з 186 (82,7%); у 83 з 104 (79,8%) хворих зникло накопичення ^{131}I у ЗТЩЗ і в метастази лімфатичних вузлів ший; у 4 з 7 – ЗТЩЗ і метастази в легені; у 5 з 6 – ЗТЩЗ і метастази в легені та лімфатичні вузли ший.

У дорослих хворих, що народилися до 1968 року, ЗТЩЗ була ліквідована у 285 з 344 (82,8%) пролікованих; у 155 з 189 (82%) – ЗТЩЗ та метастази в лімфатичні вузли ший; у 7 хворих з 10 – зникли ЗТЩЗ та метастази в легені, у 7 хворих із 8 не проявлялись ЗТЩЗ та метастази в легені і лімфатичні вузли ший.

Після проведення двох курсів радіоїодтерапії ЗТЩЗ зникла в 90% хворих. Наявність метастазів значно збільшує термін лікування, швидкість та якість якого залежать від ступеня розповсюдження та комбінації метастазів (Епштейн О.В. та співавт., 2006). Невиліковані хворі (378 чоловік) після перших курсів радіоїодтерапії продовжували наступні курси. Поодинокі хворі, в основному хворі з метастазами в легені, приймали до 5-6 курсів ^{131}I , яких виявилось достатньо для повноговилікування.

Нами обстежено 163 хворих, які мали легеневі метастази, вік яких на момент постановки діагнозу становив 7-36 років. Лікувальні активності ^{131}I розраховувались, виходячи з віку, ваги пацієнта та поширеності процесу. Дітям віком від 6 до 12 років призначали дозу 75-100 МБк на кілограм маси тіла, підліткам та молодим хворим розраховують максимальні активності від 3,7 до 7 ГБк.

Повна ремісія настала в 66% хворих (критерієм якої вважається відсутність гіперфіксації ізотопу при СВТ із ^{131}I , вміст ТГ < 2 нг/мл); неповна ремісія відмічена у 18% хворих (критерієм неповної ремісії вважається: відсутність накопичення ізотопу ^{131}I в легенях, відсутність динаміки росту ТГ, що свідчить про стабілізацію процесу). У 16% хворих (рівень ТГ > 2 нг/мл) було продовжено курс лікування. Сумарна лікувальна активність радіоактивного йоду, яка була необхідна для досягнення ремісії, становила 40 ГБк, і кількість лікувальних курсів радіоїодтерапії досягала 8-10. У 109 (54%) хворих із віддаленими метастазами вдалося досягти повної ремісії за 3-5 курси радіоїодтерапії, при сумарній активності від 10 до 25 ГБк.

Хворі з метастазами в легені повинні спостерігатися в спеціалізованій клініці протягом усього життя. Обстеження при досягненні повної ремісії або стабілізації процесу рекомендується проводити кожні 6-8 місяців.

Динамічне спостереження включає визначення рівнів ТТГ, T_3 , ТГ, АТТГ, Са, проведення загального аналізу крові, УЗД, консультації суміжних спеціалістів. Якщо при динамічному спостереженні за хворим відмічається підвищення рівня ТГ, планується повторне лікування радіоактивним йодом і сканування на залишкових активностях, тобто на 5-6 день після прийому ^{131}I в умовах стаціонару. Якщо діагностичні скінтиграфії з ^{131}I (активність 150-250 МБк) у таких хворих неінформативні, рекомендується провести КТ грудної порожнини, остеосцинтиграфію, ПЕТ (FDG).

Контрольні обстеження хворих із віддаленимивилікувальними метастазами протягом 20 років свідчать про виявлені клінічні рецидиви в 10 (6,1%) пацієнтів. Ці рецидиви виникли через 7-9 років, була відмічена динаміка росту рівня ТГ у крові і при СВТ після введення терапевтичної активності ^{131}I спостерігалось накопичення радіофармпрепарату в легенях. 10-річна виживаність хворих із віддаленими метастазами становила 98,7%.

У 72 пацієнтів (2,5%) виявлені регіонарні метастази, резистентні до радіоїоду.

З метою прогнозування радіоїодрезистентності метастазів папілярного раку ЩЗ ми запропонували нові методи з використанням імуноцитохімічних маркерів – цитокератину-17 та тиреоїдної пероксидази. Виявлення цитокератину-17 у пунктатах первинних папілярних карцином дозволяє прогнозувати появу радіоїодрезистентних метастазів. Якщо процент клітин, які містять цитокератин-17, перевищує 10%, із вірогідністю 70% можна прогнозувати появу радіоїодрезистентних метастазів папілярних карцином у пацієнта. Такі хворі потребують більш ретельного нагляду та додаткових досліджень навіть у випадку отримання йодонегативних сканів (ультразвукові, рентгенологічні та комп'ютерні дослідження) [9].

Імуноцитохімічне визначення тиреоїдної пероксидази в пунктатах метастазів папілярного раку, які виникли в післяопераційному періоді на тлі проведення радіоїодтерапії, використовується для прогнозування їх радіоїодрезистентності. При відсутності тиреоїдної пероксидази в пунктатах метастазу передбачають нездатність його клітин до накопичення радіоїоду, що свідчить про безперспективність лікування радіоїодом цього метастазу та доцільність його хірургічного видалення. Якщо більшість клітин пунктату містять тиреоїдну пероксидазу, прогнозують здатність метастазу до накопичення радіоїоду та доцільність подальшого лікування за допомогою РФП. Такі хворі потребують застосування заходів, спрямо-

ваних на штучну стимуляцію секреції ендогенного ТТГ або використання екзогенного ТТГ («тироген») перед проведенням діагностичних заходів або радіоїодтерапії [10,11].

Встановлено, що захоплення ^{131}I обумовлено плазмовими немембранними симпотерами, зокрема йодисто-натрієвим симпотером (NIS) [12,13].

Деякі закордонні дослідники пропонують вирішувати задачу діагностики йодонегативних метастазів за допомогою таких неспецифічних РФП, як $^{99\text{m}}\text{Te}$ -MIBI, ^{201}Tl -хлорид або $^{99\text{m}}\text{Te}$ -тетрафосмін, та виявлення йодонегативних метастазів за допомогою позитронно-емісійної томографії [14]. Вагому цінність у діагностиці йодонегативних метастазів та віддалених метастазів у легені дає застосування $^{99\text{m}}\text{Te}(\text{V})\text{DMSA}$ [15].

Як таргетний засіб використовують препарати літію – Літосан та Роаккутан, а також Розліт із підвищенням рівня кровотоку в пухлинних утвореннях шиї шляхом алкоголізації етанолом та наступним введенням радіоїоду. Представники харківської школи радіологів запропонували класифікацію йодонегативних (радіоїодрезистентних) тиреоїдних пухлинних осередків [16]. Проте ці питання потребують подальшого вирішення.

Висновки

1. Проведені курси радіоїодтерапії та комплексне лікування (хірургічне та супресивна гормонотерапія) дали змогу отримати позитивні результати у 86-74,2% людей молодого віку, хворих на рак щитоподібної залози.
2. З метою прогнозування радіоїодрезистентності метастазів папілярного раку щитоподібної залози запропоновано методи визначення імунцитохімічних маркерів – цитокератину-17 та тиреоїдної пероксидази.
3. Хворі з метастазами раку щитоподібної залози в легені повинні спостерігатися в спеціалізованій клініці протягом усього життя. При досягненні повної ремісії періодичність обстежень рекомендується кожні 6-8 місяців.

Список використаної літератури

1. Румянцев П.О., Ильин А.А., Румянцева У.В., Саенко В.А. Рак щитовидной железы: Современные подходы к диагностике и лечению. ГЭОТАР – Медиа, 2009. 448 с.
2. Тронько М.Д. Скринінгове обстеження – вірогідний метод оцінки впливу Чорнобильської катастрофи на стан щитовидної залози у дітей та підлітків України // Ендокринологія. 2006, 11, № 1, 80-91.

3. Эпштейн Е.В., Матяшук С.И., Божок Ю.М. и др. Рак щитовидной железы: диагностика и послеоперационное лечение // Эндокринология. 2006, 11, № 1, 109-118.
4. Эпштейн Е.В., Матяшук С.И. Ультразвуковое исследование щитовидной железы. Атлас-руководство. 2-е изд. К.: КВІЦ, 2004.
5. Artacho-Perulal E., Roldhn-Vllalobosl R., Blanco-Garc al F. et al. Objective differential classification of thyroid lesions by nuclear quantitative assessment // Histol. Histopathol. 1997, 12, 425-431.
6. Dina R., Capitanio A., Damiani S. A morphometric analysis of cytological features of tall cell variant and classical papillary carcinoma of the thyroid // Cytopathology. 2000, 11, Issue 2, 124-128.
7. Nikonenko A.G., Bozhok Yu.M. Patterns of papillary thyroid carcinoma cells analyzed in fine-needle aspiration smears may reveal changes in tumor cell behavior // Diagn. Cytopathol. 2012, 40, N F1, 55-61.
8. Богданова Т.І., Журнаджи Л.Ю. Морфологічна характеристика карцином щитовидної залози дітей і підлітків України, які постраждали внаслідок Чорнобильської катастрофи // Ендокринологія. 2006, 11, №1, 93-108.
9. Зелінська Г.В. Йодпероксидаза та цитокератин № 17 в доопераційній діагностиці папілярного раку щитовидної залози та визначенні резистентності його метастазів до радіоїоду. Дис. канд. біол. наук. К., 2007. 139 с.
10. Афанасєва Н.І., Луховицька Н.І. Роль визначення рівня тиреоглобуліну в діагностиці йодонегативних метастазів та рецидивів диференційованого тиреоїдного раку // УРЖ. 2007, № 2, 233-236.
11. Брежнев М.В., Баранов І.В., Солодяникова О.І. та ін. Досвід комплексного лікування диференційованого раку щитоподібної залози із застосуванням нових технологій // УРЖ. 2010, № 3, 276-278.
12. Cho J.Y. A transporter gene (sodium iodide symporter) for dual purposes in gene therapy: imaging and therapy // Curr. Gene Ther. 2002, 2, N 4, 393-402.
13. Воскобойник Л.Г. Механізми онкогенної активації у розвитку папілярних карцином щитовидної залози: автореф. дис. д-ра біол. наук. Київ, 2012.
14. Wu H.S., Huang W.S. et al. Compression of FDG-Pet and technetium – 99m MiBi SPECT to detect metastatic cervical lymph nodes in well-differentiated thyroid carcinoma with elevated serum HTG but negative I-131 whole body scan // Anticancer. Res. 2003, 23, N 56, 4235-4238.
15. Афанасєва Н.І., Луховицька Н.І., Паскевич З.І. Можливості радіонуклідної діагностики у виявленні йодонегативних метастазів та/або рецидивів диференційованого тиреоїдного раку // Матер. наук.-практ. конф. «Сучасні досягнення ядерної медицини». Київ, 2008, 16-19.
16. Афанасєва Н.І., Луховицька Н.І. Йодонегативні метастази та рецидиви тиреоїдного раку // Матер. наук.-практ. конф. «Сучасні досягнення ядерної медицини». Київ, 2008, 20-24.

Надійшла 20.02.2013

Диагностика и радионуклидное лечение тиреоидного рака у больных молодого возраста

**Н.Д. Тронько, С.В. Гулеватый, Т.К. Сovenko,
С.И. Матящук, В.В. Марков, Ю.М. Божок, А.В. Зелинская**

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

Резюме. В работе представлены результаты послеоперационной радиойодтерапии и радиойоддиагностики трех возрастных групп обследованных: 1944 лиц молодого возраста 1968-1986 гг. рождения; 306 молодых людей, которые родились после 1986 года; 550 взрослых, рожденных до 1968 года. У трети пациентов каждой из возрастных групп обнаружены метастазы рака в лимфатические узлы шеи, у 191 больного (6,8%) – отдаленные метастазы в легкие. Проведенное диагностическое сканирование и повторные курсы радиойодтерапии дали возможность в 86-74,2% случаев добиться полной ремиссии заболевания.

Ключевые слова: щитовидная железа, рак, морфометрия, цитокератин-17, радиойоддиагностика, радиойодтерапия.

Diagnostics and radionuclide therapy of thyroid cancer in young patients

**M.D. Tronko, S.V. Gulevaty, T.K. Sovenko,
S.I. Matyashchuk, V.V. Markov, Yu.M. Bozhok, G.V. Zelinska**

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

Summary. The authors present the results of postoperative radioiodine therapy and radioiodine diagnosis for three groups of subjects under study: 1944 young subjects born in 1968-1986; 306 patients born after 1986 and 550 adults born before 1968. One third of each of the age groups had metastases to neck lymph nodes; 191 patients (6.8%) had distant metastases to lungs. A diagnostic scanning and repeated courses of radioiodine therapy allowed to achieve a complete remission in 86.0-74.2% of cases.

Keywords: thyroid gland, cancer, morphometry, cytokeratin-17, radioiodine diagnostics, radioiodine therapy.

Стан обміну сечової кислоти та зміни рівня NAD^+ у тканинах щурів за умов інсулінорезистентного синдрому, індукованого фруктозою

Н.М. Гуріна^{1*},
А.А. Шупрович¹,
О.В. Корпачева-Зінич¹,
В.В. Ховака¹,
Ю.Т. Пентек²,
М.М. Гузик²,
К.О. Дякун²,
Т.М. Кучмеровська²

¹ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»;

²Інститут біохімії ім. О.В. Паладіна НАН України

Резюме. Гіперурикемія як прояв порушення пуринового обміну при інсулінорезистентному синдромі (ІРС) останнім часом вважається одночасно маркером ІРС і патогенетичним чинником, що призводить до розвитку дисфункцій ендотелію, порушення функції панкреатичних бета-клітин, нирок тощо. Сечова кислота (СК) – кінцевий продукт окислення пуринових сполук за участі ферменту ксантинооксидази. Оскільки акцептором електронів (кофактором) ксантинооксидази є окислений нікотинамідаденіндинуклеотид (NAD^+), можна припустити, що за умов нестачі цього похідного пуринів відбуватиметься передача електронів на кисень з утворенням вільних радикалів – чинників оксидативного стресу. При цьому можна очікувати зниження рівня NO, розблокування ксантинооксидази та компенсаторного зростання продукції СК, що виконує роль вловлювача вільних радикалів. Метою роботи було вивчення взаємозв'язків між розвитком гіперурикемії та вмістом NAD^+ у різних тканинах щурів за умов експериментального ІРС, індукованого фруктозною дієтою. Виявлено, що в щурів після 8 тижнів вживання 10% розчину фруктози в якості питної води розвиток інсулінорезистентності та гіперурикемії супроводжується зниженням рівня NAD^+ , яке є найвиразнішим у тканині печінки порівняно з нирками, серцем і мозком. Зниження рівня NAD^+ у печінці, як і підвищення концентрації СК у сироватці крові та зниження активності Na^+, K^+ -АТРази в синапсоматах мозку, виразніше в самців, тоді як самиці виявилися стійкішими до цих змін. Таким чином, підтверджено взаємозв'язок між зниженням вмісту NAD^+ у тканинах і розвитком гіперурикемії в щурів з експериментальним ІРС.
Ключові слова: експериментальний інсулінорезистентний синдром, фруктозна дієта, гіперурикемія, нікотинамідаденіндинуклеотид.

* 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

Оригінальні дослідження

У сучасному світі спостерігається дедалі зростаюче поширення серед населення різноманітних порушень обміну речовин, зокрема ожиріння, атеросклерозу і серцево-судинних захворювань (ССЗ), цукрового діабету, які називають «хворобами цивілізації». З'ясовано, що ці порушення є частиною більш загального комплексу метаболічних змін в організмі, патогенетичною основою яких є інсулінорезистентність, що викликає компенсаторну гіперінсулінемію та сукупність метаболічних зрушень, яку називають інсулінорезистентним синдромом (ІРС) [1-3].

Гіперурикемію (ГУ), як свідчать дані літератури, можна розглядати як один із маркерів і водночас патогенетичних чинників розвитку ІРС та ССЗ. Ця концепція підтверджується даними епідеміологічних проспективних досліджень, в яких виявлено взаємозв'язок підвищення рівня урикемії зі зростанням ризику розвитку ССЗ. У дослідженнях *in vitro* та в експериментах на тваринах показано, що ГУ може безпосередньо спричинити дисфункції ендотелію, що пов'язано з порушенням біодоступності NO, впливом на ренін-ангіотензинову систему, стимуляцією проліферації гладеньком'язових клітин ендотелію [4-6]. Більше того, показано, що ГУ є незалежним предиктором ожиріння та гіперінсулінемії, а також відіграє ключову роль у розвитку ІРС, індукованого фруктозою [7-9]. Ці дані обґрунтовують новітню концепцію про можливу патогенетичну роль сечової кислоти (СК) у розвитку ІРС та ІРС [7].

СК є кінцевим продуктом окислення пуринових сполук, яке відбувається за участі ферменту ксантинооксидази (ксантиндегідрогенази, ЕС 1.17.1.4). За фізіологічних умов цей фермент діє як дегідрогеназа та здійснює каталіз окислення гіпоксантину і ксантину. Кофактором даної реакції є окислений нікотинамідаденіндинуклеотид (NAD^+), що виконує функції акцептора електронів [10]. За умов гіпоксії ензим функціонує як оксидаза, використовуючи замість NAD^+ молекулярний кисень та генеруючи при цьому пероксид водню і супероксид. Показано, що ксантинооксидазна система бере участь у генерації супероксидних радикалів у мишей зі стрептозотоциновим діабетом [11].

За фізіологічних концентрацій СК є компонентом системи антиоксидантного захисту, оскільки вона здатна знешкоджувати вільні радикали, а також утворювати хелатні комплекси з вільним залізом [12,13]. Водночас, у супероксидгенеруючих системах СК набуває прооксидантних властивостей [14]. За умов гіпоксії утворення СК у ксантинооксидазній реакції супроводжується від-

повідним збільшенням генерації вільних радикалів; крім того, СК стимулює активність NADPH-оксидази [15]. Отже ГУ можна розглядати як стан підвищеного ризику оксидативного стресу.

Відомо, що в організмі існує фізіологічний регуляторний механізм, який забезпечує збільшення утворення СК як «захисної» сполуки з антиоксидантними властивостями [16]. Регуляція утворення СК за умов гіпоксії опосередкована змінами концентрації NO. Показано, що за нормальних умов NO інактивує ксантинооксидазу шляхом взаємодії як із флавіновою простетичною групою ензиму, так і з іоном молібдену в активному центрі [16]. За умов оксидативного стресу зниження рівня NO призводить до розблокування ксантинооксидази і збільшення продукції СК, яка нейтралізує вільні радикали. Цей регуляторний механізм ефективний лише доти, поки ксантинооксидаза не генерує супероксидні аніони, що може відбуватися за умов гіпоксії, коли в процесі утворення СК електрони переносяться на молекулярний кисень, а не на звичайний акцептор – NAD^+ . За цих умов ксантинооксидаза здатна посилювати оксидативний стрес [17,18]. Отже, за умов гіпоксії або зниження вмісту NAD^+ ксантинооксидаза може спричинити індукцію вільнорадикальних процесів і посилення оксидативного стресу [18]. У низці експериментальних робіт показана діабетогенна дія СК, що припускає її можливу участь у патогенезі цукрового діабету [19,20].

Таким чином, спостерігається двоякий характер біологічної дії СК, що дало підстави назвати її «дволиким Янусом біохімії» [21]. З одного боку, підвищений вміст СК є чинником ушкодження деяких типів клітин, які мають відносно низький антиоксидантний потенціал, зокрема, β -клітини підшлункової залози, а також вона викликає ушкодження ендотелію. З іншого боку, СК проявляє антиоксидантні властивості в системах, які не генерують супероксиди. Завдяки своїй хімічній структурі, урати можуть вловлювати вільні радикали, захищати протеїни та ліпіди від перекисного ушкодження та неферментативного глікозилювання. Всі ці якості та властивості СК тою або іншою мірою проявляються за умов порушення її обміну.

Враховуючи те, що NAD^+ є важливим енергетичним субстратом в організмі та одночасно кофактором ксантинооксидази, метою роботи було з'ясування питання щодо наявності взаємозв'язків між порушенням обміну СК та вмістом NAD^+ у різних тканинах щурів за умов експериментального ІРС, індукованого фруктозою дієтою.

Матеріали та методи

В експериментах використано 47 щурів (23 самця і 24 самиці) масою 170-200 г. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію. Щури дослідної групи (15 самців і 16 самиць) отримували 10% розчин фруктози в якості питної води протягом 8 тижнів. Щури контрольної групи (8 самців і 8 самиць) у той же термін споживали звичайну воду. На початку дослідження та через 8 тижнів у тварин проводили визначення маси тіла, показників вуглеводного обміну, чутливості до інсуліну, концентрації СК, тригліцеридів у сироватці крові. Щури контрольної групи підлягали тим же маніпуляціям, що і тварини дослідної групи (зважування, збір крові, збір сечі, навантажувальні тести). Сечу збирали протягом доби в спеціальних індивідуальних камерах.

Збір крові для дослідження у тварин здійснювали після 12-годинного голодування з ретробульбарного венозного синусу ока під легким ефірним наркозом. Кров центрифугували при 1000 g протягом 10 хв, відбирали сироватку і зберігали її при -20 °C для подальших досліджень. Знеживлення тварин здійснювали шляхом декапітації під ефірним наркозом. Дослідження проводились із дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей. У сироватці крові тварин, а також у сечі, зібраній протягом доби, визначали концентрацію СК (із використанням фосфорно-вольфрамового реактиву) та креатиніну (пикратним методом) за допомогою наборів «Філісіт-Діагностика» (Дніпропетровськ, Україна). За результатами визначення концентрації СК і креатиніну в сироватці крові натще і в добовій сечі обчислювали величини добової екскреції і кліренсу СК і креатиніну (мл/хв) згідно з формулою [22]:

$$\frac{U \times V}{P \times 1440},$$

де U – концентрація досліджуваної сполуки у сечі (ммоль/л); P – її концентрація в сироватці крові (ммоль/л); V – об'єм добової сечі (мл); 1440 – число хвилин у добі.

Для визначення вмісту NAD⁺ досліджуваних тканин (нирки, печінку, серце, мозок) заморожували в рідкому азоті, подрібнювали та осаджували протеїни 6% перхлорною кислотою (HClO₄) у співвідношенні тканини до об'єму кислоти 1:5, після чого екстракти нейтралізували 45% розчином КОН. Вміст метаболіту визначали в отриманих екстрактах, позбавлених протеїнів, за ме-

тодом, який базується на відновленні NAD⁺ за участі алкогольдегідрогенази (ЕС 1.1.1.1) з наступним вимірюванням поглинання розчину при 340 нм [30].

Синаптосоми головного мозку виділяли методом диференційного центрифугування в градієнті густини сахарози [31].

Метод визначення активності Na⁺,K⁺-АТРази базується на спектрофотометричному визначенні кінцевого продукту АТРазних реакцій – фосфату, після утворення ним забарвленого комплексу з молібдатом амонію [32]. Середовище інкубації для визначення сумарної активності Ca²⁺,Mg²⁺- та Na⁺,K⁺-АТРази, кінцевий об'єм якого становив 1 мл, містило: 30-50 мкг протеїну, 130 мМ NaCl, 20 мМ KCl, 3 мМ MgCl₂, 3 мМ АТР, 0,2 мМ ЕДТА, 30 мМ імідазолу, рН 7,4, а для визначення активності тільки Ca²⁺,Mg²⁺-АТРази, окрім цих складових, ще 10⁻⁴ М убаїну. Активність Na⁺,K⁺-АТРази (АТФ-фосфогідролаза, ЕС 3.6.1.3) визначали за різницею між сумарною активністю АТРази та активністю Ca²⁺, Mg²⁺-АТРази. Оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 660 нм.

Статистичне опрацювання отриманих даних проводили за допомогою стандартного пакета Microsoft Office Excel, 2003. Результати виражали як M±m. Вірогідність різниці показників між досліджуваними групами оцінювали з використанням критерію t Стьюдента, вважаючи достовірною різницю при p<0,05.

Результати та їх обговорення

Вивчення показників обміну СК здійснювали на моделі ІРС із використанням високофруктозної дієти, яка нині широко використовується для вивчення механізмів порушення обміну речовин за умов ІРС [23]. Суттєвою рисою даної моделі є значне підвищення концентрації СК у сироватці крові щурів, що зумовило її вибір для даних досліджень [24-26].

В експериментальних тварин після 8 тижнів вживання фруктози відмічено збільшення маси тіла, рівня глікемії натще (що не перевищує межі норми), порушення толерантності до глюкози і зниження інсуліночутливості, виразне підвищення концентрації тригліцеридів у сироватці крові, причому в самців ступінь всіх цих зрушень був більшим, ніж у самиць, що може бути пояснено захисним впливом естрогенів у самиць [27]. Отримані дані підтверджують, що використана експериментальна модель відповідає основним ознакам ІРС.

Оригінальні дослідження

Проведення комплексного аналізу показників, що характеризують стан обміну СК, продемонструвало суттєве підвищення концентрації СК у сироватці крові тварин дослідних груп через 8 тижнів вживання розчину фруктози. Разом із тим, у тварин контрольної групи не спостерігалось достовірних змін рівнів урикемії (табл. 1, 2).

Згідно з даними літератури, рівень урикемії вище за 178 мкмоль/л у самців щурів розцінюють як гіперурикемію [28], отже визначені нами показники повністю відповідають станові гіперурикемії. Концентрація СК у самиць як до початку досліду, так і через 8 тижнів прийому фруктози вірогідно нижча, ніж у самців (табл. 2).

Відомо, що індукований фруктозою ІРС характеризується порушеннями структури та функції нирок [23,29]. Ураження нирок посилюється за високих концентрацій СК у крові та сечі, тому зниження ниркової функції може супроводжувати ознаки ІРС у тварин.

В експериментальних тварин (самців і самиць) після вживання фруктози протягом 8 тижнів спостерігається незначне зростання рівня креатиніну в сироватці крові, що вказує на деяке погіршення

функції нирок у тварин. При цьому не виявлено помітних змін кліренсу креатиніну, тобто порушення фільтраційної функції нирок у щурів не виявлено.

У дослідних групах як у самців, так і в самиць було виявлено суттєве зниження кліренсу СК, незважаючи на відсутність зниження швидкості клубочкової фільтрації, що може бути причиною зростання концентрації СК у крові, найвірогідніше, за рахунок посилення процесів реабсорбції уратів у ниркових каналцях.

Дійсно, у самців і самиць дослідних груп виявлене вірогідне зниження ІЕУ – показника, що знаходиться у зворотному взаємозв'язку із реабсорбцією СК. Через 8 тижнів прийому фруктози у тварин дослідних груп обох статей зафіксовано суттєве зниження значення ІЕУ (табл. 1, 2), що свідчить про посилення реабсорбції (зниження елімінації) уратів у цих тварин.

Крім посилення реабсорбції СК у нирках причиною ГУ у тварин за високофруктозної дієти є збільшення продукції СК, яке може бути пов'язане з посиленням синтезу пуринів *de novo*. Показником продукції СК в організмі вважається величина добової екскреції СК. Даний показник

Таблиця 1. Показники обміну сечової кислоти і креатиніну в самців щурів з експериментальним ІРС, індукованим фруктозою

Показник	Контроль (n=8)		Дослід (n=15)	
	до дослідження	через 8 тижнів	до дослідження	через 8 тижнів
Сечова кислота сироватки крові, мкмоль/л	141,76±4,97	150,29±7,92	116,68±8,86	187,44±2,93*
Екскреція сечової кислоти, ммоль/добу	27,59±3,33	24,49±2,38	20,12±1,38	24,14±1,2*
Кліренс сечової кислоти, мл/хв	0,13±0,01	0,12±0,01	0,12±0,01	0,08±0,01*
Креатинін сироватки крові, мкмоль/л	89,02±2,12	89,48±1,98	84,34±1,33	97,50±3,08*
Кліренс креатиніну, мл/хв	0,70 ± 0,05	0,70 ± 0,05	0,61 ± 0,03	0,73 ± 0,05
Індекс елімінації уратів (ІЕУ), %	18,96±1,09	16,67±0,89	20,41±1,57	12,56±1,6*
Показник реутилізації пуринів (1/ГГФРТ)	0,28 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,28 ± 0,01	0,21±0,01*

Примітка: * – вірогідність різниці показників у тварин різних груп до дослідження порівняно з відповідними показниками через 8 тижнів (p<0,05).

Таблиця 2. Показники обміну сечової кислоти і креатиніну в самиць щурів з експериментальним ІРС, індукованим фруктозою

Показник	Контроль (n=8)		Дослід (n=16)	
	до дослідження	через 8 тижнів	до дослідження	через 8 тижнів
Сечова кислота сироватки крові, мкмоль/л	84,8±2,50 [#]	92,9±2,80 [#]	81,83±4,40 [#]	128,50±5,30* [#]
Екскреція сечової кислоти, ммоль/добу	13,36±1,86 [#]	11,81±1,46 [#]	15,10±0,69 [#]	14,43±0,94 [#]
Кліренс сечової кислоти, мл/хв.	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,01 [#]	0,14±0,01	0,07±0,01*
Креатинін сироватки крові, мкмоль/л	72,41±4,81 [#]	82,52±3,01 [#]	79,74±2,49 [#]	99,71±2,34*
Кліренс креатиніну, мл/хв.	0,47±0,06 [#]	0,38 ± 0,02 [#]	0,50±0,03 [#]	0,43 ± 0,02 [#]
Індекс елімінації уратів (ІЕУ), %	25,15±2,00 [#]	21,38±2,18	25,41±1,14 [#]	15,5±1,70* [#]
Показник реутилізації пуринів (1/ГГФРТ)	0,31 ± 0,03 [#]	0,26 ± 0,03	0,34±0,02 [#]	0,21±0,02*

Примітка: * – вірогідність різниці показників у тварин різних груп до дослідження порівняно з відповідними показниками через 8 тижнів (p<0,05); [#] – вірогідність різниці показників у самиць різних груп порівняно з відповідними показниками в самців аналогічної групи (p<0,05) (див. табл. 1).

Таблиця 3. Рівень NAD^+ у тканинах щурів з експериментальним IPC

Показник	NAD^+ , нмоль/г тканини			
	Самці		Самиці	
	Контроль (n=5)	Дослід (n=5)	Контроль (n=5)	Дослід (n=5)
Печінка	651±50	430±37*	684±49	554±38*
Нирка	334±28	214±16*	352±27	344±26
Серце	279±21	249±23*	398±35	351±31*
Мозок	227±14	224±18	236±19	225±19

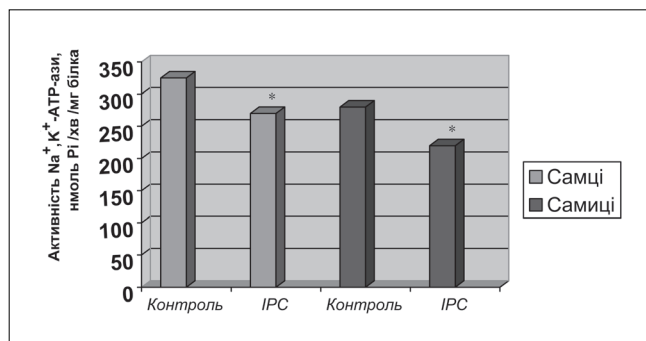
Примітка: * - вірогідність різниці показників між контрольною і дослідною групами тварин ($p < 0,05$).

вірогідно підвищився лише в самців дослідної групи і не змінився в самиць (табл. 1, 2), що відображає загальну тенденцію до більш виражених метаболічних порушень у самців під впливом високофруктозної дієти.

Нікотинамідні динуклеотиди, що містять у своєму складі пуринове похідне аденін, відіграють важливу роль в енергетичних процесах в організмі, зокрема беруть участь у функціонуванні NAD(P) -залежних дегідрогеназних систем, у продукції АТР. Крім того, досліджують їх некоферментні функції, а саме передачу сигнальної інформації [33], участь у репарації ДНК, підтримці кальцієвого гомеостазу та сигналіну Ca^{2+} [34], у регуляції генетичної активності [35].

При дослідженні рівня забезпеченості динуклеотидом досліджуваних тканин щурів було виявлено, що вміст NAD^+ у печінці дослідних тварин був знижений найбільш виразно порівняно з іншими органами, зокрема в самців на 34%, а в самок на 15% порівняно з контролем. Разом із тим за умов цукрового діабету, індукованого стрептозотоцином, мало місце значне зниження рівнів динуклеотиду в цих органах. За IPC зміни були не такі

Рисунок. Активність Na^+, K^+ -АТРази синапсом головного мозку самців і самиць щурів з експериментальним IPC (n=5) і в контрольних тварин (n=5). * - вірогідність різниці показників між контрольною і дослідною групами тварин



суттєві та залежали від статі тварин (табл. 3).

Відповідно до отриманих даних можна стверджувати, що рівень NAD^+ за умов IPC виразніше знижувався в самців, тоді як самиці виявилися більш стійкими до цих змін. Більше того, нами було виявлено, що рівень NAD^+ у мозку тварин за IPC не змінювався у тварин обох статей, водночас печінка

тварин виявилася найбільш уразливою за цих умов.

Окрім виявлених за допомогою цієї моделі метаболічних порушень (підвищення рівня глікемії та СК, зменшення інсуліночутливості та зниження рівнів NAD^+), спостерігалось зниження активності Na^+, K^+ -АТРази в синапсах мозку, причому як у самців, так і в самиць активність ензиму знижувалася практично однаковою мірою – на 19% та на 21%, відповідно (рисунок). Зниження активності Na^+, K^+ -АТРази може бути обумовлено змінами властивостей клітинних мембран, які відбуваються внаслідок їх оксидативного ушкодження.

Відомо, що печінка є основною тканиною, в якій відбувається синтез і катаболізм пуринів. За умов нестачі енергетичних носіїв (NAD^+ та АТР) більш імовірним є не посилення процесів синтезу пуринів *de novo* (які потребують великих витрат АТР), а збільшення їх катаболізму, що призводить до зростання активності ксантиноксидази та утворення продукту деградації пуринів – СК. Це підтверджується отриманими нами раніше даними щодо збільшення в щурів з IPC активності ензимів, які здійснюють розпад пуринів на ранніх стадіях – аденозіндезамінази і 5'-нуклеотидази [27].

Виявлений у дослідних тварин дефіцит NAD^+ – пуриновмісного динуклеотиду, який бере участь у ксантиноксидазній реакції в якості кофактора (акцептора електронів) – може призвести до того, що ензим буде використовувати замість NAD^+ молекулярний кисень, генеруючи при цьому пероксиди. За цих умов можна очікувати зниження рівня NO, що у свою чергу викликає підвищення активності ксантиноксидази. Це сприяє необоротному окисленню пуринів з утворенням СК, розвитку гіперурикемії, оксидативного стресу і пов'язаних із ним порушень при IPC.

У цілому, експериментальна модель індукованого фруктозою IPC придатна для дослідження метаболічних та функціональних порушень за умов розвитку інсулінорезистентності та може характеризувати ранні прояви розвитку діабету 2 типу.

Висновки

1. У щурів з експериментальним ІРС, індукованим фруктозою, розвиток гіперурикемії, інсулінорезистентності та інших метаболічних порушень супроводжується зниженням рівня кофактора ксантиноксидази NAD^+ , яке особливо виражене в тканині печінки порівняно з нирками, серцем і мозком.
2. Виявлене в щурів незначне гальмування Na^+ , K^+ -АТРази нервових закінчень головного мозку свідчить про те, що за умов ІРС відбуваються сполучені зміни пасивного та активного транспорту катіонів.
3. Зниження рівня NAD^+ у печінці, як і підвищення концентрації СК у сироватці крові, більше виражене в самців, у той час як самиці виявилися стійкішими щодо розвитку цих порушень за умов експериментального ІРС у щурів.

Список використаної літератури

1. Reaven G.M. Role of insulin resistance in human disease // *Diabetes*. 1988, 37, N 12, 1595-1607.
2. Ford E.S. Risk for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence // *Diabetes Care*. 2005, 28, 1769-1778.
3. Kahn R., Buse J., Ferranini E. et al. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association for the study of Diabetes // *Diabetes Care*. 2005, 28, 2289-2304.
4. Bonora E., Bonadonna R. Hyperinsulinemia and insulin resistance are independently associated with plasma lipids, uric acid and blood pressure in nondiabetic subjects // *Diabetol*. 2002, 38th EASD Congr. PS567, A184.
5. Shinozaki K., Ayajiki K., Nishio Y. et al. Evidence for a causal role of the renin-angiotensin system in vascular dysfunction associated with insulin resistance // *Hypertension*. 2004, 43, 255-262.
6. Toma I., Kang J.J., Meer E. et al. Uric acid triggers renin release via a macula densa-dependent pathway // *J. Am. Soc. Nephrol*. 2007, 18, 156A.
7. Nagahama K., Inoue T., Iseki K. et al. Hyperuricemia as a predictor of hypertension in a screened cohort in Okinawa, Japan // *Hypertens. Res*. 2004, 27, 835-841.
8. Nakagawa T., Mazzali M., Kang D.H. et al. Hyperuricemia causes glomerular hypertrophy in the rat // *Am. J. Nephrol*. 2003, 23, 2-7.
9. Puig J.G., Ruilope L.M. Uric acid as a cardiovascular risk factor in arterial hypertension // *J. Hypertens*. 1999, 17, 869-872.
10. Pristos C.A. Cellular distribution, metabolism and regulation of xantine oxidoreductase enzyme system // *Chem. Biol. Interact*. 2000, 129, N 1, 195-208.
11. Matsumoto S., Koshiishi I., Inoguchi T. et al. Confirmation of superoxide generation via xantine oxidase in streptosotocin-induced diabetic mice // *Free Radic. Res*. 2003, 37, N 7, 767-772.
12. Demirbag R., Yilmaz R., Erel O. The association of total antioxidant capacity with sex hormones // *Scand. Cardiovasc J*. 2005, 39, 172-176.
13. Patterson R.A., Horsley E.T., Leake D.S. et al. Prooxidant and antioxidant properties of human serum ultrafiltrates toward LDL: Important role of uric acid // *J. Lipid. Res*. 2003, 44, 512-521.
14. Hayden M.R., Tyagi S.C. Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle // *Nutr. Metab. (Lond)*. 2004, 1, 10-308.
15. Kuzkaya N., Weissmann N., Harrison D. et al. Interactions of peroxynitrite with uric acid in the presence of ascorbate and thiols: implications for uncoupling endothelial nitric oxide synthase // *Biochem. Pharm*. 2005, 70, 343-354.
16. Lee C., Liu X., Zweier J.L. Regulation of xanthine oxidase by nitric oxide and peroxynitrite // *J. Biol. Chem*. 2000, 275, 9369-9376.
17. Rumberger J.M., Peters T., Burrington C. et al. Transferrin and iron contribute to the lipolytic effect of serum in isolated adipocytes // *Diabetes*. 2004, 53, 2535-2541.
18. Zharikov S., Krotova K., Hu H. et al. Uric acid decreases NO production and increases arginase activity in cultured pulmonary artery endothelial cells // *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2008, 295, 1183-1190.
19. Ильина И.М., Левченко Т.П., Гончарова О.А. и др. Предположение о существовании подтипа сахарного диабета 1 типа, связанного с конституциональным уратным дисметаболизмом // *Пробл. эндокр. патол*. 2004, № 4, 8-11.
20. Mancini A., Leone E., Festa R. et al. Effects of testosterone on antioxidant systems in male secondary hypogonadism // *J. Androl*. 2008, 29, N 6, 838-895.
21. Галунска Б., Паскалев Д., Янкова Т. и др. Двухликий янус биохимии: мочевая кислота - оксидант или антиоксидант? // *Нефрология*. 2004, 8, № 4, 25-31.
22. Руководство по клинической лабораторной диагностике / под ред. Меньшикова В.В. – Москва: Медицина, 1982. 576 с.
23. Sanchez-Lozada L., Tapia E., Jimenez A. et al. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats // *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. 2006, 292, F423-F429.
24. Tan H.W., Xing S.S., Bi X.P. et al. Felodipine attenuates vascular inflammation in a fructose-induced rat model of metabolic syndrome via the inhibition of NF-kappaB activation // *Acta Pharmacol. Sin*. 2008, 29, N 9, 1051-1059.
25. Galipeau D., Verma S., McNeill J. Female rats are protected against fructose-induced changes in metabolism and blood pressure // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol*. 2002, 283, N 6, H2478-H2484.
26. Song D., Arikawa E., Galipeau D. et al. Androgens are necessary for the development of fructose-induced hypertension // *Hypertension*. 2004, 43, 667-672.
27. Шупрович А.А., Гуріна Н.М., Корпачева-Зіннич О.В. Порушення обміну сечової кислоти у щурів з експериментальним інсулінорезистентним синдромом, індукованим фруктозою // *Фізіол. журн*. 2011, 57, № 1, С. 72-81.
28. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Западнюк П.В. и др. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. К.: Высшая школа, 1983. 384 с.
29. Masuo K., Kawaguchi H., Mikami H. et al. Serum uric acid and plasma norepinephrine concentrations predict subsequent weight gain and blood pressure elevation // *Hypertension*. 2003, 42, 474-480.
30. *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer H.-U. (ed). New York, London: Verlag Chemie, 1963. 1064 p.
31. Abita J.P., Chicheportiche R., Schweits H., Lasdunski M. Effects of neurotoxins (veratridine, sea anemone toxin) on transmitter accumulation and release by nerve terminals in vivo // *Biochemistry*. 1977, 16, N 9, 1838-1864.
32. Rathbun W.B., Betlach M.V. Estimation of enzymatically produced orthophosphate in the presence of cysteine and adenos-

- ine triphosphate // *Anal. Biochem.* 1969, 28, N 1-3, 436-445.
33. Klaidman L., Yang J., Chang M.L., Adams J.D. Nicotinamide offers multiple protective mechanisms in stroke as a precursor for NAD⁺, as a PARP inhibitor and by partial restoration of mitochondrial function // *Pharmacology.* 2003, 69, N 3, 150-157.
34. Ziegler M. A vital link between energy and signal transduction regulatory functions of NAD(P) // *FEBS J.* 2005, 272, 4561-4564.
35. Denu J. Linking chromatin function with metabolic networks: Sir2 family of NAD (+)-dependent deacetylases // *Trends in Biochem. Sciences.* 2003, 28, 41-48.

Надійшла 11.10.2012

Состояние обмена мочевой кислоты и изменения уровня NAD⁺ в разных тканях крыс при инсулинорезистентном синдроме, индуцированном фруктозой

Н.М. Гурина¹, А.А. Шупрович¹, Л.В. Корпачева-Зинич¹, В.В. Ховака¹, Ю.Т. Пентек², М.М. Гузик², К.О. Дякун², Т.М. Кучмеровская²

¹ ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»;

² Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины

Резюме. Гиперурикемия как проявление нарушения пуринового обмена при инсулинорезистентном синдроме (ИРС) в последнее время считается одновременно маркером ИРС и патогенетическим фактором, ведущим к развитию дисфункции эндотелия, нарушению функции панкреатических бета-клеток, почек и др. Мочевая кислота (МК) является конечным продуктом окисления пуриновых соединений при участии фермента ксантиноксидазы. Поскольку акцептором электронов (кофактором оксидазы) является окисленный никотинамидениндинуклеотид (NAD⁺), можно предположить, что при недостатке этого пуринового производного будет происходить передача электронов на кислород с образованием свободных радикалов – факторов оксидативного стресса. При этом можно ожидать компенсаторного увеличения продукции МК, являющейся ловушкой свободных радикалов в сыворотке крови. Целью работы было изучение взаимосвязей между нарушением обмена МК и содержанием NAD⁺ в разных тканях крыс в условиях экспериментального ИРС, индуцированного фруктозой. Выявлено, что у крыс после 8 недель потребления 10% раствора фруктозы в качестве питьевой воды развитие инсулинорезистентности и гиперурикемии сопровождалось снижением уровня NAD⁺, которое особенно выражено в ткани печени по сравнению с почками, сердцем и мозгом. Снижение уровня NAD⁺ в печени, как и повышение концентрации МК в сыворотке крови, а также снижение активности Na⁺,K⁺-АТФазы

в синапсоммах мозга более выражено у самцов, в то время как самки оказались более устойчивыми к этим изменениям. Таким образом, на модели ИРС у крыс подтверждена взаимосвязь между снижением содержания NAD⁺ в тканях и развитием гиперурикемии в условиях экспериментального ИРС.

Ключевые слова: экспериментальный инсулинорезистентный синдром, фруктозная диета, гиперурикемия, никотинамидениндинуклеотид.

State of uric acid metabolism and changes of NAD⁺ level in different tissues of rats under insulin resistance syndrome induced by fructose

N.M. Gurina¹, A.A. Shuprovich¹, O.V. Korpacheva-Zinych¹, V.V. Khovaka¹, Yu.T. Pentek², M.M. Guzyk², K.O. Diakun², T.M. Kuchmerovska²

¹State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism Natl Acad. Med. Sci. of Ukraine";

²A.V. Palladin Institute of Biochemistry, Natl Acad. Sci. of Ukraine

Summary. Hyperuricemia, as a manifestation of a disorder of purine metabolism in insulin-resistance syndrome (IRS), is considered both a marker of IRS and a pathogenetic factor that promotes development of endothelial dysfunctions, a disturbances of pancreatic beta cells, kidney etc. functions. Uric acid (UA) is the end product of purine compounds oxidation by xantine oxidase. Since the acceptor of electrons (cofactor of xantine oxidase) is NAD⁺, it can be assumed that deficiency in this purine derivate will lead to a transfer of electrons to oxygen with formation of free radicals – the factors of oxidative stress. The purpose of the work was to study the interactions between UA dysmetabolism and NAD⁺ content (as energy substrate and coenzyme of xantinoxidase) in various tissues of rats with experimental IRS induced by fructose diet. It is shown that in rats, after 8 weeks of 10% fructose solution using drinking water, development of insulin resistance and hyperuricemia was accompanied by a decrease in NAD⁺ level, being especially expressed in the liver compared to kidneys, heart and brain. Moreover, a decline in NAD⁺ in the liver and an increased UA serum concentration, as well as a reduction in Na⁺,K⁺-ATPase activity in brain synaptosomes, were more expressed in males, while females were more resistant to changes in energy processes and to an increased uricemia in experimental IRS.

Keywords: experimental insulin resistance syndrome, hyperuricemia, fructose diet, NAD.

Гіпоадипонектинемія у хворих на цукровий діабет 2 типу з неалкогольною жировою хворобою печінки

Г.П. Михальчишин*,
П.М. Боднар,
Н.М. Кобиляк

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Резюме. Актуальність. Адипонектин – гормон жирової тканини, який бере участь у регуляції катаболізму жирних кислот, чутливості до інсуліну, рівня глюкози в крові та інших процесів. Його рівень у плазмі крові достовірно знижений при вісцеральному ожирінні та патологічних станах, для яких характерна інсулінорезистентність. Метою нашого дослідження було оцінити зміни сироваткового рівня адипонектину, його діагностичну цінність та асоціативні взаємозв'язки в пацієнтів із цукровим діабетом (ЦД) 2 типу та неалкогольною жировою хворобою печінки (НАЖХП) залежно від рівня трансаміназ.

Матеріали та методи. У дослідження включено 91 хворого на ЦД 2 типу. НАЖХП діагностували за допомогою УЗД печінки. Всі пацієнти були розділені на 3 групи. Контрольну групу склали 28 пацієнтів із ЦД 2 типу без НАЖХП. В основну групу увійшли хворі на НАЖХП із нормальним ($n=37$) або підвищеним ($n=26$) рівнем трансаміназ. Для оцінки діагностичної ефективності визначення адипонектину використовували ROC-аналіз. Множинний логістичний регресійний аналіз був використаний для виявлення факторів, які асоційовані з НАЖХП.

Результати. Рівень адипонектину сироватки був достовірно нижчим у групі хворих із НАЖХП та підвищеним рівнем трансаміназ порівняно з хворими з нормальними їх значеннями та контрольною групою (відповідно $2,74 \pm 1,43$, $3,81 \pm 1,79$ і $6,2 \pm 2,04$ мкг/мл, $p=0,001$). В одновимірній логістичній регресії адипонектин проявляв протекторний ефект відносно розвитку НАЖХП ($OR=0,451$, 95%ДІ 0,317-0,641, $p<0,001$). Згідно з даними по-крокової множинної логістичної регресії, гіпоадипонектинемія асоційована з НАЖХП незалежно від НОМА-IR ($R^2=0,528$) та активності АЛТ ($R^2=0,563$). Для виявлення НАЖХП у хворих на ЦД 2 типу визначення адипонектину продемонструвало дуже добру якість діагностичної моделі, оскільки AUROC становила 0,871 (95% ДІ 0,795-0,946; $p<0,001$). Порогове значення визначено на рівні $<4,6$ мкг/мл із чутливістю, специфічністю, PPV та NPV відповідно 79,4%, 82,1%, 90,9% і 63,9%. Для розмежування хворих на НАЖХП із підвищеним рівнем трансаміназ та пацієнтів з їх нормальним значенням AUROC для адипонектину дорівнювала 0,670 (95% ДІ 0,534-0,807; $p=0,022$). Порогове значення адипонектинемії, нижче якого констатувалось підвищення рівня трансаміназ у хворих на НАЖХП, становило $<3,1$ мкг/мл, із чутливістю, специфічністю, PPV та NPV відповідно 61,5%, 59,5%, 51,6% і 68,6%.

Висновки. Наше дослідження продемонструвало, що гіпоадипонектинемія незалежно від IP і рівня трансаміназ, асоційована з НАЖХП. У хворих із підвищенням трансаміназ відзначалось достовірно нижчий рівень адипонектину в сироватці крові. Зниження адипонектину нижче 4,6 мкг/мл можна використовувати в якості діагностичного маркера НАЖХП у хворих на ЦД 2 типу.

Ключові слова: адипонектин, цукровий діабет 2 типу, неалкогольна жирова хвороба печінки.

* адреса для листування (Correspondence): Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, бул. Шевченка, 13, м. Київ, 01601, Україна; e-mail: zdovado@ukr.net

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) є неспецифічним хронічним ускладненням цукрового діабету (ЦД) 2 типу. Вона є визнаним клінічним маркером інсулінорезистентності (ІР), підвищує ризик виникнення серцево-судинних захворювань [1-3]. Визначна роль у розвитку НАЖХП належить гормону жирової тканини – адипонектину.

Адипонектин – колагеноподібний білковий гормон масою 30 кДа, що складається із 244 амінокислотних залишків, які формують 4 домени: N-кінцевий сигнальний, гіперваріабельний, колагеноподібний та C-кінцевий глобулярний домен [4]. Він секретується у вигляді трьох олігомерних комплексів: низькомолекулярного тримеру – LMW-форма (low molecular weight), гексамеру – MMW-форма (medium molecular weight) і високомолекулярних 12- та 18-мерів – HMW-форма (high molecular weight) [5]. Мономерів адипонектину в крові не виявлено, що свідчить про те, що полімеризація білка відбувається всередині адипоцита.

Адипонектин експресується, головним чином, у жировій тканині, бере участь у регуляції катаболізму жирних кислот, чутливості до інсуліну, рівня глюкози в крові та інших процесах [4]. Його рівень у плазмі достовірно знижений при вісцеральному ожирінні, ІР/ЦД2, НАЖХП, атеросклерозі [6].

Всі олігомерні форми адипонектину відрізняються за біологічними властивостями та активують різні сигнальні шляхи. На думку одних вчених, олігомер HMW є основною активною формою гормону [7], інші вирішальне значення у визначенні чутливості до інсуліну периферичних тканин надають співвідношенню HMW/LMW форм у плазмі крові, а не їх абсолютній кількості [8].

LMW-форма адипонектину безпосередньо впливає на гіпоталамус, обумовлюючи центральний ефект гормону. Збільшення його концентрації в цереброспінальній рідині в мишей призвело до підвищеного споживання їжі, зниження фізичної активності та ожиріння [9]. Вважається, що HMW-форма через свій великий розмір не здатна подолати гематоенцефалічний бар'єр [10].

Адипонектин кодується геном APM1, який розташований в 3q27 хромосомному регіоні. Даний регіон ідентифікований як локус, який асоційований із розвитком ЦД 2 типу та метаболічного синдрому, а ген APM1 виступає в ролі гена-кандидата. Декілька SNP (Single-nucleotide polymorphisms) у промоторі гена APM1 асоційовані з ризиком розвитку ЦД 2 типу в японській популяції та в осіб європеїдної раси [11-13].

Дві групи вчених незалежно одна від одної

досліджували наслідки делеції гена APM1 на чутливість до інсуліну [14]. Групи Kadowaki та Matsuzawa виявили, що в мишей із нокаутованим геном адипонектину спостерігається ІР, хоча в ході експерименту у двох груп були деякі незначні відмінності. Kadowaki показав, що в мишей із генотипом адипонектин^{+/-} розвивається ІР та порушення толерантності до глюкози на стандартній дієті, які прогресують у мишей адипонектин^{-/-} дозозалежним чином [14]. Група Matsuzawa спостерігала виражену ІР у поєднанні з дефектами в пострецепторній передачі інсулінового сигналу тільки після вигодовування мишей із нокаутованим геном адипонектину (-/-) дієтою з високим вмістом жирів [15].

Основні метаболічні ефекти адипонектину обумовлені активацією АМРК (АМФ-активована протеїнкіназа) та ядерних рецепторів PPAR. АМРК є сенсором енергетичного статусу клітини і відіграє ключову роль у забезпеченні системного енергетичного балансу за рахунок регулювання прийому їжі, маси тіла, метаболізму глюкози та ліпідів. Олігомерні форми адипонектину стимулюють фосфорилування та активацію АМРК у печінці, тоді як глобулярний адипонектин проявляє даний ефект як у скелетних м'язах, так і в тканині печінки. Активація АМРК збільшує продукцію енергії (споживання глюкози і жирних кислот) та інгібує енерговитратні реакції (глюкогенез і синтез жирних кислот) [16].

Scherer вивів лінію трансгенних мишей із 3-х кратним підвищенням рівня адипонектину в сироватці крові. Для даної моделі гіперадипонектинемії характерне підвищення чутливості периферичних тканин до інсуліну за рахунок покращання вуглеводного та ліпідного метаболізму, пов'язаного з підвищенням активації АМРК у печінці і експресії PPAR-γ у вісцеральній жировій тканині. Дані тварини стійкі до розвитку ІР, індукованої прийомом дієти з високим вмістом жирів [17].

Імунологічні ефекти адипонектину обумовлені пригніченням синтезу прозапальних та активацією протизапальних цитокінів. Глобулярний адипонектин пригнічує TLR4-стимульовану (Toll-like receptor 4) активацію ядерного фактора NF-κB, який стимулює транскрипцію багатьох прозапальних генів, що кодують адипоцитокіни, цитокіни (ІЛ-6, TNF-α, ІЛ-8, ІЛ-1β) та хемокіни (CCL2, CCL5, CCL11) [18]. Терапія рекомбінантним адипонектином культури макрофагів значно пригнічує їх фагоцитарну активність і синтез TNF-α у відповідь на стимуляцію ліпополісахаридом (ЛПС) [19]. Адипонектин стимулює

синтез важливих прозапальних цитокінів, таких як ІЛ-10 та ІЛ-1RA (антагоніст рецептора ІЛ-1) у моноцитах, макрофагах, дендритних клітинах, а також пригнічує утворення інтерферону- γ (IFN γ) у ЛПС-стимульованих макрофагах [20].

Матеріали та методи

Дослідження проводилось на базі Київського міського клінічного ендокринологічного центру. Критеріями включення хворих були вік старше 18 років, згода хворого на дослідження, наявність ЦД 2 типу з або без НАЖХП.

Діагноз НАЖХП виставляли згідно з рекомендаціями Американської гастроентерологічної асоціації (AGA) та Американської асоціації з вивчення захворювань печінки (AASLD) [21] на основі клінічного аналізу захворювання, показників ліпідного та вуглеводного обміну, активності АЛТ, АСТ, співвідношення АСТ/АЛТ та ехографічного обстеження.

Усі хворі, які брали участь у дослідженні, не зловживали алкоголем, не мали ознак хронічного вірусного гепатиту, асоційованого з HBV-, HCV-, HDV-інфекціями; автоімунного і медикаментозного гепатитів. До групи обстеження не включали пацієнтів із хворобою Коновалова-Вільсона, ідіопатичним гемохроматозом, вродженою недостатністю 1-антитрипсину.

Під нашим спостереженням знаходився 91 хворий. Контрольну групу склали 28 (30,76%) хворих на ЦД 2 типу без НАЖХП, середній вік хворих склав $53,57 \pm 7,16$, тривалість ЦД – $3,5 \pm 1,57$ роки. Основну групу склали 63 (69,24%) хворих на ЦД 2 типу з наявністю НАЖХП, яких залежно від рівня трансаміназ було розподілено на 2 підгрупи. До першої підгрупи увійшли 37 (58,73%) хворих із НАЖХП та нормальним рівнем трансаміназ, середній вік хворих $53,27 \pm 8,39$ років, тривалість ЦД – $5,97 \pm 3,88$ років. До другої підгрупи увійшли 26 (41,27%) хворих із НАЖХП та підвищеним рівнем печінкових ферментів, середній вік пацієнтів цієї групи – $51,5 \pm 10,92$ роки, тривалість ЦД – $8,54 \pm 5,57$ років.

Усім хворим визначали рівень загального холестерину (ЗХС), холестерину ліпопротеїдів дуже низької щільності (ХС ЛПДНЩ) і тригліцеридів (ТГ). Вміст холестерину в складі ліпопротеїдів низької щільності (ХС ЛПНЩ) обчислювали за формулою W.T. Friedewald:

$$\text{ХС ЛПНЩ} = \text{ЗХС} - (\text{ХС ЛПВЩ} + \text{ТГ} / 2,22).$$

Концентрацію холестерину в складі ліпопротеїдів дуже низької щільності (ХС ЛПДНЩ) визначали за значенням співвідношення ТГ/2,22.

Оцінка рівня ІР проводилась за допомогою структурної математичної моделі на основі визначення концентрації глюкози плазми та інсуліну натще – НОМА (homeostasis model assesment), з визначенням індексу НОМА-ІР за формулою:

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

Концентрацію адипонектину визначали імуноферментним методом із використанням комерційних тест-систем «BioVendor» (Чехія) і оцінювали її в мкг/мл.

Статистичний аналіз виконували за допомогою стандартного пакету програм SPSS версії 20.0 та Microsoft Excel. Кількісні зміни представлені у вигляді середньої величини та стандартного відхилення середньої величини ($M \pm SD$), якісні – у %. Для перевірки гіпотези про нормальний розподіл використовували одновибірковий тест Колмогорова-Смірнова. Для оцінки відмінності кількісних показників використовували однофакторний дисперсійний аналіз (One-Way ANOVA). Для оцінки вірогідності різниці рівня адипонектину між різними групами використовували апостеріорний критерій найменшої достовірної різниці (Posthoc LSD test). При аналізі якісних змінних застосовували критерій χ^2 .

Множинний логістичний регресійний аналіз був використаний для виявлення факторів, які асоційовані з НАЖХП, приймаючи наявність НАЖХП в якості залежної змінної, адипонектину, ІМТ, НОМА-ІР, ТГ та рівнів трансаміназ і інсуліну – як предикторів. Рівень значущості вважали достовірним при $p < 0,05$.

Для визначення діагностичної ефективності адипонектину використовували ROC-аналіз, розраховуючи площу під ROC-кривою (AUROC), за значенням якої визначали якість діагностичної моделі. Використовуючи оптимальні порогові значення адипонектину для діагностики НАЖХП, розраховували чутливість, специфічність, позитивну (PPV) та негативну прогностичну цінність (NPV). Оптимальні порогові значення були вибрані для максимальної суми чутливості і специфічності при ROC-аналізі.

Результати та їх обговорення

Дані обстеження представлені в **табл. 1**. Групи хворих, включені в дослідження, були однотипними за віком та статтю. Між обстежуваними групами не відмічалось статистично достовірної різниці щодо тривалості ЦД 2 типу ($p=0,068$). Найвищою тривалістю ЦД 2 типу була у хворих НАЖХП і підвищеним рівнем печінкових ферментів. За нашими даними, спостерігалось вірогідне збільшення поширеності ожиріння серед досліджуваних хворих. У контрольній групі ожиріння виявлено в 64,3% пацієнтів, у хворих із НАЖХП та нормальними рівнями трансаміназ – у 75,7% випадків, а з підвищеними – у 100% ($p=0,004$). Морбідне ожиріння ($IMT \geq 40 \text{ kg/m}^2$) діагностовано лише у хворих із НАЖХП, причому при нормальній концентрації трансаміназ у 16,2% проти 46,2% пацієнтів з їх підвищенням ($p<0,001$). В усіх обстежуваних групах відмічено підвищення ІМТ, а також його статистично достовірне зростання паралельно з наявністю у хворих НАЖХП ($p<0,001$). В усіх хворих виявлено порушення вуглеводного обміну. Середнє значення НОМА-ІР та інсулінемії були вищими у хворих із НАЖХП, особливо з підвищеним рівнем трансаміназ ($p<0,001$). Перевищення порогового значення індексу НОМА-ІР понад 3,0, що свідчить про резистентність до інсуліну, виявлено в 78,6% осіб контрольної групи проти 94,6% та 96,2% пацієнтів із НАЖХП, із нормальним і підвищеним рівнем трансаміназ, відповідно ($p=0,048$).

Дисліпідемію виявлено в усіх обстежуваних групах. Паралельно з розвитком НАЖХП у пацієнтів спостерігалось зростання рівня ЗХС ($p<0,001$), ТГ ($p<0,001$), ЛПДНЩ ($p<0,001$), ЛПНЩ ($p<0,001$) та зниження ЛПВЩ ($p<0,001$). Максимальне середнє значення рівня ліпідів виявлено в групі хворих із НАЖХП та підвищеним рівнем трансаміназ.

У хворих із НАЖХП спостерігався нижчий рівень адипонектину в сироватці крові порів-

няно з контрольною групою ($p<0,001$), причому найнижча його концентрація відмічена в пацієнтів із підвищеним рівнем трансаміназ ($2,74 \pm 1,43$ проти $3,81 \pm 1,79$ проти $6,2 \pm 2,04$ мкг/мл, $p=0,001$). Концентрація адипонектину у хворих НАЖХП із підвищеними рівнями трансаміназ порівняно з групою пацієнтів з їх нормальним рівнем була нижчою ($p=0,022$).

За даними одновимірної логістичної регресії, незалежними предикторами, асоційованими з розвитком НАЖХП у хворих на ЦД 2 типу, були НОМА-ІР ($OR=2,026$, 95%ДІ 1,409-2,914, $p<0,001$), інсулінемія ($OR=1,307$, 95%ДІ 1,140-1,500, $p<0,001$), ІМТ ($OR=1,296$, 95%ДІ 1,130-1,436, $p<0,001$), АЛТ ($OR=1,121$, 95%ДІ 1,051-1,196, $p=0,001$) і АСТ ($OR=1,128$, 95%ДІ 1,052-1,196, $p=0,001$). Рівень адипонектину свідчив про протекторний ефект відносно розвитку НАЖХП ($OR=0,451$, 95%ДІ 0,317-0,641, $p<0,001$).

Згідно з даними покрокової множинної логістичної регресії, незалежними факторами ризику, асоційованими з розвитком НАЖХП, є ІР, ожиріння, гіпоадипонектинемія та рівень АЛТ. Як видно із **табл. 2**, нами побудовано декілька регресійних моделей, відповідно до яких предикторами НАЖХП є зниження рівня адипонектину незалежно від НОМА-ІР ($R^2=0,528$) та АЛТ ($R^2=0,563$).

Адипонектин відіграє важливу роль у розвитку НАЖХП. Гормон проявляє виражену протизапальну дію в печінці, сприяє зниженню стеатозу, гепатомегалії і запальних проявів на тваринних

Таблиця 1. Антропометричні, клінічні та лабораторні показники в обстежуваних хворих ($M \pm SD$)

Показник	Контроль (n=28)	НАЖХП із нормальними рівнями трансаміназ (n=37)	НАЖХП із підвищеними рівнями трансаміназ (n=26)	P
Чоловіки, (%)	10 (35,7%)	15 (40,5%)	13 (50%)	0,557
Тривалість ЦД, роки	5,0 \pm 2,81	5,97 \pm 3,88	7,31 \pm 3,95	0,068
ІМТ, кг/м ²	31,15 \pm 3,0	34,46 \pm 5,64	40,35 \pm 5,63	<0,001
Адипонектин, мкг/мл	6,20 \pm 2,04	3,81 \pm 1,79	2,74 \pm 1,43	<0,001
АЛТ, Од/л	25,03 \pm 7,26	28,93 \pm 6,15	64,96 \pm 14,99	<0,001
АСТ, Од/л	23,91 \pm 6,11	26,6 \pm 5,71	55,8 \pm 11,91	<0,001
Інсулін, мкОд/мл	11,21 \pm 3,58	18,27 \pm 8,14	20,61 \pm 8,56	<0,001
Глюкоза, ммоль/л	7,80 \pm 1,41	8,67 \pm 3,25	9,48 \pm 3,14	0,096
НОМА-ІР	3,86 \pm 1,41	6,86 \pm 3,21	8,23 \pm 2,85	<0,001
ЗХС, ммоль/л	5,68 \pm 0,68	6,24 \pm 0,72	6,56 \pm 0,62	<0,001
Тригліцериди, ммоль/л	1,83 \pm 0,45	2,65 \pm 1,2	3,36 \pm 1,55	<0,001
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,82 \pm 0,2	1,25 \pm 0,59	1,39 \pm 0,63	<0,001
ЛПВЩ, ммоль/л	1,66 \pm 0,25	1,43 \pm 0,24	1,2 \pm 0,26	<0,001
ЛПНЩ, ммоль/л	3,18 \pm 0,6	3,61 \pm 0,69	4,07 \pm 0,78	<0,001

Примітка: Дані представлені у вигляді $M \pm SD$. Оцінка вірогідності різниці між досліджуваними групами розрахована з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Вірогідною вважалася різниця при значенні $p<0,05$.

Оригінальні дослідження

Таблиця 2. Дані покрокового множинного регресійного логістичного аналізу з використанням в якості залежної змінної НАЖХП

Моделі	Коефіцієнт регресії	SE	OR	95% ДІ	P
Модель 1 (R ² Нейджелкерк = 0,528)					
Константа	0,978	1,580			
Адипонектин	-0,531	0,192	0,588	0,404 – 0,857	0,006
НОМА-IR	0,464	0,202	1,591	1,071 – 2,368	0,023
Модель 2 (R ² Нейджелкерк = 0,563)					
Константа	0,730	1,448			
Адипонектин	-0,652	0,183	0,521	0,364 – 0,746	0,001
АЛТ	0,103	0,041	1,109	1,023 – 1,201	0,012
Модель 3 (R ² Нейджелкерк = 0,505)					
Константа	-7,944	2,365			
ІМТ	0,171	0,070	1,187	1,034 – 1,362	0,015
НОМА-IR	0,599	0,191	1,821	1,247 – 2,659	0,002

Примітка: SE – стандартна похибка коефіцієнта регресії, R² – коефіцієнт детермінації, OR – відношення шансів, 95% ДІ – 95% довірчий інтервал для OR.

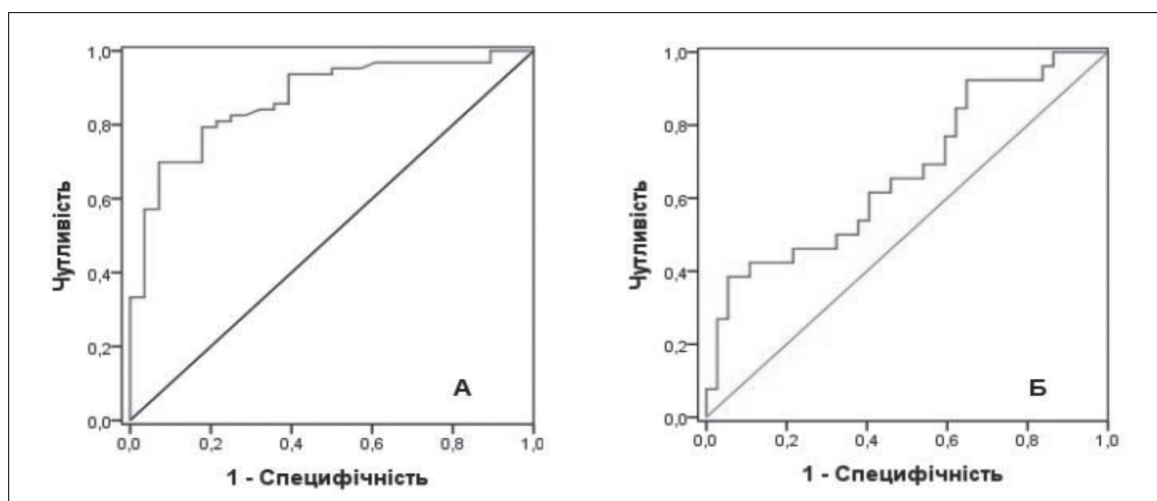
моделях експериментальної НАЖХП за рахунок зменшення експресії TNF- α в печінці та зниження синтезу жирних кислот і підвищення індукованого PPAR- α β -окислення в мітохондріях [22].

Підвищений рівень адипонектину проявляється антистеатогенним ефектом. Терапія рекомбінантним адипонектином ob/ob мишей із генетично детермінованим ожирінням призводила до зменшення стеатогепатозу і нормалізації рівня АЛТ [21]. Він також гальмує прогресування стеатогепатозу у фіброз. У мишей лінії KK-A^y з генетично детермінованим ожирінням спостерігався знижений рівень адипонектину і підвищена чутливість печінки до ураження, спровокованого

у хворих із НАЖХП залежно від концентрації трансаміназ та порівняно з контрольною групою. Також встановлено, що зниження рівня адипонектину в сироватці крові асоційовано з НАЖХП, що створило передумови для оцінки діагностичної ефективності гормону у хворих із НАЖХП. Для цього ми використали ROC-аналіз. Нами побудовано 2 ROC-криві. Для першої в аналіз ми включили хворих із НАЖХП, а в якості контролю хворих на ЦД 2 типу без патології печінки (**рис. 1А**). Нами констатовано дуже добру якість діагностичної моделі, оскільки AUROC для адипонектину становила 0,871 (95% ДІ 0,795-0,946; p<0,001) (**табл. 3**). Порогове значення адипонек-

D-галактозаміном, ліпополісахаридом (ЛПС) або TNF- α . Введення цим тваринам адипонектину спричинило зниження рівня амінотрансфераз у сироватці та зменшення зони некроз / апоптоз у паренхімі печінки [23]. Даний ефект обумовлений значним зниженням рівня TNF- α і активацією PPAR- α в гепатоцитах. Введення адипонектин-дефіцитним мишам чотирихлористого вуглецю призводило до більш вираженого фіброзу, ніж у контрольній групі [24].

Нами виявлена вірогідна різниця між середніми значеннями рівнів адипонекти-

Рисунок 1. ROC-криві для адипонектину у хворих на ЦД 2 типу. А – хворі з НАЖХП проти контролю; Б – хворі на НАЖХП із підвищенням трансаміназ проти пацієнтів з їх нормальним значенням

тинемії, нижче якого діагностувалась НАЖХП у хворих на ЦД 2 типу, склало $<4,6$ мкг/мл. Чутливість, специфічність, PPV та NPV для заданого показника склали відповідно 79,4%, 82,1%, 90,9% і 63,9%. На нашу думку, достатню кількість хибно негативних результатів, які обумовлені значенням NPV, можна пояснити тим фактом, що ми використовували в якості контрольної групи хворих на ЦД 2 типу без наявності НАЖХП, а за даними літератури, гіпоадипонектинемія є незалежним предиктором при ЦД 2 типу та/або ІР [25]. Grigorescu et al. дослідили роль адипонектину для діагностики стеатогепатозу в пацієнтів із гістологічно підтвердженою НАЖХП. За даними авторів, AUROC для адипонектину становила 0,899, із чутливістю, специфічністю, PPV та NPV – 84,8%, 93,3%, 96,5% та 73,7% відповідно [26]. Вища діагностична ефективність адипонектину, отримана авторами, порівняно з нашим дослідженням обумовлена тим, що в якості контрольної групи в моделі були включені здорові добровольці.

Рівень адипонектину в сироватці крові значно нижчий у пацієнтів із ранніми стадіями НАСГ, ніж при простому стеатогепатозі. Для розмежування даних стадій для адипонектину визначено порогове значення на рівні $\leq 4,0$ мкг/мл (AUROC 0,765, чутливість 68% та специфічність 79%) [27].

Для побудови другої ROC-кривої ми включили в аналіз хворих із НАЖХП. Проте основною метою аналізу було визначення діагностичної значимості гіпоадипонектинемії для розмежування хворих із підвищеним рівнем трансаміназ проти пацієнтів з їх нормальними значеннями (рис. 1Б). Нами констатовано середню якість діагностичної моделі, оскільки AUROC для адипонектину становила 0,670 (95% ДІ 0,534-0,807; $p=0,022$) (табл. 3). Порогове значення адипонектинемії, нижче якого констатувалось підвищення трансаміназ у хворих на НАЖХП, склало $<3,1$ мкг/мл. Чутливість, специфічність, PPV та NPV для заданого показника відповідно склали 61,5%, 59,5%, 51,6% і 68,6%. Отже для диференціювання підвищення рівня трансаміназ у хворих із НАЖХП адипонектин має нижчу діагностичну цінність порівняно з використанням його в якості діагностичного маркера НАЖХП.

Висновок

Наше дослідження продемонструвало, що гіпоадипонектинемія, незалежно від ІР і рівня трансаміназ, асоційована з НАЖХП. У хворих із підвищенням трансаміназ відмічається достовірно нижчий рівень адипонектину в сироватці крові.

Таблиця 3. Діагностична цінність адипонектину для діагностики НАЖХП та розмежування хворих із підвищеними рівнями трансаміназ проти пацієнтів з їх нормальними значеннями

Показник	НАЖХП проти контролю	НАЖХП (нормальні проти підвищених рівнів трансаміназ)
Порогове значення	$<4,6$	$<3,1$
Чутливість, %	79,4	61,5
Специфічність, %	82,1	59,5
NPV, %	63,9	68,8
PPV, %	90,9	51,6
AUROC	0,871	0,670
95% ДІ	0,795-0,946	0,534-0,807
P (AUROC)	$<0,001$	0,022

Примітка: NPV – негативна прогностична цінність, PPV – позитивна прогностична цінність, AUROC – площа під ROC-кривою, 95%ДІ – 95% довірчий інтервал для AUROC.

Зниження адипонектину нижче 4,6 мкг/мл можна використовувати в якості діагностичного маркера НАЖХП у хворих на ЦД 2 типу.

Список використаної літератури

1. Боднар П.М., Михальчишин Г.П., Кобиляк Н.М. Неалкогольна жирова хвороба печінки у хворих на цукровий діабет типу 2: патогенез, діагностика та лікування (лекція) // Ендокринологія. 2012, 17, №1, 94-101.
2. Кравчун Н.А., Землянищина О.В., Тяжелова О.В. Неалкогольная жировая болезнь печени и сахарный диабет 2-го типа: клиника, диагностика, терапия // Ліки України. 2012, №3-4, 18-21.
3. Михальчук Л.М., Єфімов А.С. Неалкогольна жирова хвороба печінки // Міжнародний ендокринологічний журнал. 2010, № 2 (26), 71-82.
4. Scherer P.E., Williams S., Fogliano M. et al. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes // J. Biol. Chem. 1995, 270, 26746-26749.
5. Pajvani U.B., Du X., Combs T.P. et al. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity // J. Biol. Chem. 2003, 278, N11, 9073-9085.
6. Бабак О.Я., Колеснікова О.В., Шуть І.В. Вплив сироваткового рівня адипонектину на вираженість неалкогольного стеатозу печінки у хворих на цукровий діабет 2 типу з надлишковою масою тіла // Сучасна гастроентерологія. 2011, № 1 (57), 9-11.
7. Adachi M., Brenner D.A. High molecular weight adiponectin inhibits proliferation of hepatic stellate cells via activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase // Hepatology. 2008, 47, 677-685.
8. Pajvani U.B. et al. Complex distribution, not absolute

- amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity // J. Biol. Chem. 2004, 279, 12152-12162.
9. Kubota N., Yano W., Kubota T. et al. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake // Cell Metab. 2007, 6, N.1, 55-68.
 10. Ebinuma H., Miida T., Yamauchi T. et al. Improved ELISA for selective measurement of adiponectin multimers and identification of adiponectin in human cerebrospinal fluid // Clin. Chem. 2007, 53, N8, 1541-1544.
 11. Hara K., Boutin P., Mori Y. et al. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population // Diabetes. 2002, 51, 536-540.
 12. Vasseur F., Helbecque N., Dina C. et al. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocytesecreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians // Hum. Mol. Genet. 2002, 11, 2607-2614.
 13. Gu H.F., Abulaiti A., Ostenson C.G. et al. Single nucleotide polymorphisms in the proximal promoter region of the adiponectin (APM1) gene are associated with type 2 diabetes in Swedish Caucasians // Diabetes. 2004, 53, 31-35.
 14. Kubota N., Terauchi Y., Yamauchi T. et al. Disruption adiponectin causes insulin resistance neointimal formation // J. Bio.l Chem. 2002, 277, 25863-25866.
 15. Maeda N., Shimomura I., Kishida K. et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30 // Nat. Med. 2002, 8, 731-737.
 16. Yamauchi T. et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMPactivated protein kinase // Nature Med. 2002, 8, 1288-1295.
 17. Combs T.P., Pajvani U.B., Berg A.H. et al. A transgenic mouse with a deletion in the collagenous domain of adiponectin displays elevated circulating adiponectin and improved insulin sensitivity // Endocrinology. 2004, 145, 367-383.
 18. Yamaguchi N. et al. Adiponectin inhibits Toll-like receptor family-induced signaling // FEBS Lett. 2005, 579, 6821-6826.
 19. Yokota T. et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages // Blood. 2000, 96, 1723-1732.
 20. Wolf A.M., Wolf D., Rumpold H. et al. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004, 323, 630-635.
 21. Chalasani N., Younossi Z., Lavine J.E. et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association // Hepatology. 2012, 55, N6, 2005-2023.
 22. Xu A., Wang Y., Keshaw H. et al. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice // J. Clin. Invest. 2003, 112, 91-100.
 23. Masaki T. et al. Adiponectin protects LPS induced liver injury through modulation of TNF- α in KK-A^y obese mice // Hepatology. 2004, 40, 177-184.
 24. Kamada Y. et al. Enhanced carbontetrachloride-induced liver fibrosis in mice lacking adiponectin // Gastroenterology. 2003, 125, 1796-1807.
 25. Kern P.A., Di Gregorio G.B., Lu T. et al. Adiponectin expression from human adipose tissue: relation to obesity, insulin resistance, and tumor necrosis factor-alpha expression // Diabetes. 2003, 52, 1779-1785.
 26. Grigorescu M., Radu C., Lupsor M. et al. Comparison between attenuation coefficient computed on the ultrasound image and a biological marker, adiponectin, in the diagnosis of steatosis in non-alcoholic fatty liver disease // 2008 IEEE International Conference on Automation, Quality and Testing, Robotics, May 22-25, Cluj-Napoca, Romania.
 27. Shimada M., Kawahara H., Ozaki K. et al. Usefulness of a combined evaluation of the serum adiponectin level, HOMA-IR, and serum type IV collagen 7S level to predict the early stage of nonalcoholic steatohepatitis // Amer. J. Gastroenterol. 2007, 102, N 9, 1931-1938.

Надійшла 25.03.2013

Гипоадипонектинемия у больных сахарным диабетом 2 типа с неалкогольной жировой болезнью печени

Г.П. Михальчишин, П.Н. Боднар, Н.Н. Кобыляк

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца

Резюме.

Актуальность. Адипонектин – гормон жировой ткани, который участвует в регуляции катаболизма жирных кислот, чувствительности к инсулину, уровня глюкозы в крови и других процессов. Его уровень в плазме крови достоверно снижен при висцеральном ожирении и патологических состояниях, для которых характерна инсулинорезистентность (ИР). Целью нашего исследования было оценить изменения сывороточного уровня адипонектина, его диагностическую ценность и ассоциативные взаимосвязи у пациентов с сахарным диабетом (СД) 2 типа и неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП) в зависимости от уровня трансаминаз.

Материалы и методы. В исследование включен 91 больной с СД 2 типа. НАЖБП диагностировалась с помощью УЗИ печени. Все пациенты были разделены на 3 группы. Контрольную группу (n=28) составили пациенты с СД 2 типа без НАЖБП. В основную группу вошли больные НАЖБП с нормальным (n=37) или повышенным (n=26) уровнем трансаминаз. Для оценки диагностической эффективности адипонектина использовали ROC-анализ.

Для выявления факторов, которые ассоциированы с НАЖБП, был использован множественный логистический регрессионный анализ.

Результаты. Сывороточный уровень адипонектина был достоверно ниже в группе пациентов с СД 2 типа и НАЖБП с повышенным уровнем трансаминаз по сравнению с больными с нормальными их значениями и контрольной группой ($2,74 \pm 1,43$ против $3,81 \pm 1,79$ против $6,2 \pm 2,04$ мкг/мл, $p=0,001$). В одномерной логистической регрессии адипонектин проявлял протекторный эффект в отношении развития НАЖБП (OR = 0,451, 95%ДИ 0,317-0,641, $p<0,001$). Согласно данным пошаговой множественной логистической регрессии, гипoadипонектинемия ассоциирована с НАЖБП независимо от HOMA-IR ($R^2=0,528$) и АЛТ ($R^2=0,563$). Для выявления НАЖБП у больных СД 2 типа использование адипонектина продемонстрировало очень хорошее качество диагностической модели, поскольку AUROC составила 0,871 (95%ДИ 0,795-0,946 $p<0,001$). Пороговое значение определено на уровне $<4,6$ мкг/мл с чувствительностью, специфичностью, PPV и NPV соответственно 79,4%, 82,1%, 90,9% и 63,9%. Для разграничения больных НАЖБП с повышением уровня трансаминаз и пациентов с их нормальным значением AUROC для адипонектина составила 0,670 (95%ДИ 0,534-0,807, $p=0,022$). Пороговое значение адипонектинемии, ниже которого у больных НАЖБП констатировалось повышение уровня трансаминаз, составило $<3,1$ мкг/мл, с чувствительностью, специфичностью, PPV и NPV соответственно 61,5%, 59,5%, 51,6% и 68,6%.

Выводы. Наше исследование продемонстрировало, что гипoadипонектинемия независимо от ИР и уровня трансаминаз ассоциирована с НАЖБП. У больных с повышением трансаминаз отмечался достоверно более низкий уровень адипонектина сыворотки. Снижение адипонектина ниже 4,6 мкг/мл можно использовать в качестве диагностического маркера НАЖБП у больных СД 2 типа.

Ключевые слова: адипонектин, сахарный диабет 2 типа, неалкогольная жировая болезнь печени.

Hypoadiponectinemia in patients with type 2 diabetes with nonalcoholic fatty liver disease

G.P. Mykhalchyshyn, P.M. Bodnar, N.N. Kobyliak

National O.O. Bogomolets Medical University

Summary

Background and aims. Adiponectin is a hormone of adipose tissue, which is involved in the regulation of fatty acids catabolism, in-

sulin sensitivity, blood glucose level, and other processes. Its serum level is significantly decreased in visceral obesity and pathological conditions that are associated with insulin resistance (IR). The aim of our study was to evaluate changes in serum adiponectin level, its diagnostic accuracy, and association with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in patients with type 2 diabetes (T2D) depending on transaminases levels.

Materials and methods. We have followed up 91 patients with T2D, who were diagnosed for fatty liver by abdominal ultrasonography. All patients were divided into 3 groups. The control group ($n=28$) included patients with T2D without NAFLD. In the other two groups we identified patients with NAFLD and normal ($n=37$) or elevated ($n=26$) transaminases. To assess the diagnostic accuracy of adiponectin in NAFLD, ROC-analysis was used. Multiple logistic regression was used to identify factors independently associated with NAFLD.

Results. Serum adiponectin levels were significantly lower in the group with T2D and NAFLD with increased transaminases than in patients with normal transaminases and control group ($2,74 \pm 1,43$ vs $3,81 \pm 1,79$ vs $6,2 \pm 2,04$ $\mu\text{g/ml}$, $p=0,001$). In the univariate logistic regression adiponectin showed a protective effect against NAFLD development (OR = 0.451, 95%CI 0.317-0.641, $p<0,001$). According to stepwise multiple logistic regression, hypoadiponectinemia was associated with NAFLD independently on HOMA-IR ($R^2=0,528$) and ALT ($R^2=0,563$). To identify NAFLD in T2D patients, adiponectin proved to be a very effective diagnostic model, AUROC being equal to 0.871 (95%CI 0.795-0.946, $p<0,001$). The optimal cutoff value is set at $<4,6$ $\mu\text{g/ml}$ with sensitivity, specificity, PPV and NPV equal to 79.4%, 82.1%, 90.9%, and 63.9%, respectively. To distinguish patients with NAFLD and elevated transaminases from patients with normal values, AUROC for adiponectin was 0,670 (95%CI 0,534-0,807, $p=0,022$). Adiponectin optimal cutoff value under which an increase in transaminases was reported in NAFLD patients $<3,1$ mg/ml, with a sensitivity, specificity, PPV, and NPV equal to 61.5%, 59.5%, 51.6%, and 68.6%, respectively.

Conclusion. Our study has demonstrated that hypoadiponectinemia - independently on IR and transaminases - was associated with NAFLD. Patients with elevated transaminases have a significantly lower serum adiponectin level. A decrease in adiponectin below 4.6 mg/ml can be used as a diagnostic marker of NAFLD in T2D patients.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, non-alcoholic fatty liver disease, adiponectin, transaminases.

Иммунитет у больных сахарным диабетом 2 типа с сопутствующим метаболическим синдромом/ожирением. Сообщение 2. Роль адипоцитокинов (интерлейкина-6, фактора некроза опухолей альфа, лептина и адипонектина)

К.П. Зак*,
Б.Н. Маньковский,
С.В. Мельниченко,
И.Н. Кондрацкая,
В.В. Попова,
Я.А. Саенко,
Т.А. Семионова,
О.В. Корпачева-
Зиных,
Е.Н. Тронько,
О.В. Иванченко

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

Резюме. Исследован уровень интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактора некроза опухолей альфа (ФНО α), лептина и адипонектина (АДН) в периферической крови (ПК) 3 групп больных (n=108): 1) с впервые выявленным сахарным диабетом 2 типа (СД2) (ИМТ=23,4 \pm 1,3 кг/м²), 2) с метаболическим синдромом (МС) (ИМТ=33,5 \pm 2,0 кг/м²) и 3) с СД2+МС (ИМТ=34,6 кг/м²). Контролем служили 40 «худых» (ИМТ=22,8 \pm 0,5 кг/м²) и «полных» (ИМТ=31,1 \pm 0,7 кг/м²) здоровых лиц. У больных СД2 без МС и ожирения имелся повышенный уровень ИЛ-6 и ФНО α , и сниженный уровень АДН без изменения содержания лептина в ПК. При МС отмечалось умеренное повышение содержания ИЛ-6 и ФНО α , выраженное снижение уровня АДН и высокое содержание лептина в ПК, особенно у женщин. Наиболее высокое содержание ИЛ-6 и ФНО α наблюдалось у больных СД2 с сопутствующим МС при пониженном уровне АДН в ПК и значительном повышении содержания лептина в ПК. У здоровых полных лиц без компонентов МС отмечалось также, в отличие от худых, повышение концентрации лептина и снижение концентрации АДН в ПК, но менее значительное, чем у больных с МС и СД2+МС. Следовательно, повышение уровня ИЛ-6 и ФНО α в ПК больных СД2 имеет двоякий характер: самостоятельный и обусловленный сопутствующим ожирением/МС. При СД2+МС происхо-

* 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

© К.П. Зак, Б.Н. Маньковский, С.В. Мельниченко, И.Н. Кондрацкая, В.В. Попова, Я.А. Саенко, Т.А. Семионова, О.В. Корпачева-Зиных, Е.Н. Тронько, О.В. Иванченко

дит, по-видимому, суммирование обоих механизмов поступления этих адипокинов в циркуляцию. Повышение уровня лептина при СД2 является следствием одновременного наличия ожирения. Снижение содержания АДН при СД2 и МС указывает на то, что он выполняет в организме защитную противодиабетическую роль.

Ключевые слова: иммунитет, сахарный диабет 2 типа, метаболический синдром, ожирение, адипокины, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли-альфа, лептин, адипонектин.

В предыдущем сообщении [1] мы привели последние статистические данные о прогрессирующем росте количества больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) во всем мире, в том числе и в Украине, носящем характер пандемии, который сопровождается одновременным параллельным повышением количества лиц с избыточной массой тела или ожирением [2,3]. Исходя из этого, совместный Совет экспертов Всемирной (IDF) и Европейской (EASD) ассоциации по изучению диабета считают, что одной из неотложных задач диабетологии будущего является выяснение вопроса о взаимозависимости между величиной массы различных видов жировой ткани (ЖТ) в организме (бурой, белой, подкожной, абдоминальной и др.) и риском развития СД2 у человека, а также участия в этом механизме гормонов ЖТ – адипокинов [4].

Согласно современным представлениям, СД2 относится к заболеваниям воспалительной природы, в патогенезе которого ключевую роль играет хроническое низко-градиентное воспаление ЖТ [5-7]. В настоящее время установлено, что ЖТ является мощным эндокринным органом, а ожирение рассматривается как воспаление ЖТ, при котором резко увеличивается продукция и секреция провоспалительных адипоцитокинов, происходит дисрегуляция иммунной системы и тесно связанного с ней метаболизма (метафламация) [6,8]. Триггерами воспалительной реакции ЖТ часто являются чрезмерное и нерациональное питание и малоподвижный образ жизни. Полагают, что ассоциация низко-градиентного воспаления с провоспалительными цитокинами порождают нарушения в ЖТ, печени, мышцах, сосудистой системе и панкреатических островках Лангерганса, что вызывает инсулиновую резистентность (ИР) и метаболический синдром (МС), являющиеся факторами риска последующего развития клинически диагностируемого СД2, а также других жирово-обусловленных заболеваний (атеросклероза, гипертензии, ишемической болезни сердца, сердечно-сосудистых нарушений), которые, в свою очередь, являются основной причиной смертности [9]. Однако пока количество публикаций, касающихся роли ожирения в механизмах развития

ИР и СД2 и участие в этом процессе различных видов адипокинов, чрезвычайно мало и они довольно дискуссионны [4,10].

В связи с этим, основной целью настоящей работы явилось сравнительное исследование уровня основных видов адипокинов: интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактора некроза опухолей альфа (ФНО α), адипонектина (АДН) и лептина у трех групп пациентов: больных СД2 с нормальной массой тела, метаболическим синдромом (МС) с ожирением и СД2+МС. Исследования проведены на тех же пациентах, у которых нами уже ранее исследовались другие показатели иммунитета, описанные в предыдущем сообщении [1].

Материалы и методы

Обследованы 108 пациентов обоего пола в возрасте от 30 до 60 лет, которые были распределены на 3 примерно одинаковые по полу и возрасту группы: 1 группа – больные с впервые выявленным СД2 с нормальной массой тела (ИМТ<25 кг/м²; 23,4±1,3 кг/м²) и отсутствием МС; 2 группа – пациенты с МС без наличия клинических признаков СД2 (ИМТ>25 кг/м²; 33,5±2,0 кг/м²); 3 группа – больные СД2 с сопутствующим МС (ИМТ>25 кг/м²; 34,6±1,2 кг/м²). Контрольную группу составили 40 здоровых лиц с нормогликемией, сопоставимых по полу и возрасту с обследуемыми больными, которые были разделены на две подгруппы: с нормальной массой тела (ИМТ<25 кг/м²; 22,8±0,5 кг/м²) и с избыточной массой тела, или ожирением (ИМТ>25 кг/м²; 31,1±0,7 кг/м²), но без наличия других компонентов МС.

В список обследуемых не включали пациентов с перенесенным инфарктом миокарда и инсультом, злокачественными новообразованиями, острыми и хроническими воспалительными процессами. До обследования пациенты не принимали антигипергликемической, гиполипидемической и антигипертензивной терапии.

Диагноз СД2 устанавливали согласно рекомендациям комитета экспертов ВОЗ [Report of WHO Consultation, 1999], а МС – согласно критериям IDF и NCEP ATP III [11].

Оригінальні дослідження

Данные об антропометрическом исследовании: индекс массы тела (ИМТ) и окружности талии (ОТ), уровне глюкозы и инсулина натощак, индексе НОМА-IR (по Matthews D.R. et al.) [12], а также содержании триглицеридов, общего холестерина, холестерина липопротеидов различной плотности и артериальном давлении у здоровых лиц и обследуемых пациентов представлены в нашем предыдущем сообщении [1].

Содержание ИЛ-6, ФНО α , лептина и АДН в ПК определяли иммуноферментным методом с помощью спектрофотометра с вертикальным лучом «Starfax-3200» фирмы «Star» (США) и набора реактивов фирм «Diacolone» (Франция) и DRG (США).

Статистическую обработку полученных данных проводили методом вариационной статистики с помощью стандартного пакета статистического расчета по программе Microsoft Excel. Достоверность различий средних величин определяли по парному критерию t Стьюдента. Различия считали достоверным при $p < 0,05$.

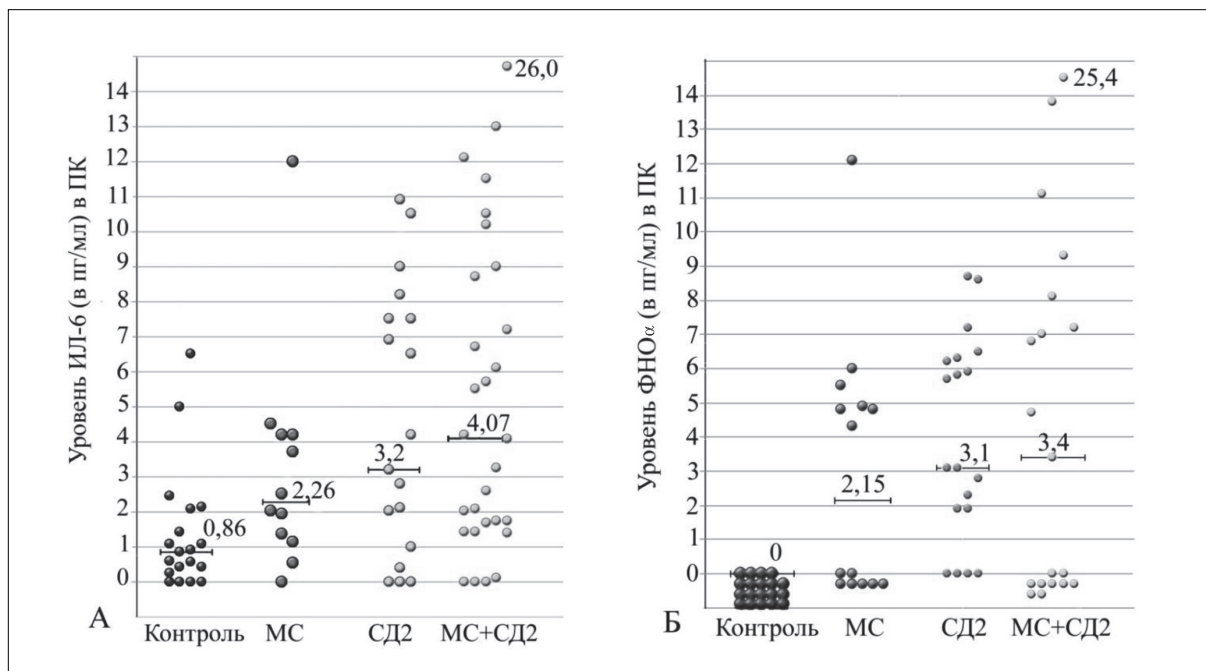
Результаты и их обсуждение

Исследования содержания адипокинов (ИЛ-6, ФНО α , лептина и АДН) были проведены у тех же больных (СД2, МС и СД2+МС) и здоровых лиц (контроль), у которых одновременно определялись и другие показатели иммунитета (лейкоцитарный состав ПК, иммунофенотип лимфоцитов

и их ультраструктура). Детальная клинико-иммунологическая характеристика была представлена нами ранее в сообщении 1 [1].

При исследовании содержания ИЛ-6, принадлежащего к главным макрофагальным провоспалительным и продиабетическим цитокинам, обладающим мощным иммуносупрессивным действием, участвующим в еще недостаточно изученных и сложных механизмах секреции и потребления инсулина различными типами тканей [13,14] нами, прежде всего, были обнаружены отчетливые индивидуальные колебания содержания этого адипокина в сыворотке ПК всех обследуемых групп пациентов и контроля (**рис. 1А**). Тем не менее, у больных СД2, МС и СД2+МС имелось выраженное повышение медианы содержания ИЛ-6 в крови по сравнению со здоровыми лицами. Наиболее значительное повышение концентрации ИЛ-6 в ПК наблюдалось у больных СД2, особенно у пациентов СД2, одновременно имеющих МС и ожирение. У трех лиц последней группы содержание ИЛ-6 в ПК достигало даже 12,2 – 26,0 пг/мл. Правда, у одного из таких больных имелась непролиферативная диабетическая ретинопатия, а у одного впоследствии развилась диабетическая нефропатия. Отчетливое повышение уровня ИЛ-6, но не такое значительное, как при одном СД2, наблюдалось также и у пациентов только с МС, у которых имелось выраженное ожирение (ИМТ=33,5 \pm 2,0 кг/м²).

Рисунок 1. Уровень ИЛ-6 (А) и ФНО α (Б) в ПК здоровых лиц, больных СД2, МС и СД2+МС



Следует также отметить, что в начале 2013 г. был опубликован мета-анализ уровня ИЛ-6 в ПК при предиабете и СД2, основанный на 10 приоритетных проспективных исследованиях, включающих 19 709 участников, из которых в 4 480 случаях возник СД2. Анализ данных показал, что у обследуемых, у которых развился СД2, имелось достоверное повышение уровня ИЛ-6 в ПК, по сравнению с лицами, у которых это заболевание не было диагностировано. Кроме того, было показано, что повышение уровня ИЛ-6 в ПК задолго предшествует развитию СД2 и может служить надежным маркером, предсказывающим риск развития заболевания. К сожалению, в этой работе отсутствуют данные о степени ожирения обследуемых пациентов, ввиду чего нельзя составить представление о влиянии избытка массы тела на повышение уровня ИЛ-6 при СД2 [15].

Следовательно, полученные нами данные наводят на мысль, что возрастание содержания ИЛ-6 в ПК у больных СД2 имеет самостоятельный характер, независимый от повышения уровня ИЛ-6 в результате ожирения. У больных СД2+МС происходит, по-видимому, суммирование эффектов двух различных механизмов поступления этого цитокина в циркуляцию, что согласуется с недавним обзором зарубежных публикаций [16].

При исследовании ФНО α , который также принадлежит к главным макрофагальным провоспалительным и проапоптотическим адипоцитокинам, обладающим широким спектром биологического действия и считающегося маркером низко-градиентного воспаления [17,18], отмечались, подобно ИЛ-6, значительные индивидуальные колебания концентрации ФНО α в ПК, вплоть до нулевых показателей у некоторых лиц во всех группах больных (**рис. 1Б**), что описано и другими авторами [19,20]. В то же время, ФНО α в сыворотке крови у здоровых лиц вовсе не определялся. Это, по-видимому, объясняется тем, что ФНО α обладает преимущественно апокринно-паракринным действием, т.е. оказывает локальное влияние на близлежащие клетки-мишени внутри органа и в меньшей степени поступает в циркуляцию, в отличие от ИЛ-6, действующего дистантно, как обычный гормон [21,22]. Вместе с тем, медиана изменения содержания ФНО α во всех трех группах больных была достоверно повышена: умеренно – у пациентов с МС (ИМТ=33,5 \pm 2,0 кг/м²), более значительно – при одном СД2 (ИМТ=23,4 \pm 1,3 кг/м²) и наиболее – при СД2+МС (ИМТ=34,6 \pm 1,2 кг/м²) (**рис. 1Б**). Причем, у трех больных с СД2+МС уровень

ФНО α в ПК достигал 11,2-25,4 пг/мл. В последующем у одного из этих больных развилась непролиферативная диабетическая ретинопатия, а у двух, с более продолжительным течением основного заболевания, – диабетическая нефропатия. Следовательно, характер повышения содержания ФНО α в ПК больных с впервые выявленным СД2 подобен наблюдаемому для ИЛ-6, т.е. носит самостоятельный характер и не зависит от возрастания, наблюдающегося при ожирении. У больных СД2+МС, по видимому, так же, как и в случае с ИЛ-6, происходит суммирование эффектов, специфичных для СД2 и МС/ожирения.

При определении содержания лептина, являющегося многофункциональным адипоцитоклином, принадлежащим к основным центральным регуляторам энергетического баланса и массы тела в организме и являющегося маркером ожирения [14,23] в ПК здоровых лиц, было выявлено гендерное различие, т.е. у женщин уровень лептина был значительно выше, чем у мужчин (14,5 \pm 2,3 против 6,1 \pm 3,3 нг/мл; $p < 0,01$; **рис. 2**), что согласуется с более ранними нашими работами [24,25] и данными других авторов [26,27]. В связи с этим, анализ полученных результатов при исследовании содержания лептина в ПК у здоровых лиц и больных проводился отдельно в зависимости от пола обследуемых. Наиболее высокое содержание лептина в сыворотке ПК наблюдалось у женщин с СД2+МС и с МС. Причем концентрация лептина в ПК у некоторых женщин с МС и МС+СД2 с особенно высоким ИМТ (35-40 кг/м²) достигала значительных цифр (82,5; 60,5 и 137,7 нг/мл). Между уровнем лептина в ПК и массой тела у женщин имелась прямая корреляция ($r=0,67$, $p < 0,05$). Содержание лептина в ПК у больных СД2 без МС не отличалось от таковой у лиц с нормальной массой тела (ИМТ<25 кг/м²). В то же время, у практически здоровых нормогликемических женщин с избыточным весом или ожирением (ИМТ>30 кг/м²) также наблюдали достоверное повышение содержания лептина в ПК по отношению к таковому у худых лиц (ИМТ<25 кг/м²).

Следовательно, полученные данные подтверждают предыдущие наши исследования [24] о том, что повышение концентрации лептина в ПК не связано с уровнем гликемии, а зависит от степени ожирения и, возможно, частично от других составных компонентов МС. Вместе с тем, здоровые лица с нормогликемией, но с повышенным уровнем лептина в ПК, должны быть отнесены к группе риска развития СД2.

При исследовании содержания АДН – един-

Оригинальні дослідження

Рисунок 2. Уровень лептина в ПК здоровых лиц (худых и полных), больных СД2, МС и СД2+МС. Различия достоверны ($p < 0,05$) * – у здоровых полных женщин по сравнению со здоровыми худыми женщинами; ^ – у женщин с МС и СД2+МС по сравнению со здоровыми полными женщинами

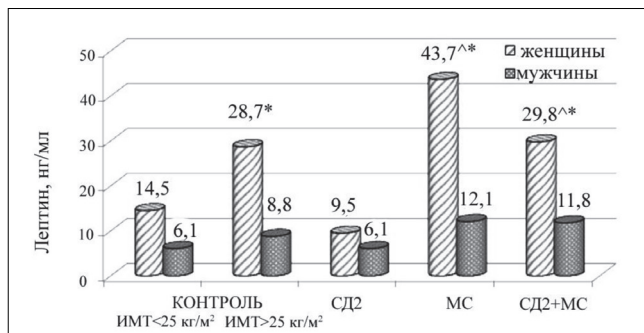
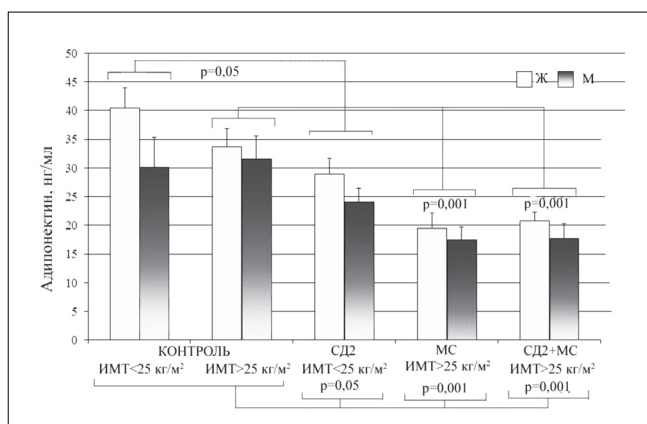


Рисунок 3. Содержание адипонектина в ПК здоровых лиц (контроль), больных СД2, МС и СД2 с сопутствующим МС



ственного среди адипоцитокинов, секретируемого только жировыми клетками, являющегося модулятором иммунитета и метаболизма, обладающего противовоспалительным антидиабетическим и антиатерогенным действием [28], было обнаружено, что, как у здоровых лиц с нормогликемией, так и у больных СД2, МС и СД2+МС имелись половые различия, т.е. более высокое содержание АДН в ПК женщин, чем у мужчин (рис. 3). Впро-

Таблица. Содержание адипонектина ($M \pm m$; нг/мл) в сыворотке крови здоровых людей, больных с впервые выявленным СД2, МС и СД2+МС

Пол	Контроль		СД2	МС	СД2+МС
	ИМТ<25 кг/м ²	ИМТ>25 кг/м ²			
Мужчины	30,13±10,4	31,53±7,96	24,15±4,63	17,45±5,45	17,79±4,95
Женщины	40,36±7,15	33,70±6,27	28,96±5,34	19,45±4,54	20,80±2,91
Мужчины+женщины	37,43±3,81	32,91±4,82	26,56±3,49	18,08±3,93	19,64±2,59
Вся группа	35,12±3,73				

чем, эти изменения были не столь значительны, чем для лептина. В отличие от всех предыдущих исследуемых адипоцитокинов, у больных СД2, МС и СД2+МС отмечалось достоверное уменьшение АДН в ПК. Так, среднее содержание АДН у общей группы больных СД2, по сравнению со средними данными общей контрольной группы, было снижено на 24,3%, ($p < 0,05$) (табл.).

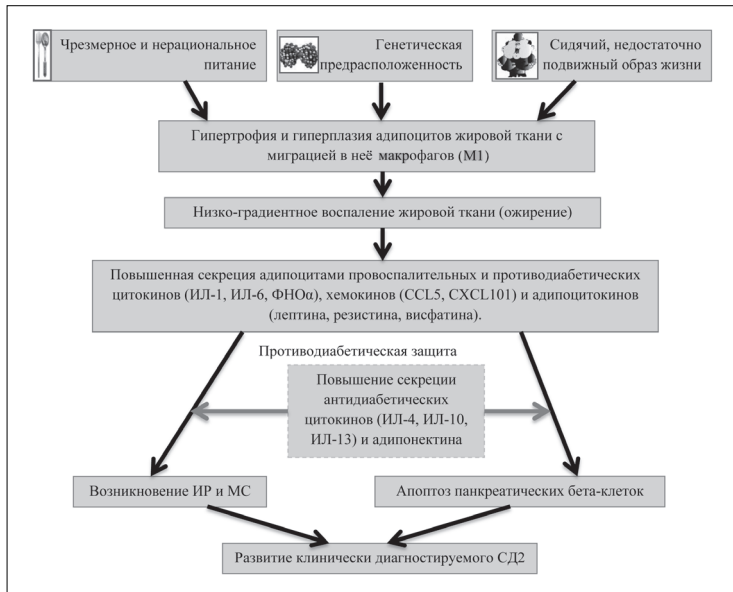
Еще одним подтверждением того, что для больных с впервые выявленным СД2 с нормальной массой тела (ИМТ=23,4±1,3 кг/м²) характерно более низкое, чем в норме, содержание АДН в ПК, является также сравнение показателей содержания АДН у этой группы больных с подгруппой здоровых худых лиц (ИМТ=22,8±0,5 кг/м²). Более значительное снижение уровня АДН в ПК (на 48 %; $p < 0,001$), наблюдалось у пациентов с МС (ИМТ=33,5±2,0 кг/м²), а также у больных с СД2+МС (ИМТ=34,6±1,2 кг/м²), т.е. на 44,1% ($p < 0,01$), по сравнению с данными всей контрольной группы, а также с подгруппой полных здоровых лиц с нормогликемией ($p < 0,001$, $p < 0,001$, соответственно) (рис. 3).

Следовательно, проведенные нами исследования согласуются с существующим мнением [28], что для больных СД2 характерен низкий уровень АДН в ПК, но степень его выраженности во многом зависит от сопутствующего МС, особенно ожирения, наблюдаемого у подавляющего числа больных СД2.

Роль АДН в патогенезе больных СД2 с МС/ожирением подтверждается еще и тем, что различные методы, приводящие к похудению больных СД2 (диета, фармацевтические препараты и бариатрическая хирургия), которые способствуют снижению веса и улучшению клинического состояния больных, сопровождается повышением у них уровня циркулирующего АДН [29].

Подытоживая все вышеприведенное, можно прийти к заключению, что для больных СД2 характерно повышение уровня провоспалительных адипоцитокинов ИЛ-6 и ФНО α в ПК, что подтверждает гипотезу о воспалительной (низкоградиентной) природе этого заболевания. Данное повышение ИЛ-6 и ФНО α имеет двойное происхождение: самостоятельное (независимое) и обусловленное сопутствующим ожирением/МС. При СД2, сопровождаемом

Рисунок 4. Участие различных адипоцитокинов в механизме развития сахарного диабета 2 типа



МС, происходит, по-видимому, суммирование обоих механизмов поступления ИЛ-6 и ФНО α в циркуляцию. Повышение уровня лептина в ПК у больных СД2 обусловлено, в основном, наличием избыточной массы тела, особенно у женщин. Содержание АДН в ПК больных СД2, в отличие от провоспалительных цитокинов, снижено, что согласуется с современной концепцией о том, что АДН выполняет в организме, подобно цитокинам ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-13, защитную противодиабетическую роль. Участие различных адипоцитокинов в механизме развития СД2 схематически представлено на **рис. 4**.

Таким образом, определение уровней ИЛ-6, ФНО α , лептина и АДН в периферической крови может быть использовано как маркер для предсказания риска развития СД2 у здорового человека, а при уже развившемся заболевании – для характеристики его особенностей, тяжести протекания и выбора вида терапии.

Список использованной литературы

1. Зак К.П., Маньковский Б.Н., Мельниченко С.В. и др. Иммунитет у больных сахарным диабетом 2 типа с сопутствующим метаболическим синдромом/ожирением. Сообщение 1. Лейкоцитарный состав крови, иммунофенотип лимфоцитов и ультраструктура нейтрофилов // Эндокринология. 2013, 18, № 1, 27-36.
2. Carnethon M.R. Can we out-run the diabetes epidemic? // Diabetologia. 2007, 50, 1113-1115.
3. Nolan J.J., Ferch K. Estimating insulin sensitivity and beta cell function: perspectives from the modern pandemics of obesity and type 2 diabetes // Diabetologia. 2012, 55, N 11, 2863-2867.
4. Eckel R.H., Kahn S.E., Ferrannini E. et al. Obesity and type 2

diabetes: What can be unified and what needs to be individualized // Diabetes Care. 2011, 34, N 6, 1424-1430.

5. Donath M.Y., Shoelson S.E. Type 2 diabetes as an inflammatory disease // Nat. Rev. Immunol. 2011, 11, N 2, 98-107.
6. Gregor M.F., Hotamisligil G.S. Inflammatory mechanisms in obesity // Ann. Rev. Immunol. 2011, 29, 415-445.
7. Fernandez-Real J.-M., Pickup J.C. Innate immunity, insulin resistance and type 2 diabetes // Diabetologia. 2012, 55, N 2, 273-278.
8. Hotamisligil G.S. Inflammation and metabolic disorders // Nature. 2006, 444, N 7121, 860-867.
9. Ouchi N., Ohashi N., Shibata R., Murohara T. Adipocytokines and obesity-linked disorders // Nagoya J. Med. Sci. 2012, 74, N 1-2, 19-30.
10. Lumeng C.N., Saltiel A.R. Inflammatory links between obesity and metabolic disease // J. Clin. Invest. 2011, 121, N 6, 2111-2117.
11. Lawlor D.A., Smith G.D., Ebrahim S. Does the new International Diabetes Federation definition of the metabolic syndrome predict CHD any more strongly than older definitions? Findings from the British Women's Heart and Health Study // Diabetologia. 2006, 49, N 1, 41-48.
12. Matthews D.R., Hosker I.P., Rudenski A.S. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man // Diabetologia. 1985, 28, 412-419.
13. Allen T.L., Febbraio M.A. IL-6 as a mediator of insulin resistance: fat or fiction? // Diabetologia. 2010, 53, N 3, 399-402.
14. Зак К.П., Кондрацкая И.Н., Попова В.В. Гормоны жировой ткани – адипоцитокины при сахарном диабете и его осложнениях (обзор литературы и собственные данные) // Врачебное дело. 2010, № 5-6, 39-55.
15. Wang X., Bao W., Liu J. et al. Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis // Diabetes Care. 2013, 36, N 1, 166-175.
16. Sattar N., McConnachie A., Shaper A.G. et al. Can metabolic syndrome usefully predict cardiovascular disease and diabetes? Outcome data from two prospective studies // Lancet. 2008, 371, N 9628, 1927-1935.
17. Monroy A., Kamath S., Chavez A.O. et al. Impaired regulation of the TNF- α converting enzyme/tissue inhibitor of metalloproteinase 3 proteolytic system in skeletal muscle of obese type 2 diabetic patients: a new mechanism of insulin resistance in humans // Diabetologia. 2009, 52, N 10, 2169-2181.
18. Calle M.C., Fernandez M.L. Inflammation and type 2 diabetes // Diabetes Metab. 2012, 38, N 3, 183-191.
19. Norberg M., Weinehall L., Lindahl B., Eriksson J.W. Leptin, but not TNF alpha, interleukin-6 or CRP, is a prospective risk marker of type 2 diabetes independent of obesity // Diabetologia. 2002, 45, Suppl. 2, A-74.
20. Hrebicek J., Orel M., Lichnovska R. et al. Leptin and TNF- α in subcutaneous fat tissue and in serum of healthy volunteers and of persons with type 2 diabetes mellitus // Diabetologia. 2004, 47, Suppl. 1, A-195.
21. Arner P. Resistin: yet another adipokine tells us that men are not mice // Diabetologia. 2005, 48, N 11, 2203-2205.
22. Deng Y., Scherer P.E. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2010, 1212, E1-E19.
23. Farooqi I.S., O'Rahilly S. Leptin: a pivotal regulator of human energy homeostasis // Am. J. Clin. Nutr. 2009, 89, 980-984.
24. Кондрацкая И.Н., Зак К.П., Маньковский Б.Н. и др. Уровень циркулирующего лептина в крови у больных с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2-го типа // Укр. кардіол. журнал. 2009, № 2, 30-33.
25. Kondratskaya I., Zak K., Mankovsky B. Plasma level of leptin and adiponectin in patients with type 2 diabetes mellitus (TD2M) with and without metabolic syndrome (MS) // J. Diabetes. 2009,

Оригінальні дослідження

- 1, Suppl. 1, A172.
26. Tong J., Fujimoto W.Y., Kahn S.E. et al. Insulin, C-peptide, and leptin concentrations predict increased visceral adiposity at 5- and 10-year follow-up in nondiabetic Japanese Americans // *Diabetes*. 2005, 54, N 4, 985-990.
27. Schmidt M.I., Duncan B.B., Vigo A. et al. Leptin and incident type 2 diabetes: risk or protection? // *Diabetologia*. 2006, 49, N 9, 2086-2096.
28. Turer A.T., Scherer P.E. Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications // *Diabetologia*. 2012, 55, N 9, 2319-2326.
29. Varady K., Tussing L., Butani S., Braunschweig C. Degree of weight loss reanired to improve adipokine concentrations and decrease fat cell size in severely obese women // *J. Diabetes*. 2009, 1, Suppl. 1, A-52.

Надійшла 29.01.2013

Імунітет у хворих на цукровий діабет 2 типу в поєднанні з супутнім метаболічним синдромом/ожирінням. Повідомлення 2. Роль адипоцитокінів (інтерлейкіну-6, фактора некрозу пухлин альфа, лептину і адипонектину)

К.П. Зак, Б.М. Маньковський, С.В. Мельниченко, І.М. Кондрацька, В.В. Попова, Я.А. Саєнко, Т.А. Семіонова, О.В. Корпачева-Зінич, К.М. Тронько, О.В. Фурманова

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

Резюме. Досліджено рівень інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), фактора некрозу пухлин альфа (ФНПа), лептину та адипонектину (АДН) в периферичній крові (ПК) хворих (n=108) 3 груп: 1) з вперше виявленим цукровим діабетом 2 типу (ЦД2) (ІМТ=23,4±1,3 кг/м²), 2) з метаболічним синдромом (МС) (ІМТ=33,5±2,0 кг/м²) і 3) ЦД2+МС (ІМТ=31,1±0,7 кг/м²). Контрольну групу склали 40 «худих» (ІМТ=22,8±0,5 кг/м²) і «повних» (ІМТ=31,1±0,7 кг/м²) здорових осіб. У хворих на ЦД2 без МС і ожиріння спостерігався підвищений рівень ІЛ-6 та ФНПа в ПК зі зниженням вмісту АДН без суттєвої зміни рівня лептину. У пацієнтів із МС відмічалось помірне підвищення рівня ІЛ-6 і ФНПа, виражене зниження рівня АДН і високий рівень лептину в ПК, особливо в жінок. Найвищий вміст ІЛ-6 і ФНПа спостерігався у хворих на ЦД2+МС при зниженому рівні АДН та одночасному підвищенні вмісту лептину. У здорових повних осіб із відсутністю МС відмічалось також, порівняно з худими особами, підвищення концентрації лептину та зниження вмісту АДН у ПК, але воно було значно меншим, ніж у хворих із МС і ЦД2+МС. Отже, підвищення рівня ІЛ-6 і ФНПа при ЦД2 має двоякий характер – самостійний та обумовлений присутністю МС/ожиріння. При ЦД2+МС відбувається, ймовірно, сумація обох механізмів надходження цих цитокінів до циркуляції. Під-

вищення рівня лептину у хворих на ЦД2 є наслідком одночасної наявності надмірної маси тіла. Зниження вмісту АДН вказує на те, що при ЦД2 та МС він виконує в організмі захисну антидіабетичну роль.

Ключові слова: імунітет, цукровий діабет 2 типу, метаболічний синдром, ожиріння, інтерлейкін-6, фактор некрозу пухлин альфа, лептин, адипонектин.

Immunity in patients with type 2 diabetes mellitus in complex with concomitant metabolic syndrome/obesity. Communication 2. Role of adipocytokines (interleukin-6, tumor necrosis factor alpha, leptin and adiponectin)

K.P. Zak, B.M. Mankovsky, S.V. Melnichenko, I.M. Kondratska, V.V. Popova, Ya.A. Sayenko, T.A. Semionova, O.V. Korpacheva-Zynych, K.M. Tronko, O.V. Furmanova

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

Summary. The levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNFα), leptin and adiponectin (ADN) were investigated in the peripheral blood (PB) in 3 groups of patients (n=180): 1) with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus (T2DM) (BMI=23.4±1.3 kg/m²), 2) with metabolic syndrome (MS) (BMI=33.5±2.0 kg/m²) and T2DM+MS (BMI=31.1±0.7 kg/m²). 40 «lean» (BMI=22.8±0.5 kg/m²) and «obese» (BMI=31.1±0.7 kg/m²) healthy individuals served as controls. The increased levels of IL-6 and TNFα in PB with decreased ADN content without significant changes in leptin were noted in patients with T2DM without MS and obesity. A moderate increase in IL-6 and TNFα, marked decreased ADN and high level of leptin in the PB, were observed in patients with MS, especially in women. The highest content of IL-6 and TNFα was observed in patients with T2DM+MS under low level of ADN and simultaneous increased leptin content. The increased leptin concentration and decreased ADN level in the PB were also noted in healthy obese individuals without MS, comparing to lean individuals, but it was significantly lower than in patients with MS and MS+T2DM. Thus, increased levels of IL-6 and TNFα in T2DM have a dual character – independent and conditioned by the presence of metabolic syndrome/obesity. It is obvious, that summary of both mechanisms for entering these cytokines in the circulation is occurred in T2DM+MS. Increased leptin level in patients with T2DM is the result of simultaneous presence of excess body weight. Decreased ADN level indicates that it performs the antidiabetic protective role on the body in T2DM and MS.

Keywords: immunity, type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome, obesity, interleukin-6, tumor necrosis factor alpha, leptin, adiponectin, peripheral blood.

Показатели внутрисердечной гемодинамики у больных сахарным диабетом 1 типа

Ю.Б. Бельчина^{1*},
Л.К. Соколова²

¹НМАПО им. П.Л. Шупика, г. Киев

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

Резюме. В статье представлены современные данные о частоте развития диабетической кардиомиопатии у больных сахарным диабетом 1 типа. Нами установлено, что у 2/3 молодых больных, страдающих сахарным диабетом 1 типа, отмечается субклиническая диастолическая дисфункция. Нарушение показателей гемодинамики появляется при длительности заболевания более 5 лет, и прогрессирует с увеличением его длительности более 10 лет. Тяжесть изменений диастолической функции зависит от продолжительности заболевания.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 типа, диабетическая кардиомиопатия, систолическая функция, диастолическая дисфункция.

К причинам, влияющим на развитие, течение и прогноз кардиальной патологии при сахарном диабете (СД), следует отнести нарушения метаболизма миокарда, свойственные этому заболеванию. Функциональные и морфофункциональные изменения в миокарде при СД вызваны развитием диабетической микро- и макроангиопатии, автономной нейропатии и метаболическими нарушениями. Функциональное состояние миокарда в значительной мере предопределяет течение и прогноз сердечно-сосудистых заболеваний. Оценка функции сердечной мышцы позволяет определить характер нарушений в миокарде, а значит и тактику дальнейшего ведения больных и прогноз заболевания [1-3].

Как известно, систолическая дисфункция миокарда проявляется нарушением способности сердечной мышцы сокращаться и выбрасывать кровь в аорту. Диастолическую дисфункцию миокарда определяют как невозможность левого желудочка принимать кровь под низким давлением и наполняться без компенсаторного увеличения давления в левом предсердии [3-5].

Материалы и методы

Оценка систолической и диастолической функции левого желудочка (ЛЖ) была проведена у 70 больных СД 1 типа (СД1) и у 30 лиц контрольной группы аналогичного возраста. Общее количество обследованных позволило выделить достаточное число групп, различающихся в зависимости от характера течения СД и его сосудистых осложнений, что необходимо для выявления основных закономерностей поражения миокарда при диабете.

* 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

Оригінальні дослідження

Принимая во внимание значение возраста в развитии атеросклероза и поражения миокарда, в исследование включены пациенты возрастной группы до 40 лет без признаков атеросклеротического поражения сосудов. Обследовано 70 пациентов СД 1 типа (средний возраст $28,8 \pm 0,7$ лет) с различной длительностью заболевания – от впервые выявленного до 28 лет (средняя продолжительность заболевания $13,4 \pm 1,7$ года), все пациенты находились в состоянии субкомпенсации.

В зависимости от длительности СД больные были распределены следующим образом:

- 1) от впервые выявленного до 5 лет – 12 больных (17,1%);
- 2) от 6 до 10 лет – 20 больных (28,6%);
- 3) более 10 лет – 38 больных (54,3%).

Исследование проводилось в дуплексном режиме (сочетание двухмерной ЭХОКГ и ДЭХОКГ), что дало возможность изучать последовательно митральный и трикуспидальный потоки крови и характеризовать наполнение обоих желудочков.

Для выявления дисфункции ЛЖ раньше предлагалось множество параметров диастолического трансмитрального спектра, однако в настоящее время в основном используются следующие информативные показатели: максимальная скорость раннего пика Е (early), максимальная скорость предсердной систолы А (atrial), соотношение Е/А, время замедления кровотока раннего диастолического наполнения ЛЖ - DT (deceleration time), время изоволюмического расслабления ЛЖ - IVRT.

У пациентов с нарушением диастолической функции ЛЖ наблюдаются различные типы графиков потока. Один из них связан с нарушением релаксации ЛЖ и характеризуется такими изменениями:

- 1) удлинением периода изоволюмической релаксации;
- 2) снижением скорости ранне-диастолического наполнения, при неизменной или возрастающей скорости потока вследствие систолы предсердий, соответственно уменьшается отношение Е/А;
- 3) удлинением времени замедления ранне-диастолического потока.

Другой тип графики потока, «рестриктивный», бывает у больных с симптоматикой застойной сердечной недостаточности или сниженной податливости ЛЖ. Для него характерны такие показатели:

- 1) короткий период изоволюмической релаксации (IVRT);
- 2) нормальная или повышенная скорость

ранне-диастолического наполнения – высокая волна Е;

3) сниженная или нормальная скорость наполнения вследствие систолы предсердия – снижена волна А;

4) укороченное время замедления ранне-диастолического наполнения (DT).

Систолическая функция ЛЖ у больных СД 1 оценивалась по следующим показателям: конечно-систолический объем (КСО), конечно-диастолический объем (КДО), ударный объем (УО), фракция выброса (ФВ), степень укорочения переднезаднего размера ЛЖ в систолу (FS) и скорость циркулярного укорочения волокон миокарда (Vcf). Ведущее значение среди них имеют: КСО, КДО, УО и ФВ. Для оценки сократимости миокарда ЛЖ используется еще два индекса сократительной способности миокарда ЛЖ: степень укорочения переднезаднего размера ЛЖ в систолу (FS) и скорость циркулярного укорочения волокон миокарда (Vcf). При снижении сократимости миокарда ЛЖ значения обоих индексов уменьшаются, при этом более чувствительным показателем считается скорость циркулярного укорочения миокарда (Vcf).

Результаты и их обсуждение

При анализе отношения пиковых показателей Е/А, где Е – ранний диастолический пик, А – второй пик, образующийся в поздней диастоле во время сокращения предсердий, изменений его величин у больных СД по сравнению с контрольной группой не выявлено. Так, в группе больных СД отношение Е/А составляло $1,55 \pm 0,14$, в контрольной группе – $1,49 \pm 0,03$ ($p > 0,05$). При сравнении показателей величины пика Е ($1,73 \pm 0,17$ м/с) с таковыми контрольной группы ($1,35 \pm 0,08$ м/с) и пика А ($1,46 \pm 0,19$ м/с) с контрольной группой ($0,9 \pm 0,08$ м/с) также не было выявлено достоверной разницы ($p > 0,05$).

При анализе показателей длительности периода изоволюмической релаксации (IVRT), который был равен у больных СД $102,29 \pm 2,18$ мс, в сравнении с таковым в контрольной группе $82,33 \pm 1,32$ мс ($p < 0,05$), и времени замедления (deceleration time, DT) ЛЖ ($225,87 \pm 6,21$ мс) с таковым у лиц контрольной группы ($195,17 \pm 3,66$ мс) отмечалось их достоверное ($p < 0,05$) увеличение в группе больных СД1.

В настоящее время выделяют 2 варианта нарушения диастолической функции ЛЖ. Первый вариант характеризуется увеличени-

ем пика А, что свидетельствует о нарушении релаксации ЛЖ. Другой тип графики потока – рестриктивный, который встречается у больных с более выраженным снижением податливости ЛЖ и характеризуется высоким пиком Е. Согласно данным рекомендациям выделения типов диастолической дисфункции, нами были сформированы 3 группы больных. Первая группа – пациенты с нормальными показателями – пиковые соотношения Е/А от 1,07 до 1,5 (n=24), вторая – пациенты с нарушениями релаксации, т.е. показатель Е/А ниже 1 (20 человек), и третья – с нарушениями по «рестриктивному» типу, когда пиковые соотношения Е/А превышают 1,5 (n=26) (рис. 1).

Изменения диастолической функции по рестриктивному типу, который относится к более выраженным изменениям внутрисердечной гемодинамики, наблюдался у больных с наибольшей продолжительностью заболевания ($17,6 \pm 1,95$ лет) (табл. 1).

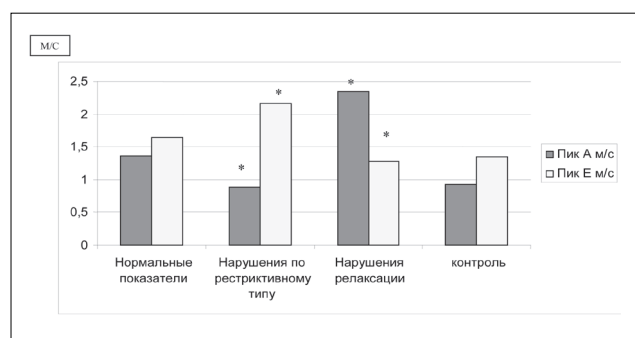
Таким образом, согласно нашим данным, у 46 (65,7%) из 70 больных СД 1 типа выявлены признаки диастолической дисфункции ЛЖ, которая в настоящее время является маркером диабетической (метаболической) кардиомиопатии (рис. 2).

При анализе показателей диастолической функции в зависимости от длительности заболевания (табл. 2) мы установили, что при сравнении показателей DT и IVRT достоверная разница с показателями контрольной группы выявлена в группах больных с длительностью заболевания СД от 6 до 10 лет и более 10 лет. Наиболее ранние достоверные изменения показателя DT выявлены у больных, страдающих СД более пяти лет. Интервал DT, который отражает скорость снижения градиента давления ЛП-ЛЖ, удлиняется при повышении давления в аорте и замедлении миокардиальной релак-

сации [2,4]. Таким образом, мы можем предположить, что данные изменения присутствуют уже в начале заболевания СД, хотя клинически не проявляются. IVRT левого желудочка определяется скоростью релаксации миокарда [5] и зависит от нагрузочных условий. Достоверное изменение IVRT отмечается у пациентов с длительностью заболевания СД более 5 лет.

Необходимо отметить, что нами выявлена достоверная разница всех показателей оценки диастолической функции: пика Е, А и их соотношения Е/А, IVRT, а также DT, по сравнению с контрольной группой, только у больных с длительностью заболевания более 10 лет.

Рисунок 1. Пиковые показатели в группе больных СД с различными видами диастолической дисфункции



Примечание: * - достоверность различий с показателями в контрольной группе ($p < 0,05$).

Рисунок 2. Частота диабетической кардиомиопатии у больных СД 1 типа

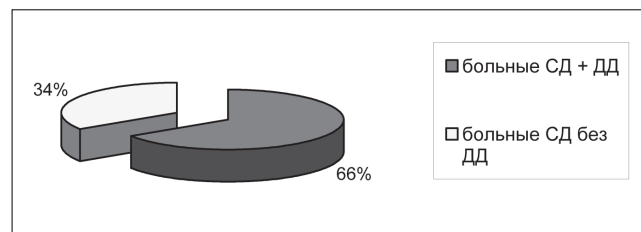


Таблица 1. Изменение пиков Е, А и Е/А у лиц с разной длительностью СД, М±m

	Нормальные показатели (группа 1) n=24	Нарушения релаксации (группа 2) n=20	Нарушения по рестриктивному типу (группа 3) n=26	Контроль
Длительность заболевания, годы	9,83±1,46	17,6±1,95	14,1±1,72	-
Пик А, м/с	1,36±0,09	2,34±0,13	0,88±0,14	0,92±0,07
	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	
Пик Е, м/с	1,64±0,11	1,28±0,13	2,16±0,11	1,35±0,08
	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$	
Е/А	1,24±0,04	0,55±0,05	2,85±0,23	1,49±0,03
	$p < 0,05$	$p < 0,05$	$p < 0,05$	

Примечание: $p < 0,05$ - достоверность различий с показателями в контрольной группе.

Оригинальні дослідження

Таблиця 2. Величини показателей диастолической функции ЛЖ у лиц с разной длительностью СД, М±m

Показатели ЭХО-КГ	Длительность заболевания			Контрольная группа (n=30)
	до 5 лет (n=12)	6-10 лет (n=20)	Более 10 лет (n=38)	
Е м/с	1,5±0,2	1,7±0,3	1,8±0,3	1,4±0,1
p	>0,05	>0,05	>0,05	
A м/с	1,0±0,1	1,3±0,2	1,7±0,1	0,9±0,1
p	>0,05	>0,05	<0,05	
E/A	1,54±0,32	1,32±0,12	1,08±0,2	1,50±0,03
p	>0,05	<0,05	<0,05	
DT мс	196,9±15,4	226,9±11,2	234,4±9,4	195,2±3,7
p	>0,05	<0,05	<0,05	
IVRT мс	87,5±5,7	99,3±4,6	107,9±2,4	82,3±1,3
p	>0,05	<0,05	<0,05	

Примечание: p<0,05 – достоверность различий с показателями в контрольной группе.

Таблиця 3. Показатели систолической функции сердца у обследуемых больных СД1 и у лиц контрольной группы, М±m

Показатели	СД+ДД (n=46)	СД без ДД (n=24)	Контроль (n=30)
КДО, мл	88,67±5,09*	109,35±4,21	112,50±4,86
КСО, мл	36,30±1,92	34,51±3,21	40,07±2,33
УО, мл	54,15±3,59*	60,04±3,01*	72,43±3,37
ФВ, %	61,43±2,50	63,05±0,15	64,54±0,01

Примечание: * - достоверность различий (p<0,05) с показателями в контрольной группе; СД – группа обследованных больных сахарным диабетом; СД+ДД – группа обследованных больных с сахарным диабетом и признаками диастолической дисфункции.

Мы предполагаем, что это происходит за счет псевдонормализации пиковых величин в связи с изменением пика E вследствие усугубления диастолической дисфункции и развития нарушений по рестриктивному типу.

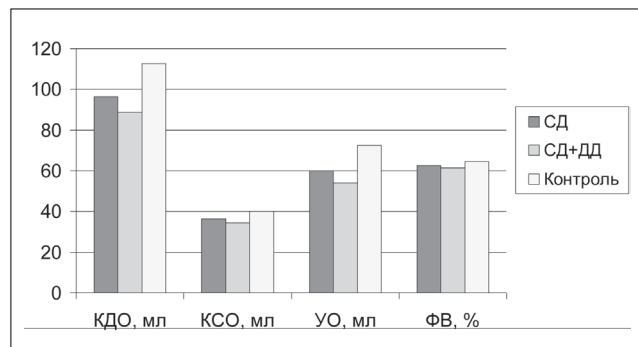
При анализе показателей систолической функции КСО и КДО у больных СД в сравнении с таковыми у лиц контрольной группы (КСО 35,69±1,67 мл и 40,07±2,33 мл, КДО 99,71±3,29 мл и 112,5±4,86 мл, соответственно) достоверной разницы не выявлено (p>0,05). Показатель УО у больных СД (60,02±2,35 мл) был снижен по сравнению с величинами в контрольной группе (72,43±3,37 мл) (p<0,05), но не выходил за пределы колебаний референтных значений. Показатель ФВ, который составлял у больных СД 62,10±1,14%, не отличался от величин контрольной группы (64,54±0,01%, p>0,05).

Анализируя величины показателей, характеризующих систолическую функцию ЛЖ в зависимости от наличия диастолической дисфунк-

ции, мы установили, что достоверное отличие в группе с признаками диастолической дисфункции имеют показатели КДО и УО, тогда как в группе без нарушений диастолической функции достоверно отличался от контрольной группы только один показатель УО (рис. 3).

Показатели конечно-систолических объемов существенно не отличались между группами сравнения и аналогичными показателями у лиц контрольной группы (табл. 3). Для показателей конечно-диастолического объема выявлена достоверная разница у больных с признаками кардиомиопатии, но все показатели не выходили за пределы референтных значений. При сравнении показателей ударного объема ЛЖ нами выявлена достоверная разница по сравнению с его значением в контрольной группе. УО у больных, страдающих СД с признаками диастолической дисфункции, был снижен и составил 54,15±3,59 мл, по сравнению с лицами контрольной группы (72,43±3,37 мл, p<0,05). ФВ была одинаковой в сравниваемых группах.

Также для более детальной оценки систолической функции ЛЖ сердца нами рассчитывались еще два показателя – индекс сократительной способности миокарда ЛЖ, отражающий степень укорочения переднезаднего размера ЛЖ в систолу (FS), и скорость циркулярного укорочения волокон миокарда (Vcf). Отмечено, что FS была ниже у больных СД – 34,3±0,5%, тогда как аналогичный показатель у лиц контрольной группы составлял 38,9±1,4%, (p<0,05). Это может свидетельствовать о снижении сократимости миокарда ЛЖ. Vcf была снижена в группе больных СД по сравнению с данным показателем у лиц группы контроля –

Рисунок 3. Показатели систолической функции ЛЖ у пациентов с СД с признаками диастолической дисфункции

СД – группа обследованных больных с сахарным диабетом без ДД; СД+ДД – группа обследованных больных с сахарным диабетом и признаками диастолической дисфункции.

Таблица 4. Показатели систолической функции сердца у обследуемых больных и у лиц контрольной группы, $M \pm m$

Показатели	СД+ДД (n=46)	СД (n=24)	контроль (n=30)
Vcf cir/s	1,01±0,04*	1,30±0,10 [#]	1,30±0,04
FS, %	32,87±0,94*	35,81±1,12 [#]	38,90±1,20

Примечания: * – достоверность различий с показателями в контрольной группе ($p < 0,05$); [#] – достоверность различий с показателями в группе СД и группе СД+ДД ($p < 0,05$).

1,13±0,03 cir/s и 1,30±0,04 cir/s, соответственно ($p < 0,05$).

При анализе показателей FS и Vcf в группах больных с признаками диастолической дисфункции также была выявлена достоверная разница обоих показателей. Степень укорочения переднезаднего размера ЛЖ в систолу и скорость циркулярного укорочения волокон миокарда у пациентов с кардиомиопатией (табл. 4) были ниже в сравнении с группой контроля и с группой больных без нарушения диастолической функции.

Эти изменения, по нашему мнению, связаны с дистрофическими изменениями в миокарде, в патогенезе которых имеют значение первичное нарушение метаболизма в кардиомиоците (обусловленное нарушением всех видов обмена); микроангиопатия, т.е. поражение мелких артерий миокарда, нейропатия, приводящая к нарушению регуляции сердечного ритма, а также снижение «податливости» миокарда ЛЖ, связанное с развитием интерстициального кардиосклероза и нарушением деятельности клеточных органелл, контролирующих транспорт ионов, особенно ионов Ca^{2+} [2].

Так как изменения показателей систолической функции больше проявляются в группе с признаками кардиомиопатии, дальнейшее изучение показателей систолической функции проводилось у больных с разными типами диастолической дисфункции (табл. 5).

Таблица 5. Показатели систолической функции сердца у обследуемых больных с различными типами диастолической дисфункции, $M \pm m$

Показатели	Нормальные показатели (группа 1) n=24	Нарушения релаксации (группа 2) n=20	Нарушения по рестриктивному типу (группа 3) n=26	Контроль
Vcf cir/s	1,31±0,07 $p > 0,05$	1,22±0,04 $p > 0,05$	1,00±0,05 $p < 0,05$	1,30±0,04
FS, %	34,50±1,10 $p > 0,05$	33,87 ±0,74 $p < 0,05$	32,74±0,65 $p < 0,05$	38,90±1,20

Примечание: * $p < 0,05$ достоверность различий с показателями в контрольной группе.

Выводы

1. Таким образом, наши данные свидетельствуют о том, что у двух третей молодых больных, страдающих сахарным диабетом 1 типа, имеются признаки субклинической диастолической дисфункции ЛЖ, которая, по данным различных исследований, является маркером развития метаболической кардиомиопатии. Тяжесть изменений диастолической функции зависит от продолжительности заболевания: нарушение диастолической функции миокарда появляется при длительности заболевания более 5 лет, и прогрессирует с увеличением его длительности более 10 лет.
2. Согласно полученным данным, начальные изменения систолической функции отмечаются у больных с диастолической дисфункцией по типу нарушения релаксации, а оба показателя, Vcf и FS, достоверно различались в группе больных с изменениями по рестриктивному типу, который является прогностически менее благоприятным и предшествует нарушениям систолической функции левого желудочка.
3. Наши данные свидетельствуют о том, что у больных сахарным диабетом 1 типа с признаками диастолической дисфункции развиваются начальные нарушения систолической функции, признаки которой более выражены у больных с диастолической дисфункцией по рестриктивному типу.
4. Выявлена зависимость выраженности диастолической дисфункции от длительности заболевания сахарным диабетом 1 типа, что указывает на необходимость изучения внутрисердечной гемодинамики у больных с длительностью заболевания более 5 лет.

Список использованной литературы

1. Бондар П.Н. Сердце при сахарном диабете // Пробл. эндокринологии. 1987, 33, 4, 77-81.
2. Литвиненко А.Ф., Зелинский Б.А. Диагностика и лечение патологии сердца при сахарном диабете (Методические рекомендации). Киев: Б. и., 1985. 18 с.
3. Фейгин М.Б. Диабетическая кардиопатия // Декомпенсация сердца. Ужгород, 1973. 147 с.
4. Aurigemma G.P., Gaasch W.H. Diastolic heart failure // N. Engl. J. Med. 2004, 351, 1097-1105.
5. Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю. Знакомьтесь: диастолическая сердечная недостаточность // Сердечная недостаточность. 2000, 1, 2, 40-44.
6. Алтунин А.В., Князева Л.И., Горайнов И.И. и др. Нарушение диастолической функции миокарда у больных ИБС с гипотиреозом различной тяжести // Фунд. исслед. 2005, 6, 81-84.
7. Амосова Е.Н. Актуальные вопросы лечения больных ишемической болезнью сердца в сочетании с сахарным диабетом // Укр. мед. часопис. 2001, 3, 29.
8. Зубкова С.Т. Поражение сердца при сахарном диабете // Здоров'я України 2003, №7 (68).

Надійшла 26.04.2013

Показники внутрішньосерцевої гемодинаміки у хворих на цукровий діабет 1 типу

Ю.Б. Бельчина¹, Л.К. Соколова²

¹Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика;

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

Резюме. У статті представлені сучасні дані про частоту розвитку діабетичної кардіоміопатії у хворих на цукровий діабет 1 типу. Нами встановлено, що у 2/3 молодих хворих, які страждають на ЦД 1 типу, відмічається субклінічна діастолічна дисфункція. Порушення показників гемодинаміки з'являється при тривалості ЦД понад 5 років, і прогресує зі збільшенням його тривалості більше 10 років. Тяжкість змін діастолічної функції залежить від тривалості захворювання.

Ключові слова: цукровий діабет 1 типу, діабетична кардіоміопатія, систолічна функція, діастолічна дисфункція.

Indices of intracardial hemodynamics in patients with type 1 diabetes mellitus

Yu.B. Belchina¹, L.K. Sokolova²

¹PL. Shupik National Medical Academy for Postgraduate Education;

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

Summary. The authors present modern data on the incidence of diabetic cardiomyopathy development in patients with type 1 diabetes. We have found that two thirds of young patients with type 1 diabetes have a subclinical diastolic dysfunction. Disturbances of hemodynamic parameters appear after five years of diabetes duration, and are progressing with increasing disease duration beyond 10 years. The severity of changes in diastolic function depends on diabetes duration.

Keywords: type 1 diabetes mellitus, diabetic cardiomyopathy, systolic function, diastolic dysfunction.

Исследование состояния гепатобилиарной системы и печеночного кровотока у больных сахарным диабетом с метаболическим синдромом

В.Н. Славнов¹,
Г.А. Зубкова^{2*},
А.В. Ковальчук²,
В.М. Рыбальченко²

¹ДУ Национальный научный центр «Институт кардиологии им. Н.Д. Стражеско» НАМН Украины;

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

Резюме. Приведены результаты исследования функционального состояния гепатобилиарной системы и печеночного кровотока с использованием динамической гепатобилисцинтиграфии у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) с метаболическим синдромом (МС). Обследовано 48 больных СД2 с МС тяжелой формы и средней тяжести в состоянии декомпенсации и компенсации, с ожирением 1 и 2-3 степени. Радионуклидные исследования выполняли на сцинтилляционной томографической гамма-камере ГКС 301 Т после внутривенного введения 1 МБк ^{99m}Tc-мезиды на 1 кг массы тела. Программа регистрации радиофармпрепарата предусматривала фиксацию 90 кадров с экспозицией 60 с, а также прием желчегонного завтрака на 60-й минуте исследования. У больных СД2 тяжелой формы с МС в состоянии декомпенсации установлено выраженное нарушение выделительной функции печени, концентрационной и двигательной функции желчного пузыря, у половины больных наблюдалась гипофункция сфинктера Одди. Не выявлены изменения поглотительной и выделительной функции печени, а также менее выраженные нарушения концентрационной функции желчного пузыря у больных СД2 средней тяжести с МС в состоянии компенсации. У больных СД2 с МС и ожирением 2-3 ст. установлены выраженные нарушения времени кардиопортального кровотока, достоверное замедление времени артериального притока и венозного оттока из печени.

Ключевые слова: метаболический синдром, сахарный диабет, гепатобилиарная система, печеночный кровоток, радионуклидные методы.

Метаболический синдром (МС) – симптомокомплекс объединенных между собой пато-

логических состояний (инсулинорезистентности, ожирения, нарушений углеводного и липидного обмена, артериальной гипертензии). Этот синдром не считается отдельной нозологической формой, но имеет важное значение для прогноза и терапии основного заболевания. МС принадлежит ведущая роль в патогенезе

* 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

Оригінальні дослідження

сахарного діабета 2 типу і серцево-судинних захворювань [1].

Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що радіонуклідні методи, завдяки їх високій чутливості і точності, дозволяють виявляти порушення гепатобіліарної системи у хворих СД на доклінічеської стадії, ще до появи змін клініко-лабораторних показувачів [2].

Ціллю проведеного дослідження являлось вивчення функціонального стану гепатобіліарної системи і печеночного кровотоку з використанням методу гепатобілісцинтиграфії і радіонуклідної ангиографії судин печені у хворих СД2 з МС.

Матеріали і методи

Під нашим спостереженням знаходились 48 хворих СД2 з МС і гіпертонічної хворобою II стадії (середній вік 54,2±1,6 років). У 22 хворих проведено дослідження функції гепатобіліарної системи, а у 26 хворих – стану печеночного кровотоку. Групу порівняння складали 20 практично здорових осіб такого ж віку.

Радіонуклідні дослідження стану гепатобіліарної системи і печеночного кровотоку виконували на сцинтиляційній томографічеської гамма-камері ГКС 301 Т СКТБ «Орізон» з низькоенергетичським коліматором загального призначення. Запис радіодіагностичеської інформації проводили з допомогою програми «Antics», обробку інформації – з використанням програмного пакету «Spect Works».

Для дослідження гепатобіліарної системи використовували радіофармацевтичеський препарат (РФП) мезида виробництва фірми «Радиофармацевт», який змішували за 30 хвилин до введення з ^{99m}Tc -пертехнетатом натрія. Об'єктом дослідження вивчали внутривенно вводили 1 МБк ^{99m}Tc -мезиди на 1 кг маси тіла. Програма передбачує неперервну фіксацію 90 кадрів з експозицією 60 с, а також прийом всередину стандартного желчогонного завтрака на 60-й хвилині дослідження. Отримана інформація піддається комп'ютерній обробці з допомогою стандартних програм з визначенням зон інтереса – печені, серця, желчного бульбика, кишечника, а також фону.

В якості критеріїв оцінки функціонального стану гепатобіліарної системи використовували: час максимального накоплення РФП в печені (Т макс., мин.); час початку виведення РФП з печені (Т нач. вивед., мин.);

час напіввиведення РФП з печені (Т1/2, мин.); час початку візуалізації желчного бульбика (Т нач. візуал., мин.); показувач концентраційної (КФЖ) і моторної (МФЖ) функції желчного бульбика; час початку вливу РФП в кишечник (Т киш.). Оцінку стану печеночного кровотоку здійснювалось за наступними критеріями: часу кардіопортального кровотоку; часу артеріального притоку; часу венозного відтоку і відносительної венозної ємкості.

Результати і їх обговорення

Нами обстежено 12 хворих СД2 важкої форми з МС, індекс маси тіла у яких складав 37,1±3,0 кг/м², що свідчало про наявність у них ожиріння 2-3 ст. [3] (середній вік – 54,6±2,8 років). У цих хворих не виявлено порушення поглинацької функції паренхіматозних клітин печені, на що вказує відсутність достовірних змін величини максимального накоплення РФП в печені в порівнянні з контрольною групою. Разом з тим, у них встановлено виражене порушення вивідальньої функції паренхіматозних клітин, про що свідчує достовірне збільшення часу напіввиведення радіонукліда з печені (табл. 1).

У хворих СД2 важкої форми з МС спостережались значительні зміни як концентраційної, так і моторної функції желчного бульбика. Порушення концентраційної функції підтверджуються достовірним зниженням середньої величини показувача КФЖ на 60 хвилині і збільшенням часу початку візуалізації желчного бульбика (табл. 2). Зменшення показувача КФЖ встановлено у 8 з 12 обстежених, а у 3-х хворих КФЖ був в межах норми. Виявлено також уповільнення часу візуалізації желчного бульбика в порівнянні з контрольною групою. Зміни моторної функції бульбика спостережались у 10 з 12 обстежених хворих з важкої формою СД, що вказує на наявність дискинезії желчного бульбика. У 8 хворих виявлено гіпомоторні дискинезії (показувач МФЖ менше 35%), а у 2-х хворих – гіпермоторні дискинезії (показувач МФЖ більше 55%). У 6 з 12 обстежених спостережували раннє вливу РФП в кишечник, що обумовлено гіпофункцією сфинктера Одди.

У хворих СД середньої тяжкості з МС, вік яких складав 53,8±2,0 років, індекс маси тіла був достовірно збільшений (30,3±0,7 кг/м²) по порівнянню з контрольною групою.

Таблица 1. Радионуклидные показатели функционального состояния печени у больных СД 2 типа с метаболическим синдромом

Группа обследованных	Т макс. (мин.)	Т нач. вывед. (мин.)	Т ½ (мин.)
Контрольная (n=12)	16,7±1,3	19,1±1,3	37,1±1,0
Больные СД с МС, тяжелая форма (n= 12)	17,8±2,3 p>0,5	27,5±3,5 <0,02	53,9±3,1 <0,001
Больные СД с МС, средней тяжести (n=10)	15,0±1,6 p>0,2 p ₁ >0,2	21,4±1,7 >0,2 >0,5	44,8±5,3 <0,02 >0,1
Больные СД с МС, стадия декомпенсации (n=12)	18,4±2,3 p>0,2	28,6±3,8 <0,01	53,0±3,1 <0,001
Больные СД с МС, стадия компенсации (n=10)	15,6±1,6 p>0,5 p ₂ >0,2	22,9±4,7 >0,2 <0,01	46,0±5,3 >0,1 >0,2
Больные СД с МС и ожирением 1 ст. (n=13)	15,7±1,4 p>0,5	19,5±1,1 >0,5	45,9±4,0 <0,05
Больные СД с МС и ожирением 2-3 ст. (n=9)	19,4±3,2 p>0,2 p ₃ >0,2	22,9±4,7 >0,2 >0,2	56,1±3,6 <0,001 <0,05

Примечание: здесь и в табл. 2 p – достоверность различий по сравнению с контрольной группой; p₁ – достоверность различий по сравнению с больными с тяжелой формой СД; p₂ – достоверность различий по сравнению с больными в стадии декомпенсации СД; p₃ – достоверность различий по сравнению с больными с ожирением 1 ст.

Таблица 2. Радионуклидные показатели функционального состояния желчного пузыря у больных СД 2 типа с метаболическим синдромом

Группа обследованных	КФЖ (относительные ЕД)	Т нач. визуализ. (мин.)	Т латент. (мин.)	Т макс. (мин.)	МФЖ (%)
Контрольная (n=8)	12,9±0,5	11,2±0,8	10,9±0,9	46,9±14,0	48,6±2,0
Больные СД с МС, тяжелая форма (n=12)	8,0±1,3 p<0,01	17,1±1,4 <0,001	13,1±3,0 >0,2	62,5±5,3 >0,2	27,6±8,2 <0,02
Больные СД с МС, средней тяжести (n=10)	5,9±1,2 p<0,001 p ₁ >0,2	27,6±6,6 >0,2 >0,1	14,4±2,8 >0,2 >0,5	59,0±8,5 >0,2 >0,5	39,9±10,0 >0,2 >0,2
Больные СД с МС, стадия декомпенсации (n=12)	6,8±1,5 p<0,01	20,7±5,4 <0,05	13,7±3,0 >0,2	62,7±5,3 >0,2	27,0±7,7 <0,01
Больные СД с МС, стадия компенсации (n=10)	7,5±1,7 p<0,01 p ₂ >0,5	23,1±3,0 <0,001 >0,5	13,6±2,9 >0,2 >0,5	58,7±9,2 >0,2 >0,5	40,5±10,6 >0,2 >0,2
Больные СД с МС, ожирение 1 ст. (n=13)	7,3±1,3 p<0,001	25,1±5,0 <0,02	12,6±2,4 >0,5	62,6±6,9 >0,2	32,1±8,0 <0,05
Больные СД с МС, ожирение 2-3 ст. (n=9)	6,7±2,1 p<0,05 p ₃ >0,5	16,6±1,9 <0,02 >0,1	13,4±3,8 >0,5 >0,5	58,3±6,3 >0,2 >0,5	34,5±10,5 >0,2 >0,2

нению с контрольной группой, что свидетельствует о наличии ожирения 1 ст. Состояние поглотительной функции паренхиматозных клеток печени у них не отличалось от такового в контрольной группе. Время полувыведения РФП из печени у 5 из 10 обследованных оставалось в пределах нормы, а у других 5 больных было увеличено. Функциональное состояние желчного пузыря у этих больных, судя по показателю КФЖ и времени начала визуализации желчного пузыря, было нарушено. Средний

показатель МФЖ достоверно не отличался от нормы, но у 5 больных выявлены гипомоторные и еще у 5 – гипермоторные дискинезии.

У 12 из 22 обследованных больных СД с МС установлено состояние декомпенсации диабета. У больных в состоянии декомпенсации время максимального накопления РФП в печени достоверно не отличалось от такового в контрольной группе, а выделительная функция паренхиматозных клеток печени была существенно нарушена, о чем свидетельствует зна-

чительное увеличение времени полувыведения РФП из печени. У этих больных выявлено нарушение как концентрационной, так и моторной функции желчного пузыря, на что указывает уменьшение средних показателей КФЖ и МФЖ. Концентрационная функция снижена у 10 из 12 обследованных. У 8 больных установлена гипомоторная, а у 3 больных – гипермоторная дискинезия. Гипофункция сфинктера Одди выявлена у 5 больных с декомпенсацией СД.

В состоянии компенсации СД обследовано 10 больных (уровень гликемии натощак у них составлял менее 7 ммоль/л и менее 10 ммоль/л после приема пищи), а уровень гликолизированного гемоглобина менее 7% [4]. У больных этой группы не установлено изменений как поглотительной, так и выделительной функции паренхиматозных клеток печени. Время максимального накопления и время полувыведения РФП достоверно не отличалось от таковых в контрольной группе. В то же время выявлено нарушение функции желчного пузыря, о чем свидетельствует достоверное снижение показателя КФЖ и увеличение времени начала визуализации желчного пузыря. Средний показатель МФЖ не был изменен, но у 5 больных выявлены гипомоторные и еще у 5 – гипермоторные дискинезии. У 5 больных с компенсацией СД наблюдалась гипофункция сфинктера Одди.

У 13 больных СД с МС выявлено ожирение 1 ст., а у 9 – ожирение 2-3 ст. У больных с ожирением 1 ст. (индекс массы тела $30,3 \pm 0,7$ кг/м²) не установлено нарушения поглотительной функции паренхиматозных клеток печени, выделительная функция печени у этих больных замедлена. У 6 из 13 обследованных время полувыведения не было изменено, а у 7 больных этот показатель значительно повышен. Функциональное состояние желчного пузыря у этих больных было нарушено, о чем свидетельствует снижение КФЖ и МФЖ. Показатель КФЖ был снижен у 8 больных из 13. Моторная функция желчного пузыря при ожирении 1 ст. сни-

жена у всех больных. У 9 больных наблюдалась гипомоторная, а у 4 – гипермоторная дискинезия. У 9 из 13 обследованных диагностирована гипофункция сфинктера Одди, на что указывает раннее поступление РФП в кишечник (до приема желчегонного завтрака).

У больных СД с ожирением 2-3 ст. поглотительная функция паренхиматозных клеток печени не нарушена, а экскреторная функция значительно замедлена у всех больных. Концентрационная функция желчного пузыря достоверно снижена, показатель КФЖ был снижен у 6 из 9 больных. Установлено также достоверное замедление визуализации желчного пузыря. Моторная функция желчного пузыря не нарушена, но у 4 больных выявлена гипомоторная, а у 2 – гипермоторная дискинезия. У 3 больных наблюдалась гипофункция сфинктера Одди.

У больных СД с МС и ожирением 1-3 ст. выявлены выраженные нарушения кардиопортального кровотока, на что указывает увеличение времени прохождения РФП магистральными сосудами организма (табл. 3).

Мы не выявили достоверных изменений времени артериального притока, венозного оттока и относительной венозной емкости у больных СД с МС и ожирением 1 ст. У больных СД с МС и ожирением 2-3 ст. достоверно замедлено время артериального притока и венозного оттока. Установлено, что нарушения активности гепатоцитов у больных СД с МС были более выражены, чем изменения кровоснабжения печени.

Резистентность периферических тканей к инсулину считают центральным звеном патогенеза СД 2 типа, а нарушение толерантности к глюкозе является одной из патогенетических характеристик ожирения, которое рассматривают как связь между инсулинорезистентностью и СД. Нарушение действия инсулина в печени характеризуется отсутствием его ингибирующего влияния на процессы глюконеогенеза, что способствует повышению продукции глюкозы печенью. Абдоминальная жировая ткань

Таблица 3. Радионуклидные показатели печеночного кровотока у больных СД с МС

Группа обследованных	Время кардиопортального кровотока, с	Время артериального притока, с	Время венозного оттока, с	Относительная венозная емкость
Контрольная (n=8)	27,4 ± 0,7	16,6 ± 1,2	3,5 ± 0,4	0,21 ± 0,02
Больные СД с МС, ожирение 1 ст. (n=13)	37,6 ± 1,3 p < 001	18,0 ± 1,3 > 0,2	3,5 ± 0,4 > 0,5	0,19 ± 0,01 > 0,2
Больные СД с МС, ожирение 2-3 ст. (n=13)	39,4 ± 1,3 p < 0,001	21,0 ± 1,3 < 0,05	4,5 ± 0,4 < 0,05	0,21 ± 0,01 > 0,2

Примечание: p – достоверность различий по сравнению с контрольной группой.

обладает высокой метаболической активностью, она является богатым источником свободных жирных кислот (СЖК), которые поступают в портальную систему печени.

В печени под влиянием СЖК ухудшается связывание инсулина с рецепторами гепатоцита, что усиливает инсулинорезистентность на уровне печени, приводит к снижению утилизации инсулина печенью и угнетает ингибирующий эффект гормона на печеночный глюконеогенез [1,5,6]. Патогенез развития жировой дистрофии печени у больных СД типа 2 и ожирения связан с действием СЖК. В тканях печени этих больных выявлено увеличение содержания СЖК, что может быть причиной нарушения функционального состояния печени. СЖК химически очень активны и могут повреждать биологические мембраны печени, они влияют на синтез липопротеидов в печени, приводят к повышению липопротеидов низкой плотности и триглицеридов, что в свою очередь сопровождается снижением уровня липопротеидов высокой плотности [5-7]. Клиническими, эпидемиологическими и биохимическими исследованиями установлена связь неалкогольного ожирения печени с печеночными проявлениями МС [8,9]. Диагностика МС имеет важное клиническое значение, поскольку это состояние является обратимым и при эффективном лечении можно достичь уменьшения выраженности основных проявлений МС [10].

Выводы

1. Использование радионуклидных методов диагностики состояния гепатобилиарной системы и печеночного кровотока позволяет выявлять нарушения этих функций у больных сахарным диабетом с метаболическим синдромом с целью назначения адекватного патогенетического лечения.
2. У больных сахарным диабетом 2 типа с метаболическим синдромом в состоянии декомпенсации установлены выраженное нарушение экскреторной функции печени, концентрационной и моторной функции желчного пузыря, гипомоторные и гипермоторные дискинезии, а также гиподискинезия сфинктера Одди.
3. Не выявлены изменения поглотительной и выделительной функции печени, а также менее выраженные нарушения концентрационной и моторной функции желчного пузыря у больных сахарным диабетом 2 типа средней тяжести с метаболическим синдромом и в состоянии компенсации.
4. У обследованных больных при наличии ожирения 2-3 степени установлены выраженные нарушения кардиопортального кровотока, достоверное замедление времени артериального притока и венозного оттока из печени.

Список использованной литературы

1. Тронько М.Д., Лучицький Є.В., Паньків В.І. Ендокринні аспекти метаболічного синдрому // К.: Київ – Чернівці, 2005. 185 с.
2. Славнов В.М., Савич О.А., Марков В.В. Радіонуклідні дослідження функціонального стану гепатобілярної системи у хворих на цукровий діабет // Укр. радіол. журн. 2002, 10, №4, 383-388.
3. Duran-Sandoval D., Cariou B., Fruchart J.C. et al. Potential regulatory role of the farnesoid X receptor in the metabolic syndrome // Biochimie. 2005, 87, N1, 93-98.
4. Marchesini G., Marzochi R., Agostini F. et al. Nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome // Curr. Opin. Lipidol. 2005, 16, N4, 421-427.
5. Буеверов А.О. Жирная печень: причины и последствия // Практикующий врач. 2002, № 1, 36-38.
6. Степанов Ю.М., Филиппова А.Ю. Современные взгляды на патогенез, диагностику и лечение неалкогольного стеатогепатита // Сучасна гастроентерологія. 2004, 15, №1, 17-24.
7. Berge R.K., Tronstad K.J., Berge K. et al. The metabolic syndrome and hepatic fatty acid drainage hypothesis // Biochimie. 2005, 87, N1, 15-20.
8. Мітченко О.І. Патогенетичні основи метаболічного синдрому // Нова медицина. 2004, 3 (14), 20-24.
9. Ефимов А.С., Скробонская Н.А. Клиническая диабетология // К.: Здоров'я, 1998. 320 с.
10. Смирнова І.П. Ожиріння // Нова медицина. 2004, 3(14), 17-19.

Надійшла 15.03.2013

Дослідження стану гепатобілярної системи та печінкового кровотоку у хворих на цукровий діабет із метаболічним синдромом

**В.М. Славнов¹, Г.А. Зубкова², А.В. Ковальчук²,
В.М. Рибальченко²**

¹ДУ Національний науковий центр «Інститут кардіології ім. М.Д. Стражеска» НАМН України;

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

Резюме. Наведені результати дослідження функціонального стану гепатобілярної системи та печінкового кровотоку за допомогою динамічної гепатобілісцинтиграфії у хворих на цукровий діабет 2 типу з метаболічним синдромом (МС). Обстежено 48 хворих із МС та ЦД 2 типу. Радіонуклідні дослідження виконувались на сцинтиляційній томографічній гамма-камері ГК 301 Т після

Оригінальні дослідження

внутрішньовенного введення 1 МБк ^{99m}Tc -мезіди на 1 кг маси тіла. Програма реєстрації РФП передбачає фіксацію 90 кадрів з експозицією 60 с, а також прийом жовчогінного сніданку на 60-й хвилині дослідження. У хворих на ЦД 2 типу тяжкої форми з МС у стані декомпенсації встановлено порушення видільної функції печінки, концентраційної та евакуаторної функції жовчного міхура, у половини хворих спостерігалась гіпофункція сфінктера Одді. Не виявлено змін поглинальної і видільної функції печінки, а також незначне порушення концентраційної функції жовчного міхура у хворих на ЦД 2 типу середньої тяжкості з МС у стані компенсації. У хворих на ЦД 2 типу з МС та ожирінням 2-3 ст. встановлено виражене порушення часу кардіопортального кровотоку, вірогідне уповільнення часу артеріального притоку і венозного відтоку із печінки.

Ключові слова: метаболічний синдром, цукровий діабет, гепатобіліарна система, печінковий кровоток, радіонуклідні методи.

Study of the status of hepatobiliary system and hepatic blood flow in diabetes mellitus patients with metabolic syndrome

V.N. Slavnov¹, G.A. Zubkova², A.V. Kovalchuk²,
V.M. Rybalchenko²

¹State Institution "N.D. Strazhesko Institute of Cardiology, Natl Acad. Med. Sci. of Ukraine";

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

Summary. The authors present the results of investigation of the functional state of hepatobiliary system and hepatic blood flow using the method of dynamic hepatobiliscintigraphy in patients with type 2 diabetes mellitus (DM) with metabolic syndrome (MS). 48 patients with severe and moderate forms of type 2 DM with MS at

decompensation and compensation stages with degree 1 and 2-3 obesity, have been followed up. Radionuclide investigations were carried out on a scintillation tomographic gamma-camera "GKS 301 T" after intravenous administration of 1 MBq of ^{99m}Tc -meside per 1 kg of body weight. The protocol of registration of radiopharmaceutical preparation provided for recording 90 images with 60 sec exposure, as well as a cholagogue breakfast taken at minute 60 of the test. In patients with severe form of type 2 DM with MS at decompensation stage, a marked disturbance of liver excretory function, concentrating and motor function of the gallbladder has been established; half the patients showed a hypofunction of Oddi sphincter. No changes in absorptive and excretory function of the liver have been revealed, and disturbances of concentrating function of the gallbladder were less pronounced in patients with moderate form of type 2 DM with MS at compensation stage. In patients of type 2 DM with MS and degree 2-3 obesity a marked alteration of the time of cardiportal blood circulation was reported, as well as a significant decrease in arterial afflux to and venous drainage from the liver.

Keywords: metabolic syndrome, diabetes mellitus, hepatobiliary system, hepatic blood flow, radionuclide investigations.

Порушення продукції моноцитарного хемоатрактантного протеїну у хворих із діабетичною нефропатією

І.І. Топчій*,
П.С. Семенових,
В.Ю. Гальчінська,
Ю.С. Якименко

ДУ «Інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України»

Резюме. Встановлено, що у хворих із діабетичною нефропатією (ДН) вже на початкових стадіях захворювання спостерігається суттєве зростання рівня моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 (МХП-1) у плазмі крові порівняно з контролем. Прогресування захворювання супроводжується подальшим зростанням концентрації МХП-1 у крові хворих із пізніми стадіями діабетичної нефропатії. Виявлене підвищення концентрації МХП-1 у плазмі крові хворих ДН може бути маркером розвитку запальних і склеротичних змін у нирковій тканині і обумовлює більш активне застосування в цієї категорії хворих специфічної протизапальної терапії.

Ключові слова: моноцитарний хемоатрактантний протеїн-1, діабетична нефропатія.

В останні кілька десятиліть цукровий діабет (ЦД) прийняв масштаби всесвітньої неінфекційної епідемії. Основною причиною інвалідизації та смертності хворих на діабет є ангіопатії. Діабетична нефропатія (ДН) – специфічне ураження нирок при ЦД – одна з найчастіших причин розвитку термінальної ниркової недостатності, симптоматичної артеріальної гіпертонії і, як наслідок, інвалідизації і смертності хворих [1]. В останні роки питання щодо механізмів розвитку ДН, розробки нових методів діагностики й адекватного лікування цього захворювання є сферою інтенсивних досліджень нефрологів усього світу.

Згідно з сучасною теорією прогресування ДН, імунна активація і системне запалення є маркерами несприятливого прогнозу і високого ризику розвитку хронічної ниркової недостатності [2]. Проникнення імунокомпетентних клітин, а саме моноцитів/макрофагів у клубочки має місце вже на ранніх стадіях ДН та вносить безпосередній внесок у розвиток гломерулярних уражень [2,3]. Макрофаги сприяють структурним змінам гломерул внаслідок гіперпродукції протеолітичних ферментів та факторів росту, викликають ремоделювання клубочків та порушення їх функції [4]. Одним з агентів, що сприяє надходженню моноцитів із кровоносного русла в ниркову тканину та їх акумуляції, є моноцитарний хемоатрактантний протеїн-1 (МХП-1). МХП-1 – це потужний хемокін, який проявляє найбільш виразний хемотаксичний ефект

* адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України», пр. Леніна, 4, м. Харків, 61022, Україна; e-mail: zdovado@ukr.net

Оригінальні дослідження

щодо моноцитів і Т-лімфоцитів. Окрім забезпечення трансміграції циркулюючих моноцитів у тканини, МХП-1 характеризується цілим спектром ефектів на ці клітини, який включає як індукцію секреції супероксид-аніона та цитокінів, так і стимуляцію експресії адгезивних молекул. Біосинтез МХП-1 відбувається в моноцитах, ендотеліальних, мезангіальних і гладком'язових клітинах під впливом цитокінів і окислених ліпопротеїдів низької щільності [5]. Нещодавно було показано, що останні присутні в значній кількості в крові хворих на ЦД та здатні істотно стимулювати продукцію МХП-1 ендотеліальними клітинами. В експериментальних роботах із моделювання стрептозотоцин-індукованого ЦД у щурів було показано, що розвиток ДН супроводжується посиленням експресії МХП-1 мезангіальними клітинами. При дослідженні цього хемокину в організмі людини було виявлено значне збільшення його концентрації в плазмі крові хворих із початковими ознаками нефропатії при ЦД 1 типу. Важливо, що підвищення гломерулярної експресії МХП-1 було виявлене при різних нефропатіях. Зокрема в останніх дослідженнях виявлено зростання продукції МХП-1 при люпус-нефриті, різних формах гломерулонефриту і нирковій недостатності [6]. F. Chiarelli вказує, що біосинтез МХП-1 при нирковій патології значно зростає під впливом прозапальних інтерлейкінів, що спричиняє моноцитарну інфільтрацію гломерул [7]. Дослідження МХП-1 при патології нирок визначають його важливу роль у реакціях запалення і прогресуванні ренальної дисфункції, але кількість робіт стосовно ЦД дуже обмежена. Крім того, роботи, присвячені МХП-1, в основному мають експериментальний характер, і лише поодинокі дослідження стосуються оцінки його клінічного значення. Щодо вивчення ролі даного медіатора в патогенезі ДН, то подібні дослідження в доступній літературі нечисленні і відомості, представлені в них, досить суперечливі. Отже, вивчення вмісту МХП-1 у хворих із різними стадіями ДН, з одного боку, розширить сучасні уявлення про патофізіологічні механізми розвитку цього захворювання, а з іншого – може мати науково-практичне значення, що дозволить визначати тактику лікування хворого й прогнозувати динаміку розвитку патологічного процесу.

У зв'язку з вищевикладеним, метою дослідження було визначення вмісту МХП-1 у пе-

риферичній крові хворих на ЦД 2 типу з ДН різного ступеня тяжкості.

Матеріали та методи

Під спостереженням знаходилося 76 хворих на ЦД 2 типу з ДН різного ступеня тяжкості. Хворі перебували на обстеженні та лікуванні у відділі нефрології ДУ «Інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України». Серед обстежених було 36 чоловіків і 40 жінок, середній вік пацієнтів – $54,3 \pm 9,2$ роки.

Діагноз і стадію ДН було встановлено відповідно до класифікації Mogensen С.Е. (1983 р.) на підставі загальноклінічних методів обстеження: клінічних аналізів крові і сечі, глікемічного профілю, визначення мікроальбумінурії, протеїнурії, визначення рівня креатиніну і сечовини в крові і сечі, ультразвукового дослідження паренхіми нирок, вимірювання артеріального тиску.

Хворі були розподілені на групи залежно від ступеня ураження нирок. Так, у першу групу включено 41 особу з початковими доклінічними стадіями захворювання – ДН I-III стадій за Mogensen. Друга група складалася з 35 хворих із вираженими клінічними проявами ураження нирок: протеїнурією та порушенням азотовидільної функції – ДН IV-V стадій. Контрольна група складалася із 10 практично здорових осіб.

Із дослідження виключали осіб із декомпенсацією ЦД, наявністю первинної патології нирок (сечокам'яної хвороби, інфекцій сечовивідних шляхів, уроджених аномалій сечовивідних шляхів і нирок), важкими захворюваннями печінки, злоякісними захворюваннями, захворюваннями системи крові.

Дослідження мікроальбумінурії проводили з використанням тест-смужок «Мікроальбуфан» («Pliva-Lachema Diagnostika», Чехія). Визначення протеїнурії проводили методом Робертса-Стольнікова.

Функцію нирок оцінювали з урахуванням швидкості клубочкової фільтрації, яку обчислювали за формулою Кокрофта.

Концентрацію МХП-1 визначали методом імуноферментного аналізу з використанням тест-системи виробництва фірми «INVITROGEN» (США). В якості індикаторного ферменту застосовували пероксидазу хрону. Діапазон концентрацій, що вимірюються, становив від 0 до 1000 нг/мл.

Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерних програм «SPSS 13», «Microsoft Excel 2000». Статистичні гіпотези про різницю середніх перевіряли, використовуючи непараметричний критерій Манна-Уїтні. Вірогідними вважали розбіжності при $p < 0,05$. Дані представлені як середнє значень, що вимірювали у двох паралельних пробах (M), і стандартна помилка (m).

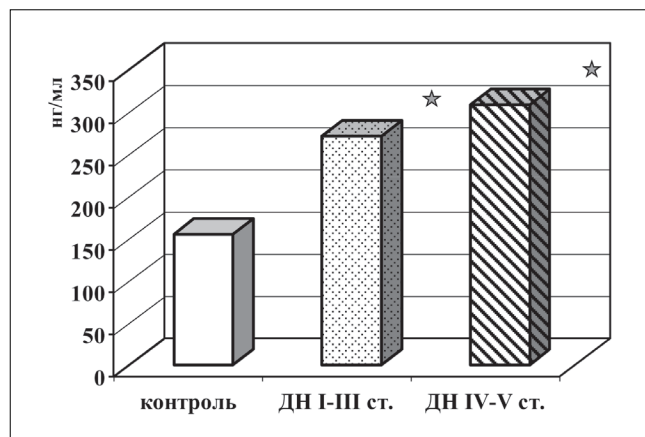
Для оцінки міри залежності між вибірками також використовували непараметричні методи статистики (коефіцієнт рангової кореляції Спірмена).

Результати та їх обговорення

Як показали результати дослідження, при ДН вже на початкових стадіях захворювання, коли клінічні ознаки хвороби ще не були виражені, суттєво (на 76%) зростає рівень МХП-1 у плазмі крові хворих порівняно з контролем. Так, рівень даного медіатора у хворих із ДН I-III стадій становив $272,18 \pm 20,32$ нг/мл й $155,12 \pm 16,42$ нг/мл, відповідно (рис.).

Прогресування захворювання супроводжувалось ще більшим зростанням досліджуваного агента в крові хворих із вираженими клінічними проявами ураження нирок: протеїнурією та нирковою недостатністю (ДН IV-V стадій). Зокрема в даній групі вміст МХП-1 у плазмі крові зростає на 98% порівняно з контролем і становив $309,94 \pm 26,48$ нг/мл. Таке суттєве зростання МХП-1 у групі хворих із пізніми стадіями ДН ймовірно є наслідком тривалого запального процесу в нирках та активації моноцитарної ланки імунітету. Крім того, суттєве

Рисунок. Рівні МХП-1 у плазмі крові хворих та здорових донорів



Примітка. * – вірогідно порівняно з контролем (здорові донори), $p < 0,05$.

значення в зростанні рівня МХП-1 може мати вплив цілої низки факторів прогресування ДН: гіпертонії, протеїнурії та азотемії. Зокрема останнє знайшло підтвердження при проведенні кореляційного аналізу.

Так, було виявлено достовірний кореляційний зв'язок між ступенем протеїнурії та рівнем МХП-1 у плазмі крові хворих (табл.). Даний факт вказує на те, що протеїнурія, як патологічний чинник прогресування захворювання, сприяє розвитку запальних процесів у нирках та судинному руслі шляхом впливу на продукцію МХП-1. Цей хемокин, у свою чергу, також може запускати каскад запальних реакцій та посилювати екскрецію протеїну нирками.

У нашому дослідженні встановлено прямий кореляційний зв'язок рівня креатиніну в крові та зворотний кореляційний зв'язок швидкості клубочкової фільтрації з концентрацією МХП-1. Виявлені зв'язки свідчать, що рівень останнього певною мірою відображає функціональний стан нирок та може бути використаний як доповнення до традиційних методів обстеження хворих.

Отримані нами результати узгоджуються з даними [8], згідно з якими продукція МХП-1 підвищується при ДН. У цілому, аналіз літератури показав, що кількість даних відносно ролі МХП-1 при ДН досить нечисленна, а більшість робіт носить експериментальний характер. Підвищені рівні МХП-1 спостерігаються при інсулінрезистентних станах, асоційованих з ожирінням, гіпертензією і діабетом [5,6]. Крім того, зростання МХП-1 є невід'ємною ознакою порушення ниркової функції при моделюванні ЦД, гіпертонії та нефропатії у експериментальних тварин [9,10]. На клітинних моделях показано, що продукти прискореного глікозування стимулюють продукцію МХП-1 мезангіальними клітинами нирок. У хворих на інсулінзалежний ЦД концентрація МХП-1 у сечі корелювала з рівнями альбумінурії та глікозильованого гемоглобіну [8]. На даний час про-

Таблиця. Кореляційні взаємозв'язки рівня МХП-1 з основними показниками функціонального стану нирок у хворих на ДН

Показник	Коефіцієнт кореляції, r	Вірогідність, p
Протеїнурія, г/л	+ 0,62	< 0,05
Креатинін, мкмоль/л	+ 0,74	< 0,01
ШКФ, мл/хв./1,73м ²	- 0,56	< 0,05

Оригінальні дослідження

водяться інтенсивні пошуки зв'язку розвитку ДН із МХП-1, але отриманих результатів ще недостатньо.

Особливої уваги заслуговує той факт, що ДН є захворюванням, для якого документально підтверджено зворотний розвиток експансії мезангіального матриксу у випадках успішної трансплантації підшлункової залози або трансплантації діабетичної нирки реципієнту без діабету. Не виключено, що зниження активності МХП-1 може сприяти не тільки уповільненню прогресування захворювання нирок, але навіть може ініціювати його регресію.

Важливі результати отримані в кількох експериментальних роботах, виконаних на трансгенних тваринах. Показано, що гризуни з генетично детермінованим дефіцитом або відсутністю МХП-1 та його рецептора CCR2 значно менше схильні до розвитку процесів запалення та ниркового склерозу і фіброзу, ніж тварини з незміненим генотипом. У численних експериментальних моделях було виявлено, що хронічний гломерулонефрит, ЦД, токсична нефропатія в МХП-дефіцитних тварин супроводжувались меншими склеротичними змінами в нирках та менш вираженою альбумінурією порівняно зі звичайними тваринами. Отже, багатий експериментальний досвід підтверджує важливу роль МХП-1 у патогенезі нефропатій [5,9].

Таким чином, беручи до уваги власні результати та з оглядом на досвід інших дослідників, можна впевнено говорити про МХП-1 як про потужний хемокін, що бере безпосередню участь у патогенезі ДН. Блокада даного медіатора запалення є важливим підходом до пошуку нових терапевтичних заходів, які впливатимуть на прогресування ниркових уражень при ЦД.

Отримані результати дослідження переконливо свідчать про доцільність використання такого показника цитокінового спектру крові як рівень МХП-1 в якості об'єктивного критерію активності запального процесу ДН та контролю ефективності терапії.

Висновки

1. У хворих на цукровий діабет із ДН вже на початкових стадіях хвороби виявлено суттєве підвищення рівня МХП-1 у плазмі крові на 76% порівняно з контролем, що призводить до активації моноцитів та може

сприяти розвитку запальних та склеротичних процесів у нирках.

2. Прогресування захворювання супроводжується виразнішим (на 99%) зростанням МХП-1 у крові хворих на ДН із вираженими клінічними проявами ураження нирок (протеїнурія та ниркова недостатність) порівняно з контролем.
3. Встановлено прямий кореляційний зв'язок концентрації МХП-1 із рівнями альбуміну в сечі й креатиніну в крові та зворотний кореляційний зв'язок зі швидкістю клубочкової фільтрації.
4. Виявлене збільшення концентрації МХП-1 у плазмі крові хворих на ДН може бути маркером виникнення і розвитку запальних та склеротичних змін у нирковій тканині та обумовлює більш активне застосування в даній категорії хворих специфічної проти-запальної терапії.

Список використаної літератури

1. Дудар І.О., Мюнталь О.М. Діабетична нефропатія та фактори її прогресування // Укр. журн. нефрол. діал. 2006, № 1(8), 35-38.
2. Eddy A.A. Progression in chronic kidney disease // *Adv. Chronic Kidney Dis.* 2005, 12, 353-365.
3. Williams T.M., Little M.H., Ricardo S.D. Macrophages in renal development, injury, and repair // *Semin. Nephrol.* 2010, 30(3), 255-267.
4. Vernon M.A., Mylonas K.J., Hughes J. Macrophages and renal fibrosis // *Semin. Nephrol.* 2010, 30(3), 302-317.
5. Tesch G.H. MCP-1/CCL2: a new diagnostic marker and therapeutic target for progressive renal injury in diabetic nephropathy // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2008, 294, 697-701.
6. Giunti S., Barutta F., Perin P.C., Gruden G. Targeting the MCP-1/CCR2 System in diabetic kidney disease // *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2010, 8(6), 849-860.
7. Chiarelli F., Cipollone F., Mohn A. et al. Circulating monocyte chemoattractant protein-1 and early development of nephropathy in type 1 diabetes // *Diabetes Care.* 2002, 25, 1829-1834.
8. Takebayashi K., Matsumoto S., Aso Y., Inukai T. Association between circulating monocyte chemoattractant protein-1 and urinary albumin excretion in nonobese Type 2 diabetic patients // *J. Diabetes Complications.* 2006, 20(2), 98-104.
9. Chow F.Y., Nikolic-Paterson D.J., Ma F.Y. et al. Monocyte chemoattractant protein-1-induced tissue inflammation is critical for the development of renal injury but

not type 2 diabetes in obese db/db mice // *Diabetologia*. 2007, 50, 471-480.

10. Matsushita Y., Ogawa D., Wada J. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor delta inhibits streptozotocin-induced diabetic nephropathy through anti-inflammatory mechanisms in mice // *Diabetes*. 2011, 60(3), 960-968.

Надійшла 12.03.2013

Нарушение продукции моноцитарного хемоаттрактантного протеина у больных с диабетической нефропатией

И.И. Топчий, П.С. Семеновых, В.Ю. Гальчинская, Ю.С. Якименко

ГУ «Институт терапии им. Л.Т. Малой НАМН Украины»

Резюме. Установлено, что у больных диабетической нефропатией (ДН) уже на начальных стадиях болезни имеет место существенное повышение уровня МХП-1 в плазме крови в сравнении с контролем. Прогрессирование заболевания сопровождается дальнейшим ростом концентрации МХП-1 в крови больных с поздними стадиями ДН. Выявленное повышение концентрации МХП-1 в плазме крови больных ДН может быть маркером развития воспалительных и склеротических изменений в почечной тка-

ни и обуславливает более активное применение у данной категории больных специфической противовоспалительной терапии.

Ключевые слова: моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1, диабетическая нефропатия.

Disturbances in monocyte chemoattractant protein production in patients with diabetic nephropathy

I.I. Topchij, P.S. Semenovych, V.Yu. Galchinskaya, Yu.S. Yakimenko

State Institution "L.T. Malaya Institute of Therapy, Natl Acad. Med. Sci of Ukraine"

Summary. Our data showed that diabetic nephropathy (DN) is accompanied by significant growth of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in blood plasma of patients with the initial stages of the disease. Progressing of the disease went along with the further increase of MCP-1 concentration in patients with advanced stages of DN. The revealed increase of MCP-1 blood plasma level in patients with DN may be a marker of inflammatory and sclerotic changes in renal tissue and causes more active application of specific anti-inflammatory therapy for these patients.

Keywords: monocyte chemoattractant protein-1, diabetic nephropathy.

Стан екстра- та інтракраніального кровотоку у хворих на цукровий діабет 2 типу

Я.А. Саєнко^{1*},
А.В. Коваленко²,
Б.М. Маньковський¹

¹ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»;

² ДУ «Інститут ядерної медицини та променевої діагностики НАМН України»

Резюме. З метою дослідження стану церебрального кровообігу у хворих на цукровий діабет 2 типу (ЦД2) було обстежено 53 хворих (16 чоловіків і 37 жінок, середній вік $55,4 \pm 1,1$ років, тривалість захворювання $9,1 \pm 0,9$ років) та 50 осіб, відповідних за віком та статтю, без цукрового діабету та клінічних ознак цереброваскулярної патології. Дослідження здійснювали за допомогою методу екстра- та транскраніальної доплерографії, що дозволяє оцінити лінійні параметри кровотоку та функції центральних механізмів регуляції. У хворих на ЦД2 виявлено вірогідне зниження швидкості екстракраніального кровотоку в загальній і внутрішній сонних артеріях, а також у середній мозковій артерії. Результати дослідження свідчать про погіршення стану церебрального кровотоку у хворих на ЦД2, що може бути одним із чинників ризику розвитку гострих та хронічних порушень мозкового кровообігу.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, церебральний кровообіг, внутрішні сонні артерії, середня мозкова артерія.

Профілактика цереброваскулярних захворювань (ЦВЗ) є актуальною медико-соціальною проблемою, що обумовлено широкою розповсюдженістю, високим рівнем смертності та інвалідації хворих, які перенесли інсульт. Так, за даними МОЗ, в Україні за рік реєструють близько 110 тис. мозкових інсультів, з яких близько 40 тис. закінчуються летально [1]. На жаль, за рівнем смертності внаслідок інсульту

Україна посідає перше місце серед країн Європи [2]. Крім того, інсульт посідає перше місце серед причин стійкої втрати працездатності. Витрати на лікування, медичну реабілітацію, втрати у сфері виробництва наносять великі збитки економіці країни. Тому основним завданням на сучасному етапі є зниження цереброваскулярної захворюваності та надання своєчасної ефективної медичної допомоги, адже близько 80% нових випадків інсульту можна уникнути, якщо приділяти належну увагу профілактичним заходам та освітній роботі серед населення [3]. За даними багатьох досліджень, цукровий діабет (ЦД), незважаючи на наявність і вираженість у хворих традиційних чин-

* 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

ників ризику (артеріальної гіпертензії, дисліпідемії, миготливої аритмії), вважають встановленим важливим незалежним фактором ризику виникнення ЦВЗ, а саме, гострих і хронічних порушень мозкового кровообігу, транзиторних ішемічних атак, судинної деменції [4].

За даними Міжнародної федерації діабету 2011 року, кількість хворих на ЦД у світі досягла рекордної цифри – 366 мільйонів, а у 2030 році становитиме 552 мільйони. Не менш актуальною є ця проблема і в Україні: за офіційними статистичними даними, у країні нараховується майже 1,2 млн хворих на ЦД [5]. Проте епідеміологічними дослідженнями встановлено, що фактична поширеність ЦД 2 типу перевищує зареєстровану у 2-3 рази. Хронічна гіперглікемія при ЦД викликає пошкодження, дисфункцію та розвиток недостатності різних органів: очей, нирок, нервової системи, серця і кровоносних судин [6,7]. Близько 80% хворих на ЦД мають артеріальну гіпертензію (АГ), що в 6-10 разів підвищує ризик виникнення інфаркту міокарда та мозкового інсульту [8,9].

Разом із тим, механізми розвитку ЦВЗ у хворих на ЦД вивчені недостатньо. Сучасний етап розвитку ангіоневрології характеризується значним зростанням фундаментальних досліджень щодо вивчення патогенетичних механізмів розвитку порушень мозкового кровообігу [10]. Одним із пріоритетних напрямків є дослідження різних чинників ризику розвитку судинних захворювань головного мозку, одним із яких є ЦД [11]. На нашу думку, одним із можливих патогенетичних чинників розвитку ЦВЗ у таких хворих може бути зниження церебрального кровотоку.

У роботах як вітчизняних, так і зарубіжних дослідників достатньою мірою вивчені гострі порушення мозкового кровообігу у хворих на ЦД, але меншою – хронічні порушення мозкового кровотоку.

Отже, метою нашої роботи стало дослідження стану церебрального кровообігу у хворих на ЦД2.

Матеріали та методи

Для досягнення поставленої мети ми обстежили 53 хворих на ЦД 2 типу (із них чоловіків – 16, жінок – 37). Середній вік пацієнтів становив $55,4 \pm 1,1$ років. Середня тривалість захворювання дорівнювала $9,1 \pm 0,9$ років. Групу контролю склали 50 осіб, відповідних за віком та статтю, без ЦД та клінічних ознак цереброваскулярної патології. 5 (9,4%) хворих на ЦД2 не отримували цукрознижувальної терапії, оскільки в них для контролю глікемії ефективним було

дотримання раціонального харчування та наявність фізичних навантажень; 28 (52,8%) хворих отримували пероральні цукрознижувальні препарати; 20 (37,7%) хворих перебували на інсулінотерапії. Глікозильований гемоглобін становив $9,2 \pm 0,3\%$. Артеріальний систолічний та діастолічний тиск на день обстеження хворих становив $136,5 \pm 2,5 / 86,8 \pm 1,6$ мм. рт.ст. відповідно. Дані представлені як похибка середнього \pm середнє відхилення.

Усім обстеженим хворим було проведено клінічне, біохімічне дослідження, електрокардіографію (ЕКГ), капіляроскопію (КПС), реографію (РВГ) та консультації спеціалістів суміжного профілю – окуліста, невропатолога. У 20 (37,7%) хворих на ЦД2 діагностовано наявність діабетичної ретинопатії, у 28 (52,8%) осіб – нефропатію I-V стадій (за класифікацією по Могенсену), у 53 (100%) хворих діагностовано діабетичну мікроангіопатію нижніх кінцівок та в 30 (56,6%) діабетичну макроангіопатію нижніх кінцівок 1 та 2 стадії, діагноз периферичної невропатії встановлений у 50 (94,3%) хворих. 24 (45,3%) хворих мали гіпертонічну хворобу.

У день обстеження хворі не приймали напоїв, що містять кофеїн (кава, чай), α - та β -адреноблокатори, трициклічні антидепресанти з метою попередження впливу цих засобів на показники церебрального кровотоку.

Пацієнти, яких обстежували, в анамнезі не мали порушень мозкового кровообігу, інфаркту міокарда, вроджених вад серця, новоутворень головного мозку та його оболонок, аномалій розвитку судин, вроджених захворювань судин (фібромаскулярна дисплазія), хвороб крові (еритремія, лейкози), хронічних обструктивних захворювань легень.

У день дослідження пацієнтам не рекомендували палити, із роз'ясненням їм можливого негативного впливу паління на результати обстеження.

Дослідження здійснювали за допомогою методу екстра- та транскраніальної доплерографії, що дозволяє оцінити лінійні параметри кровотоку та функції центральних механізмів регуляції, на приладі Elegra SIEMENS (США). Показники церебральної гемодинаміки, а саме, середньої за часом пікової систолічної швидкості кровотоку, визначали в загальній та внутрішній сонних артеріях, хребцевій та середньо-мозковій артеріях. Під час дослідження екстракраніального кровотоку використовували лінійний датчик із частотою 7,5 МГц. Для дослідження інтракраніального кровотоку використовується транскраніальний датчик із частотою 2,5 МГц і дослідження виконується

Оригінальні дослідження

через трансстемпоральний доступ у лежачому положенні пацієнта, голова повернута в бік, протилежний досліджуваному [12,13].

При застосуванні доплерографії ми не виявили гемодинамічно значимих стеноклюдивних уражень екстра- та інтракраніальних судин головного мозку в групі контролю.

Статистичний аналіз даних здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel із використанням критерію t Стьюдента та визначення показника вірогідності різниці p. Різниця вважалась вірогідною за $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

При вивченні показників екстракраніального кровотоку в загальній сонній артерії відмічалось вірогідне зниження швидкості кровотоку. Так, за результатами дослідження, у хворих на ЦД2 швидкість кровотоку в правій та лівій загальній сонній артерії (ЗСА) становила $40,9 \pm 0,9$ см/с та $41,8 \pm 0,8$ см/с, відповідно, тоді як у групі контролю цей показник становив у правій ЗСА – $45,7 \pm 1,3$ см/с, у лівій ЗСА – $46,5 \pm 1,3$ см/с ($p < 0,01$) (рис. 1).

Швидкість кровотоку у внутрішній сонній артерії (ВСА) хворих на ЦД становила $49,5 \pm 1,1$ см/с та $50,8 \pm 1,0$ см/с відповідно у правій та лівій ВСА, тоді як у групі контролю – $57,4 \pm 1,3$ см/с у правій ВСА та $58,0 \pm 1,3$ см/с у лівій ВСА ($p < 0,01$). Дані представлені на рис. 2.

Показники швидкості кровотоку в хребцевій артерії у хворих на ЦД вірогідно не відрізнялись від таких у контрольній групі, та становили: у хворих на ЦД – $27,6 \pm 0,5$ см/с та $28,9 \pm 0,5$ см/с, і в групі контролю – $28,3 \pm 1,0$ см/с та $28,6 \pm 0,9$ см/с у правій та лівій артеріях відповідно.

При виконанні дослідження ми встановили, що у хворих на ЦД 2 типу середня швидкість кровотоку в середньо-мозковій артерії (СМА) становила $105,37 \pm 0,73$ см/с та $104,95 \pm 0,72$ см/с у правій та лівій СМА відповідно, та була вірогідно нижчою від такої в групі контролю: $117,37 \pm 2,02$ см/с у правій та $118,04 \pm 2,01$ см/с – у лівій СМА ($p < 0,01$). Дані представлені на рис. 3.

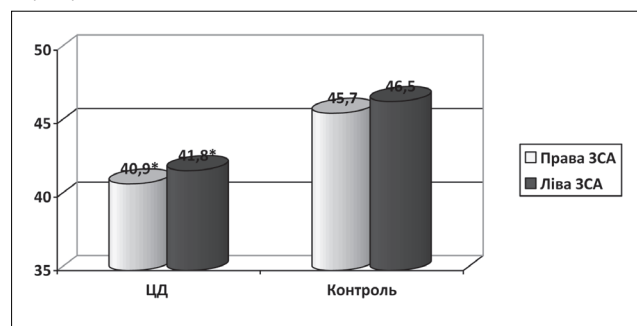
Даний показник свідчить про зниження швидкості кровотоку в головному мозку хворих на ЦД2. Крім того, у судинах хворих даної групи виявлялись атеросклеротичні бляшки неоднорідної структури з фокусами кальцифікації. Гемодинамічно значимих стенозів (до 30 % звуження просвіту артерій) і суттєвої асиметрії кровотоку в обох групах досліджуваних виявлено не було.

Таким чином, за допомогою доплерівсько-

го дослідження середньо-мозкової артерії, загальної та внутрішньої сонних артерій головного мозку ми виявили зниження швидкості церебрального кровотоку у хворих на ЦД 2. Це може свідчити про виснаження цереброваскулярних резервів і зрив механізмів авторегуляції, а також розвиток хронічної недостатності церебрального кровотоку у хворих на ЦД 2.

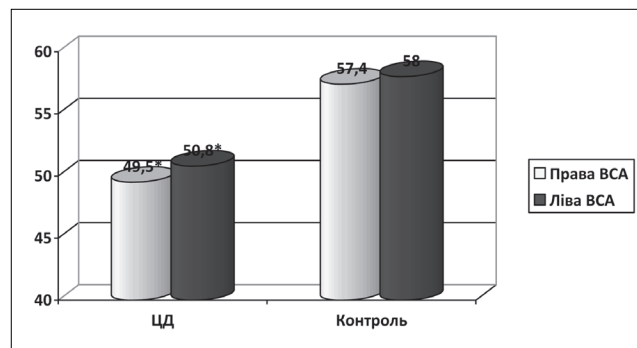
Як показано в нашому дослідженні, у таких хворих розвиваються серйозні зміни кровотоку в екстра- та інтракраніальних судинах головного мозку. Адже одним з основних ускладнень гі-

Рисунок 1. Швидкість кровотоку в загальній сонній артерії, см/с



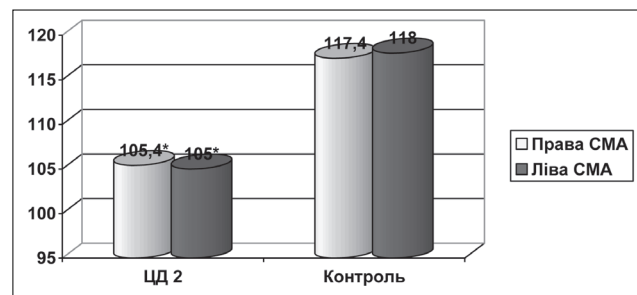
* – різниця порівняно з групою контролю вірогідна ($p < 0,05$).

Рисунок 2. Швидкість кровотоку у внутрішній сонній артерії, см/с



* – різниця порівняно з групою контролю вірогідна ($p < 0,05$).

Рисунок 3. Швидкість кровотоку в середньо-мозковій артерії, см/с



* – різниця порівняно з групою контролю вірогідна ($p < 0,05$).

перглікемії є мікро- та макросудинні пошкодження судинної сітки [14,15]. Деякі автори пояснюють такі зміни розвитком пізніх судинних ускладнень. Характерним для діабетичних ангіопатій є зниження швидкісних показників та підвищення індексів периферичного опору в дистальних відділах магістральних артеріальних судин [16].

Разом із тим, питанням профілактики інсульту у хворих на ЦД зазвичай приділяється менше уваги порівняно з ішемічною хворобою серця, гострим коронарним синдромом, що, на наш погляд, не є обґрунтованим. Крім того, нині майже відсутні відповідні інвазивні методи корекції атеросклеротичного ураження церебральних судин.

Необхідно звернути увагу, що, незважаючи на те, що корекція гіперглікемії є обов'язковою вимогою в лікуванні ЦД, до сьогоднішнього дня немає доказів можливості зменшення ризику інсульту за рахунок досягнення нормоглікемії [17,18].

Таким чином, профілактика розвитку порушень мозкового кровотоку – одне з найважливіших завдань лікування хворих на ЦД. Слід відмітити необхідність жорсткого контролю артеріального тиску (АТ), так як в усіх завершених на сьогодні дослідженнях було доведено, що зниження АТ є найефективнішим підходом до попередження інсультів у хворих на ЦД [19-21].

Висновки

1. Швидкість екстракраніального кровотоку у хворих на цукровий діабет 2 типу є вірогідно нижчою в загальній та внутрішній сонних артеріях порівняно з особами контрольної групи.
2. У хворих на цукровий діабет 2 типу відмічається зниження швидкості кровотоку в середній мозковій артерії порівняно з групою здорових осіб.
3. Погіршення стану церебрального кровотоку може бути одним із чинників ризику розвитку гострих та хронічних порушень мозкового кровообігу у хворих на цукровий діабет 2 типу.

Список використаної літератури

1. Волошин П.В., Мищенко Т.С., Лекомцева Є.В. Аналіз поширеності та захворюваності на нервові хвороби в Україні // *Международ. неврол. журн.* 2006, № 3, 9-15.
2. Зозуля І.С. Епідеміологія цереброваскулярних захворювань в Україні // *Укр. мед. часопис.* 2011, № 5 (85), 48-54.
3. Маньковський Б.М. Інсульти у хворих на цукровий діабет // *Судинні захворювання головного мозку.* 2006, № 3, 33-36.

4. Mankovsky B. Stroke prevention in patients with diabetes mellitus // *Diabetes.* 2010, 2, 1.
5. Тронько М.Д., Чернобров А.Д. Основні показники діяльності ендокринологічної служби України за 2011 рік. К., 2012, 33 с.
6. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the adjustment of therapy // *Diabetes Care.* 2006, 29, 1963-1972.
7. Zimmet P., Alberti K.G. Global and societal implications of the diabetes epidemic // *J. Shaw Nature.* 2001, 414, 6865, 782-787.
8. Мищенко Т.С., Перцева Т.С. Сахарный диабет и хронические нарушения мозгового кровообращения // *Международ. неврол. журн.* 2009, № 3 (25), 57-66.
9. Guidelines for diabetes care. A desktop guide to type 2 diabetes mellitus // *Eur. Diabetes Policy Group.* – 2010.
10. Kaplar M., Paragh G., Erdei A. et al. Changes in cerebral blood flow detected by SPECT in type 1 and type 2 diabetic patients // *J. Nucl. Med.* 2009, 50, 12, 1993-1998.
11. Brundel M., van den Berg E., Reijmer Y.D. et al. Cerebral haemodynamics, cognition and brain volumes in patients with type 2 diabetes // *Diab. Complications.* 2012, 26, 3, 205-209.
12. Лелюк В.Г., Лелюк С.Э. Методика ультразвукового исследования сосудистой системы: технология сканирования, нормативные показатели (методическое пособие). М., 2002. 39 с.
13. Лелюк В.Г., Лелюк С.Э. Основы клинической интерпретации данных ультразвуковых ангиологических исследований (методическое пособие). М., 2005. 40 с.
14. Дедов И.И. Сахарный диабет: развитие технологий в диагностике, лечении и профилактике (плерная лекция) // *Сахарный диабет.* 2010, № 3, 6-13.
15. Эндокринология: национальное руководство: учеб. пособие для системы послевуз. проф. образования врачей / под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 1064 с.
16. Silvestrelli G., Lanari A., Paciaroni M. et al. Prevalence of stroke subtypes in patients with diabetes mellitus // *Cerebrovasc. Dis.* 2005, 19, Suppl. 2, 67.
17. Kim Y.S., Davis S.C., Truijen J. et al. Intensive blood pressure control affects cerebral blood flow in type 2 diabetes mellitus patients // *Hypertension.* 2011, 57, 4, 738-745.
18. Kim J.S., Nah H.W., Park S.M. et al. Risk factors and stroke mechanisms in atherosclerotic stroke: intracranial compared with extracranial and anterior compared with posterior circulation disease // *Stroke.* 2012, 43, 12, 3313-3318.
19. Всемирное руководство по сахарному диабету 2-го типа // *Укр. мед. вісник.* 2006, 4, 5-11.
20. IDF diabetes atlas. – 4th ed. Brussels, Belgium, 2009. 101 p.
21. Poretzky L. Principles of diabetes mellitus. New York: Springer, 2010, 3-14.

Надійшла 5.04.2013

Состояние экстра- и интракраниального кровотока у больных сахарным диабетом 2 типа

Я.А. Саенко¹, А.В. Коваленко², Б.Н. Маньковский¹

¹ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»; ²ГУ «Институт ядерной медицины и лучевой диагностики НАМН Украины»

Резюме. С целью исследования состояния мозгового кровообращения у больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) было обследовано 53 больных (16 мужчин и 37 женщин, средний возраст $55,4 \pm 1,1$ лет, продолжительность заболевания $9,1 \pm 0,9$ лет) и 50 человек, соответствующих по возрасту и полу, без сахарного диабета и клинических признаков цереброваскулярной патологии. Исследования проводили с помощью метода экстра- и транскраниальной доплерографии, позволяющий оценить линейные параметры кровотока и функции центральных механизмов регуляции. У больных СД2 выявлено достоверное снижение скорости экстракраниального кровотока в общей и внутренней сонных артериях, а также в средней мозговой артерии. Результаты исследования свидетельствуют об ухудшении состояния церебрального кровотока у больных СД2, что может быть одним из факторов риска развития острых и хронических нарушений мозгового кровообращения.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, мозговое кровообращение, внутренние сонные артерии, средняя мозговая артерия.

State of extra- and intracranial blood flow in patients with type 2 diabetes mellitus

Ya.A. Sayenko¹, A.V. Kovalenko², B.M. Mankovsky¹

¹State Institution "V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Natl Acad. Med. Sci. of Ukraine"; ²State Institution «Institute of Nuclear Medicine and Diagnostic Radiology, Natl Acad. Med. Sci. of Ukraine»

Summary. To study cerebral blood flow in patients with type 2 diabetes mellitus (DM), 53 patients (including 16 males and 37 females, median of age: 55.4 ± 1.1 years) were followed up. The control group consisted of 50 persons matched by age and gender without DM and clinical signs of cerebrovascular disease. The average disease duration was 9.1 ± 0.9 years. The method of extra- and transcranial Dopplerography has been used in the follow-up, allowing to estimate the linear parameters of blood flow and functions of central mechanisms of regulation, using a device Elegra SIEMENS (USA). The statistical analysis was performed by Microsoft Excel using Student's t test. The study showed a reduction in the speed of extracranial blood flow, which was significantly lower ($p < 0.01$) in common and internal carotid arteries, and a decrease in blood flow velocity in the middle cerebral artery in patients with type 2 DM compared with a group of healthy individuals. Thus, the results of examination indicate a deterioration of cerebral blood flow in patients with type 2 DM, which may represent one of the risk factors of development of acute and chronic disorders of cerebral circulation.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, cerebral blood flow, internal carotid artery, middle cerebral artery.

Фактори ризику розвитку діабетичної полінейропатії за даними нейрометричного дослідження

Г.В. Гарницька,
Б.М. Маньковський*

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

Резюме. Впровадження в клінічну практику методу нейрометрії дозволяє більш об'єктивно кількісно охарактеризувати стан нервових волокон та виявити діабетичну полінейропатію на ранніх, доклінічних, стадіях. Наше дослідження довело, що у хворих на цукровий діабет має місце зниження чутливості всіх обстежених нервових волокон, яке прямо пропорційно пов'язано з тривалістю захворювання, залежить від віку, статі пацієнта та виду цукрознижувальної терапії. Можна стверджувати, що ураження різних чутливих нервових волокон при цукровому діабеті має певний взаємозв'язок з усіма факторами, які нами були вивчені.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична полінейропатія, нейрометрія, поріг сприйняття струму.

Соціально-економічне значення проблеми діабетичної полінейропатії (ДПНП), одного з розповсюджених ускладнень цукрового діабету (ЦД), обумовлює актуальність розробки нових ефективних підходів до її діагностики та лікування.

ДПНП є найчастішим ускладненням ЦД. Залежно від методів діагностики частота її виявлення у хворих на ЦД коливається від 24 до 90% [1], але чітко корелює з тривалістю захворювання і неухильно зростає з його прогресуванням [2]. Реєструються як клінічно виражені, так і субклінічні варіанти ДПНП. У кожного 4-го хворого має місце симптоматична ДПНП [3-5].

До факторів ризику розвитку ДПНП відносять тривалість власне захворювання, рівень та значні коливання глікозильованого гемоглобіну, дисліпідемію, високий індекс маси тіла (ІМТ), альбумінурію, артеріальну гіпертензію та паління [6-8]. Проте дані щодо впливу різних факторів на розвиток і прогресування ДПНП залишаються контроверсійними.

Впровадження в клінічну практику методу нейрометрії дозволяє більш об'єктивно кількісно охарактеризувати стан нервових волокон та виявити ДПНП на ранніх, доклінічних, стадіях.

Мета нашого дослідження полягала у вивченні факторів ризику розвитку ДПНП, яка діагностується за допомогою методу нейрометрії.

Матеріали та методи

В обстеженні взяли участь 1000 хворих на ЦД, із них 150 (15%) пацієнтів, хворих на ЦД 1 типу (ЦД1), і 850 (85%) – із ЦД 2 типу

* 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

(ЦД2), та 130 здорових осіб. Від усіх пацієнтів була отримана письмова інформована згода на участь у дослідженні. Серед хворих на ЦД було 270 (27%) чоловіків та 730 (73%) жінок. Середній вік хворих на ЦД1 становив $36,1 \pm 9,1$ років, а пацієнтів із ЦД2 – $63,5 \pm 7,9$ роки. ІМТ дорівнював $27,9 \pm 3,3$ кг/м. Тривалість захворювання з моменту встановлення діагнозу становила в середньому $11,7 \pm 3,5$ років. Середні показники HbA_{1c} – $7,95 \pm 1,58\%$.

Усі пацієнти були розподілені за віком (молодші за 29 років, 30-44 роки, 45-59 років, 60-74 та старші за 75 років), статтю (чоловіки та жінки), типом діабету (1 та 2 тип), його тривалістю (до 5, 5-10 та більше 10 років) та видом терапії, що застосовується для лікування хворих на ЦД2. Хворі з ЦД2 в якості цукрознижувальних препаратів отримували: пероральні цукрознижувальні препарати (ПЦЗП) – 64%, інсулін – 19,5%, інсулін і ПЦЗП – 2,5%, 14% хворих не отримували терапію і знаходились на дієті. Розподіл пацієнтів за цією ознакою при ЦД1 не мав сенсу, зважаючи на те, що на сьогодні відсутня альтернатива інсулінотерапії для лікування ЦД1.

Функцію периферійних чутливих нервів в усіх пацієнтів досліджували методом нейрометрії (визначення середнього значення порогу сприйняття струму – ПСС), що дозволяє вивчити функцію периферійних чутливих нервів: волокон А β , А δ та С, на які припадає понад 90% усіх периферичних нервових волокон. Дослідження проводили на апараті «Нейротрон Інк.» (Neurotron), Балтімор, США. Метод нейрометрії нещодавно був запропонований для кількісного аналізу розладів периферійного нерва за допомогою вимірювання порогів чутливості при стимулюванні постійним струмом. Стимуляція електричним струмом відповідної частоти викликає відповідь певної субпопуляції сенсорних (чутливих) нервів: висока частота подразнюючого сигналу викликає стимуляцію великих мієлінізованих (А β), а більш низькі частоти стимулюють малі мієлінізовані (А δ) та малі немієлінізовані волокна (С). Нейрометрія є ефективним діагностичним методом для оцінки нейропатії, і за її допомогою можна розпізнавати різноманітні розлади нервового волокна в одному пучку [9]. Прилад генерує імпульси електричного струму різної інтенсивності (від 0,01 до 9,99 мА) та за допомогою пари позолочених електродів, роз-

міщених на великому пальці ноги, передає ці імпульси до волокон периферійного чутливого нерва. Пацієнта просять вказати час, коли він відчує електричний імпульс, що й визначає поріг сприйняття електричного струму пацієнтом. Постійний вихідний струм гарантує високо відтворювані показники, на які не впливає товщина шкіри, її температура або набряк [10].

Статистичну обробку проводили після створення бази даних в системі Microsoft Excel. Порівняння показників ПСС кожного чутливого волокна в різних групах пацієнтів, що обстежувались, проводили за допомогою парного двохвибіркового t-тесту. Розбіжності вважалися вірогідними за значення $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Визначення середнього значення ПСС при обстеженні різних чутливих волокон у групах хворих на ЦД1 і ЦД2 та в групі здорових осіб показало, що висока подразнююча частота сигналу 2000 та 250 Гц викликає стимуляцію мієлінізованих волокон А β та А δ , а сигнал частотою 5 Гц стимулює немієлінізоване волокно С. Результати обстеження наведені в **табл.**

Вищі значення ПСС при обстеженні на всіх частотах спостерігалися в групах хворих на ЦД обох типів, ніж в осіб контрольної групи.

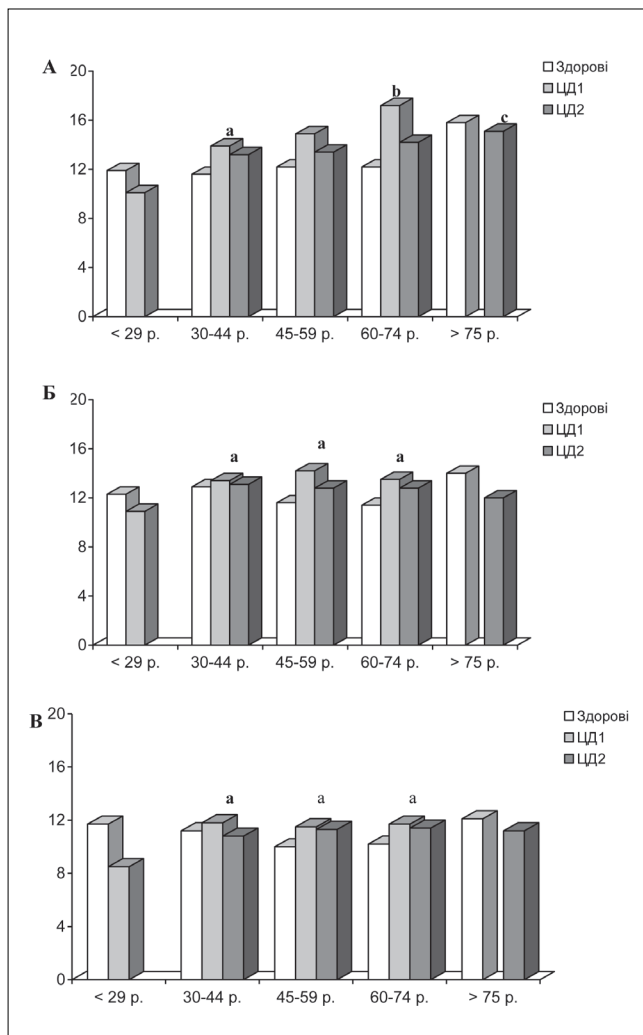
Результати порівняння середнього значення ПСС при дослідженні різних чутливих волокон у пацієнтів із ЦД і здорових осіб у різних вікових групах наведені на рис. **1А,Б,В**. З віком чутливість всіх нервових волокон знижується. Така тенденція спостерігається навіть у контрольній групі здорових осіб. Відповідно, зі збільшенням віку пацієнтів спостерігається підвищення середнього значення ПСС у хворих на ЦД1 ($p < 0,05$) та у хворих на ЦД2 ($p < 0,05$ при порівнянні групи хворих віком від 45 до 59 років із групою осіб старших 75 років). Виключенням є чутливість тонкого мієлінізованого волокна А δ у групі хворих на

Таблиця. Середнє значення ПСС різних чутливих волокон ($M \pm m$) у групах обстежених

Тип волокна	Здорові особи	Хворі на ЦД1	Хворі на ЦД2
волокно А β	$12,3 \pm 3,1$	$13,8 \pm 3,8^*$	$14,1 \pm 4,5^*$
волокно А δ	$12,0 \pm 2,2$	$13,0 \pm 3,4^*$	$12,7 \pm 3,5^*$
волокно С	$10,6 \pm 2,4$	$10,8 \pm 3,7$	$11,3 \pm 2,9^*$

Примітка: * – різниця вірогідна порівняно з групою здорових осіб ($p < 0,05$).

Рисунок 1. Середні значення ПСС чутливих волокон Аβ (А), Аδ (Б) і С (В) у хворих на ЦД різних вікових груп

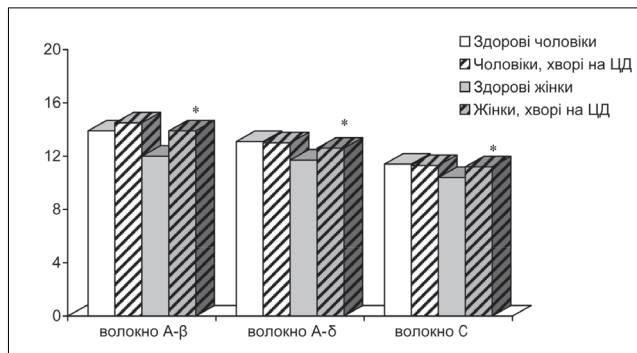


a – різниця вірогідна ($p < 0,05$) порівняно з групою хворих на ЦД1 віком до 29 років;
b – різниця вірогідна ($p < 0,05$) порівняно з групою хворих на ЦД1 віком від 30 до 44 років;
c – різниця вірогідна ($p < 0,05$) порівняно з групою хворих на ЦД2 віком від 45 до 59 років.

ЦД2, при дослідженні якого спостерігається зворотна тенденція – із віком його чутливість покращується.

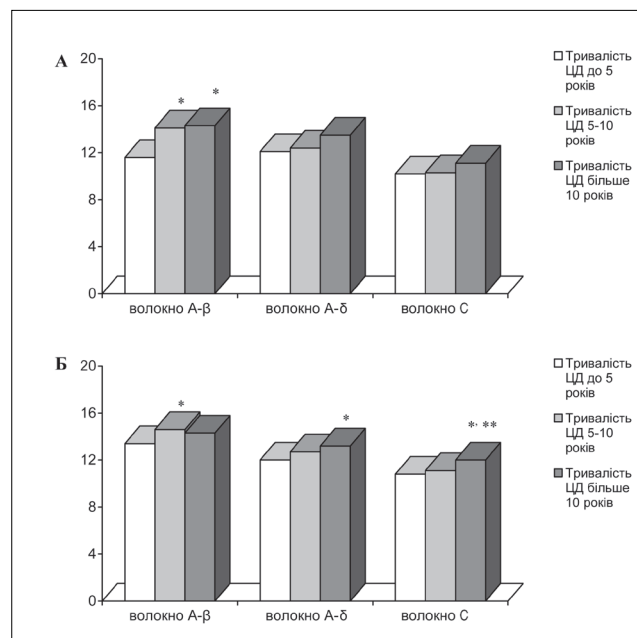
Для визначення взаємозв'язку між підвищенням ПСС та статтю пацієнтів ми розподілили хворих на ЦД та здорових осіб на групи за статевою ознакою. Основні значення ПСС різних чутливих волокон для пацієнтів різних статей наведені на **рис. 2**. Виявлено, що зниження чутливості, а відповідно і підвищення середнього значення ПСС всіх чутливих волокон, частіше спостерігається в чоловіків (навіть у контрольній групі), ніж у жінок. У жінок, хворих на ЦД, спостерігається вірогідне

Рисунок 2. Залежність ПСС досліджуваних чутливих волокон у хворих на ЦД від статі



* - відмінність від групи здорових жінок вірогідна ($p < 0,05$).

Рисунок 3. Залежність ПСС досліджуваних нервових волокон у хворих на ЦД 1 (А) і 2 (Б) типу від тривалості захворювання



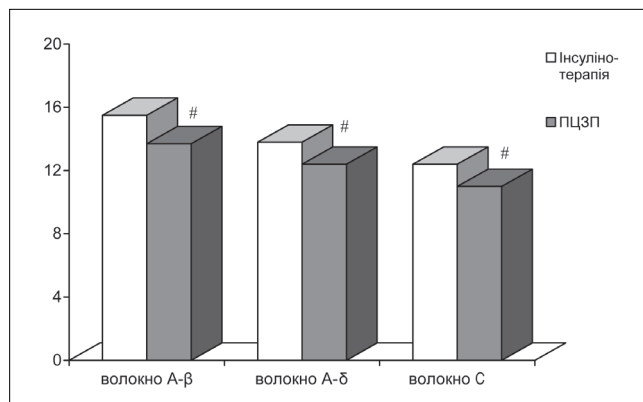
* - відмінність від хворих на ЦД тривалістю до 5 років вірогідна; ** - відмінність від хворих на ЦД тривалістю 5-10 років вірогідна.

($p < 0,05$) зниження чутливості порівняно з показниками контрольної групи.

Результати порівняння середнього значення ПСС у хворих на ЦД1 і ЦД2 з різною тривалістю захворювання наведені на **рис. 3А** і **3Б**, відповідно. Показано, що зниження чутливості всіх досліджуваних нервових волокон у хворих як на ЦД1, так і на ЦД2, прямо пропорційно залежить від тривалості ЦД. В обох групах, що проходили обстеження, у кожному нервовому волокні (Аβ, Аδ та С) спостерігалось підвищення показників нейрометрії, а отже і зни-

Оригінальні дослідження

Рисунок 4. ПСС досліджуваних чутливих волокон у хворих на ЦД2, які отримували інсулінотерапію або ПЦЗП



- відмінність від групи хворих на інсулінотерапії вірогідна ($p < 0,05$).

ження чутливості, зі збільшенням тривалості ЦД. Достовірність різниці показника ПСС ($p < 0,05$) досліджуваного нервового волокна Аβ спостерігалась в групі хворих за тривалості ЦД1 5-10 років по відношенню до груп хворих із тривалістю ЦД1 до 5 років, а також у групі хворих із ЦД1 тривалістю більше 10 років порівняно з групою хворих із ЦД1 тривалістю до 5 років. У групі хворих на ЦД2 ПСС нервового волокна Аβ вірогідно відрізнявся в підгрупі з тривалістю захворювання 5-10 років порівняно з підгрупою, тривалість ЦД в якій становила до 5 років. При порівнянні результатів дослідження волокон Аδ та С було виявлено достовірну ($p < 0,05$) різницю ПСС у хворих на ЦД2 тривалістю більше 10 років порівняно з групою з тривалістю ЦД2 до 5 років. Різниця ПСС у групі хворих на ЦД2 тривалістю більше 10 років була вірогідною ($p < 0,05$) порівняно з групою з тривалістю ЦД2 5-10 років лише для волокна С.

Окрім описаних вище досліджень, ми провели також вивчення взаємозв'язку між середнім значенням ПСС різних чутливих волокон у пацієнтів із ЦД 2 типу та видом цукрознижувальної терапії, результати якого показані на **рис. 4**.

Таким чином, оцінюючи результати, отримані завдяки новому об'єктивному методу діагностики – нейрометрії, можна зробити висновки стосовно впливу кожного фактора, що вивчався.

Доведено, що вище значення ПСС, тобто наявність гіпоестезії, спостерігається у хворих на ЦД обох типів на відміну від здорових осіб. Наявність гіпоестезії залежить від віку пацієнта, оскільки з віком чутливість всіх нерво-

вих волокон знижується. До речі, така тенденція спостерігалася навіть у контрольній групі в здорових пацієнтів.

У жінок, хворих на ЦД, спостерігається зниження чутливості порівняно з контрольною групою. У чоловіків відмічено значно виражене підвищення середнього значення ПСС всіх чутливих волокон, навіть у контрольній групі.

Зниження чутливості всіх досліджених нервових волокон у хворих на ЦД прямо пропорційно пов'язано з тривалістю ЦД, незалежно від його типу.

Спостерігається значне зниження чутливості у хворих на ЦД 2 типу, які знаходяться на інсулінотерапії, по відношенню до хворих, які знаходяться на ПЦЗП, що легко пояснюється тяжкою формою ЦД, яку вони мають.

Підсумовуючи, можна стверджувати, що ураження різних чутливих нервових волокон при ЦД має певний взаємозв'язок з усіма факторами, які нами були досліджені. Враховуючи отримані результати, можливо передбачити та попередити розвиток ДПНП у хворих на ЦД обох типів, та своєчасно провести лікування ДПНП.

Список використаної літератури

1. Martin C.L. Neuropathy among the Diabetes Control and Complications Trial Cohort 8 years after trial completion // *Diabetes Care*. 2006, 29, 340-344.
2. Ekberg K., Brismar T., Johansson B.L. C-Peptide replacement therapy and sensory nerve function in type 1 diabetic neuropathy // *Diabetes Care*. 2007, 30, 71-76.
3. Herman W.H., Kennedy L. Underdiagnosis of peripheral neuropathy in type 2 diabetes // *Diabetes Care*. 2005, 28, 1480-1481.
4. Boulton A.J., Vinik A.I., Arezzo J.C. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association // *Diabetes Care*. 2005, 28, 956-962.
5. Sumner C.J., Sheth S., Griffin J.W. et al. The spectrum of neuropathy in diabetes and impaired glucose tolerance // *Neurology*. 2003, 60, 108-111.
6. Casellini C.M., Vinik A.I. Clinical manifestations and current treatment options for diabetic neuropathies // *Endocr. Pract.* 2007, 13 (5), 550-566.
7. Vinik A., Erbas T., Pfeifer M.A. et al. Diabetic autonomic neuropathy. In: Porte D., Sherwin R.S., Baron A. [eds]. *Ellenberg & Rifkin's, Diabetes Mellitus*. 6th ed. New York, NY: McGraw-Hill, 2003, p. 789-804.
8. Tesfaye S., Chaturvedi N., Simon E.M. et al. Vascular risk factors and diabetic neuropathy // *New Engl. J. Med.* 2005, 352, 4, 341-350.

9. Masson E.A., Veves A., Fernando D., Boulton A.J.M. Current perception thresholds: a new, quick, and reproducible method for the assessment of peripheral neuropathy in diabetes mellitus // Diabetologia. Vol. 1989, 32, 724-728.
10. Masson E.A., Boulton A.J.M. The Neurometer: validation and comparison with conventional tests for diabetic neuropathy // Diab. Med. 1991, 8, S63-S66.

Надійшла 6.02.2013

Факторы риска развития диабетической полинейропатии по данным нейрометрического исследования

А.В. Гарницкая, Б.Н. Маньковский

Национальная академия последиplomного образования
им. П.Л. Шупика

Резюме. Внедрение в клиническую практику метода нейрометрии позволяет наиболее объективно количественно охарактеризовать состояние нервных волокон и диагностировать диабетическую полинейропатию на ранних, доклинических, стадиях. Наше исследование доказало, что у больных с сахарным диабетом имеет место снижение чувствительности всех исследуемых нервных волокон, которое прямо пропорционально связано с длительностью заболевания, зависит от возраста, пола пациента и вида сахароснижающей терапии. Можно утверждать, что поражение различных чувствительных нервных волокон при сахарном диабете имеет определенную взаимосвязь со всеми факторами, которые нами были изучены.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая полинейропатия, нейрометрия, порог восприятия тока.

Risk factors for diabetic neuropathy development identified by neurometry method

A.V. Garnytska, B.M. Mankovsky

PL. Shupik National Medical Academy for Postgraduate Education

Summary. Practical application of neurometry method allows to determine the nerve damage more precisely and diagnose diabetic polyneuropathy at early preclinic stages. The results of the study demonstrate in patients with diabetic neuropathy a decreased sensitivity in all nerve fibers under study, that is directly proportional to disease duration, patient's age and gender, type of diabetes mellitus therapy. This may suggest a relationship between the injury of different sensitive nerve fibers in diabetes mellitus and all the factors under study in this work.

Keywords: diabetes mellitus, diabetic polyneuropathy, neurometry, threshold of current sensitivity.

Вплив різних концентрацій метанандаміду на інтенсивність міжнуклеосомної фрагментації ДНК в адренокортикоцитах щурів *in vitro*

Н.І. Левчук*

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

Резюме. Досліджували вплив різних концентрацій метанандаміду на інтенсивність міжнуклеосомної фрагментації ДНК у тканині надниркових залоз щурів різної статі. Показано, що препарат у концентрації 10^{-8} - 10^{-6} М призводить до зниження інтенсивності міжнуклеосомної фрагментації ДНК у самців та самиць щурів *in vitro*. Особливістю впливу метанандаміду на інтенсивність фрагментації ДНК у самиць є різноспрямована дія препарату на вміст олігонуклеосом різного розміру (у самців знижується рівень фрагментів розміром 200 п.о., у самиць підвищується вміст мононуклеосом та знижується рівень ди-, три- та тетра нуклеосом), що може бути пов'язано з дією естрогенів. Обговорюються механізми участі естрогенів у реалізації ефекту метанандаміду.

Ключові слова: метанандамід, фрагментація ДНК, апоптоз, надниркові залози, самці і самиці щурів.

Раніше ми показали, що метанандамід впливає на синтез і секрецію кортикостероїдів *in vitro* в адренкортикальній тканині в щурів різної статі. Виявлені зміни синтезу гормонів за умов дії метанандаміду, синтетичного аналога ендogenous канабіноїду анандаміду, а саме, пригнічення рівня 11-оксикортикостероїдів у самців та підвищення його вмісту

в самиць, дають підставу припустити модулюючий вплив естрогенів на регуляцію стероїдогенезу [1].

На сьогодні доведено, що N-ацилетаноламіни (NAE) здатні регулювати процеси пухлинного росту (ангіогенез, інвазивність, метастатичну активність) та ініціювати апоптоз у пухлинних клітинах різного типу [2]. Виявилось, що дія NAE опосередковується не тільки специфічними канабіноїдними рецепторами (CB1 і CB2), але і прямим впливом на мембранні структури [3,4]. Встановлено, що реалізація проапоптозних ефектів окремих представників NAE відрізняєть-

* 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

ся та залежить від природи клітини та ступеня її диференціювання [5-8]. У наших попередніх дослідженнях було показано, що як суміш NAE, що містила похідні етаноламіну, здебільшого з ненасиченими залишками жирних кислот, так і N-стеароїлетаноламін (NSE) – сполука, яка має у своєму складі насичену жирну кислоту, проявляли *in vitro* проапоптозний ефект у тканині гормонально активних та гормонально неактивних пухлин кори надниркових залоз людини [9,10]. Проте вплив NAE на інтенсивність фрагментації ДНК у нормальній тканині надниркових залоз залишається нез'ясованим.

У зв'язку з цим представляло інтерес дослідити вплив метанандаміду на термінальну стадію апоптозу – міжнуклеосомну фрагментацію ДНК – в адренкортикальній тканині щурів різної статі.

Матеріали та методи

На проведення досліджень одержано дозвіл від комісії Інституту ендокринології з питань біоетики. Експерименти проведені на 6 самцях та 10 самицях щурів лінії Вістар. Після декапітації щурів надниркові залози зважували, очищали від сполучної та жирової тканини, готували зрізи та інкубували їх при 37 °С впродовж 3 год. та постійному струшуванні в 1 мл живильного середовища RPMI-1640 («Sigma», США), що містило 5% бичачої сироватки («Sigma», США). До середовища інкубації додавали спиртовий розчин R-(+)-метанандаміду («Sigma», США) в кінцевій концентрації 10^{-8} - 10^{-6} М. Контрольні проби містили розчинник у відповідній концентрації.

Екстракцію ДНК та розділення її фрагментів в агарозному гелі проводили як описано в роботі [11]. Після електрофорезу гелі фотографували цифровою відеокамерою в транслюмінаторі і сканували за допомогою програми «GelPro». Вміст олігонуклеосом різного розміру встановлювали при розрахунку долі інтенсивності флуоресценції смужок фрагментів ДНК по відношенню до загальної (100%), яка відповідала кількості нанесеної на гель ДНК.

Одержані дані опрацьовані статистично з використанням критерію t Стьюдента. Вірогідними вважалися значення при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Дані, наведені в табл. 1 і 2, свідчать про різний базальний рівень міжнуклеосомної фрагментації ДНК у тканині надниркових залоз щурів різної статі. Вміст мононуклеосом у тканині надниркових залоз самиць був нижчим, ніж у тканині надниркових залоз самців, тоді як вміст більших за розміром фрагментів ДНК – вищим. Отже можна припустити, що різний характер міжнуклеосомної фрагментації ДНК у тканині надниркових залоз самців і самиць щурів може бути пов'язаний із дією естрогенів. Так, показано, що 17 β -естрадіол у позапухлинній тканині надниркових залоз людини пригнічує *in vitro* інтенсивність фрагментації ДНК та зменшує рівень мРНК проапоптозного білка Вах, тобто виявляє антиапоптозний ефект [12].

При інкубації зрізів надниркових залоз самців щурів препарат знижує порівняно з контролем вміст мононуклеосом у всіх досліджених концентраціях і не впливає на кількість інших олігонуклеосом (400, 600, 800 пар основ (п.о.)) та сумарного їх вмісту 200-800 (табл. 1). Відомо, що більша доля фрагментів ДНК розміром ~200 п.о. утворюється за тривалішої діяльності ендонуклеаз. Отже зменшена кількість мононуклеосом може свідчити про зниження інтенсивності апоптозу в адренкортикальній тканині самців під дією препарату.

У літературі існують дані щодо проапоптозної та антипроліферативної дії NAE в клітинах різного типу *in vitro* [2]. Були описані й протекторні ефекти NAE [13-16]. При цьому необхідно зазначити, що NAE в клітинах різного типу по-різному впливають на перебіг апоптозних процесів. Причиною такої селективності може бути залучення різних сигнальних механізмів до реалізації їхніх ефектів. Крім того, суттєве значення має також природа індукторів апоптозу. Так, показано, що N-арахідоноїлетаноламін (анандамід) у клітинах феохромоцитом щурів PC-12 пригнічував опосередковану CB1-рецепторами активацію ERK

Таблиця 1. Вплив різних концентрацій метанандаміду на інтенсивність фрагментації ДНК у корі надниркових залоз самців щурів *in vitro* (n=3)

Розмір фрагментів ДНК, п.о.	Контроль	Метанандамід 10^{-8} М	Метанандамід 10^{-7} М	Метанандамід 10^{-6} М
200	4,82±0,17	2,35±0,19*	2,58±0,58*	2,49±0,32*
400	6,43±0,76	5,50±0,62	5,27±0,40	5,30±0,41
600	6,51±0,74	7,64±0,29	6,98±0,57	5,62±0,35
800	6,94±1,69	8,18±0,72	7,47±1,00	6,76±0,61
200-800	24,7±3,25	23,7±1,75	22,3±0,96	20,2±0,42

Примітка: * – зміни вірогідні порівняно з контрольною пробою без метанандаміду ($p < 0,05$).

Оригінальні дослідження

(екстрацелюлярної протеїнази, що регулюється мітогенами), яка була індукована фактором росту нервів NGF, через послаблення шляху Rap1/B-Raf [13]. За іншими даними, анандамід також інгібував індуковану 6-гідроксидофаміном клітинну смерть у вищезазначених клітинах. Проте це було пов'язано не з активацією CB1, CB2 або TRPV1-рецепторів, а з пригніченням активності каспази-3, зі зниженням рівня експресії c-Jun, Bim, JNK та активацією PI3K. Автори зробили висновок, що протекторна роль анандаміду в клітинах PC-12 обумовлена підвищенням активності PI3K та зниженням активності JNK [16].

Виявлено, що канабіноїди (біологічно активні речовини, які були вперше виділені із коноплі *Cannabis sativa*) можуть захищати нормальні клітини, зокрема нейрони та гліальні клітини [15]. Одним із механізмів, що призводить до виживання астроцитів за умов дії канабіноїдів у керамід-індукованому апоптозі, є активація PI3K/РКВ-сигнального шляху [14]. Таким чином, ефекти NAE в клітинах різного типу можуть бути опосередковані різними сигнальними механізмами та залежать від певних умов, що викликають апоптоз. Тому з'ясування механізмів, за якими реалізуються антиапоптозні ефекти метанандаміду в тканині надниркових залоз щурів-самців, потребують подальших досліджень.

На відміну від самців, у самиць вплив метанандаміду на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК мав інший характер. Інкубація зрізів надниркових залоз самиць у присутності метанандаміду в різних концентраціях призводила до збільшення вмісту мононуклеосом, вірогідні їх зміни зареєстровані порівняно з контролем за концентрацією метанандаміду 10^{-8} і 10^{-7} М (табл. 2). При цьому суттєвіший ефект препарату спостерігали при концентрації 10^{-8} М. Водночас виявлено зниження відсотка олігонуклеосом, що містять 400-800 п.о., та сумарного вмісту олігонуклеосом. Ці зміни були вірогідними для ди- і тринуклеосом при кон-

центрації 10^{-8} М, динуклеосом – при 10^{-7} М та ди-, три-, тетра- і сумарного їх вмісту – при 10^{-6} М; найсуттєвіші зміни мали місце за умов найвищої концентрації препарату. Ця концентрація виявилась також ефективною щодо впливу метанандаміду на секрецію кортикостероїдів [1]. Таким чином, встановлено, що напрямок змін рівня олігонуклеосом різного розміру під дією метанандаміду є протилежним, що може бути наслідком різного впливу препарату на активність ендонуклеаз, які розщеплюють ДНК на фрагменти різного розміру. Питання про природу ферментів, відповідальних за деградацію хроматину при апоптозі, до кінця ще нез'ясовано.

Різна спрямованість ефектів метанандаміду в самців та самиць може бути пояснена впливом естрогенів, і, можливо, реалізується за участю холестерину мембран. Так, анандамідіндукований апоптоз у гепатоцитах залежав від вмісту холестерину в мембрані і не залежав від активації канабіноїдних рецепторів. За цих умов апоптоз у клітинах був пов'язаний із зупинкою клітинного циклу у фазі G₀/G₁, активацією p38MAPK і JNK та пригніченням антиапоптозного сигнального шляху РКВ/Акт [3]. Автори висловили припущення, що холестерин клітинної мембрани може функціонувати як своєрідний ліганд для анандаміду та визначати долю клітин при дії останнього. Показано, що введення NSE мишам, яким була перещеплена карцинома Льюїса, призводить до багатократного збільшення рівня вільного холестерину в клітинах метастазів легень [4].

Відомо, що однією з функцій естрогенів є участь у синтезі та депонуванні холестерину клітинами різних тканин [17,18]. Було показано, що під впливом низьких доз естрадіолу в плазмі крові щурів спостерігається збільшення рівня ліпопротеїдів високої щільності, основної форми холестерину, що утилізується стероїдогенними клітинами щурів [18]. Також необхідно врахувати той факт, що естрогени в клітинах різного типу

можуть впливати на процеси синтезу та деградації ендоканабіноїдів. Так, в ендотеліальних клітинах 17β -естрадіол активував фермент синтезу анандаміду – фосфоліпазу D N-арахідоноїлфосфатидилетаноламіну (NAPE-PLD) та інгібував фермент його деградації – амідогідролазу жирних кислот (FAAH) [19-21]. Разом із тим, у матці 17β -естрадіол

Таблиця 2. Вплив різних концентрацій метанандаміду на інтенсивність фрагментації ДНК у корі надниркових залоз самиць щурів *in vitro* (n=5)

Розмір фрагментів ДНК, п.о.	Контроль	Метанандамід 10^{-8} М	Метанандамід 10^{-7} М	Метанандамід 10^{-6} М
200	1,96±0,32 [#]	4,50±0,50*	3,24±0,33*	2,66±0,38
400	10,4±0,60 [#]	7,78±0,55*	8,06±0,54*	6,36±0,65*
600	11,7±0,56 [#]	9,30±0,43*	11,7±0,54	6,85±0,82*
800	14,7±2,59 [#]	10,4±0,60	12,7±1,12	8,20±1,12*
200-800	38,8±3,35 [#]	32,0±2,02	35,7±1,81	24,1±2,88*

Примітки: * – зміни вірогідні порівняно з контрольною пробою без метанандаміду (p<0,05); # – різниця вірогідна порівняно з вмістом олігонуклеосом у тканині надниркових залоз самиць щурів (p<0,05) (див. табл. 1).

пригнічував активність NARE-PLD [22]. За іншими даними, при апоптозі, індукованому при додаванні до середовища інкубації сироватки, продуктом розпаду анандаміду є етаноламін, який може захищати клітини від дії ендоканабіноїду. Захисна роль анандаміду не була пов'язана з активацією CB1, CB2 чи ванілоїдних рецепторів VR1. Вона залежала від активності FAAH та етаноламіну, який виявляв захисний ефект. Можна припустити, що поряд із дією естрогенів на депонування холестерину в наднирковозалозних клітинах самиць щурів, ймовірно, вони також впливають на активність ферментів, які регулюють процеси синтезу або деградації ендоканабіноїдів. Це, у свою чергу, має певне значення в реалізації ефекту метанандаміду, внесеного до середовища інкубації.

Таким чином, метанандамід *in vitro* інгібує інтенсивність фрагментації ДНК у тканині надниркових залоз самців та самиць щурів. При цьому особливістю впливу метанандаміду на інтенсивність фрагментації ДНК у самиць є різноспрямована дія препарату на вміст олігонуклеосом різного розміру, що може бути пов'язано з дією естрогенів.

Список використаної літератури

1. Левчук Н.І. Вплив метанандаміду на інтенсивність стероїдогенезу в адренкортикоцитах щурів *in vitro* // Укр. біохім. журн. 2013 (подана до друку).
2. Pushkarev V.M., Kovzun O.I., Tronko M.D. Antineoplastic and apoptotic effects of cannabinoids. N-acylethanolamines: protectors or killers? // *Exp. Oncol.* 2008, 30, N 1, 6-21.
3. Biswas K.K., Sarker K.P., Abejama K. et al. Membrane cholesterol but not putative receptors mediates anandamide-induced hepatocyte apoptosis // *Hepatology.* 2003, 38, N 5, 1167-1177.
4. Гула Н.М., Хмель Т.О., Клімашевський В.М. Вплив N-стеароїлетаноламіну на ліпідний склад метастазів та умовно нормальної тканини легенів у мишей з карциномною Льюїс // Укр. біохім. журн. 2006, 78, № 2, 97-105.
5. Sarfaraz S., Afag F., Adhami V.M., Mukhtar H. Cannabinoid receptor as a novel target for the treatment of prostate cancer // *Cancer Res.* 2005, 65, N 5, 1635-1641.
6. Caffarel M.M., Sarrio D., Palacios J. et al. Δ^9 -tetrahydrocannabinol inhibits cell cycle progression in human breast cancer cells through Cdc2 regulation // *Cancer Res.* 2006, 66, N 13, 6615-6621.
7. Carracedo A., Gironella M., Lorente M. et al. Cannabinoids induce apoptosis of pancreatic tumor cells via endoplasmic reticulum stress-related genes // *Cancer Res.* 2006, 66, N 13, 6748-6755.
8. Gustafsson K., Christensson B., Sander B., Flygare J. Cannabinoid receptor-mediated apoptosis induced by R(+)-methanandamide and Win55,212-2 is associated with ceramide accumulation and p38 activation in mantle cell lymphoma // *Mol. Pharmacol.* 2006, 70, 1612-1620.
9. Левчук Н.І., Ковзун О.І., Тронько М.Д., Пушкарьов В.М. Вплив N-стеароїлетаноламіну на інтенсивність апоптозу в пухлинних тканинах надниркових залоз людини // *Ендокринологія.* 2007, 12, № 1, 121-125.
10. Левчук Н.І., Пушкарьов В.М., Ковзун О.І. та ін. Вплив N-стеароїлетаноламіну на інтенсивність фрагментації ДНК у пухлинній та позапухлинній тканинах кори надниркових залоз людини // *Укр. біохім. журн.* 2012, 84, № 4, 49-53.
11. Kostyuchenko N., Pushkarev V., Kashevarov G. et al. Effects of N-acylethanolamines and various antimetabolic agents on apoptotic DNA fragmentation in conventionally normal and tumor tissue of human adrenals // *Exp. Oncol.* 2005, 27, N 3, 215-219.
12. Тронько М.Д., Ковзун О.І., Грінченко Є.М., Микоша О.С. Вплив 17β -естрадіолу на експресію мРНК проапоптичного протеїну Вах і рівень фрагментації ДНК у корі надниркових залоз людини // *Укр. біохім. журн.* 2009, 81, № 2, 80-84.
13. Rueda D., Navarro B., Martinez-Serrano A. et al. The endocannabinoid anandamide inhibits neuronal progenitor cell differentiation through attenuation of the Rap1/B-Raf/ERK pathway // *J. Biol. Chem.* 2002, 277, N 48, 46645-46650.
14. Pulgar del T.G., Ceballos de M.L., Guzman M., Velasco G. Cannabinoids protect astrocytes from ceramide-induced apoptosis through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B // *J. Biol. Chem.* 2002, 277, N 39, 36527-36533.
15. Guzman M. Effects on cell viability // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2005, 168, 627-642.
16. Mnich K., Finn D.P., Dowd E., Gorman A.M. Inhibition by anandamide of 6-hydroxydopamine-induced cell death in PC12 cells // *Int. J. Cell Biol.* 2010, 2010, Article ID 818497. doi: 10.1155/2010/818497.
17. Carr B.R., Simpson E.R., Cholesterol synthesis by human fetal hepatocytes: effects of hormones // *J. Clin. Endocr. Metab.* 1984, 58, N 6, 1111-1116.
18. Cinci G., Arezzini L., Terzuoli L. et al. Effect of estradiol on phospholipid lipoprotein levels and fatty acid composition in the rat // *Life Sci.* 1997, 61, N 3, 319-324.
19. Maccarrone M., Bari M., Battista N., Finazzi-Agro A. Estrogen stimulates arachidonylethanolamide release from human endothelial cells and platelet activation // *Blood.* 2002, 100, N 12, 4040-4048.
20. Maccarrone M., Bisogno T., Valensise H. et al. Low fatty acid amide hydrolase and high anandamide levels are associated with failure to achieve an ongoing pregnancy after IVF and embryo transfer // *Mol. Hum. Reprod.* 2002, 8, N 2, 188-195.
21. Maccarrone M., Falciglia K., Di Rienzo M., Finazzi-Agro A. Endocannabinoids, hormone-cytokine networks and human fertility // *Prostaglandins Leukot. Essen. Fatty Acids.* 2002, 66, N 2-3, 309-317.
22. Guo Y., Wang H., Okamoto Y. et al. N-acylphosphatidylethanolamine-hydrolyzing phospholipase D is an important determinant of uterine anandamide levels during implantation // *J. Biol. Chem.* 2005, 280, N 25, P. 23429-23432.

Влияние различных концентраций метанандамида на интенсивность межнуклеосомной фрагментации ДНК в адренокортикocyтах крыс *in vitro*

Н.И. Левчук

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

Резюме. Исследовали влияние различных концентраций метанандамида на интенсивность межнуклеосомной фрагментации ДНК в ткани надпочечников крыс разного пола. Показано, что препарат в концентрации 10^{-8} - 10^{-6} М приводит к снижению интенсивности межнуклеосомной фрагментации ДНК у самцов и самок крыс *in vitro*. Особенностью влияния метанандамида на интенсивность фрагментации ДНК у крыс разного пола является разнонаправленное действие препарата на содержание олигонуклеосом разного размера (у самцов снижается уровень фрагментов размером 200 п.о., у самок повышается содержание мононуклеосом и снижается уровень ди-, три- и тетрануклеосом), что может быть связано с действием эстрогенов. Обсуждаются механизмы участия эстрогенов в реализации эффекта метанандамида.

Ключевые слова: метанандамид, фрагментация ДНК, апоптоз, надпочечники, самцы и самки крыс.

Effect of different methanandamide concentrations on the intensity of internucleosomal DNA fragmentation in adrenocorticocytes of rats *in vitro*

N.I. Levchuk

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

Summary. The author has studied the effect of different methanandamide concentrations on the intensity of internucleosomal DNA fragmentation in adrenal tissue of male and female rats. The drug at a concentration of 10^{-8} - 10^{-6} M was shown to lead to a decreased intensity of internucleosomal DNA fragmentation in male and female rats *in vitro*. One peculiarity of methanandamide impact on the intensity of DNA fragmentation in rats of different gender is a differently directed effect of the drug on the content of oligonucleosomes of different size (the levels of fragments measuring 200 bp was reduced in males, the content of mononucleosomes was increased in females, and the levels of di-, tri- and tetranucleosomes was decreased), which can be due to estrogens effect. The mechanisms of estrogen involvement in the realization of methanandamide effect are under discussion.

Keywords: methanandamide, DNA fragmentation, apoptosis, adrenal glands, male and female rats.

Достижения регенеративной медицины в терапии сахарного диабета 1 типа. II. Применение стволовых клеток для лечения основного заболевания и его осложнений

И.П. Пастер*,
Н.Д. Тронько

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

Резюме. Представлены современные научные данные о достижениях регенеративной медицины в применении стволовых клеток для лечения сахарного диабета первого типа и его осложнений.

Ключевые слова: сахарный диабет первого типа, стволовые клетки.

Актуальность проблемы сахарного диабета

Сахарный диабет (СД) первого типа является хроническим заболеванием, поражающим генетически предрасположенных лиц, у которых инсулин-секретирующие β -клетки островков Лангерганса поджелудочной железы (ПЖ) избирательно и необратимо разрушены в результате аутоиммунной “атаки” организма [1].

Число людей, страдающих СД, постоянно увеличивается. В 2011 году распространенность СД в целом по Украине составила 1264500 больных или 2773,1 человек на каждые 100 тысяч населения [2]. Количество лиц, у которых СД был впервые выявлен в 2011 году, превысило 116 тысяч [2].

Более 80 лет основной терапевтический под-

ход ограничивался лечением симптомов СД заместительной инсулинотерапией. Результаты проведенного исследования “Контроль сахарного диабета и его осложнений” (“Diabetes Control and Complications Trial”) показали, что жесткая регуляция уровня глюкозы крови при интенсивной инсулинотерапии приводит к значительному повышению риска тяжелых гипогликемических реакций, таких как приступы и кома, и не исключает вероятности развития вторичных деструктивных осложнений СД (нефропатия, нейропатия, ретинопатия и сердечно-сосудистая патология) [3,4].

Современные исследования по терапии СД направлены на поиск средств (препаратов), действия которых максимально приближены к физиологическим условиям динамики секреции инсулина [5]. Основные разработки ведутся фактически по трем направлениям: а) усовершенствование препаратов инсулина путем создания их аналогов с помощью генно-инженерной технологии; б) усовершенствование способов доставки инсулина

* 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@bigmir.net

путем разработки аэрозольных форм для введения с помощью специальных ингаляторов или разработки пероральных форм, предварительно иммобилизованных в полимерном гидрогеле; в) усовершенствование методов трансплантации ПЖ, островков Лангерганса и β -клеток путем инкапсулирования трансплантата или использование полученных с помощью генно-инженерной технологии псевдо- β -клеток [5].

Цель регенеративной медицины при терапии СД заключается в создании неограниченного источника β -клеток, которые имеют происхождение от самого пациента и являются неиммуногенными, способные вырабатывать и секретировать инсулин соответственно физиологическим потребностям организма и способные к самообновлению [6].

Весьма перспективным методом терапии СД является также использование стволовых клеток (СК) в качестве практически неограниченного источника физиологически компетентного заменителя первичных островков Лангерганса [7,8]. Предметом данного обзора является возможность применения СК для лечения СД 1 типа и его осложнений.

Состояние стволовых клеток при сахарном диабете

У больных СД отмечается нарушение мобилизации СК из костного мозга [9] и функциональные нарушения в циркулирующих клетках-предшественниках [10,11]. Количество циркулирующих в крови эндотелиальных клеток-предшественников обратно пропорционально степени тяжести СД, в частности уровням HbA_{1c} и глюкозы в крови [12-14], а мобилизация клеток костного мозга чувствительна к гипергликемии [9,15].

Одним из механизмов токсических эффектов гипергликемии на СК костного мозга может быть дисбаланс между оксидом азота и активными формами кислорода [16]. Известно, что гипергликемия увеличивает образование активных форм кислорода, которые при взаимодействии с оксидом азота приводят к снижению его биодоступности и, как следствие, к замедлению пролиферации и мобилизации СК костного мозга [16,17].

Экспериментальные исследования в условиях *in vitro* показали, что моделирование условий СД приводит не только к ухудшению мобилизации СК костного мозга, но и влияет на продолжительность жизни и функциональные свойства взрослых СК, что можно объяснить сокращением количества циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников [18-22].

Хорошо известно, что гипергликемия приводит к активации процессов неферментативного гликозилирования белков и последующему образованию конечных продуктов гликирования, которые через каскад внутриклеточных взаимодействий вызывают повреждение тканей [23]. При этом конечные продукты гликирования непосредственно угнетают репаративные функции эндотелиальных клеток-предшественников (ЭКП) и мезенхимальных стволовых клеток (МСК) [24-26].

Таким образом, результаты экспериментальных работ показывают, что СД негативно влияет на мобилизацию и функцию взрослых СК, что является основанием для использования этих клеток при лечении заболевания и его осложнений [27].

Стволовые клетки в нормализации уровня глюкозы при сахарном диабете

Нестин-положительные клетки протоков ПЖ преддиабетических взрослых мышей, которые в монослойной культуре экспрессировали глюкагон и инсулин, а также реагировали секрецией инсулина на изменение уровня глюкозы в среде культивирования, после трансплантации под капсулу почки диабетических мышей нормализовали гипергликемию в течение 55 дней [28].

Псевдоостровки с инсулин-секретирующими клетками, которые были получены из клеток протоков ПЖ новорожденных крыс после инкубации с бетацеллюлином (известным стимулятором роста и дифференциации β -клеток) и активином А (пептидом, участвующим в регуляции клеточной дифференцировки и пролиферации), также реагировали секрецией инсулина на изменение уровня глюкозы [29]. Трансплантация 50 псевдоостровков в портальную вену мышей со стрептозотоцин-индуцированным СД (уровень глюкозы в крови превышал 400 мг/дл) приводила к снижению уровня глюкозы до 200 мг/дл в течение двух недель [29].

СК, которые были получены из ПЖ плода человека после изоляции островков Лангерганса, после трансплантации под капсулу почки иммунодефицитных мышей активно трансформировались в эндокринные клетки с экспрессией инсулина, глюкагона и соматостатина, а также характеризовались появлением таких маркеров зрелых β -клеток, как С-пептид, фогрин, глюкокиназа и синаптофизин [30].

Трансплантация мышам со стрептозотоцин-индуцированным СД двухсот СК печени, которые способны секретировать инсулин *in vitro* в зави-

симости от уровня глюкозы в среде культивирования, приводила к восстановлению нормогликемии в течение 10 дней [31].

Трансплантация гепатоцитов плода человека, трансдуцированных в инсулин-продуцирующие клетки, под почечную капсулу мышей со стрептозотоцин-индуцированным СД приводила к восстановлению нормогликемии в течение более чем 80 дней [32]. Внутривенный тест толерантности к глюкозе у этих мышей был положительный, а удаление трансплантата приводило к быстрому увеличению уровня глюкозы в крови до 400 мг/мл.

Трансплантация клеток костного мозга мышей или человека под капсулу почки мышей со стрептозотоцин-индуцированным СД приводила к нормализации уровня глюкозы в крови [33-35]. Однако большинство данных свидетельствуют о свойстве клеток костного мозга способствовать регенерации β -клеток и не подтверждают их прямую дифференциацию в инсулин-продуцирующие клетки [33,35,36]. В то же время клеткам костного мозга отводится роль иммуномодулятора [34].

Инфузия клеток пуповинной крови человека диабетическим мышам снижала гипергликемию за счет их дифференцировки в клетки островков Лангерганса и увеличивала выживаемость животных [37,38].

Аллотрансплантация эмбриональных СК мышам со стрептозотоцин-индуцированным СД приводила к нормализации уровня гликемии в течение 1 недели после инфузии и сохранению эффекта в течение более чем 16 недель [39,40].

В клинике наиболее положительные результаты были получены при аутологичной трансплантации СК костного мозга 23 пациентам с СД 1 типа [41,42]. Согласно протоколу исследования, мобилизованные циклофосфамидом и колониестимулирующим фактором гранулоцитов СК костного мозга пациентов собирали методом лейкофореза и криоконсервировали. Через некоторое время пациентам вводили антитимоцитарный глобулин кролика и циклофосфамид, а затем проводили внутривенную инфузию СК (3 10^6 CD34+ клеток на 1 кг массы тела пациента) и подкожное введение колониестимулирующего фактора гранулоцитов. В результате, 20 из 23 пациентов полностью отказались от инъекций инсулина, из них 12 пациентов – на длительный период (до 4 лет) и еще 8 пациентов приобрели преходящую инсулинонезависимость. У большинства пациентов снизилась потребность в инсулине, что сопровождалось повышением уровня С-пептида в крови. Основными осложнениями этой процедуры были

лихорадка, крапивница, сыпь, двухсторонняя пневмония и эндокринные нарушения (болезнь Грейвса, гипотиреоз и преходящий гипогонадизм).

Совсем недавно аналогичные исследования были выполнены у 8 пациентов в Польше [43]. После трансплантации аутологичных гематопоэтических СК все пациенты приобрели временную инсулинонезависимость: один пациент возобновил введение низких доз инсулина через 7 месяцев после трансплантации, а 6 пациентам давали акарбозу для улучшения контроля гликемии. У всех пациентов были отмечены хорошие показатели контроля гликемии: если на момент постановки диагноза средний уровень концентрации HbA_{1c} составлял 12,3%, то через 3 и 6 месяцев после трансплантации он снизился до 5,6 и 6,2%, соответственно.

Оба исследования позволяют предположить, что отказ от экзогенного введения инсулина у пациентов с впервые выявленным СД 1 типа может быть достигнут после иммуноабляции и восстановления иммунной системы с помощью трансплантации аутологичных гематопоэтических СК.

Стволовые клетки в терапии диабетических кардиомиопатий

Было показано, что после ишемического инсульта в сердце нервные СК участвовали в симпатической иннервации перинфарктной и инфарктной зон, формировании новых кровеносных сосудов и восстановлении ишемических повреждений [44-51]. Трансплантация МСК приводила к улучшению сердечной функции за счет значительного увеличения плотности миокардиальных артериол и снижения количества коллагена в диабетическом миокарде.

Трансплантация МСК увеличила активность матриксной металлопротеиназы-2 и снижала уровень транскрипции матриксной металлопротеиназы-9 [51]. В экспериментальных исследованиях на крысах с СД 1 типа показано положительное влияние внутривенных инфузий МСК на функцию сердца за счет расширения кровеносных сосудов и ослабления ремоделирования сердца [51]. Внутримышечное введение МСК хомякам с моделированным повреждением сердца привело к значительному улучшению функции желудочков, расширению капилляров, увеличению плотности миоцитов и уменьшению степени выраженности фиброза [52].

Существуют доказательства, что мультипо-

тентные клетки-предшественники в сердце дифференцируются в миоциты, эндотелиальные клетки и гладкие мышечные клетки [53].

Недавние исследования показывают, что СД способствует старению СК сердца и развитию сердечной недостаточности за счет нарушения роста и выживания мезенхимальных прогениторных клеток, в результате чего появляется чрезмерное число старых, отмирающих миоцитов с плохими межклеточными контактами [47]. Эти исследования показали, что СК могут быть потенциальной терапевтической целью при диабетической кардиомиопатии, что в конечном итоге способствует восстановлению сердечной функции [53].

В рандомизированных, двойных-слепых, плацебо-контролируемых, дозозависимых исследованиях показано, что внутрикоронарное введение СК костного мозга, клеток CD133⁺ или МСК больным с острым инфарктом миокарда приводит к улучшению общей фракции выброса левого желудочка, снижению конечного систолического объема левого желудочка и улучшению перфузии в области миокарда [54, 55].

Стволовые клетки в терапии диабетических ангиопатий

Одним из аргументов в пользу применения клеточной терапии, в частности ЭКП, являются результаты клинических исследований, в которых показана обратная зависимость между количеством этих клеток и частотой развития сердечно-сосудистых заболеваний [27].

У больных СД с сосудистыми осложнениями отмечается уменьшение количества и дисфункция эндотелиальных прогениторных клеток [10,14,56,57]. Так, в периферической крови больных СД наблюдается значительное снижение числа клеток CD34⁺, CD34⁺KDR⁺, CD34⁺CD133⁺KDR⁺, CD133⁺KDR⁺, CD117⁺KDR⁺ и CD34⁺CD31⁺ по сравнению со здоровыми людьми [14].

У пациентов с впервые диагностированным СД 1 типа количество эндотелиальных прогениторных клеток было жестко связано с уровнями гемоглобина A_{1c} и глюкозы в крови, т.е. зависело от тяжести заболевания [12,14,56]. Аналогичные результаты были получены и в экспериментальных исследованиях на животных [9,15,58].

У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями наблюдается уменьшение количества клеток CD133⁺, а количество клеток CD34⁺/VEGFR-2⁺ и CD133⁺ рассматривается в качестве предиктора возникновения сердечно-сосудистых

заболеваний в течение одного года после исследования [59,60].

Подсчет количества клеток CD34⁺ и CD34⁺/KDR⁺ может быть полезен при стратификации риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний [61], в том числе и у пациентов с СД и метаболическим синдромом [9,15]. Полученные данные являются веским обоснованием гипотезы о том, что снижение количества циркулирующих клеток-предшественников является не только маркером, но и причинным фактором развития сердечно-сосудистых заболеваний [27].

Результаты использования ЭКП в экспериментальных исследованиях весьма противоречивы: наряду с сообщениями о способности этих клеток уменьшать стеноз общей сонной артерии у кроликов [62], имеются данные об отсутствии эффекта СК костного мозга на развитие атеросклероза у мышей [63]. Более того, клетки-предшественники гладких мышц участвуют в гиперплазии интимы сосудов у мышей с экспериментальным СД [64].

Подтверждением полученных данных является тот факт, что одним из основных побочных эффектов клинического применения клеточной терапии после инфаркта миокарда было обострение рестеноза [65]. Наибольшее количество случаев аритмии также было зарегистрировано после интрамиокардиального введения клеток, в первую очередь, скелетных миобластов [66].

В то же время, клеточная терапия с использованием взрослых СК представляется эффективным способом терапевтической неоваскуляризации при СД [67-69]. Так, ЭКП и МСК способны восстанавливать физиологические уровни ангиогенных факторов (в частности, фактора роста эндотелия сосудов VEGF и гипоксии-индуцированного фактора HIF-1 α), а также дифференцироваться в клетки периферических сосудов при восстановлении кровотока в нижних конечностях с ишемическими заболеваниями [70].

Трансплантация МСК больным СД с гангрой обеих верхних конечностей с целью терапевтической неоваскуляризации показала улучшение артериальной перфузии, хорошее заживление всех ран и прекращение боли [71].

Стволовые клетки в терапии диабетических нефропатий

Первые обнадеживающие результаты экспериментальных исследований об участии прогениторных клеток костного мозга в восстановлении функции почек [72-74] не нашли своего под-

тверждения в дальнейшем [35,75], что требует проведения дополнительных исследований по изучению эффективности клеточной терапии при диабетической нефропатии [76].

Предполагается, что применение МСК может быть эффективно для профилактики и лечения диабетической нефропатии [27]. Так, у мышей с СД 1 типа введение МСК предотвращало развитие диабетической нефропатии посредством регенерации островков Лангерганса и последующего улучшения гликемического контроля [77]. Также МСК способны замедлять прогрессирование диабетической нефропатии независимо от гликемического контроля путем дифференциации в клетки эндотелия почки и, возможно, мезангиальные клетки [35,78]. Это было связано с существенным снижением толщины слоя мезангиальных клеток, накопления внеклеточного матрикса и инфильтрации макрофагов [35].

Стволовые клетки в терапии диабетических нейропатий

В экспериментальных исследованиях на крысах со стрептозотоцин-индуцированным СД показан положительный потенциал применения СК при диабетической нейропатии [79-81].

Показано, что внутримышечные инъекции ЭКП улучшают кровоток и скорость нервной проводимости периферических нервов, возможно, за счет неоваскуляризации, а также увеличивают выработку эндотелиального фактора роста сосудов, фактора роста фибробластов и ряда других нейротропных факторов [79,81,82]. В условиях *in vitro* ЭКП стимулировали пролиферацию клеток Шванна и эндотелиальных клеток, а также сокращали количество апоптотических клеток [81].

Стволовые клетки в терапии диабетических ретинопатий

В большинстве клинических исследований показано уменьшение количества ЭКП у пациентов с непролиферативной диабетической ретинопатией и увеличение их количества у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией [83,84]. Предполагается, что уменьшение количества этих клеток у больных СД может predispose к развитию непролиферативной диабетической ретинопатии [76].

При воспалительной реакции происходит мобилизация ЭКП из костного мозга, что в конечном итоге вызовет патологическую неоваскуляриза-

цию, приводящую к пролиферативной диабетической ретинопатии. Таким образом, наличие этой патологии может быть противопоказанием для ангиогенной клеточной терапии [27].

Хотя на сегодняшний день нет данных о терапевтическом потенциале эндотелиальных прогениторных клеток при диабетической ретинопатии, экспериментальные исследования свидетельствуют, однако, о роли клеток костного мозга в восстановлении функции сетчатки. Так, в исследованиях на мышах было установлено участие клеток костного мозга в восстановлении сетчатки, а также способность прогениторных клеток костного мозга дифференцироваться в клетки эндотелия, микроглии и астроциты [85-88].

На экспериментальных моделях повреждения сосудов глаз было показано, что нормальные клетки CD34⁺ человека эффективно восстанавливают повреждения сетчатки мышей и крыс [89].

Стволовые клетки в терапии диабетических ран стопы

При СД в грануляционной ткани раневых участков было отмечено значительное снижение количества ЭКП, снижение пролиферации этих клеток и локальное увеличение апоптоза [90].

Если на ранних этапах исследования эффективности применения клеточной терапии для лечения ран у пациентов с СД использовали фибробласты, то сейчас основное внимание сосредоточено на прогениторных клетках костного мозга, которые ускоряют заживление ран у диабетических животных [91-96].

МСК ускоряют заживление, дифференцируясь в фибробласты и кератиноциты, а также способствуя неоваскуляризации, регенерации и перемещению клеток воспаления в раны [97,98]. Трансплантация ЭКП повышает заживление ран у мышей через паракринные факторы, в частности, фактор роста эндотелия сосудов, фактор роста гепатоцитов и ряд других [98-99].

Посредством этих же механизмов ЭКП и МСК повышают заживление ран и могут быть эффективным способом лечения язвы стопы у пациентов с СД [93,94,96].

Стволовые клетки в терапии диабетических эректильных дисфункций

К сожалению, на сегодняшний день нет данных о положительном влиянии клеточной терапии на диабетическую эректильную дисфункцию. Есть

сообщение о способности СК К10 при пересадке в пещеристое тело полового члена крысы дифференцироваться в эндотелиальные и гладкомышечные клетки [100]. МСК человека дифференцируются в эндотелиальные и гладкомышечные клетки [101]. Однако, в этих исследованиях не была проведена оценка функциональной/эректильной реакции. В других исследованиях было показано появление маркеров эндотелиальных и гладкомышечных клеток, а также улучшение эректильной реакции у крыс через 21 день после инъекции МСК [102].

Стволовые клетки в регенерации поджелудочной железы

Трансплантация комплекса островков Лангерганса, спленоцитов (как источника СК, которые способны дифференцироваться в β -клетки) и полного адьюванта Фрейнда под капсулу почки самок мышей со спонтанным СД приводила через 120 дней к восстановлению собственной ПЖ животных через регенерацию островков Лангерганса за счет положительного влияния спленоцитов [103,104].

Трансплантация клеток костного мозга мышам со стрептозотоцин-индуцированным СД снижает гипергликемию, возможно, за счет миграции СК в поврежденный орган, защиты оставшихся и регенерации новых β -клеток животных, что сопровождается восстановлением функции эндокринного органа и продукцией инсулина [33].

Показано снижение уровня глюкозы, увеличение массы β -клеток и островков Лангерганса у мышей с СД после введения МСК человека [35].

Активация овальных клеток печени мышей, которые имеют потенциал трансдифференциации в инсулин-продуцирующие клетки в условиях культивирования с высокими концентрациями глюкозы, путем содержания на специальной диете в течение 4 недель и последующая индукция гипергликемии у животных с помощью стрептозотоцина сопровождалась снижением уровня глюкозы с 341 ± 15 мг/дл до 185 ± 12 мг/дл в течение 6 недель [105]. Основным механизмом этого эффекта считают трансдифференциацию овальных клеток печени и регенерацию эндогенных β -клеток.

Стволовые клетки при трансплантации β -клеток

Одним из современных способов лечения СД 1 типа и многих случаев СД 2 типа является трансплантация целой ПЖ или клеток островков

Лангерганса. С разработкой Эдмонтонского протокола трансплантация островков стала более привлекательной альтернативой трансплантации целой ПЖ [106]. Трансплантация островков приводит к значительному снижению среднего уровня гликемии, нормализации уровня гликозилированного гемоглобина и отсутствию тяжелых гипогликемических состояний, что сопровождается значительным улучшением качества жизни пациентов [107,108].

Однако, несмотря на достигнутые успехи [109], этот способ лечения имеет недостаточную эффективность [110]. Внутривенная инфузия островков Лангерганса приводит к немедленной воспалительной реакции, тромбозу, ишемии ткани печени с повышением уровня печеночных ферментов в крови [111]. Важную роль в потере функциональной активности трансплантата играют неспецифические иммунные реакции и специфический клеточный иммунный ответ [112-114].

В настоящее время почти все классические препараты против отторжения трансплантатов имеют токсические свойства по отношению к β -клеткам ПЖ, что при их непрерывном использовании может привести к потере функции трансплантата [115,116].

Перспективным является достижение иммунной толерантности (явление гематопоэтического химеризма) у реципиентов островков Лангерганса путем трансплантации гематопоэтических СК костного мозга, что позволяет частично или полностью отказаться от иммуносупрессии [117-121].

Поскольку развитие СД 1 типа является следствием аутоиммунной деструкции β -клеток ПЖ, восстановление ауто толерантности может сохранить функциональные свойства этих клеток и улучшить долгосрочные клинические прогнозы для пациентов с этой патологией. Это предположение получило свое подтверждение в экспериментальных исследованиях после аллогенной трансплантации СК костного мозга [122].

Поскольку островки ПЖ хорошо васкуляризованы, быстрое и адекватное восстановление притока крови имеет решающее значение для выживания и функционирования соответствующего трансплантата. В процесс ревазуляризации островков Лангерганса вовлечены гематопоэтические и мезенхимальные СК, а также эндотелиальные прогениторные клетки [111]. На сегодняшний день известны два механизма: 1) образование сосудов путем дифференциации в зрелые эндотелиальные клетки (эндотелиальные прогениторные клетки) [123] и 2) освобождение проангиогенных факто-

ров, таких как фактор роста гепатоцитов и фактор роста эндотелия сосудов [124,125]. Не исключена также роль МСК в угнетении Т-клеточного иммунного ответа против новых β -клеток [126].

Подтверждением таких возможностей является способность эндотелиальных прогениторных клеток и МСК стимулировать неоваскуляризацию ПЖ как *in vitro*, так и *in vivo*, включая случаи стрептозотоцинового поражения [127-129]. При этом главная роль в обеспечении выживания и дифференциации эндотелиальных клеток, а также содействии неоваскуляризации путем мобилизации эндотелиальных прогениторных клеток отводится ангиогенным цитокинам, таким как сосудистый эндотелиальный фактор роста А, фактор роста фибробластов, ангиопоэтин-1, матричные металлопротеиназы и трансформирующий фактор роста- β [93,130-133].

Кроме того, увеличение количества СК костного мозга в периферической крови приводит к усилению васкуляризации и улучшению функции островков Лангерганса при интрапортальной трансплантации [134,135].

В качестве практического применения было предложено стимулировать реваскуляризацию и, соответственно, улучшать функциональное состояние трансплантированных островков Лангерганса путем совместного использования β -клеток, эндотелиальных клеток и МСК [121,135-138]. Так, совместная трансплантация островков Лангерганса с клетками костного мозга под капсулу почки мышей со стрептозотоциновым СД приводила к значительно более выраженному снижению уровня глюкозы в крови, чем при трансплантации одних островков [137].

Аналогичные результаты и значительно лучшие результаты внутривенного теста на толерантность к глюкозе были получены на крысах со стрептозотоциновым СД при совместной трансплантации островков Лангерганса с МСК из костного мозга [121]. При этом также отмечалось значительное увеличение количества капилляров в трансплантате островков Лангерганса [121,136,137]. Выдвинута гипотеза о том, что между трансплантированными β -клетками и СК устанавливаются прямые контакты [139].

Последние данные свидетельствуют о том, что мультипотентные МСК играют также важную роль в иммуномодуляции в основном за счет прямого ингибирования клеточной дифференцировки и пролиферации, изменения секреции цитокинов Т-клетками, В-лимфоцитами, дендритными клетками, естественными клетками-киллерами, а также

индукции Т-регуляторных клеток [140-144]. Эти иммуномодулирующие свойства мультипотентных МСК весьма перспективны для терапевтического применения при лечении многочисленных аутоиммунных заболеваний и индукции толерантности при аллотрансплантации [143,145].

Мультипотентные МСК также могут предотвратить аутоиммунное разрушение β -клеток и последующее развитие диабета [146]. При совместной трансплантации островков Лангерганса и клеток костного мозга мультипотентные МСК повышают приживление и функционирование островков через механизм повышения числа Т-регуляторных клеток в периферической крови [147].

Места трансплантации стволовых клеток

Весьма важным условием успешной трансплантации β -клеток является правильный подбор места посадки СК, которое обеспечит длительное сохранение жизнеспособности и функциональной активности введенных клеток, а также легко доступно для гарантирования максимальной безопасности пациента [148, 149].

В настоящее время наиболее оптимальной является трансплантация β -клеток в печень через портальную вену, так как в естественных условиях синтезируемый ПЖ инсулин попадает, в первую очередь, в печень, где, в основном, и оказывает свое влияние [149, 150]. Однако в силу целого ряда причин (низкого напряжения кислорода, активного иммунного ответа, немедленной воспалительной реакции, тромбоза, высоких уровней токсинов и лекарств в печени) половина β -клеток погибает вскоре после трансплантации в портальную вену [111,149,151,152]. Важную роль в потере функциональной активности трансплантата играют неспецифические иммунные реакции и специфический клеточный иммунный ответ [112-114].

В качестве альтернативы рассматривается возможность трансплантации β -клеток под почечную капсулу, внутрибрюшинно, в сальниковую сумку, под почечную капсулу или подкожно [152-154]. Последний вариант наиболее приемлем с точки зрения пациента.

Необходимость иммуносупрессии при трансплантации стволовых клеток

В настоящее время имеются противоречивые данные об отсутствии [155,156] или развитии [157,158] иммунного ответа после трансплантации эмбриональных СК человека и их высококодиф-

ференцированных производных. К сожалению, получение аутологичных β -клеток из индуцированных плюрипотентных СК не исключает необходимости подавления ауто- и аллоиммунитета при СД [149,157,159]. Аллогенная трансплантация эмбриональных СК человека также требует обязательной иммуносупрессивной терапии, которая оказывает крайне негативное влияние на β -клетки, репликацию и выживание [160].

В настоящее время почти все классические препараты против отторжения трансплантатов имеют токсические свойства по отношению к β -клеткам ПЖ, что при их непрерывном использовании может привести к потере функции трансплантата [115,116].

Отсутствие иммуногенности у β -клеток является крайне желательным, но не обязательным условием, если достижения в области макро- и микроинкапсуляции ткани или клеток позволят исключить презентацию антигена трансплантата при возможности неограниченной диффузии питательных веществ, мессенджеров и метаболитов [161-165].

Весьма перспективным является использование CD3-специфических антител для индукции длительной толерантности к аутоантигенам [166], трансплантация клеток в иммунопривилегированные места (под капсулу почки, в переднюю камеру глаза или яичко), создание крупных банков эмбриональных СК с целью подбора пар донор-реципиент по HLA-фенотипу [167-169] или применение эмбриональных СК из партеногенетических эмбрионов в качестве источника гистосовместимых клеток и тканей для клеточной терапии [170].

Проблемы безопасности при трансплантации стволовых клеток

Одной из основных проблем, связанных с трансплантацией СК, является возможность злокачественной трансформации [149,154]. Так, длительный период инкубации МСК в условиях *in vitro* может увеличить риск возникновения хромосомной нестабильности и злокачественной трансформации [171]. Склонность к злокачественной трансформации зависит от вида (например, человек или мышь), источника (например, жировая ткань или костный мозг), подготовки трансплантационного материала и клеточного цикла в момент применения СК.

Образование тератом, которые являются доброкачественными опухолями и содержат ткани из всех трех зародышевых листков, было зарегистрировано

в многочисленных исследованиях по трансплантации плюрипотентных СК, в том числе и при получении инсулин-продуцирующих клеток из эмбриональных СК человека [149,172,173].

Вместе с тем, известно, что зрелые СК обладают более низкой пластичностью, чем эмбриональные [111]. Кроме того, использование зрелых СК в качестве хелперов для поддержания пересаженных тканей или клеток менее рискованно, чем их использование в качестве клеток-предшественников.

Весьма актуальной является разработка дополнительных методик, которые позволяют *in vitro* и *in vivo* обнаруживать остатки недифференцированных СК и элиминировать их. Для этого может быть использована как стандартная процедура сортировки СК, так и более современные подходы с использованием молекул или антитело-токсин конъюгатов, способных избирательно уничтожать недифференцированные СК [149,174]. Существенный риск образования тератом (превышающим 15% [175]) можно было бы предотвратить путем строгого отбора полностью дифференцированных клеток [6].

Один из способов решения проблемы онкогенного потенциала эмбриональных СК и индуцированных плюрипотентных СК заключается в селекции и развитии чистых популяций наиболее подходящих для трансплантации клеток [176]. Также необходимы дальнейшие исследования для изучения механизмов созревания β -клеток в естественных условиях и сигналов, которые управляют дифференциацией эндокринных предшественников и/или зрелых β -клеток, с целью реализации потенциала этого вида терапии [176].

Выводы

Таким образом, клеточная терапия имеет большие перспективы для лечения СД 1 типа. Однако дальнейшее развитие регенеративной медицины требует решения многих сложных задач, в первую очередь, внедрения крайне дорогостоящих методов обработки клеточного материала согласно надлежащей производственной практике (GMP), соблюдения стандартных протоколов всех процедур и жестких критериев выпуска продукции, а также обеспечения специализированными учреждениями и высокопрофессиональным персоналом [177]. Весьма важным является контроль за соблюдением протокола клинических испытаний по использованию СК при лечении СД 1 типа, который могут проводить комитеты по этике и независимые клинические научно-исследовательские организации.

Кроме того, весьма важным является стандартное определение клеточной идентичности, жизнеспособности, гормонального потенциала и фенотипических характеристик для каждого клеточного продукта перед его трансплантацией. Настоящие и будущие исследования с использованием СК помогут оценить безопасность и эффективность применения соответствующих клинических протоколов, в частности, оптимальный тип клеток или их комбинаций для конкретных условий, оптимальные маркеры клеток для определения их характеристик, а также оптимальные схемы лечения для пациентов [177].

Наиболее рациональным представляется проведение многоцентровых рандомизированных клинических исследований при соблюдении условий стандартизации обработки клеточного материала и клинических протоколов, основанных на результатах пилотных исследований. В реестры клинических испытаний необходимо вносить данные только тех исследований, которые соответствуют международным этическим стандартам, позволяют четко интерпретировать результаты, оценить безопасность и эффективность предложенного способа лечения. Выполнение всех этих положений, несомненно, приведет к ускорению прогресса в этой области медицинской науки.

Благодарность

Авторы выражают благодарность Пастер Н.И. за техническую помощь в подготовке рукописи.

Список использованной литературы

- Burns C.J., Persaud S.J., Jones P.M. Stem cell therapy for diabetes: do we need to make beta cells? // *J. Endocrinol.* 2004, 183, 437-443.
- Довідник основних показників діяльності ендокринологічної служби України за 2011 рік // *Ендокринологія.* 2012, 17, № 1, додаток 2, 36 с.
- Nathan D.M. Long-term complications of diabetes mellitus // *N. Engl. J. Med.* 1993, 328, 1676-1685.
- The DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus // *N. Engl. J. Med.* 1993, 29, 977-986.
- Аметов А.С. Перспективы развития диабетологии // *Тер. архив.* 2005, № 10, 5-9.
- 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, 24, 1501-1511.
- Тронько Н.Д., Пастер И.П. Достижения регенеративной медицины в терапии сахарного диабета 1 типа. I. Источники получения б-клеток (1 часть) // *Ендокринологія.* 2012, 17, № 2, 66-73.
- Тронько Н.Д., Пастер И.П. Достижения регенеративной медицины в терапии сахарного диабета 1 типа. I. Источники получения б-клеток (2 часть) // *Ендокринологія.* 2012, 17, № 3, 74-84.
- Fadini G.P., Sartore S., Schiavon M. et al. Diabetes impairs progenitor cell mobilisation after hindlimb ischaemia reperfusion injury in rats // *Diabetologia.* 2006, 49, 3075-3084.
- Tepper O.M., Galiano R.D., Capla J.M. et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures // *Circulation.* 2002, 106, 2781-2786.
- Loomans C.J.M., De Koning E.J.P., Staal F.J.T. et al. Endothelial progenitor cell dysfunction: a novel concept in the pathogenesis of vascular complications of type 1 Diabetes // *Diabetes.* 2004, 53, 195-199.
- Kusuyama T., Omura T., Nishiya D. et al. Effects of treatment for diabetes mellitus on circulating vascular progenitor cells // *J. Pharmacol. Sci.* 2006, 102, 96-102.
- Fadini G.P., Pucci L., Vanacore R. et al. Glucose tolerance is negatively associated with circulating progenitor cell levels // *Diabetologia.* 2007, 50, 2156-2163.
- Egan C.G., Lavery R., Caporali F. et al. Generalised reduction of putative endothelial progenitors and CXCR4-positive peripheral blood cells in type 2 diabetes // *Diabetologia.* 2008, 51, 1296-1305.
- Fadini G.P., Sartore S., Albiero M. et al. Number and function of endothelial progenitor cells as a marker of severity for diabetic vasculopathy // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006, 26, 2140-2146.
- Heissig B., Hattori K., Dias S. et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of Kit-ligand // *Cell.* 2002, 109, 625-637.
- Segal M.S., Shah R., Afzal A. et al. Nitric oxide cytoskeletal-induced alterations reverse the endothelial progenitor cell migratory defect associated with diabetes // *Diabetes.* 2006, 55, 102-109.
- Vasa M., Breitschopf K., Zeiher A.M., Dimmeler S. Nitric oxide activates telomerase and delays endothelial cell senescence // *Circ. Res.* 2000, 87, 540-542.
- Kuki S., Imanishi T., Kobayashi K. et al. Hyperglycemia accelerated endothelial progenitor cell senescence via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase // *Circ. J.* 2006, 70, 1076-1081.
- Rosso A., Balsamo A., Gambino R. et al. p53 mediates the accelerated onset of senescence of endothelial progenitor cells in diabetes // *J. Biol. Chem.* 2006, 281, 4339-4347.
- Balestrieri M.L., Rienzo M., Felice F. et al. High glucose downregulates endothelial progenitor cell number via SIRT1 // *Biochim. Biophys. Acta.* 2008, 1784, 936-945.
- Di Stefano V., Cencioni C., Zaccagnini G. et al. P66 ShcA modulates oxidative stress and survival of endothelial progenitor cells in response to high glucose // *Cardiovasc. Res.* 2009, 82, 421-429.
- Calcutt N.A., Cooper M.E., Kern T.S., Schmidt A.M. Therapies for hyperglycaemia-induced diabetic complications: from animal models to clinical trials // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2009, 8, 417-429.
- Scheibel R.J., Kahrstedt S., Weber H. et al. Depression of progenitor cell function by advanced glycation endproducts (AGEs): potential relevance for impaired angiogenesis in advanced age and diabetes // *Exp. Gerontol.* 2006, 41, 540-548.
- Chen Q., Dong L., Wang L. et al. Advanced glycation end products impair function of late endothelial progenitor cells through effects on protein kinase Akt and cyclooxygenase-2 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009, 381, 192-197.
- Sun C., Liang C., Ren Y. et al. Advanced glycation end products depress function of endothelial progenitor cells via p38 and ERK 1/2 mitogen-activated protein kinase Pathways // *Basic Res. Cardiol.* 2009, 104, 42-49.
- Bernardi S., Severini G.M., Zauli G., Secchiero P. Cell-based therapies for diabetic complications // *Exp. Diabetes Res.* 2012, 2012, Article ID 872504.
- Ramiya V.K., Maraist M., Arfors K.E. et al. Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated in vitro from

- pancreatic stem cells // *Nat. Med.* 2000, 6, 278-282.
29. Ogata T., Park K.Y., Seno M., Kojima I. Reversal of streptozotocin-induced hyperglycemia by transplantation of pseudoislets consisting of cells derived from ductal cells // *Endocr. J.* 2004, 51, 381-386.
 30. Hao E., Tyrberg B., Itkin-Ansari P. et al. b-cell differentiation from nonendocrine epithelial cells of the adult human pancreas // *Nat. Med.* 2006, 12, 310-316.
 31. Yang L., Li S., Hatch H. et al. In vitro trans-differentiation of adult hepatic stem cells into pancreatic endocrine hormone-producing cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2002, 99, 8078-8083.
 32. Zalzman M., Gupta S., Giri R.K. et al. Reversal of hyperglycemia in mice by using human expandable insulin-producing cells differentiated from fetal liver progenitor cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003, 100, 7253-7258.
 33. Hess D., Li L., Martin M. et al. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration // *Nat. Biotechnol.* 2003, 21, 763-770.
 34. Kang E.M., Zickler P.P., Burns S. et al. Hematopoietic stem cell transplantation prevents diabetes in NOD mice but does not contribute to significant islet cell regeneration once disease is established // *Exp. Hematol.* 2005, 33, 699-705.
 35. Lee R.H., Seo M.J., Reger R.L. et al. Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006, 103, 17438-17443.
 36. Hasegawa Y., Ogihara Y., Yamada T. et al. Bone marrow (BM) transplantation promotes b-cell regeneration after acute injury through BM cell mobilization // *Endocrinology.* 2007, 148, 2006-2015.
 37. Ende N., Chen R., Reddi A.S. Transplantation of human umbilical cord blood cells improves glycemia and glomerular hypertrophy in type 2 diabetic mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004, 321, 168-171.
 38. Ende N., Chen R., Reddi A.S. Effect of human umbilical cord blood cells on glycemia and insulinitis in type 1 diabetic mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004, 325, 665-669.
 39. Soria B., Roche E., Bern G. et al. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice // *Diabetes.* 2000, 49, 157-162.
 40. Schroeder I.S., Rolletschek A., Blyszczuk P. et al. Differentiation of mouse embryonic stem cells to insulin-producing cells // *Nat. Protoc.* 2006, 1, 495-507.
 41. Voltarelli J.C., Couri C.E., Stracieri A.B. et al. Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus // *JAMA.* 2007, 297, 1568-1576.
 42. Couri C.E., Oliveira M.C., Stracieri A.B. et al. C-peptide levels and insulin independence following autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus // *JAMA.* 2009, 301, 1573-1579.
 43. Snarski E., Milczarczyk A., Torosian T. et al. Independence of exogenous insulin following immunoablation and stem cell reconstitution in newly diagnosed diabetes type I // *Bone Marrow Transplant.* 2011, 46, 562-566.
 44. Lloyd C.E., Kuller L.H., Ellis D. et al. Coronary artery disease in IDDM. Gender differences in risk factors but not risk // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1996, 16, 720-726.
 45. Solang L., Malmberg K., Ryden L. Diabetes mellitus and congestive heart failure. Further knowledge needed // *Eur. Heart J.* 1999, 20, 789-795.
 46. Bauters C., Lamblin N., Mc Fadden E.P. et al. Influence of diabetes mellitus on heart failure risk and outcome // *Cardiovasc. Diabetol.* 2003, 2, 1.
 47. Rota M., LeCapitaine N., Hosoda T. et al. Diabetes promotes cardiac stem cell aging and heart failure, which are prevented by deletion of the p66shc gene // *Circ. Res.* 2006, 99, 42-52.
 48. Aneja A., Tang W.H., Bansilal S. et al. Diabetic cardiomyopathy: insights into pathogenesis, diagnostic challenges, and therapeutic options // *Am. J. Med.* 2008, 121, 748-757.
 49. El-Helou V., Beguin P.C., Assimakopoulos J. et al. The rat heart contains a neural stem cell population; role in sympathetic sprouting and angiogenesis // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2008, 45, 694-702.
 50. El-Helou V., Proulx C., Gosselin H. et al. Dexamethasone treatment of post-MI rats attenuates sympathetic innervation of the infarct region // *J. Appl. Physiol.* 2008, 104, 150-156.
 51. Zhang N., Li J., Luo R. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induce angiogenesis and attenuate the remodeling of diabetic cardiomyopathy // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2008, 116, 104-111.
 52. Shabbir A., Zisa D., Suzuki G., Lee T. Heart failure therapy mediated by the trophic activities of bone marrow mesenchymal stem cells: a noninvasive therapeutic regimen // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2009, 296, H1888-H1897.
 53. Mishra P.K., Singh S.R., Joshua I.G., Tyagi S.C. Stem cells as a therapeutic target for diabetes // *Front. Biosci.* 2010, 15, 461-477.
 54. Dimmeler S., Burchfield J., Zeiher A.M. Cell-based therapy of myocardial infarction // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008, 28, 208-216.
 55. Hare J.M., Traverse J.H., Henry T.D. et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009, 54, 2277-2286.
 56. Fadini G.P., Miorin M., Facco M. et al. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in peripheral vascular complications of type 2 diabetes mellitus // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005, 45, 1449-1457.
 57. Fadini G.P., Sartore S., Agostini C., Avogaro A. Significance of endothelial progenitor cells in subjects with diabetes // *Diabetes Care.* 2007, 30, 1305-1313.
 58. Yan J., Tie G., Park B. et al. Recovery from hindlimb ischemia is less effective in type 2 than in type 1 diabetic mice: Roles of eNOS and endothelial progenitor cells // *J. Vasc. Surg.* 2009, 50, 1412-1422.
 59. Schmidt-Lucke C., Rössig L., Fichtlscherer S. et al. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair // *Circulation.* 2005, 111, 2981-2987.
 60. Werner N., Kosiol S., Schiegl T. et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes // *N. Engl. J. Med.* 2005, 353, 999-1007.
 61. Fadini G.P., Maruyama S., Ozaki T. et al. Circulating progenitor cell count for cardiovascular risk stratification: a pooled analysis // *PLoS ONE.* 2010, 5, Article ID: e11488.
 62. Ma Z.L., Mai X.L., Sun J.H. et al. Inhibited atherosclerotic plaque formation by local administration of magnetically labeled endothelial progenitor cells (EPCs) in a rabbit model // *Atherosclerosis.* 2009, 205, 80-86.
 63. Silvestre J.S., Gojova A., Brun V. et al. Transplantation of bone marrow-derived mononuclear cells in ischemic apolipoprotein E-knockout mice accelerates atherosclerosis without altering plaque composition // *Circulation.* 2003, 108, 2839-2842.
 64. Westerweel P.E., van Velthoven C.T.J., Nguyen T.Q. et al. Modulation of TGF- β /BMP-6 expression and increased levels of circulating smooth muscle progenitor cells in a type I diabetes mouse model // *Cardiovasc. Diabetol.* 2010, 9, 55.
 65. Kang H.J., Kim H.S., Zhang S.Y. et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial // *Lancet.* 2004, 363, 751-756.
 66. Menasche P. Stem cell therapy for heart failure: are arrhythmias a real safety concern? // *Circulation.* 2009, 119, 2735-2740.
 67. Schattman G.C., Hanlon H.D., Jiao C. et al. Blood-derived

- angioblasts accelerate blood-flow restoration in diabetic mice // *J. Clin. Invest.* 2000, 106, 571-578.
68. Hirata K., Li T.S., Nishida M. et al. Autologous bone marrow cell implantation as therapeutic angiogenesis for ischemic hindlimb in diabetic rat model // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003, 284, H66-H70.
 69. Amin A.H., Abd Elmageed Z.Y., Nair D. et al. Modified multipotent stromal cells with epidermal growth factor restore vasculogenesis and blood flow in ischemic hind-limb of type II diabetic mice // *Lab. Invest.* 2010, 90, 985-996.
 70. Gehling U.M., Ergun S., Schumacher U. et al. In vitro differentiation of endothelial cells from AC133-positive progenitor cells // *Blood.* 2000, 95, 3106-3112.
 71. Comerota A.J., Link A., Douville J., Burchardt E.R. Upper extremity ischemia treated with tissue repair cells from adult bone marrow // *J. Vasc. Surg.* 2010, 52, 723-729.
 72. Poulsom R., Forbes S.J., Hodivala-Dilke K. et al. Bone marrow contributes to renal parenchymal turnover and regeneration // *J. Pathol.* 2001, 195, 229-235.
 73. Ikarashi K., Li B., Suwa M. et al. Bone marrow cells contribute to regeneration of damaged glomerular endothelial cells // *Kidney Int.* 2005, 67, 1925-1933.
 74. Togel F., Hu Z., Weiss K. et al. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2005, 289, F31-F42.
 75. Duffield J.S., Park K.M., Hsiao L.L. et al. Restoration of tubular epithelial cells during repair of the postischemic kidney occurs independently of bone marrow-derived stem cells // *J. Clin. Invest.* 2005, 115, 1743-1755.
 76. Jarajapu Y.P., Grant M.B. The promise of cell-based therapies for diabetic complications: challenges and solutions // *Circ. Res.* 2010, 106, 854-869.
 77. Ezquer F.E., Ezquer M.E., Parrau D.B. et al. Systemic administration of multipotent mesenchymal stromal cells reverts hyperglycemia and prevents nephropathy in type 1 diabetic mice // *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2008, 14, 631-640.
 78. Ezquer F., Ezquer M., Simon V. et al. Endovenous administration of bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells prevents renal failure in diabetic mice // *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009, 15, 1354-1365.
 79. Naruse K., Hamada Y., Nakashima E. et al. Therapeutic neovascularization using cord blood-derived endothelial progenitor cells for diabetic neuropathy // *Diabetes.* 2005, 54, 1823-1828.
 80. Hasegawa T., Kosaki A., Shimizu K. et al. Amelioration of diabetic peripheral neuropathy by implantation of hematopoietic mononuclear cells in streptozotocin-induced diabetic rats // *Exp. Neurol.* 2006, 199, 274-280.
 81. Jeong J.O., Kim M.O., Kim H. et al. Dual angiogenic and neurotrophic effects of bone marrow-derived endothelial progenitor cells on diabetic neuropathy // *Circulation.* 2009, 119, 699-708.
 82. Shibata T., Naruse K., Kamiya H. et al. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves diabetic polyneuropathy in rats // *Diabetes.* 2008, 57, 3099-3107.
 83. Lee I.G., Chae S.L., Kim J.C. Involvement of circulating endothelial progenitor cells and vasculogenic factors in the pathogenesis of diabetic retinopathy // *Eye.* 2006, 20, 546-552.
 84. Brunner S., Scherthaner G.H., Satler M. et al. Correlation of different circulating endothelial progenitor cells to stages of diabetic retinopathy: first in vivo data // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2009, 50, 392-398.
 85. Grant M.B., May W.S., Caballero S. et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization // *Nat. Med.* 2002, 8, 607-612.
 86. Otani A., Dorrell M.I., Kinder K. et al. Rescue of retinal degeneration by intravitreally injected adult bone marrow-derived lineage-negative hematopoietic stem cells // *J. Clin. Invest.* 2004, 114, 765-774.
 87. Ritter M.R., Banin E., Moreno S.K. et al. Myeloid progenitors differentiate into microglia and promote vascular repair in a model of ischemic retinopathy // *J. Clin. Invest.* 2006, 116, 3266-3276.
 88. Kielczewski J.L., Jarajapu Y.P., McFarland E.L. et al. Insulin-like growth factor binding protein-3 mediates vascular repair by enhancing nitric oxide generation // *Circ. Res.* 2009, 105, 897-905.
 89. Caballero S., Sengupta N., Afzal A. et al. Ischemic vascular damage can be repaired by healthy, but not diabetic, endothelial progenitor cells // *Diabetes.* 2007, 56, 960-967.
 90. Albiero M., Menegazzo L., Boscaro E. et al. Defective recruitment, survival and proliferation of bone marrow-derived progenitor cells at sites of delayed diabetic wound healing in mice // *Diabetologia.* 2011, 54, 945-953.
 91. Stepanovic V., Awad O., Jiao C. et al. Leprdb diabetic mouse bone marrow cells inhibit skin wound vascularization but promote wound healing // *Circ. Res.* 2003, 92, 1247-1253.
 92. Awad O., Jiao C., Ma N. et al. Obese diabetic mouse environment differentially affects primitive and monocytic endothelial cell progenitors // *Stem Cells.* 2005, 23, 575-583.
 93. Wu Y., Chen L., Scott P.G., Tredget E.E. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis // *Stem Cells.* 2007, 25, 2648-2659.
 94. Kwon D.S., Gao X., Liu Y.B. et al. Treatment with bone marrow-derived stromal cells accelerates wound healing in diabetic rats // *Int. Wound J.* 2008, 5, 453-463.
 95. Lin C.D., Allori A.C., Macklin J.E. et al. Topical lineage-negative progenitor-cell therapy for diabetic wounds // *Plast. Reconstr. Surg.* 2008, 122, 1341-1351.
 96. Barcelos L.S., Duplaa C., Krankel N. et al. Human CD133⁺ progenitor cells promote the healing of diabetic ischemic ulcers by paracrine stimulation of angiogenesis and activation of Wnt signaling // *Circ. Res.* 2009, 104, 1095-1102.
 97. Gill M., Dias S., Hattori K. et al. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2⁺AC133⁺ endothelial precursor cells // *Circ. Res.* 2001, 88, 167-174.
 98. Wu Y., Zhao R.C.H., Tredget E.E. Concise review: bone marrow-derived stem/progenitor cells in cutaneous repair and regeneration // *Stem Cells.* 2010, 28, 905-915.
 99. Suh W., Kim K.L., Kim J.M. et al. Transplantation of endothelial progenitor cells accelerates dermal wound healing with increased recruitment of monocytes/macrophages and neovascularization // *Stem Cells.* 2005, 23, 1571-1578.
 100. Song Y.S., Lee H.J., Park I.H. et al. Human neural crest stem cells transplanted in rat penile corpus cavernosum to repair erectile dysfunction // *BJU Int.* 2008, 102, 220-224.
 101. Song Y.S., Lee H.J., Park I.H. et al. Potential differentiation of human mesenchymal stem cell transplanted in rat corpus cavernosum toward endothelial or smooth muscle cells // *Int. J. Impot. Res.* 2007, 19, 378-385.
 102. Bivalacqua T.J., Deng W., Kendirli M. et al. Mesenchymal stem cells alone or ex vivo gene modified with endothelial nitric oxide synthase reverse age-associated erectile dysfunction // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007, 292, H1278-H1290.
 103. Ryu S., Kodama S., Ryu K. et al. Reversal of established autoimmune diabetes by restoration of endogenous b-cell function // *J. Clin. Invest.* 2001, 108, 63-72.
 104. Kodama S., Khtreiber W., Fujimura S. et al. Islet regeneration during the reversal of autoimmune diabetes in NOD mice // *Science.* 2003, 302, 1223-1227.
 105. Kim S., Shin J.S., Kim H.J. et al. Streptozotocin-induced diabetes can be reversed by hepatic oval cell activation through hepatic transdifferentiation and pancreatic islet regeneration // *Lab. Invest.* 2007, 87, 702-712.
 106. Shapiro A.M., Lakey J.R., Ryan E.A. et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen // *N. Engl. J. Med.* 2000, 343, 230-238.
 107. Benhamou P.Y., Milliat-Guittard L., Wojtuszczyzn A. et al. Quality of life after islet transplantation: data from the

- GRAGIL 1 and 2 trials // *Diabet Med.* 2009, 26, 617-621.
108. Speight J., Reaney M.D., Woodcock A.J. et al. Patient-reported outcomes following islet cell or pancreas transplantation (alone or after kidney) in type 1 diabetes: a systematic review // *Diabet Med.* 2010, 27, 812-822.
 109. Shapiro A.M., Ricordi C., Hering B.J. et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation // *N. Engl. J. Med.* 2006, 355, 1318-1330.
 110. Ryan E.A., Paty B.W., Senior P.A. et al. Five-year follow-up after clinical islet transplantation // *Diabetes.* 2005, 54, 2060-2069.
 111. Sordi V., Piemonti L. Mesenchymal stem cells as feeder cells for pancreatic islet transplants // *Rev. Diabet Stud.* 2010, 7, 132-143.
 112. Mohanakumar T., Narayanan K., Desai N. et al. A significant role for histocompatibility in human islet transplantation // *Transplantation.* 2006, 82, 180-187.
 113. Campbell P.M., Senior P.A., Salam A. et al. High risk of sensitization after failed islet transplantation // *Am. J. Transplant.* 2007, 7, 2311-2317.
 114. Cardani R., Pileggi A., Ricordi C. et al. Allosensitization of islet allograft recipients // *Transplantation.* 2007, 84, 1413-1427.
 115. Pham P.T., Pham P.C., Lipshutz G.S., Wilkinson A.H. New onset diabetes mellitus after solid organ transplantation // *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* 2007, 36, 873-890.
 116. Zahr E., Molano R.D., Pileggi A. et al. Rapamycin impairs in vivo proliferation of islet beta-cells // *Transplantation.* 2007, 84, 1576-1583.
 117. Sykes M. Immune tolerance: mechanisms and application in clinical transplantation // *J. Intern. Med.* 2007, 262, 288-310.
 118. Kawai T., Cosimi A.B., Spitzer T.R. et al. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression // *N. Engl. J. Med.* 2008, 358, 353-361.
 119. Scandling J.D., Busque S., Dejbakhsh-Jones S. et al. Tolerance and chimerism after renal and hematopoietic-cell transplantation // *N. Engl. J. Med.* 2008, 358, 362-368.
 120. Ding Y., Xu D., Feng G. et al. Mesenchymal stem cells prevent the rejection of fully allogeneic islet grafts by the immunosuppressive activity of matrix metalloproteinase-2 and -9 // *Diabetes.* 2009, 58, 1797-1806.
 121. Ito T., Itakura S., Todorov I. et al. Mesenchymal stem cell and islet co-transplantation promotes graft revascularization and function // *Transplantation.* 2010, 89, 1438-1445.
 122. Inverardi L., Ricordi C. Tolerance and pancreatic islet transplantation // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2001, 356, 759-765.
 123. Asahara T., Murohara T., Sullivan A. et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis // *Science.* 1997, 275, 964-967.
 124. Di Santo S., Yang Z., Wyler von Ballmoos M. et al. Novel cell-free strategy for therapeutic angiogenesis: in vitro generated conditioned medium can replace progenitor cell transplantation // *PLoS ONE.* 2009, 4, e5643.
 125. Park K.S., Kim Y.S., Kim J.H. et al. Trophic molecules derived from human mesenchymal stem cells enhance survival, function, and angiogenesis of isolated islets after transplantation // *Transplantation.* 2010, 89, 509-517.
 126. Urb n V.S., Kiss J., Kov cs J. et al. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes // *Stem Cells.* 2008, 26, 244-253.
 127. Al-Khaldi A., Eliopoulos N., Martineau D. et al. Postnatal bone marrow stromal cells elicit a potent VEGF-dependent neoangiogenic response in vivo // *Gene Ther.* 2003, 10, 621-629.
 128. Mathews V., Hanson P.T., Ford E. et al. Recruitment of bone marrow-derived endothelial cells to sites of pancreatic b-cell injury // *Diabetes.* 2004, 53, 91-98.
 129. Gruber R., Kandler B., Holzmann P. et al. Bone marrow stromal cells can provide a local environment that favors migration and formation of tubular structures of endothelial cells // *Tissue Eng.* 2005, 11, 896-903.
 130. Asahara T., Takahashi T., Masuda H. et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells // *EMBO J.* 1999, 18, 3964-3972.
 131. Kaigler D., Krebsbach P.H., Polverini P.J., Mooney D.J. Role of vascular endothelial growth factor in bone marrow stromal cell modulation of endothelial cells // *Tissue Eng.* 2003, 9, 95-103.
 132. Kinnaird T., Stabile E., Burnett M.S. et al. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms // *Circulation.* 2004, 109, 1543-1549.
 133. Kinnaird T., Stabile E., Burnett M.S. et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms // *Circ. Res.* 2004, 94, 678-685.
 134. Contreras J.L., Smyth C.A., Eckstein C. et al. Peripheral mobilization of recipient bone marrow-derived endothelial progenitor cells enhances pancreatic islet revascularization and engraftment after intraportal transplantation // *Surgery.* 2003, 134, 390-398.
 135. Johansson U., Rasmusson I., Niclou S.P. et al. Formation of composite endothelial cell-mesenchymal stem cell islets: a novel approach to promote islet revascularization // *Diabetes.* 2008, 57, 2393-2401.
 136. Figliuzzi M., Cornolti R., Perico N. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells improve islet graft function in diabetic rats // *Transplant. Proc.* 2009, 41, 1797-1800.
 137. Sakata N., Chan N.K., Chrisler J. et al. Bone marrow cell cotransplantation with islets improves their vascularization and function // *Transplantation.* 2010, 89, 686-693.
 138. Sordi V., Melzi R., Mercalli A. et al. Mesenchymal cells appearing in pancreatic tissue culture are bone marrow-derived stem cells with the capacity to improve transplanted islet function // *Stem Cells.* 2010, 28, 140-151.
 139. Olerud J., Kanaykina N., Vasylovska S. et al. Neural crest stem cells increase beta cell proliferation and improve islet function in co-transplanted murine pancreatic islets // *Diabetologia.* 2009, 52, 2594-2601.
 140. Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E. et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions // *Blood.* 2006, 107, 367-372.
 141. Sato K., Ozaki K., Oh I. et al. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells // *Blood.* 2007, 109, 228-234.
 142. Ozawa K., Sato K., Oh I. et al. Cell and gene therapy using mesenchymal stem cells (MSCs) // *J. Autoimmun.* 2008, 30, 121-127.
 143. Bartholomew A., Polchert D., Szilagyi E. et al. Mesenchymal stem cells in the induction of transplantation tolerance // *Transplantation.* 2009, 87 (Suppl), S55-S57.
 144. Ghannam S., Pene J., Torcy-Moquet G. et al. Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype // *J. Immunol.* 2010, 185, 302-312.
 145. Tyndall A., Uccelli A. Multipotent mesenchymal stromal cells for autoimmune diseases: teaching new dogs old tricks // *Bone Marrow Transplant.* 2009, 43, 821-828.
 146. Madec A.M., Mallone R., Afonso G. et al. Mesenchymal stem cells protect NOD mice from diabetes by inducing regulatory T cells // *Diabetologia.* 2009, 52, 1391-1399.
 147. Berman D.M., Willman M.A., Han D. et al. Mesenchymal stem cells enhance allogeneic islet engraftment in nonhuman primates // *Diabetes.* 2010, 59, 2558-2568.
 148. Merani S., Toso C., Emamaullee J., Shapiro A.M. Optimal implantation site for pancreatic islet transplantation // *Br. J. Surg.* 2008, 95, 1449-1461.
 149. Mayhew C.N., Wells J.M. Converting human pluripotent stem cells into beta cells: recent advances and future challenges // *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2010, 15, 54-60.
 150. Yonekawa Y., Okitsu T., Wake K. et al. A new mouse model for intraportal islet transplantation with limited hepatic

- lobe as a graft site // *Transplantation*. 2006, 82, 712-715.
151. Fiorina P., Shapiro A.M., Ricordi C., Secchi A. The clinical impact of islet transplantation // *Am. J. Transplant*. 2008, 8, 1990-1997.
 152. van der Windt D.J., Echeverri G.J., Ijzermans J.N., Cooper D.K. The choice of anatomical site for islet transplantation // *Cell Transplant*. 2008, 17, 1005-1014.
 153. Juang J.H., Hsu B.R., Kuo C.H. Islet transplantation at subcutaneous and intramuscular sites // *Transplant. Proc*. 2005, 37, 3479-3481.
 154. Borowiak M. The new generation of beta-cells: replication, stem cell differentiation, and the role of small molecules // *Rev. Diabet Stud*. 2010, 7, 93-104.
 155. Li L., Baroja M.L., Majumdar A. et al. Human embryonic stem cells possess immune-privileged properties // *Stem Cells*. 2004, 22, 448-456.
 156. Drukker M., Katchman H., Katz G. et al. Human embryonic stem cells and their differentiated derivatives are less susceptible to immune rejection than adult cells // *Stem Cells*. 2006, 24, 221-229.
 157. Grinnemo K.H., Kumagai-Braesch M., Mansson-Broberg A. et al. Human embryonic stem cells are immunogenic in allogeneic and xenogeneic settings // *Reprod. Biomed. Online*. 2006, 13, 712-724.
 158. Swijnenburg R.J., Schrepfer S., Govaert J.A. et al. Immunosuppressive therapy mitigates immunological rejection of human embryonic stem cell xenografts // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008, 105, 12991-12996.
 159. Swijnenburg R.J., Tanaka M., Vogel H. et al. Embryonic stem cell immunogenicity increases upon differentiation after transplantation into ischemic myocardium // *Circulation*. 2005, 112, I166-I172.
 160. Robertson R.P. Islet transplantation as a treatment for diabetes – a work in progress // *N. Engl. J. Med*. 2004, 350, 694-705.
 161. Fort A., Fort N., Ricordi C., Stabler C.L. Biohybrid devices and encapsulation technologies for engineering a bioartificial pancreas // *Cell Transplant*. 2008, 17, 997-1003.
 162. Pickup J.C., Zhi Z.L., Khan F. et al. Nanomedicine and its potential in diabetes research and practice // *Diabetes Metab. Res. Rev*. 2008, 24, 604-610.
 163. Lee S.H., Hao E., Savinov A.Y. et al. Human b-cell precursors mature into functional insulin-producing cells in an immunoisolation device: implications for diabetes cell therapies // *Transplantation*. 2009, 87, 983-991.
 164. Teramura Y., Iwata H. Bioartificial pancreas microencapsulation and conformal coating of islet of Langerhans // *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2010, 62, 827-840.
 165. McQuilling J.P., Arenas-Herrera J., Childers C. et al. New alginate microcapsule system for angiogenic protein delivery and immunoisolation of islets for transplantation in the rat omentum pouch // *Transplant Proc*. 2011, 43, 3262-3264.
 166. Chatenoud L., Bluestone J.A. CD3-specific antibodies: a portal to the treatment of autoimmunity // *Nat. Rev. Immunol*. 2007, 7, 622-632.
 167. Taylor C.J., Bolton E.M., Pocock S. et al. Banking on human embryonic stem cells: estimating the number of donor cell lines needed for HLA matching // *Lancet*. 2005, 366, 2019-2025.
 168. Rao M.S., Auerbach J.M. Estimating human embryonic stem-cell numbers // *Lancet*. 2006, 367, 650.
 169. Osafune K., Caron L., Borowiak M. et al. Marked differences in differentiation propensity among human embryonic stem cell lines // *Nat. Biotechnol*. 2008, 26, 313-315.
 170. Hao J., Zhu W., Sheng C. et al. Human parthenogenetic embryonic stem cells: one potential resource for cell therapy // *Sci. China, C, Life Sci*. 2009, 52, 599-602.
 171. Tolar J., Nauta A.J., Osborn M.J. et al. Sarcoma derived from cultured mesenchymal stem cells // *Stem Cells*. 2007, 25, 371-379.
 172. Blum B., Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic stem cells // *Adv. Cancer Res*. 2008, 100, 133-158.
 173. Kroon E., Martinson L.A., Kadoya K. et al. Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo // *Nat. Biotechnol*. 2008, 26, 443-452.
 174. Chung S., Shin B.S., Hedlund E. et al. Genetic selection of sox1GFP-expressing neural precursors removes residual tumorigenic pluripotent stem cells and attenuates tumor formation after transplantation // *J. Neurochem*. 2006, 97, 1467-1480.
 175. D'Amour K.A., Bang A.G., Eliazar S. et al. Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells // *Nat. Biotechnol*. 2006, 24, 1392-1401.
 176. Wen Y., Chen B., Ildstad S.T. Stem cell-based strategies for the treatment of type 1 diabetes mellitus // *Expert Opin. Biol. Ther*. 2011, 11, 41-53.
 177. Fotino C., Ricordi C., Lauriola V. et al. Bone marrow-derived stem cell transplantation for the treatment of insulin-dependent diabetes // *Rev. Diabet Stud*. 2010, 7, 144-157.

(Надійшла 5.10.2012)

Досягнення регенеративної медицини в терапії цукрового діабету 1 типу. II. Застосування стовбурових клітин для лікування основного захворювання та його ускладнень

І.П. Пастер, М.Д. Тронько

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин

ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Представлені сучасні наукові дані про досягнення регенеративної медицини в застосуванні стовбурових клітин для лікування цукрового діабету першого типу та його ускладнень.

Ключові слова: цукровий діабет першого типу, стовбурові клітини.

Advances of regenerative medicine in the therapy of type 1 diabetes mellitus. II. Use of stem cells for the therapy of main disease and its complications

I.P. Pasteur, M.D. Tronko

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and

Metabolism, Natl Acad. Med. Sci. of Ukraine»

Summary. Modern scientific data are presented, on the advances of regenerative medicine in the use of stem cells for the therapy of type 1 diabetes mellitus and its complications.

Keywords: type 1 diabetes mellitus, stem cells.

Анапластична карцинома щитоподібної залози: нові підходи до її лікування (огляд літератури)

М.Д. Тронько,
В.В. Пушкарьов,
О.І. Ковзун,
В.М. Пушкарьов*

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

Резюме. В огляді аналізуються дані останнього десятиріччя щодо механізмів канцерогенезу анапластичного раку щитоподібної залози та канцеростатичної дії таксанів на клітини злоякісних пухлин. Показана роль різних сигнальних каскадів та регуляторних механізмів клітинного циклу в опосередкуванні ефектів таксанів у пухлинній клітині. Наведені дані, одержані при вивченні дії таксанів на клітини анапластичного раку щитоподібної залози, які розкривають механізм індукції апоптозу. Обговорюється вклад різних месенджерних каскадів у про- та антиапоптозні процеси, що ініціюються в клітині під дією таксанів.

Ключові слова: анапластичний рак щитоподібної залози, канцерогенез, таксани, мікротрубочки, клітинний цикл, внутрішньоклітинні месенджери, апоптоз.

В Україні після аварії на ЧАЕС спостерігається вірогідне зростання частоти раку щитоподібної залози (ЩЗ) [1]. Посилення інтересу дослідників до проблеми канцерогенезу ЩЗ в останні роки визначається як значним підвищенням ризику розвитку злоякісних пухлин в осіб, що зазнали дії іонізуючого випромінювання, так і тим, що пухлини ЩЗ є особливою моделлю для вивчення генетичних і молекулярних механізмів індукції новоутворень. Така унікальність обумовлена однорідністю тироїдної тканини, утвореної переважно фолікулярними клітинами з низькою проліферативною та мітотичною активністю, а також можливістю культивування фолікулярних клітин. Ще однією

важливою причиною, що зумовлює інтерес до вивчення ЩЗ, є необхідність пошуку ефективних терапевтичних підходів для лікування новоутворень ЩЗ, які важко видалити хірургічним шляхом і які не піддаються променевої терапії. У першу чергу, це стосується анапластичного раку ЩЗ (anaplastic thyroid cancer – АТС).

Одним із важливих завдань, що стоять перед клінічною онкологією та ендокринологією, є впровадження в практику нових, вискоелективних сполук для лікування пухлин та пошук шляхів посилення ефективності препаратів, що вже використовуються. Таксани є вискоелективними протипухлинними препаратами, які успішно використовуються для лікування багатьох видів раку, у тому числі, і злоякісних пухлин ендокринного походження [2-5]. Вивчаються можливості їх застосування для терапії АТС [6,7]. Проведені дослідження свідчать, що паклітаксель (Ptx) активує в пухлинних клі-

* 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.vm@gmail.com

тинах не тільки апоптозні чи некротичні процеси, але й механізми, які протидіють загибелі клітин [7]. Тому надзвичайно актуальними є дослідження, які б давали змогу вивчити механізми дії таксанів у трансформованих клітинах та визначити способи інактивації сигнальних каскадів, які беруть участь у набутті резистентності ракових клітин до цього протипухлинного препарату.

Патогенез та особливості анапластичного раку щитоподібної залози

Більшість злоякісних новоутворень ЩЗ є добре диференційованими і характеризуються хорошим прогнозом, тоді як анапластичний рак ЩЗ (АТС) є надзвичайно агресивним раком із поганим прогнозом, незважаючи на застосування різноманітних терапевтичних підходів. Співвідношення захворювань на АТС серед жінок та чоловіків становить 5 до 1, а максимум захворюваності спостерігається в межах шосто-го та сьомого десятиліття життя [8]. Ці спостереження підтверджують й інші дослідження, які показали, що близько 68% усіх пацієнтів з АТС мали вік більше 70 років, причому жінок серед них було 70%, чоловіків – 30% [9]. Захворюваність АТС становить 1-2 випадки на мільйон населення на рік, і спостерігається тенденція до її зниження, хоча захворюваність на добре диференційовані підтипи раку ЩЗ, такі як папілярний, збільшується [10]. Фактори ризику для АТС вивчені недостатньо. АТС може траплятися в пацієнтів без захворювань ЩЗ. З іншого боку, рак може виникати на тлі зоба або співіснувати з диференційованим раком ЩЗ. У ході досліджень було показано, що 25% пацієнтів з АТС мали в анамнезі зоб ЩЗ, крім того, відомо, що АТС є більш поширеним у місцях з ендемічним зобом, і після застосування добавок йоду частота АТС знижувалась [11].

АТС має солідну будову і є пухлиною, яка складається з недиференційованих клітин, що зберігають маркери епітеліальних клітин. Зазвичай ці пухлини складаються з великих за розміром клітин, які представлені сумішшю веретеноподібних, плейоморфних гігантських клітин та значної кількості макрофагів, інфільтрованих у пухлину [12,13]. Останні виявляються в 95% АТС і тільки у 27% диференційованих пухлин, а їх кількість корелює з інвазивністю пухлини та зменшенням терміну виживання пацієнтів [14]. АТС становить близько 1-5% від усіх злоякісних новоутворень ЩЗ, але «забезпечує» понад 50% смертності від усіх видів раку ЩЗ. Прогноз за-

хворювання вкрай несприятливий із високою смертністю внаслідок неконтрольованого системного метастазування [15]. Медіана виживання дорівнює 4 місяці і не покращується вже впродовж останніх 50 років [13].

Останні досягнення в розумінні генетичних і молекулярних механізмів патогенезу АТС виявились перспективними для цільової терапії. Для АТС характерні декілька специфічних генних мутацій, більшість з яких трапляється в папілярних карциномах (РТС) (Ras і B-Raf) [16]. Це означає, що частина АТС виникають з існуючих РТС у процесі дедиференціювання та надбання нових мутацій гена p53, β-катеніну і PIK3CA [17]. У решті випадків АТС може виникати *de novo*. Генетичні зміни в гені p53 є найчастішими в АТС (до 80%), частота інших мутацій становить для Ras – 22%, B-Raf – 26%, β-катенін – 38%, PIK3CA – 17% [18].

Ген *TP53* кодує ядерний білок, який індукує зупинку клітинного циклу, репарацію ДНК, сенсценсію або апоптоз залежно від сили стресу. Головним його ефектом є активація гена, що кодує інгібітор циклін-залежних кіназ p21^{WAF}, та зупинка клітинного циклу на стадії G1/S [19]. Дефекти сигнальних шляхів, до яких залучений p53, призводять до дедиференціації, канцерогенезу, прогресії пухлини, ангиогенезу, нестабільності геному та стійкості до протипухлинної терапії [20]. У високодиференційованих карциномах ЩЗ мутації в гені *TP53* зустрічаються рідко (0-9%), у тому числі і в карциномах, які індуковані радіоактивним опроміненням [21]. Спостерігається певний «градієнт» кількості мутацій гена *TP53* залежно від ступеня диференційованості пухлини ЩЗ. Так, у низькодиференційованих пухлинах він становить 17-38%, а в АТС – до 88% [15,21,22]. Вважається, що такі мутації з'являються на пізніх стадіях канцерогенезу ЩЗ і асоційовані з розвитком пухлини та агресивнішим її фенотипом [21]. З іншого боку, є можливість застосування спеціальної p53-таргетної терапії. Крім мутацій, чинником ризику може бути поліморфізм гена *TP53* [23].

Мутації генів, що кодують білки MAP-кіназного сигнального каскаду, є однією з необхідних умов виникнення АТС [15,24-26]. Ras – родина протоонкогенів, важливих для росту та диференціації ЩЗ [27], яка контролює два основні каскади, пов'язані з проліферативними процесами: Ras–Raf–MEK–ERK та PI3K/Akt [13]. Три онкогени H-Ras (хромосома 11p11), K-Ras (12p12), N-Ras (1p13) із мутацією по 61 кодону залучені в канцерогенез ЩЗ. Мутації частіше трапляються в йододефіцитних об-

ластях, часто характерні для РТС і є ознакою прогресії пухлини, стійкості до радіоїоду та рецидивів цього типу пухлин [29]. Щодо АТС, то хворі з мутаціями в гені B-Raf характеризуються вищою смертністю порівняно з тими, що мають мутації в гені Ras та інші генетичні дефекти. Водночас мутації в гені B-Raf значно частіше (до 55%) зустрічаються у хворих на АТС [30]. Перебудови RET/РТС, TRK та PAX8-PPAR γ зустрічаються нечасто у хворих АТС, а це свідчить, що диференційовані пухлини ЩЗ із такими перебудовами рідко прогресують до АТС. Метилування супресора Ras – RASSF1A свідчить про зміни на епігенетичному рівні і є раннім проявом патологічних процесів у ЩЗ. Метилування NOR1A і посилена експресія B-Raf характеризує РТС і анапластичні тироїдні карциноми [31].

Мутації генів Axin 1, APC, β -катеніну також можуть стати причиною прогресії РТС та FTC в анапластичний рак [32]. β -катенін є багатифункціональним білком із двома різними функціями. З одного боку, він бере участь у формуванні міжклітинних контактів через стабілізацію кадгеринів, з іншого – залучений до регуляції клітинної проліферації та інвазійних процесів шляхом трансактивації таких генів, як c-Myc, циклін D, фібронектин та генів металопротеїназ. Можливість участі Wnt-сигнальних механізмів у трансформації клітин в АТС зазначається і в іншій роботі [33]. Мутації в гені β -катеніну (CTNNB1, хромосома 3p22–21.3) практично відсутні при високодиференційованих раках ЩЗ, але їх кількість зростає до 66% при АТС [15]. Дисоціація β -катеніну з комплексу з E-кадгерином, яка опосередковується різними тирозинкіназами, стимулює міграцію клітин і формування метастазів [34].

Важливу роль у контролі ростових і проліферативних процесів відіграє сигнальний каскад, ядром якого є протеїнкінази РІЗК і Akt, що активуються через рецепторні тирозинкінази (RTK) [35,36]. Каскад РТЕН/РІЗК/Akt бере участь у регуляції фундаментальних клітинних процесів, таких як метаболізм глюкози, виживання клітин, поділ клітини, адгезія та рухливість клітин [21]. Порушення нормального функціонування цього сигнального шляху часто призводять до виникнення і прогресії різних типів пухлин, у тому числі, і пухлин ЩЗ [37]. У відповідь на дію ростових чинників RTK активує РІЗК з утворенням на плазматичній мембрані PI(3,4)P2 і PI(3,4,5)P3, що ініціює транслокацію до мембрани ключової протеїнкінази каскаду – Akt. Одним із найчас-

тіших наслідків порушення функціонування цього каскаду є посилення активності РІЗСА – каталітичної субодиниці (p110) РІЗК, що відповідно спричиняє інтенсифікацію фосфорилування субстратів Akt [38]. Таке посилення можливе внаслідок соматичних мутацій у гені РІЗСА, що має місце в таких пухлинах людини, як гліобластома, рак шлунка, мозку, прямої кишки і молочної залози. Більшість мутацій зосереджена в спіральному та кіназному доменах білка [21,35]. Іншою причиною є ампліфікація РІЗСА, характерна для раку яєчників, легень і деяких інших. Частота таких мутацій є досить низькою у диференційованих пухлинах ЩЗ (РТС – 2%, FTC – 15%) і вищою у АТС (23%). Мутації в гені РІЗСА можуть зустрічатися разом із мутуваними Ras або B-Raf. Збільшення копій гена РІЗСА відмічалась у РТС та АТС, хоча залишається неясним: це має патогенетичне значення або ж є наслідком розбалансованості хромосом [37,39,40].

Akt є ефектором РІЗК-сигнального шляху – ключовою протеїнкіназою, що фосфорилує велику кількість субстратів, результатом чого є активація ростових, проліферативних, анти-апоптозних процесів [35,41]. Соматичні мутації в гені Akt1 (E17K) були виявлені в низці злоякісних пухлин, у тому числі і АТС [42]. Мутації призводять до зміни структури плектринового (PH) домену протеїнкінази, що визначає її конститутивну активацію. Мутації Akt1, які знаходять при АТС, не співпадають із мутаціями гена РІЗСА, тобто є альтернативним механізмом активації цього сигнального ланцюга в пухлинах на пізніх стадіях їх розвитку і часто асоційовані з мутаціями в B-Raf [21,43]. Зараз ведеться пошук сполук, здатних впливати на активність Akt, яка є потенційною мішенню для протипухлинної терапії ЩЗ [44]. Важливим чинником канцерогенезу ЩЗ (FTC та АТС) є мутації, що інактивують ген пухлинного супресора РТЕН, ліпідної фосфатази, яка контролює РІЗК/Akt-сигнальний каскад [45]. Фосфатаза видаляє фосфат з інозитольного кільця PIP3, пригнічуючи РІЗК-сигнальний каскад і попереджуючи активацію Akt. Мутації в гені, який кодує цю фосфатазу, призводять до неконтрольованої активації Akt та кіназ, що знаходяться нижче в регуляторному ланцюгу – mTOR та p70S6K. А це, у свою чергу, веде до зниження активності проапоптозного фактора FOXO3a та каспази-3, зростання експресії цикліну D1 та NF- κ B, що в цілому спричиняє пригнічення апоптозу та посилення проліферативних процесів [45]. Втрата активності РТЕН пов'язана

з деякими спорадичними карциномами ЩЗ. Зниження експресії фосфатази внаслідок гіперметилування промоторної ділянки гена є звичайним явищем при АТС, але зустрічається досить рідко при РТС та ФТС [21,46,47]. Іншим шляхом часткової інактивації РТЕН є її виведення з ядра, тобто цитоплазматична секвестрація [48]. РІЗК-каскад бере також участь у процесі ангиогенезу в пухлинах ЩЗ. Так, введення в клітини АТС із мутацією в гені, що кодує РТЕН, гена дикого типу – wtРТЕН та пригнічення РІЗК-сигнального шляху інгібітором LY294002 призводить до зниження експресії фактора гіпоксії HIF-1 α [49]. Експресія фактора HIF-1 α в пухлинах ЩЗ асоціюється з агресивним фенотипом та стійкістю до терапевтичних впливів і може бути перспективною мішенню для терапії АТС.

Отже, порушення регуляції сигнального ланцюга РТЕН/РІЗК/Akt відіграє суттєву роль у канцерогенезі ЩЗ, у першу чергу, у виникненні АТС та ФТС, а також сприяє прогресії доброякісних аденом ЩЗ до ФТС і далі – до АТС із накопиченням генетичних дефектів у цьому сигнальному каскаді. Еволюції РТС у АТС може сприяти збіг В-Raf мутації з надбанням генетичних змін у РІЗК-каскаді.

Матричний аналіз експресії генів у недиференційованій карциномі ЩЗ показав активацію генів, пов'язаних із МАРК-сигнальним каскадом, TGF- β -каскадом, клітинним циклом, полімеризацією актину, фокальною адгезією і рухливістю клітин [50].

У формуванні злоякісного фенотипу можуть брати участь інші фактори:

1. c-Met - протоонкоген, що кодує рецепторну тирозинкіназу [51]. Онкогенний потенціал Met реалізується через ампліфікацію гена, яка спостерігається приблизно в 70% випадків РТС і АТС [52].

2. Фактор транскрипції c-Myc, збільшення експресії якого спостерігається в основному в неференційованих пухлинах ЩЗ [52,53]. Для цілого ряду злоякісних пухлин інактивація цього гена є необхідною і достатньою умовою для зупинки або гальмування росту пухлини [41].

3. Онкоген TRK-T кодує рецептор, що зв'язує ростовий фактор нервів. У результаті хромосомної перебудови 3'-кінцевий домен гена TRK зв'язується з 5'-кінцевою ділянкою промотора, що призводить до збільшення активності тирозинкінази [54]. Експресія онкогена TRK зареєстрована в 10% випадків РТС і рідко – в АТС [52].

4. Ядерний фактор NF- κ B відіграє важливу

роль у трансформації ЩЗ завдяки його здатності контролювати проліферативні та антиапоптозні процеси в трансформованих клітинах. Підвищений рівень активності цього фактора спостерігається при РТС, МТС та ФТС, тоді як для АТС характерна повністю нерегульована, конститутивна активність NF- κ B [55,56].

5. Певну роль у злоякісній трансформації ЩЗ можуть відігравати білки сімейства Aurora (A, B, C) та пов'язані з ними чинники, що залучені до регуляції хромосомної сегрегації та цитокінезу і які надекспресуються в злоякісних пухлинах ЩЗ і клітинних лініях, які з них походять [57].

6. Важливим напрямком досліджень є вивчення ролі стовбурових (СК) та ракових стовбурових клітин (РСК) у патогенезі пухлин різноманітного походження. Клітини з властивостями СК були ідентифіковані в багатьох типах злоякісних пухлин [58]. В АТС 0,25% від загальної популяції клітин було ідентифіковано як стовбурові. Серед клітин інших типів тиродних карцином їх кількість була меншою – 0,1% [59]. Недавно було показано, що РСК, які утворюють АТС, характеризуються CD133⁺-фенотипом [60]. Ефективнішими щодо утворення пухлин на трансгенних мишах виявилися клітини CD133^{+/high}. Вони також експресують підвищену кількість TSHR та характерного для СК транскрипційного чинника Oct4. Імуногістохімічний аналіз зразків тканин хворих АТС показав, що експресія CD133 є високою в пухлині і відсутня у позапухлинній тканині ЩЗ [60]. Ще одним маркером СК є експресія алкогольдегідрогенази 1 [61].

Теорія РСК щодо пухлин ЩЗ стверджує, що РСК можуть походити як із нормальних СК, так і з більш зрілих клітин шляхом дедиференціації останніх, хоча перший варіант є ймовірнішим. Ініціація злоякісної трансформації передбачає, що клітина повинна подолати бар'єр соматичної клітини щодо проліферації, але час життя диференційованої клітини є занадто коротким, щоб накопичити мутації, необхідні для утворення пухлини. Доказом такої точки зору є гетерогенність популяції ракових клітин та той факт, що тільки невелика частина клітин пухлини, а саме клітини з властивостями СК, здатні утворювати пухлини [58].

Механізм дії сполук, що взаємодіють із мікротрубочками (таксани)

Вперше представника таксанів виділили з *Taxus brevifolia*. Активною субстанцією одержаного екстракту є паклітаксель (Ptx) – дитерпеноїд

з трициклічним ядром. Пізніше з голок *Taxus baccata* екстрагували 10-деацетилбаккатин III, з якого одержують аналог Ptx – доцетаксель (таксотер, Dtx). Останній є більш активним та менш токсичним порівняно з Ptx [3,5]. Вважається, що головною мішенню таксанів в клітині є мікротрубочки (МТ). Зараз таксани разом із деякими іншими сполуками об'єднують у групу агентів, що стабілізують мікротрубочки (MSA), яка є підгрупою сполук, що зв'язуються з мікротрубочками (МВА).

Основними складовими частинами цитоскелету є МТ, мікрофіламенти та проміжні філаменти. МТ – елемент цитоскелету, що відіграє важливу роль у поділі клітини, підтриманні її форми, у транспортних та регуляторних процесах [3,62]. МТ складаються з протофіламентів, які групуються паралельно, утворюючи циліндричну стінку, і які є полімерами тубуліну, що знаходяться в динамічній рівновазі з гетеродимерами α - і β -тубулінових суб'єдиниць [2,62]. Кожен з α - і β -мономерів містить 3 основних функціональних домени. N-кінцевий домен (1-206 амінокислотних залишків) формує структуру, відому як складку Россмана, що залучена до зв'язування нуклеотидів (ГТФ/ГДФ) [63]. Центральний домен (залишки 207-384) необхідний для встановлення бокового/поздовжнього контакту між α - і β -мономерами при формуванні протофіламента. С-кінцевий домен відповідає за зв'язування асоційованих із МТ білків (МАР), таких як тау, статмін, кінезину та ін. [63]. При формуванні МТ гетеродимери α - і β -тубуліну об'єднуються разом у спосіб «голова до хвоста», утворюючи так зване ядро МТ. Ядра лінійно елонгуються, складаючи протофіламенти, які латерально комплексуються, формуючи МТ. МТ складається з 13 протофіламентів і спосіб їх збирання визначає полярність МТ, причому на (+)-кінці експонується β -тубулін, а на (-)-кінці - α -тубулін. (+)-кінець характеризується більшою динамікою, швидшим ростом і спрямований на периферію – у бік цитоплазми. (-)-кінець асоційований із центросомою (організаційним центром мікротрубочок – МТОС), яка складається з 2 центріолей та перичентріольного матеріалу (PCM). До складу останнього входить γ -тубулін, що формує кільцеподібні структури, які є матрицею при полімеризації α - і β -тубуліну, утворюючи МТ, що ростуть із центросоми. Таким чином, центросоми є центром, що контролює точність збирання МТ та їх динаміку [64]. Полімеризація та деполімеризація тубуліну є основою функції МТ. Полімеризація ініціюється, коли до нуклеотид-обмін-

ного сайту (Е-сайт) β -тубуліну та нуклеотид-необмінного сайту (N-сайт) α -тубуліну приєднується молекула ГТФ, після гідролізу якої в Е-сайті конформація β -тубуліну змінюється на так звану D-форму. Тубулін-ГДФ замикає ядро МТ, підтримуючи асоціацію протофіламентів. Продукт гідролізу ГТФ – ГДФ – стає необхідним, що робить можливим приєднання наступного тубулінового димеру до (+)-кінця МТ. При цьому кінець МТ, що росте, захищається (кепується) ГТФ або (ГДФ+Ф), приєднаним до β -тубуліну. При деполімеризації ГТФ-кеп втрачається, що розслабляє полімери, які містять ГДФ, і протофіламенти розходяться. У подальшому МТ звільняють гетеродимери тубуліну в цитоплазму. ГДФ, приєднаний до Е-сайту β -тубуліну, тепер може обмінятися на ГТФ, що робить можливим новий цикл полімеризації. Структура ГТФ-зв'язувального домену тубуліну нагадує структуру багатьох ГТФаз – p21-Ras, трансдуктину, EF-Tu. Разом із тим, тубулін має властивості білка-активатора ГТФаз [2].

З мікротрубочками може зв'язуватись велика кількість лігандів, впливаючи на їх динаміку. На даний час у розпорядженні дослідників є значний арсенал хімічних сполук, що мають своїми мішенями МТ і використовуються як хіміотерапевтичні препарати [3]. Таксани, епотілони, лаулімалід та дискодермолід зв'язуються з полімеризованим тубуліном і попереджають деполімеризацію, тоді як інші сполуки, такі як вінбластин, вінкрисдин та їх напівсинтетичні деривати, взаємодіють із мономерами тубуліну, перешкоджаючи їх полімеризації [65]. Таксани зв'язуються з МТ за специфічними сайтами, які відрізняються від місць зв'язування колхіцину, вінбластину та ГТФ. Одна молекула Ptx зв'язується з гетеродимером тубуліну. Ptx контактує з 217-233 амінокислотними залишками N-кінцевої ділянки β -тубуліну [65]. Молекула препарату розміщується в кишені, утвореній кількома гідрофобними залишками біла поверхні β -тубуліну, і взаємодіє з білками через водневі зв'язки та гідрофобні контакти [2]. Dtx зв'язується з тубуліном по сайту Ptx, але з більшою афінністю [64]. Асоціація сполуки з тубуліном призводить до скорочення лаг-періоду реакції полімеризації і зсуває динамічну рівновагу між димерами тубуліну і мікротрубочками, що спричиняє стабілізацію МТ, їх стійкість до деполімеризації. Це, у свою чергу, визначає порушення нормального поділу клітин і зупинку мітозу на стадії G2/M [3]. Таким чином, його дія протилежна дії колхіцину та алкалоїдів барвінку – вінбластину та вінкрисдину, які

зупиняють полімеризацію МТ. Проте наслідки дії останніх і Ptx є подібними – це порушення поділу клітини та подальша ініціація апоптозу.

Таксани, як гідрофобні сполуки терпеноїдної природи, легко розчиняються в мембранних ліпідах. Проте механізм їх взаємодії з рецепторами та іншими мембранними білками майже не вивчений. Є дані щодо взаємодії Ptx з TLR4 (Toll-Like Receptor) [66]. Від рецептора сигнал може передаватися в клітинах різного типу двома шляхами. Перший передбачає залучення адаптера MyD88 і TIRAP із подальшою активацією ядерного чинника NF-κB. Інший пролягає через залучення TRAM, TRIF і TRAF3 з індукцією IRF-3 та пізньою активацією NF-κB. У результаті активації цього чинника посилюється експресія IL-6 та IL-8. Не виключено, що Ptx взаємодіє з RTK, позаяк факт впливу сполуки на сигнальні каскади, що знаходяться в ланцюгу нижче RTK – MAPK та PI3K, є загальновідомим [67]. Вивчення змін фосфоліпідного складу мембран при дії Ptx показало, що в пухлинах надниркових залоз таксол вірогідно знижує рівень сфінгомеліну – структурного компоненту клітинної мембрани [68]. Можливо це пов'язано з утворенням кераміду та сфінгозину, які є індукторами апоптозу. Визначення рівня сфінгозину в цих тканинах показало, що його кількість також вірогідно знижувалась у присутності Ptx. Це дозволяє припустити, що зменшення кількості сфінгомеліну може призводити до накопичення саме кераміду, який може утворюватись із сфінгозину шляхом приєднання N-ацильної групи. Є дані, що індукція Ptx програмованої клітинної смерті в деяких типах клітин безпосередньо пов'язана з утворенням кераміду [69]. Під впливом Ptx у тканинах пухлин надниркових залоз спостерігалось також зменшення кількості дифосфатидилгліцеролу (кардіоліпін), який є важливим компонентом внутрішнього шару мітохондріальних мембран. У мітохондріях кардіоліпін зв'язаний із цитохромом C і показано, що його деградація чітко корелює з прогресом апоптозних процесів та звільненням цитохрому з мітохондрій [70]. Останній факт може вказувати на досі невивчений спосіб взаємодії Ptx із мітохондріями на мембранному рівні, що призводить до ініціації апоптозу [68].

Дія Ptx на клітину є багатоплановим процесом, в якому беруть участь багато чинників та різноспрямованих механізмів передачі регуляторних сигналів. Клітинний цикл еукаріотичної клітини контролюється через серію так званих точок зв'язки або пропускних пунктів

– чекпойнтів, які забезпечують точність та порядок подій у часі і просторі [71,72]. Цитотоксичний ефект Ptx пояснюється його здатністю стабілізувати МТ і, як наслідок, зупинити поділ клітини через зупинку клітинного циклу у фазі G2/M (точка зв'язки клітинного циклу 2 – CNP2) та активацію точки зв'язки мітотичного веретена (spindle assembly checkpoint - SAC). Ptx дозволяє приєднання МТ до кінетохорів при мітозі, але змінює їх натяження, напруженість. Dtx руйнує структуру центросом, впливає на пізню S-фазу, G2-фазу, M-фазу, що спричиняє незавершеність мітозу, зупинку клітинного циклу у фазі G2/M та апоптоз [5,64,73]. Останнім часом велику увагу приділяють саме SAC [71], яка є, на думку багатьох дослідників, головною причиною зупинки поділу клітини при дії таксанів [74]. У нормальній клітині SAC зумовлює затримку циклу між метафазою та анафазою, поки МТ не прикріпляться до хромосом і не розташують їх в екваторіальній площині клітини. Затримка відбувається внаслідок пригнічення комплексу, що сприяє переходу до анафази (APC) – E3 убіквітин-лігази, яка бере участь у деградації фактора промоції дозрівання (MPF) – комплексу циклін B1/Cdc2 та секюріну – інгібітора сепарази. Остання розщеплює Scc1/Rad21, компонент когезивного комплексу, який утримує сестринські хроматиди разом. APC поєднується з білком, що активує - Cdc20, який фосфорилується ERK [65,71]. Білки чекпойнту, такі як Bub1, BubR1, Bub3, Mad1-3, Mps1 рекрутуються до неприєднаних до веретена кінетохорів, де вони опосередковують пригнічення Cdc20, а отже і APC. Ptx також активує цей чекпойнт, напевно, через пригнічення сепарази. Одержані докази, що саме Bub3 є відповідальним за зупинку циклу в присутності Ptx [71].

Донедавна вважалося, що зупинка циклу ініціює загибель клітин шляхом апоптозу, хоча зараз це положення інтенсивно дискутується. Так, клітини можуть пережити зупинку циклу і, після видалення Ptx, продовжувати ділитися як диплоїдні клітини. Альтернативним варіантом є так зване мітотичне зісковзування (slippage), коли клітини виходять із мітозу до стадії G1 без цитокінезу, багатоядерними тетраплоїдами. У цьому випадку можливий наступний розвиток подій: 1) клітини можуть вижити і продовжувати ділитися як тетраплоїди; 2) клітини переходять зі стадії G1 у стан сенесценції або апоптозу як тетраплоїди; 3) клітини можуть подолати мітотичний чекпойнт і перейти до апоптозу в інтерфазі; 4) нарешті, клітини можуть загинути

шляхом апоптозу під час зупинки циклу [64]. Більше того, багато даних свідчать про те, що посилення апоптозу в присутності таксанів відбувається тоді, коли клітина уникає зупинки циклу або через мітотичне зісковзування, або якимось іншим чином, і повертається на стадію G1 [65,75]. Ці дані підтверджуються нашими дослідженнями на клітинах АТС, де було показано, що справжній апоптоз спостерігається тільки за низьких концентрацій Ptx, коли клітини ще продовжують ділитися [7,76,77]. Більше того, при низьких (5-25 нМ) концентраціях Ptx імітує дію мітогенів, прискорюючи перехід клітинного циклу до стадії S, і тільки при високих дозах (понад 100 нМ) на тлі згорання апоптозних процесів спостерігається зупинка циклу, яка, можливо, пов'язана з активністю чекпойнткінази Chk1 та зменшенням кількості пролізомерази Pin1 [76]. Вивчення профілю експресії генів під час зупинки циклу також свідчить, що експресуються тільки гени антиапоптозного спрямування [65]. Автори вважають, що для Ptx-залежного апоптозу необхідні 2 умови: активація SAC та мітотичне зісковзування після мітотичного арешту.

Дія Ptx на клітину характеризується двома основними ефектами – порушенням поділу клітини та індукцією апоптозних процесів. Ptx індукує в більшості клітин, у тому числі і в клітинах АТС, характерні для мітохондріального варіанту апоптозу морфологічні та функціональні зміни в клітині – інверсію клітинної мембрани, вивільнення цитохрому C із мітохондрій, активацію каспаз, розщеплення полі(АДФ-рибозо)полімерази (PARP) і фрагментацію ДНК [7,63,77].

Одержані дані свідчать, що ключовою подією в Ptx-залежній індукції апоптозу є фосфорилування антиапоптозного білка Bcl-2 по залишкам S87, T69 та, особливо, S70 (S62 для Bcl-xL) у районі петлі (loop region) [7,64,78], що призводить до його інактивації через втрату здатності формувати гетеродимери з проапоптозними білками (Bax) та попереджувати конформаційну активацію останніх [64,79]. Надекспресія Bcl-2 є частим явищем у злоякісних пухлинах, а пригнічення функції білка підвищує чутливість пухлинної клітини до Ptx та інших лікарських препаратів [79,80,81]. З іншого боку, встановлено, що фосфорилування цього білка є звичайним явищем при переході клітини до мітозу [64], а в кортикальних нейронах Ptx ініціював апоптоз незалежно від фосфорилування Bcl-2 [65]. Проте більшість даних вказує, що індукований Ptx апоптоз розвивається

через пригнічення сімейства антиапоптозних білків Bcl-2 або його гомологів Bcl-xL, Mcl-1 та мобілізацію проапоптозних білків – Bax, Bid, Bad, Bak та інших. У результаті дії останніх порушується цілісність мітохондріальної мембрани, знижується її потенціал та відбувається вивільнення цитохрому C, який разом з апоптозним фактором, що активує протеази (Araf-1), зв'язує і активує прокаспазу-9, а активована каспаза-9 у свою чергу активує каспазу-3 та каспазу-7. Активація каспази-9 пригнічується спеціальними білками – інгібіторами апоптозу, до яких належать IAP, XIAP та сурвайвін. Інший проапоптозний чинник Smac/Diablo, який також звільняється з мітохондрій в умовах стресу, перешкоджає зв'язуванню білків-інгібіторів апоптозу з прокаспазою-9, посилюючи таким чином апоптоз [82].

На клітинах АТС та карциноми шийки матки одержані дані щодо активації таксанами каспази-8, яка опосередковує головним чином шлях апоптозу через рецептори смерті та TRAIL [7,83]. Ця каспаза розщеплює білок Bid, внаслідок чого утворюється активний проапоптозний фрагмент tBid, який взаємодіє з антиапоптозними білками на мембрані мітохондрій. Крім того, каспаза-8 може безпосередньо активувати каспазу-3. Остання, разом з іншими ефекторними каспазами, каспазою-6 та каспазою-7 [82], розщеплюють ряд білкових субстратів, що веде до завершальних стадій апоптозу. Каспаза-8 може бути асоційованою безпосередньо з МТ, що передбачає і можливий механізм її активації в присутності Ptx [83]. Для клітин лімфобластної лейкемії показана домінуюча роль каспази-10 та FADD в індукованому Ptx апоптозі [84]. Є також дані, що свідчать про існування незалежних від каспаз шляхів [85] та неапоптозних механізмів, що зумовлюють загибель клітини – так звана «повільна смерть» [86].

Ptx активує численні системи протеїнкіназ та фосфатаз, викликає швидке вивільнення Ca²⁺ із внутрішньоклітинного пулу, впливає на проникність мембран мітохондрій [87], порушує функціонування ядерної мембрани, дезорганізує комплекси ядерних пор, пригнічує транспортні процеси між ядром та цитоплазмою [62]. Ефекти Ptx по-різному проявляються в нормальних клітинах, клітинах різних пухлин і в різних клітинних лініях однієї пухлини, що підкреслює актуальність вивчення особливостей дії препарату для правильного планування лікувального процесу. Регуляторні шляхи, що призводять до смерті або виживання клітини в присутності Ptx, можуть включати

ти декілька магістральних сигнальних каскадів та багато додаткових чинників (JNK, ERK, p38MAPK, c-Raf-1, PI3K/Akt, NF-κB, p53 та інших), які визначають напрямок розвитку процесу. Вважається, що головними з підсімейств MAPK, які беруть участь у формуванні реакції клітини на дію Ptx на ранніх стадіях, є c-Jun-N-термінальні кінази (JNK1-3), які послідовно фосфорилуються кіназами вищого рівня ASK1, MKK4/7 у відповідь на дію цитокінів та різноманітних стресів [7,62,88] та, меншою мірою, p38MAPK [7,89]. JNK фосфорилує Bcl-2 за кількома залишками серину та треоніну. Найважливішим є фосфорилування залишку S70. Фосфорилування пригнічує захисні властивості Bcl-2 щодо мітохондріальної мембрани або навіть призводить до деградації білка [7]. Іншими кіназами, які здатні фосфорилувати Bcl-2, є Cdc2, mTOR, c-Raf-1 [64]. Досліди з інгібіторами JNK-каскаду свідчать про його участь в ініціації апоптозу [7,90]. У клітинах АТС певну роль у процесах проапоптозного спрямування відіграє p38MAPK [7].

Ras/Raf-1/MEK/ERK1/2 є сигнальним каскадом, що визначає проліферацію та виживання клітин [91]. Проапоптозні білки фосфорилуються кіназами цього сигнального шляху, що визначає їх інактивацію, убіквітинізацію з наступною деградацією в протеасомах, секвестрацію за допомогою білків сімейства 14-3-3 та послаблення взаємодії з антиапоптозними білками сімейства Bcl-2 [92]. Мутації гена Ras часто призводять до трансформації клітин [93], у тому числі і в щитоподібній залозі [81,94], внаслідок набуття конститутивної активації каскаду і, як наслідок, самодостатності щодо мітогенних сигналів. Функціонально-активні білки Ras активуються шляхом посттрансляційної модифікації (ізопренілювання фарнезилтрансферазою С-кінця молекули), що дозволяє їм вбудовуватися у внутрішню поверхню клітинної мембрани. Важливу роль в їх розподіленні по клітині відіграють МТ [95]. Показано, що Ptx негативно впливає на ці процеси. Пригнічення фарнезилтрансферази мануміцином сприяє індукованому Ptx апоптозу в клітинах АТС [96]. З іншого боку, у ранніх роботах була продемонстрована участь Ras у Ptx-залежній активації JNK для деяких ліній пухлинних клітин [97]. Припускали, що Ras активує MEK1 через Ras1 (Cdc42), із наступною активацією JNK. Пригнічення фарнезилування Ras і гераніолування Ras ловастатином призводило до часткового інгібування активності JNK. Не виключено, що активація JNK при дії Ptx може

здійснюватися і самим тубуліном, який так само як і Ras, є ГТФазою [68]. Крім того, як вже зазначалося, є дані щодо фосфорилування та інактивації антиапоптозних білків протеїнкіназою Raf-1, яка безпосередньо активується Ras. Протириччя у функціонуванні каскаду Ras/Raf-1/MEK/ERK1/2 можливо пов'язане з тим, що у випадку антиапоптозних ефектів, MEK активується не c-Raf-1, а Mos – іншою MAPKKK, рівень якої помітно зростає в присутності Ptx [65,98,99]. Та все ж, у цілому, пригнічення специфічними інгібіторами сигнального ланцюга Ras/c-Raf-1(Mos)/MEK/ERK1/2 в більшості пухлинних клітин і тканин, у тому числі і в клітинах АТС, посилює цитотоксичний ефект Ptx [7,67], що свідчить про антиапоптозне спрямування активності цього каскаду, а CI-1040 є першим інгібітором MEK, який успішно проходить клінічні дослідження.

Іншим важливим сигнальним каскадом, що асоціюється з супресією апоптозу і захищає пухлинну клітину від Ptx є PI3K/Akt, який також активується через Ras [91,100,101]. Варто зауважити, що мутації та ампліфікація генів, що кодуєть білки цього каскаду, є однією з найчастіших причин злоякісної трансформації, у тому числі і ШЗ [94,102,103]. Активована Akt інгібує фосфорилуванням проапоптозний білок Bad, транскрипційні фактори сімейства Forkhead, пригнічує каспазу-9 і активує IKK, mTOR, p70S6K, які беруть участь у виживанні клітини, посилюють синтез білка і сприяють прогресу клітинного циклу на стадії G1/S [102]. У клітинах АТС Ptx знижував експресію Akt, а в присутності інгібітора PI3K - LY294002 помітно посилювалась активація каспази-3 та розщеплення одного з її субстратів – PARP [7].

Природно було б припустити, що в індукованих Ptx процесах бере участь p53 – супресор пухлинного росту, який активується при пошкодженні ДНК, різноманітних стресах, радіаційному та ультрафіолетовому опроміненні, надекспресії онкогенів, гіпоксії, порушенні функції цитоскелету. Це універсальний тригер, який залежно від суми факторів, що діють у конкретний момент часу, може спричинити зупинку клітинного циклу у фазі переходу G1/S, спрямувати клітину в бік апоптозу або сенесценції. Концентрація p53 в клітині контролюється білком mdm2, зв'язування з яким призводить до деградації p53 в протеасомах [104]. При генотоксичному стресі p53 фосфорилується, набуває стійкості проти mdm2 і трансактивує специфічні гени, продукти яких відповідають за зупинку клітинного циклу у фазі G1/S та

апоптоз. Припущення про участь p53 в цитотоксичних ефектах Ptx було підтверджено серією ранніх робіт [105-107]. Так, було показано, що Ptx індукує накопичення p53 та залежного від нього білка p21^{WAF1/CIP1} (p21), який є інгібітором циклін-залежних кіназ – cdk2 та cdk4 [105]. При цьому відмічалось, що збільшення вмісту цих білків відбувалось як у культурі клітин із диким типом p53 (wt-p53), так і в клітинах із мутантним геном p53, хоча і в різній кількості. Надекспресія wt-p53 посилює токсичність Ptx і в нормальних, і в пухлинних клітинах [106]. Однак є дані, які свідчать, що дія p53 при експозиції клітин раку яєчників до Ptx зосереджується не стільки на збільшенні p21, як на експресії гена проапоптозного білка Bax [85]. У присутності wt-p53 ефект Ptx посилювався в 500-1000 разів. Клітини АТС лінії KTC-2 із wt-p53 виявились більш чутливими до Ptx, ніж клітини лінії ARO з мутантним геном [7], хоча при низьких концентраціях сполуки кількість p21 та іншого інгібітора CDK p27^{KIP1} помітно зменшувалась. У цілому ж аналіз літератури свідчить, що статус p53 не відіграє головної ролі в індукції апоптозу в присутності Ptx [108,109]. Можливо, що при дії Ptx через p53 реалізуються допоміжні, вторинні, механізми. Так, індуковані Ptx p53-залежні механізми активуються при мітотичному зісковзуванні і можуть зупиняти клітинний цикл у фазі G1 [110].

Ядерний транскрипційний чинник NF-κB входить до сімейства транскрипційних чинників Rel і, разом зі своїм специфічним інгібітором ІκВ-α, опосередковує численні біологічні процеси, у тому числі проліферацію клітин, ангиогенез, утворення метастазів, стійкість до апоптозу та запальні процеси [111,112]. Існує думка, що цей фактор є основною ланкою, яка пов'язує запальний процес із канцерогенезом. Разом із тим, є переконливі дані, що NF-κB бере участь у промоції апоптозу [113], хоча це стосується головним чином клітин імунної системи. У нормі NF-κB знаходиться в цитоплазмі в неактивному комплексі з ІκВ-α, який контролює його локалізацію в клітині, здатність зв'язуватися з ДНК, а отже транскрипційну активність. Під дією певних чинників ІκВ-α фосфорилується комплексом ІКК і швидко деградує, внаслідок чого NF-κB мігрує в ядро і активує транскрипцію деяких генів [111]. Вивчення ролі NF-κB в ефектах Ptx виявило суттєві протиріччя. Ряд досліджень продемонстрували проапоптозний ефект NF-κB [114], але частіше пригнічення фактора підвищувало чутливість клітин до Ptx [65,115]. Активація фактора може

опосередковуватися PI3K/Akt-каскадом і призводити до надекспресії антиапоптозних білків сімейств Bcl-2 та IAP [65]. Останні пригнічують активність каспаз, впливаючи таким чином на перебіг апоптозу. Досліди на клітинах АТС як *in vitro*, так і *in vivo* показали, що Ptx активує NF-κB через активацію ІКК та зменшення кількості ІκВ-α, а пригнічення NF-κB специфічними інгібіторами сприяє загибелі клітин АТС та зменшенню розмірів (аж до зникнення) ксенотрансплантованої пухлини [116,117]. Із NF-κB пов'язане також посилення експресії IL-8, IL-6 та IL-1β, що свідчить про індукцію Ptx та іншими MSA запальних процесів у клітинах-мішенях [65]. NF-κB частково причетний до регуляції циклооксигенази-2 (COX-2) – ферменту, який контролює синтез простагландинів та залучений до онкогенезу, ангиогенезу та запальних процесів [118]. Ptx та інші канцеростатики індукують утворення COX-2, а її пригнічення посилює цитотоксичну дію таксанів [66,73].

Важливою є також і проблема стійкості пухлин до лікарських препаратів антимиотичної дії. Окрім сигнальних каскадів, що розглядались у попередніх розділах, іншими важливими причинами стійкості до таксанів можуть бути наступні механізми.

1. Вміст Ptx у клітині визначається його позаклітинною концентрацією, швидкістю зв'язування з МТ та кількістю Р-глікопротеїну (Р-gp), який виконує функцію помпи, що викачує Ptx із клітини [119,120]. Ключовим механізмом, що лежить в основі множинної стійкості до ліків (Mdr) є експресія сімейства АТФ-залежних транспортерів (так звані АТФ-зв'язуючі касети – ABC) [121]. При взаємодії Ptx із Р-gp один з АТФ-зв'язуючих доменів активується і гідролізує АТФ, що спричиняє конформаційні зміни в молекулі транспортера, які призводять до викиду Ptx у зовнішнє середовище. Р-gp легко зв'язує гідрофобні сполуки, а Ptx взагалі є його субстратом [64,122]. Активація гена *Mdr1* (7 хромосома), який кодує Р-gp, призводить до підвищення стійкості пухлинної клітини до Ptx. У мишей із нокаутованим геном *Mdr1* або в присутності інгібітора Р-gp динаміка накопичення Ptx у клітинах зростала більше ніж у 6 раз [123].

2. Стійкість до Ptx може визначатися мутаціями гена β-тубуліну, більшість з яких відбувається в ізотипі НМ40 βІ-тубуліну [124]. *In vitro* мутації β-тубуліну були виявлені по 215-у лейциновому залишку в районі петлі Н6-Н7, яка знаходиться поряд із сайтом зв'язування Ptx [125]. Такі мутації змінюють динаміку та

стабільність МТ, послаблюють взаємодію тубуліну з Рtx і відбуваються внаслідок втрати гетерозиготності (LOH) алелями дикого типу тубуліну після тривалої експозиції клітин із Рtx або епотілонами [126]. Крім того, стійкість до таксанів може залежати від змін динаміки МТ, змін експресії ізотипів β -тубуліну та α -тубуліну, посттрансляційних модифікацій тубуліну, змін експресії/пост-трансляційних модифікацій МТ-регуляторних білків [63].

3. Білки MAP (у першу чергу тау, MAP2 та MAP4), які в нормі регулюють динаміку МТ, відіграють важливу роль у чутливості клітин до Рtx через модулювання стабільності МТ. Надекспресія цих білків веде до підвищення стійкості до таксанів [127-129]. Ще один онкопротеїн, статмін (ор18), є фосфопротеїном, що дестабілізує МТ [130] і порушення регуляції його фосфорилування (здійснюється кількома протеїнкіназами, у тому числі, Cdc2 та p21-асоційованими кіназами – RAK), а отже динаміки зв'язування з тубуліном, може бути причиною стійкості клітини до таксанів [64]. Надекспресія цього білка спостерігається при деяких типах раку [131]. Збільшення кількості нефосфорильованого статміну призводить до зупинки клітин на стадії G2/M та дефектів і послаблення SAC, що спричиняє стійкість до Рtx [132]. Підвищена експресія білків Aurora-A та сурвайвіну також може бути причиною підвищеної резистентності до таксанів [133]. Більше того, ці білки та деякі інші, що беруть участь у регуляції поділу клітини (кінезини, polo-like kinases – PLK, білок центромери E – CENPE, Aurora-B), вже є самостійними мішенями для розробки щодо них терапевтичних канцеростатичних засобів [134].

4. Рецептор епідермального ростового фактора 2 (HER2) є рецепторною тирозинкіназою, яка в нормі контролює проліферацію клітин. Його надекспресія, яка спостерігається у 20-30% випадків раку молочної залози, асоціюється з більш агресивним характером захворювання та поганим прогнозом, а також стійкістю до Рtx [135,136].

5. Протягом останнього десятиріччя з'явилися нові дані, що свідчать про можливу участь актинового цитоскелету в набутті стійкості до антимітотичних сполук. Показано, що мутації γ -актину та порушення регуляції LIM кінази 2 (LIMK2), яка контролює динаміку актину через фосфорилування актин-деполімеризуючого білка кофіліну, призводять до зростання резистентності пухлинних клітин [127]. Ці факти є цікавими ще й з тієї точки зору, що вказують

на можливість взаємодії між актиновим цитоскелетом та МТ у процесах канцерогенезу.

Лікування АТС

АТС, навіть за відсутності метастазів, розглядається як захворювання IV стадії на момент встановлення діагнозу. Рекомендоване лікування включає хірургічне втручання з метою повної макроскопічної резекції з мікроскопічно-чіткими контурами. Оскільки хірургія не дає можливості контролювати хворобу, навіть у пацієнтів із невеликими інтра tiroїдними масами, ад'ювантна терапія завжди є необхідною у вигляді наступного опромінення та хіміотерапії [34]. Найбільш перспективними препаратами виявились таксотер та таксол у комбінації з гемцитабіном [137]. Перспективними можуть виявитись також комбінації таксанів з антиангіогенними препаратами [138], інгібіторами PI3K-каскаду [139], інгібіторами Р-глікопротеїнів [140], інгібіторами рецепторів ростових факторів [141]. Крім того, заслуговують на увагу нові антинеопластичні препарати, такі як інгібітори деацетилази гістонів (вальпроєва кислота), інгібітори тирозинкіназ (імаїніб, STI571 – пригнічує c-Abl; сорафеніб, Bay43-9006 – опосередковано пригнічує активацію кінази Raf), агенти, що впливають на NF- κ B-сигнальні механізми, які є часто конститутивно активованими у АТС та МТС, інгібітори фарнезилтрансферази, які перешкоджають активації Ras (мануміцин), інгібітори 26S-протеасом (бортезоміб, PS-342), інгібітори шаперонів, у першу чергу HSP90, які необхідні для правильного згортання і активації факторів сигнальних каскадів PI3K та MAPK (гелданаміцин та 17-AAG), інгібітори матричних металопротеїназ, які беруть участь у розвитку метастазів (міноциклін), агоністи PPAR γ є перспективними протипухлинними сполуками, у тому числі і для лікування АТС (тіазолідініони: ціглітазон, розіглітазон та RS5444), дія яких пов'язана з посиленням експресії інгібітора клітинного циклу p21^{WAF1} [34].

Таким чином, накопичені на цей час дані свідчать про значний прогрес у розумінні механізмів дії таксанів на пухлинну клітину та природи стійкості до них. Першочергові завдання, що стоять перед майбутніми дослідженнями, зводяться до пошуку ефективних комбінацій антимітотичних сполук (МВА) з генотоксичними сполуками, зі специфічними інгібіторами сигнальних каскадів, що опосередковують

резистентність до МВА, з інгібіторами генів *Mdr* та їх продуктів, з іншими інгібіторами та агоністами, що були вказані вище. Такий комплексний вплив на пухлинну клітину дозволить підвищити ефективність дії МВА та знизити їх токсичність, що має непересічне значення для сучасної ендокринології та онкології.

Список використаної літератури

- Tronko M., Bogdanova T., Voskoboynik L. et al. Radiation induced thyroid cancer: fundamental and applied aspects // *Exp. Oncol.* 2010, 32, N3, 200-204.
- Downing K.H. Structural basis for the interaction of tubulin with proteins and drugs that affect microtubule dynamics // *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 2000, 16, 89-111.
- Jordan M.A., Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs // *Nat. Rev. Cancer.* 2004, 4, 253-265.
- Kingston D.G.I. The shape of things to come: Structural and synthetic studies of taxol and related compounds // *Phytochemistry.* 2007, 68, 1844-1854.
- Rowinsky E.K. The development and clinical utility of the taxane class of a microtubule chemotherapy agents // *Ann. Rev. Med.* 1997, 48, 353-374.
- Ain K.B., Egorin M.J., DeSimone P.A. Treatment of anaplastic thyroid carcinoma with paclitaxel: phase 2 trial using ninety-six-hour infusion. Collaborative anaplastic thyroid cancer health intervention trials (CATCHIT) group // *Thyroid.* 2000, 10, N 7, 587-594.
- Pushkarev V.M., Starenki D.V., Saenko V.A. et al. Molecular mechanism of the effects of low concentrations of taxol in anaplastic thyroid cancer cells // *Endocrinology.* 2004, 145, N 7, 3143-3152.
- Kebebew E., Greenspan F.S., Clark O.H. et al. Anaplastic thyroid carcinoma. Treatment outcome and prognostic factors // *Cancer.* 2005, 103, 1330-1335.
- Hundahl S.A., Cady B., Cunningham M.P. Initial results from a prospective cohort study of 5583 cases of thyroid carcinoma treated in the United States during 1996. U.S. and German Thyroid Cancer Study Group. An American College of Surgeons Commission on Cancer Patient Care Evaluation study // *Cancer.* 2000, 89, 202-217.
- Davies L., Welch H.G. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States. 1973-2002 // *J. Am. Med. Assoc.* 2006, 295, 2164-2167.
- Besic N., Hocesvar M., Zgajnar J. Lower incidence of anaplastic carcinoma after higher iodination of salt in Slovenia // *Thyroid.* 2010, 20, 623-626.
- Богданова Т.И., Козырицкий В.Г., Тронько Н.Д. Патология щитовидной железы у детей. К.: Чернобыльинтеринформ, 2000. 158 с.
- Smallridge R.C. Approach to the patient with anaplastic thyroid carcinoma // *J. Clin. Endocr. Metab.* 2012, 97, N8, 2566-2572.
- Ryder M., Ghossein R.A., Ricarte-Filho J.C. et al. Increased density of tumor-associated macrophages is associated with decreased survival in advanced thyroid cancer // *Endocr. Relat. Cancer.* 2008, 15, N 4, 1069-1074.
- Kondo T., Ezzat S., Asa S.L. Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia // *Nat. Rev. Cancer.* 2006, 6, 292-306.
- Smallridge R.C., Marlow L.A., Copland J.A. Anaplastic thyroid cancer: molecular pathogenesis and emerging therapies // *Endocr. Relat. Cancer.* 2009, 16, 17-44.
- Nuocera C., Nehs M.A., Nagarkatti S.S. Targeting BRAFV600E with PLX4720 displays a potent antimigratory and antiinvasive activity in preclinical models of human thyroid cancer // *Oncologist.* 2011, 16, 296-309.
- Smallridge R.C., Copland J.A. Anaplastic thyroid carcinoma: pathogenesis and emerging therapies // *Clin. Oncol.* 2010, 22, 486-497.
- Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза // *Биохимия.* 2000, 65, 5-33.
- O'Neill J.P., Power D., Condron C. et al. Anaplastic thyroid cancer, tumorigenesis and the therapy // *Ir. J. Med. Sci.* 2010, 179, 9-15.
- Fagin J.A., Mitsiades N. Molecular pathology of thyroid cancer: diagnostic and clinical implications // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008, 22, N 6, 955-969.
- Patel K.N., Shaha A.R. Poorly differentiated and anaplastic thyroid cancer // *Cancer Control.* 2006, 13, N 2, 119-128.
- Boltze C., Roessner A., Landt O. et al. Homozygous proline at codon 72 of p53 as a potential risk factor favoring the development of undifferentiated thyroid carcinoma // *Int. J. Oncol.* 2002, 21, N 5, 1151-1154.
- Xing M. BRAF mutation in thyroid cancer: Pathogenic role, molecular bases, and clinical implications // *Endocr. Rev.* 2007, 28, N 7, 742-762.
- Preto A., Goncalves J., Rebocho A.P. et al. Proliferation and survival molecules implicated in the inhibition of BRAF pathway in thyroid cancer cells harboring different genetic mutations // *BMC Cancer.* 2009, 9, 387-397.
- Xing M. BRAF mutation in thyroid cancer // *Endocr. Relat. Cancer.* 2005, 12, 245-262.
- Santarpia L., El-Naggar K., Cote G. et al. Phosphatidylinositol 3 kinase/Akt and Ras/Raf-mitogen-activated protein kinase pathway mutations in anaplastic thyroid cancer // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008, 93, 278-284.
- Suchy B., Waldmann V., Klugbauer S., Rabes H.M. Absence of Ras and p53 mutations in thyroid carcinomas of children after Chernobyl in contrast to adult thyroid tumours // *Br. J. Cancer.* 1998, 77, 952-955.
- Nucera C., Porrello A., Antonello Z.A. B-Raf V600E and thrombospondin-1 promote thyroid cancer progression // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010, 107, 10649-10654.
- Garcia-Rostan G., Zhao H., Camp R.L. et al. Ras mutations are associated with aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in thyroid cancer // *J. Clin. Oncol.* 2003, 21, 3226-3235.
- Nakamura N., Carney J.A., Jin L. RASSF1A and NRE1A methylation and BRAFV600E mutations in thyroid tumors // *Lab. Invest.* 2005, 85, N 9, 1065-1075.
- Puzianowska-Kuznicka M., Pietrzak M. Genetic factors predisposing to the development of papillary thyroid cancer // *Endokrynol. Pol.* 2005, 56, N 3, 339-345.
- Helmbrecht K., Kispert A., Wasielewski R., Brabant G. Identification of a Wnt/ b-Catenin signaling pathway in human thyroid cells // *Endocrinology.* 2001, 142, N 12, 5261-5266.
- Taccaliti A., Silveti F., Palmonella G., Boscaro M. Anaplastic thyroid carcinoma // *Front. Endocrinol.* 2012, 3, N 84, 1-7.
- Samuels Y., Ericson K. Oncogenic PI3K and its role in cancer // *Curr. Opin. Oncol.* 2006, 18, N 1, 77-82.
- Wu G., Mambo E., Guo Z. et al. Uncommon mutation, but common amplifications, of the PIK3CA gene in thyroid tumors // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005, 90, N 8, 4688-4693.
- Hou P., Liu D., Shan Y. et al. Genetic alterations and their relationship in the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in thyroid cancer // *Clin. Cancer Res.* 2007, 13, N 4, 1161-1170.
- Garcia-Rostan G., Costa A.M., Pereira-Castro I. et al. Mutation of the PIK3CA gene in anaplastic thyroid cancer // *Cancer Res.* 2005, 65, N 22, 10199-10207.
- Liu Z., Hou P., Ji M. et al. Highly prevalent genetic alterations in receptor tyrosine kinases and phosphatidylinositol 3-kinase/akt and mitogen-activated protein kinase pathways in anaplastic and follicular thyroid cancers // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008, 93, N8, 3106-3116.
- Abubaker J., Jehan Z., Bavi P. et al. Clinicopathological analy-

- sis of papillary thyroid cancer with PIK3CA alterations in a Middle Eastern population // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008, 93, N 2, 611-618.
41. Vasko V., Saji M., Hardy E. et al. Akt activation and localization correlate with tumour invasion and oncogene expression in thyroid cancer // *J. Med. Genet.* 2004, 41, 161-170.
 42. Carpten J.D., Faber A.L., Horn C. et al. A transforming mutation in the pleckstrin homology domain of AKT1 in cancer // *Nature.* 2007, 448, N 7152, 439-444.
 43. Ricarte-Filho J.C., Ryder M., Chitale D.A. et al. Mutational profile of advanced primary and metastatic radioactive iodine-refractory thyroid cancers reveals distinct pathogenetic roles for BRAF, PIK3CA, and AKT1 // *Cancer Res.* 2009, 69, N 11, 4885-4893.
 44. Kada F., Saji M., Ringel M.D. Akt: a potential target for thyroid cancer therapy // *Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord.* 2004, 4, 181-185.
 45. Guigon C.J., Zhao L., Willingham M.C., Cheng S.Y. PTEN deficiency accelerates tumour progression in a mouse model of thyroid cancer // *Oncogene.* 2009, 28, N 4, 509-517.
 46. Frisk T., Foukakis T., Dwight T. et al. Silencing of the PTEN tumor-suppressor gene in anaplastic thyroid cancer // *Genes Chromosomes Cancer.* 2002, 35, N 1, 74-80.
 47. Paes J.E., Ringel M.D. Dysregulation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in thyroid neoplasia // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 2008, 37, N 2, 375-387.
 48. Gimm O., Perren A., Weng L.P. et al. Differential nuclear and cytoplasmic expression of PTEN in normal thyroid tissue, and benign and malignant epithelial thyroid tumors // *Amer. J. Pathol.* 2000, 156, N 5, 1693-1700.
 49. Burrows N., Resch J., Cowen R. et al. Expression of hypoxia-inducible factor 1{alpha} in thyroid carcinomas // *Endocr. Relat. Cancer.* 2010, 17, N 1, 61-72.
 50. Montero-Conde C., Martin-Campos J.M., Lerma E. et al. Molecular profiling related to poor prognosis in thyroid carcinoma. Combining gene expression data and biological information // *Oncogene.* 2008, 27, 1554-1561.
 51. Ma P.C., Maulik G., Christensen J., Salgia R. c-Met: Structure, functions and potential for therapeutic inhibition // *Cancer Metastasis Rev.* 2003, 22, 309-325.
 52. Segev D.L., Umbrecht C., Zeiger M.A. Molecular pathogenesis of thyroid cancer // *Surg. Oncol.* 2003, 12, 69-90.
 53. Kurihara T., Ikeda S., Ishizaki Y. et al. Immunohistochemical and sequencing analyses of the Wnt signaling components in Japanese anaplastic thyroid cancers // *Thyroid.* 2004, 14, N 12, 1020-1029.
 54. Brzezińska E., Pastuszek-Lewandoska D., Lewicki A. Rearrangements of NTRK1 oncogene in papillary thyroid carcinoma // *Neuroendocrinol. Lett.* 2007, 28, N 3, 221-229.
 55. Pacifico F., Leonardi A. Role of NF-kappaB in thyroid cancer // *Mol. Cell Endocrinol.* 2010, 321, N1, 29-35.
 56. Pacifico F., Crescenzi E., Mellone S. et al. Nuclear Factor-kappaB Contributes to Anaplastic Thyroid Carcinomas through Up-Regulation of miR-146a // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010, 95, N3, 1421-1430.
 57. Ullisse S., Delcros J.G., Baldini E. et al. Expression of Aurora kinases in human thyroid carcinoma cell lines and tissues // *Int. J. Cancer.* 2006, 119, 275-282.
 58. Thomas D., Friedman S., Lin R.-Y. Thyroid stem cells: lessons from normal development and thyroid cancer // *Endocr. Relat. Cancer.* 2008, 15, 51-58.
 59. Mitsutake N., Iwao A., Nagai K. et al. Characterization of side population in thyroid cancer cell lines: cancer stem-like cells are enriched partly but not exclusively // *Endocrinology.* 2007, 148, 1797-1803.
 60. Friedman S., Lu M., Schultz A. et al. CD133⁺ anaplastic thyroid cancer cells initiate tumors in immunodeficient mice and are regulated by thyrotropin // *PLoS.* 2009, 4, N 4, e5395, 1-10.
 61. Klonisch T., Hoang-Vu C., Hombach-Klonisch S. Thyroid stem cells and cancer // *Thyroid.* 2009, 19, N 12, 1303-1315.
 62. Тронько М.Д., Пушкарьов В.М. Механізм дії таксолу та перспективи його використання для лікування злоякісних пухлин щитоподібної залози // *Ендокринологія.* 2003, 8, № 2, 228-243.
 63. Orr G., Verdier-Pinard P. Mechanisms of taxol resistance related to microtubules // *Oncogene.* 2003, 22, 7280-7295.
 64. McGrogan B.T., Gilmartin B., Carney D.N., McCann A. Taxanes, microtubules and chemoresistant breast cancer // *Biochim. Biophys. Acta.* 2008, 1785, N 2, 96-132.
 65. Bergstrahl D.T., Ting J.P.-Y. Microtubule stabilizing agents: Their molecular signaling consequences and the potential for enhancement by drug combination // *Cancer Treat. Rev.* 2006, 32, 166-179.
 66. Shaik M.S., Chatterjee A., Jackson T., Singh M. Enhancement of antitumor activity of docetaxel by celecoxib in lung tumors // *Int. J. Cancer.* 2006, 118, N 2, 396-404.
 67. Xu R., Sato N., Yanai K. et al. Enhancement of paclitaxel-induced apoptosis by inhibition of mitogen-activated protein kinase pathway in colon cancer cells // *Anticancer Res.* 2009, 29, 261-270.
 68. Левчук Н.І., Пушкарьов В.М., Ковзун О.І. та ін. Вплив таксолу на рівень фосфоліпідів та мічення ДНК, РНК і білків в позапухлинній тканині та тканині пухлин кори надниркових залоз людини // *Ендокринологія.* 2009, 14, № 2, 247-252.
 69. Пушкар С.М. Вплив хемотерапії з таксотером на церамідний шлях активації апоптозу у хворих на рак грудної залози // *Укр. радіол. журн.* 2007, 15, 440-444.
 70. Schlame M. Cardiolipin synthesis for the assembly of bacterial and mitochondrial membranes // *J. Lipid Res.* 2008, 49, N 8, 1607-1620.
 71. Musacchio A., Salmon E.D. The spindle-assembly checkpoint in space and time // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007, 8, 379-393.
 72. Sanchez I., Dynlacht B.D. New insights into cyclins, CDKs, and cell cycle control // *Sem. Cell Dev. Biol.* 2005, 16, 311-321.
 73. Gligorov J., Lotz J.P. Preclinical pharmacology of the taxanes: implications of the differences // *Oncologist.* 2004, 9, 3-8.
 74. Gascoigne K.E., Taylor S.S. How do anti-mitotic drugs kill cancer cells? // *J. Cell Sci.* 2009, 122, 2579-2585.
 75. Blajeski A.L., Kottke T.J., Kaufmann S.H. A multistep model for paclitaxel-induced apoptosis in human breast cancer cell lines // *Exp. Cell Res.* 2001, 270, N 2, 277-288.
 76. Pushkarev V.M., Starenki D.V., Saenko V.A. et al. Differential effects of low and high doses of taxol in anaplastic thyroid cancer cells: possible implication of the Pin1 prolyl isomerase // *Exp. Oncol.* 2008, 30, N 3, 190-194.
 77. Pushkarev V.M., Starenki D.V., Saenko V.A. et al. Effects of low and high concentrations of antitumor drug taxol in anaplastic thyroid cancer cells // *Exp. Oncol.* 2009, 31, N 1, 16-21.
 78. Basu A., Haldar S. Identification of a novel Bcl-xL phosphorylation site regulating the sensitivity of taxol- or 2-methoxyestradiol-induced apoptosis // *FEBS Letters.* 2003, 538, 41-47.
 79. Adams J.M., Cory S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy // *Oncogene.* 2007, 26, 1324-1337.
 80. Lessene G., Czabotar P.E., Colman P.M. Bcl-2 family antagonists for cancer therapy // *Nat. Rev. Drug Disc.* 2008, 7, 989-1000.
 81. Vogler M., Weber K., Dinsdale D. et al. Different forms of cell death induced by putative BCL2 Inhibitors // *Cell Death Diff.* 2009, 16, 1030-1039.
 82. Wang C., Youle R.J. The role of mitochondria in apoptosis // *Annu. Rev. Genet.* 2009, 43, 95-118.
 83. Mielgo A., Torres V.A., Clair K. et al. Paclitaxel promotes a caspase 8-mediated apoptosis through death effector domain association with microtubules // *Oncogene.* 2009, 28, 3551-3562.
 84. Park S.J., Wu C.H., Gordon J.D. et al. Taxol induces caspase-10-dependent apoptosis // *J. Biol. Chem.* 2004, 279, 51057-51067.
 85. Huisman C., Ferreira C.G., Broker L.E. Paclitaxel triggers cell death primarily via caspase-independent routes in the non-

- small cell lung cancer cell line NCI-H460 // *Clin. Cancer Res.* 2002, 8, 596-606.
86. Blagosklonny M.V., Robey R., Sheikh M.S., Fojo T. Paclitaxel-induced FasL-independent apoptosis and slow (non-apoptotic) cell death // *Cancer Biol. Ther.* 2002, 1, N 2, 113-117.
 87. Kidd J.F., Pilkington M.F., Schell M.J. et al. Paclitaxel affects cytosolic calcium signals by opening the mitochondrial permeability transition pore // *J. Biol. Chem.* 2002, 277, N 8, 6504-6510.
 88. Boldt S., Weidle U.H., Kolch W. The role of MAPK pathways in the action of chemotherapeutic drugs // *Carcinogenesis.* 2002, 23, N 11, 1831-1838.
 89. Seidman R., Gitelman I., Sagi O. et al. The Role of ERK 1/2 and p38 MAP-kinase pathways in taxol-induced apoptosis in human ovarian carcinoma cells // *Exp. Cell Res.* 2001, 268, 84-92.
 90. Wang T.H., Popp D.M., Wang H.S. et al. Microtubule dysfunction induced by paclitaxel initiates apoptosis through both c-Jun N-terminal kinase (JNK)-dependent and -independent pathways in ovarian cancer cells // *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 8208-8216.
 91. Jin W., Wu L., Liang K. et al. Roles of the PI-3K and MEK pathways in Ras-mediated chemoresistance in breast cancer cells // *Br. J. Cancer.* 2003, 89, 185-191.
 92. Dhanasekaran D.N., Reddy E.P. JNK signaling in apoptosis // *Oncogene.* 2008, 27, 6245-6251.
 93. Rajalingam K., Schreck R., Rapp U.R., Albert S. Ras oncogenes and their downstream targets // *Biochim Biophys Acta.* 2007, 1773, 1177-1195.
 94. Пушкарьов В.М., Ковзун О.І., Тронько М.Д. Молекулярно-генетичні механізми утворення злоякісних пухлин щитоподібної залози // *Журн. АМН України.* 2009, 15, № 1, 116-127.
 95. Chen Z., Otto J.C., Bergo M.O. et al. The C-terminal polylysine region and methylation of K-Ras are critical for the interaction between K-Ras and microtubules // *J. Biol. Chem.* 2000, 275, N 52, 41251-41257.
 96. Pan J., Huang H., Sun L. et al. Bcl-2-associated X protein is the main mediator of manumycin A-induced apoptosis in anaplastic thyroid cancer cells // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005, 90, N 6, 3583-3591.
 97. Wang T.H., Wang H.S., Ichijo H. et al. Microtubule-interfering agents activate c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase through both Ras and apoptosis signal-regulating kinase pathways // *J. Biol. Chem.* 1998, 273, 4928-4936.
 98. Ling Y.H., Yang Y., Tornos C. et al. Paclitaxel-induced apoptosis is associated with expression and activation of c-Mos gene product in human ovarian carcinoma SKOV3 cells // *Cancer Res.* 1998, 58, N 16, 3633-3640.
 99. Yue J., Ferrell J.E. Jr. Mos mediates the mitotic activation of p42 MAPK in *Xenopus* egg extracts // *Curr. Biol.* 2004, 14, N 17, 1581-1586.
 100. Knuefermann C., Lu Y., Liu B. et al. HER2/PI-3K/Akt activation leads to a multidrug resistance in human breast adenocarcinoma cells // *Oncogene.* 2003, 22, 3205-3212.
 101. Shingu T., Yamada K., Hara N. et al. Synergistic augmentation of antimicrotubule agent-induced cytotoxicity by a phosphoinositide 3-kinase inhibitor in human malignant glioma cells // *Cancer Res.* 2003, 63, 4044-4047.
 102. Engelman J.A. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations // *Nat. Rev. Cancer.* 2009, 9, 550-562.
 103. Vanhaesebroeck B., Guillermet-Guibert J., Graupera M., Bilanges B. The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2010, 11, 329-341.
 104. Junttila M.R., Evan G.I. p53 – a Jack of all trades but master of none // *Nat. Rev. Cancer.* 2009, 9, 821-829.
 105. Blagosklonny M.V., Schulte T.W., Nguyen P. et al. Taxol induction of p21^{WAF1} and p53 requires c-Raf-1 // *Cancer Res.* 1995, 55, N 20, 4623-4626.
 106. Blagosklonny M.V., El-Deiry W.S. Acute overexpression of wt p53 facilitates anticancer drug-induced death of cancer and normal cells // *Int. J. Cancer.* 1998, 75, N 6, 933-940.
 107. De Feudis P., Vignati S., Rossi C. et al. Driving p53 response to Bax activation greatly enhances sensitivity to taxol by inducing massive apoptosis // *Neoplasia.* 2000, 2, N 3, 202-207.
 108. Lanni J.S., Lowe S.W., Licitra E.J. et al. p53-independent apoptosis induced by paclitaxel through an indirect mechanism // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997, 94, 9679-9683.
 109. Takahashi M., Kigawa J., Minagawa Y. et al. Sensitivity to paclitaxel is not related to p53-dependent apoptosis in ovarian cancer cells // *Eur. J. Cancer.* 2000, 36, N 14, 1863-1868.
 110. Demidenko Z.N., Kalurupalle S., Hanco C. et al. Mechanism of G1-like arrest by low concentrations of paclitaxel: next cell cycle p53-dependent arrest with sub G1 DNA content mediated by prolonged mitosis // *Oncogene.* 2008, 27, 4402-4410.
 111. O'Dea E., Hoffmann A. NF-κB signaling // *WIREs Syst. Biol. Med.* 2009, 1, 107-115.
 112. Orłowski R.Z., Baldwin A.S. NF-κB as a therapeutic target in cancer // *Trends Mol. Med.* 2002, 8, N 8, 385-389.
 113. Kucharczak J., Simmons M.J., Fan Y., Gelinis C. To be, or not to be: NF-κB is the answer – role of Rel/NF-κB in the regulation of apoptosis // *Oncogene.* 2003, 22, 8961-8982.
 114. Huang Y., Fan W. IκB kinase activation is involved in regulation of paclitaxel-induced apoptosis in human tumor cell lines // *Mol. Pharmacol.* 2002, 61, N 1, 105-113.
 115. Mabuchi S., Ohmichi M., Nishio Y. et al. Inhibition of inhibitor of nuclear factor-κB phosphorylation increases the efficacy of paclitaxel in vitro and in vivo ovarian cancer models // *Clin. Cancer Res.* 2004, 10, N 22, 7645-7654.
 116. Пушкарьов В.М., Старенький Д.В., Гончарук В.М. та ін. Комбінована дія паклітакселю та селективного інгібітора NF-κB дегідроксиметилепоксиквіноміцину на клітині фолікулярного раку щитовидної залози // *Доп. НАНУ.* 2008, № 10, 182-185.
 117. Meng Z., Mitsutake N., Nakashima M. Dehydroxymethylperoxyquinomicin, a novel nuclear factor-κB inhibitor, enhances antitumor activity of taxanes in anaplastic thyroid cancer cells // *Endocrinology.* 2008, 149, 5357-5365.
 118. Cao Y., Prescott S.M. Many actions of cyclooxygenase-2 in cellular dynamics and in cancer // *J. Cell Physiol.* 2002, 190, N 3, 279-286.
 119. Jang S.H., Wientjes M.G., Au J.L. Interdependent effect of P-glycoprotein-mediated drug efflux and intracellular drug binding on intracellular paclitaxel pharmacokinetics: application of computational modeling // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003, 304, N 2, 773-780.
 120. Shah M.A., Schwartz G.K. Cell cycle-mediated drug resistance: an emerging concept in cancer therapy // *Clin. Cancer Res.* 2001, 7, 2168-2181.
 121. Gottesman M.M. Mechanisms of cancer drug resistance // *Annu. Rev. Med.* 2002, 53, 615-627.
 122. Schinkel A.H., Mayer U., Wagenaar E. et al. Normal viability and altered pharmacokinetics in mice lacking Mdr1-type (drug-transporting) P-glycoproteins // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997, 94, 4028-4033.
 123. Sparreboom A., van Asperen J., Mayer U. et al. Limited oral bioavailability and active epithelial excretion of paclitaxel (Taxol) caused by P-glycoprotein in the intestine // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997, 94, 2031-2035.
 124. Berrieman H.K., Lind M.J., Cawkwell L. Do beta-tubulin mutations have a role in resistance to chemotherapy? // *Lancet Oncol.* 2004, 5, 158-164.
 125. Wang Y., Yin S., Blade K. et al. Mutations at leucine 215 of beta-tubulin affect paclitaxel sensitivity by two distinct mechanisms // *Biochemistry.* 2006, 45, 185-194.
 126. Wang Y., O'Brate A., Zhou W., Giannakakou P. Resistance to microtubule-stabilizing drugs involves two events, beta-tubu-

- lin mutation in one allele followed by loss of the second allele // *Cell Cycle*. 2005, 4, 1847-1853.
127. Kavallaris M. Microtubules and resistance to tubulin-binding agents // *Nat. Rev. Cancer*. 2010, 10, 194-204.
 128. Rouzier R., Rajan R., Wagner P. et al. Microtubule associated protein tau: a marker of paclitaxel sensitivity in breast cancer // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005, 102, 8315-8320.
 129. Zhang C.C., Yang J.M., White E. et al. The role of MAP4 expression in the sensitivity to paclitaxel and resistance to vinca alkaloids in p53 mutant cells // *Oncogene*. 1998, 16, 1617-1624.
 130. Rubin C.L., Atweh G.F. The role of stathmin in the regulation of the cell cycle // *J. Cell Biol.* 2004, 93, 242-250.
 131. Alli E., Bash-Babula J., Yang J.M., Hait W.N. Effect of stathmin on the sensitivity to antimicrotubule drugs in human breast cancer // *Cancer Res.* 2002, 62, 6864-6869.
 132. Cassimeris L. The oncoprotein 18/stathmin family of microtubule destabilizers // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2002, 14, 18-24.
 133. Schmidt M., Bastians H. Mitotic drug targets and the development of novel anti-mitotic anticancer drugs // *Drug Resist. Updat.* 2007, 10, 162-181.
 134. Jackson J.R., Patrick D.R., Dar M.M., Huang P.S. Targeted anti-mitotic therapies: can we improve on tubulin agents? // *Nat. Rev. Cancer*. 2007, 7, 107-117.
 135. Plosker G.L., Keam S.J. Trastuzumab: a review of its use in the management of HER2-positive metastatic and early-stage breast cancer // *Drugs*. 2006, 66, 449-475.
 136. Yu D., Jing T., Liu B. et al. Overexpression of ErbB2 blocks taxol-induced apoptosis by upregulation of p21cip1, which inhibits p34Cdc2 kinase // *Mol. Cell*. 1998, 2, 581-591.
 137. Schoenberger J., Grimm D., Kossmehl P. et al. Effects of PTK787/ZK222584, a tyrosine kinase inhibitor, on the growth of a poorly differentiated thyroid carcinoma: an animal study // *Endocrinology*. 2004, 145, 1031-1038.
 138. Hwang J.E., Lee J.H., Park M.R. et al. Blockade of VEGFR-1 and VEGFR-2 enhances paclitaxel sensitivity in gastric cancer cells // *Yonsei Med. J.* 2013, 54, N 2, 374-380.
 139. Jeong J.Y., Kim K.S., Moon J.S. et al. Targeted inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase p110b, but not p110a, enhances apoptosis and sensitivity to paclitaxel in chemoresistant ovarian cancers // *Apoptosis*. 2013, PMID: 23371322 [Epub ahead of print].
 140. Wan C.P., Letchford K., Jackson J.K., Burt H.M. The combined use of paclitaxel-loaded nanoparticles with a low-molecular-weight copolymer inhibitor of P-glycoprotein to overcome drug resistance // *Int. J. Nanomedicine*. 2013, 8, 379-391.
 141. Charalambakis N., Kouloulis V., Vaja H. et al. Feasibility of induction Docetaxel, Cisplatin, 5-Fluorouracil, Cetuximab (TPF-C) followed by concurrent Cetuximab radiotherapy for locally advanced head and neck squamous cell carcinoma // *Front. Oncol.* 2013, 3, N 5, doi: 10.3389/fonc.2013.00005.

Надійшла 20.02.2013

Анапластическая карцинома щитовидной железы: новые подходы к ее лечению (обзор литературы)

Н.Д. Тронько, В.В. Пушкарёв, Е.И. Ковзун, В.М. Пушкарёв

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

Резюме. В обзоре литературы анализируются данные последнего десятилетия относительно механизмов канцерогенеза

анапластического рака щитовидной железы и канцеростатического действия таксанов на клетки злокачественных опухолей. Показана роль различных сигнальных каскадов и регуляторных механизмов клеточного цикла в опосредовании эффектов таксанов в опухолевой клетке. Приводятся данные, полученные при изучении действия таксанов на клетки анапластического рака щитовидной железы, которые раскрывают механизм индукции апоптоза. Обсуждается вклад различных мессенджерных каскадов в про- и антиапоптотические процессы, инициируемые в клетке под действием таксанов.

Ключевые слова: анапластический рак щитовидной железы, канцерогенез, таксаны, микротрубочки, клеточный цикл, внутриклеточные мессенджеры, апоптоз.

Anaplastic carcinoma of the thyroid gland: new approaches for its treatment (review)

M.D. Tronko, V.V. Pushkarev, O.I. Kovzun, V.M. Pushkarev

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

Summary. The review presents analysis of last decade data on the mechanisms of anaplastic thyroid carcinoma tumorigenesis and cancerostatic action of taxanes on malignant cells. The role of different signaling cascades and cell cycle regulatory mechanisms in mediating of effects of taxanes in the tumor cell was shown. Data on paclitaxel action upon thyroid anaplastic cancer cells that reveal the mechanism of induction of apoptosis are presented. The involvement of different messenger cascades into pro- and antiapoptotic processes initiated by taxanes in the cell are discussed.

Keywords: anaplastic thyroid carcinoma, tumorigenesis, taxanes, microtubules, cell cycle, intracellular messengers, apoptosis.

З часом наномедицина може звільнити діабетиків від щоденних ін'єкцій

Serena Gordon , HealthDay Reporter

28 травня (новини HealthDay)

Учені розробили мережу так званих «наночастинок», які теоретично могли б бути введені в тіло людини і продукувати інсулін для протидії підвищенню рівня цукру в крові у хворих на діабет.

Уже випробувана на мишах, одна ін'єкція наномережі змогла підтримати нормальний рівень глюкози протягом більш ніж тижня. Наразі, щоб контролювати рівень цукру в крові, пацієнти мають вводити собі інсулін кілька разів на день.

«Головною метою була імітація активності підшлункової залози. У нашій системі, коли рівень глюкози зростає, наночастинки деградують, звільняючи інсулін», - зауважив автор дослідження Zhen Gu з об'єднаної кафедри біомедичної інженерії Університету Північної Кароліни в Чапел-Хілл та Університету штату Північна Кароліна. Zhen Gu разом із Robert Langer та Daniel Anderson розробили цю технологію, коли Gu працював у Массачусетському технологічному інституті.

Однак, як зауважив один із експертів, дослідження дуже попереднє, хоча й надзвичайно цікаве.

«Це було б чудово для пацієнтів. І значно зменшило б тягар діабету», - зазначив Sanjoy Dutta, головний керуючий терапевтичним відділенням у JDRF (раніше відомому як Фонд дослідження ювенільного діабету). «Але є ще багато запитань, які потребують відповіді. Це був лише перший етап дослідження».

Цей тип лікування, ймовірно, найбільше підійде хворим на цукровий діабет 1 типу, у стані автоімунної реакції, при якому підшлункова залоза більше не виробляє інсулін. Інсулін – гормон, необхідний для правильного метаболізму вуглеводів з їжі. Оскільки їхні організми більше не продукують інсулін, люди з цукровим діабетом 1 типу повинні щодня отримувати по кілька ін'єкцій інсуліну, щоб замінити його нестачу і зберегти стабільний рівень цукру в крові.

Як зазначив Dutta, цей метод лікування також може стати в пригоді хворим на цукровий діабет 2 типу, які потребують ін'єкцій інсуліну. У людей із цукровим діабетом 2 типу інсулін ще виробляється, але їхні організми не використовують його як потрібно.

Є багато проблем з інсулінотерапією, що існує. З одного боку, ви маєте зробити собі кілька ін'єкцій щодня. З іншого – важко визначити точну дозу інсуліну, яка може вам знадобитися. Наразі, люди на інсулінотерапії перевіряють свій рівень цукру, беручи кров із пальця кілька разів на день, що дозволяє їм знати, більша чи менша доза інсуліну їм потрібна за наступного прийому.

Хворий на діабет також мусить з'ясувати, скільки вуглеводів міститься в продуктах, які він планує спожити. (В організмі людини вуглеводи розщеплюються на цукор, щоб забезпечити паливом клітини тіла та мозку.) Якщо будь-який із цих розрахунків виявиться помилковим, рівень цукру в крові може стрибнути або дуже високо, або занадто низько. Обидві крайності можуть бути небезпечними.

Наномережа призначена для вирішення деяких із цих проблем. Інсулін вироблявся б у відповідь на підвищення рівня глюкози, тож не було б потреби перевіряти рівень цукру в крові так часто. Також не потрібно було б рахувати вуглеводи, тому що наномережа виробляла б необхідну кількість інсуліну для обробки спожитої їжі.

Наномережа складається з наночастинок із твердим ядром інсуліну, модифікованим декстраном і ферментами глюкозооксидази. За наявності високих рівнів глюкози ферменти глюкозооксидази перетворюють глюкозу на глюконову кислоту. Глюконова кислота, у свою чергу, розчиняє модифікований декстран, вивільняючи інсулін.

Наномережа формується в організмі після ін'єкції, оскільки деякі наночастинки мають оболонку з негативним зарядом, тоді як інші несуть позитивний заряд. Опинившись всередині тіла, ці частинки притягуються одна до одної і об'єднуються, щоб сформувати наномережу, зауважив Zhen Gu.

Усі компоненти наномережі – та її побічні продукти – є повністю біосумісними і з часом розчиняються, тож вони не повинні викликати реакцію імунної системи, додав Gu.

Нещодавнє дослідження, опубліковане онлайн у журналі ACS Nano цього місяця, виявило, що введена мишам наномережа спромоглася контролювати рівень глюкози в крові протягом 10 днів.

Залишається ще з'ясувати, як дослідники гарантуватимуть, що наномережа не випускатиме занадто багато інсуліну (спричиняючи зниження рівня цукру в крові) або не достатньо інсуліну (спричиняючи підвищення рівня цукру в крові) в організмі людини, і як хворий знатиме, коли настав час для нової ін'єкції. Крім того, досліди на тваринах часто не можуть бути відтворені на людях.

«Це дослідження демонструє ідею. Вона дуже перспективна, але ми повинні провести більше випробувань», - сказав Gu. «Ми хочемо й надалі приводити у відповідність зібрані матеріали, і ми хочемо збільшити швидкість реакції інсуліну. Це може забрати деякий час, але я абсолютно впевнений у цій новій технології».

Dutta також був повний ентузіазму від можливості використання наномереж, що реагуватимуть на рівень глюкози. Однак він попередив: «Це забере де-

НОВИНИ

який час. Багато питань у дослідженнях на тваринах усе ще потребують відповіді, і ми не знаємо, якими будуть регуляторні шляхи, хоча я дійсно передбачаю проблеми з регуляторними механізмами. Це незвідані шляхи».

Чи може марихуана застосовуватись для лікування діабету?

У дослідженні, яке автор супровідної статті назвав «дивовижним», американські лікарі вказують на те, що люди, які активно вживають марихуану, начебто демонструють кращі показники контролю глюкози в крові, ніж ті, хто ніколи її не вживав або ж припинив уживати.

Активні курці каннабісу мали нижчі рівні інсуліну натще і менш імовірну схильність до інсулінорезистентності, ніж некурці; ці висновки залишилися достовірними навіть тоді, коли пацієнтів із цукровим діабетом виключили з цієї великої вибірки Національного дослідження стану здоров'я і харчування населення (NHANES) у період між 2005 і 2010 роками.

У споживачів марихуани також спостерігалася менша окружність талії і вищі рівні холестерину ЛПВЩ порівняно з тими, хто ніколи її не вживав. Про це у своїй статті, опублікованій онлайн в *American Journal of Medicine* 16 травня, повідомляють Elizabeth A. Penner з Медичного коледжу при Університеті штату Небраска в Омасі та її колеги.

«Попередні епідеміологічні дослідження виявили нижчу поширеність ожиріння та цукрового діабету у споживачів марихуани порівняно з людьми, які ніколи її не вживали, що може вказувати на зв'язок між каннабіноїдами та периферійними метаболічними процесами», – відзначає у своїй заяві провідний автор Murray A. Mittleman, доктор медицини, доктор філософії з Медичного центру Бет-Ізраел, Бостон, штат Массачусетс. «Наше дослідження першим поставило собі за мету вивчити зв'язок між вживанням марихуани та рівнем інсуліну натще, показниками глюкози та інсулінорезистентністю».

У супровідному коментарі Joseph S. Alpert, доктор медицини з Медичного коледжу при Університеті штату Аризона в Тусоні, який також є головним редактором *American Journal of Medicine*, переймається питанням, чи буде в майбутньому тетрагідроканнабінол (ТГК) призначатися пацієнтам із цукровим діабетом або метаболічним синдромом поряд з антидіабетичними пероральними препаратами або інсуліном для кращого управління цією хронічною хворобою.

«Тільки час відповідь нам на це запитання», – додає він. «Проте, уже зрозуміло, що ми відчайдушно потребуємо значно більшої кількості теоретичних та

клінічних досліджень щодо коротко- і довгострокових наслідків використання цього препарату в різних клінічних ситуаціях, таких як рак, діабет та хворобливість літніх людей».

Ефекти, імовірно пов'язані з активним вживанням каннабісу. Пані Penner та її колеги вивчали дані 4657 учасників із бази даних спостережень NHANES – загальнодержавного репрезентативного опитування дорослого населення США за анкетами щодо вживання наркотиків.

З них 579 були активними споживачами (повідомили про випадки куріння марихуани або гашишу протягом минулого місяця), 1975 курили марихуану в минулому, але не були активними споживачами, і 2103 ніколи не вдихали і не ковтали марихуану. Рівень інсуліну натще та показники глюкози вимірювались за допомогою зразків крові після дев'ятигодинного голодування, для оцінки резистентності до інсуліну розраховувалася гомеостатична модель оцінки інсулінорезистентності (НОМА-IR).

Рівень глюкози в активних споживачів марихуани був нижчим, ніж у тих, хто ніколи її не вживав, але ця різниця перестала бути істотною після багатокорекційного корегування даних. Дослідники також не виявили значущого зв'язку між вживанням марихуани та рівнем тригліцеридів чи показниками систолічного і діастолічного артеріального тиску.

Однак, порівняно з тими, хто ніколи не вживав каннабіс, активні споживачі демонстрували на 16% нижчий рівень інсуліну натще і на 17% нижчі показники НОМА-IR, і ці результати залишилися незмінними навіть після багатокорекційного корегування даних. У них також спостерігався на 1,63 мг/дл вищий рівень холестерину ЛПВЩ у крові, а також зниження окружності талії, і обидва ці показники залишилися достовірними після корегування.

При аналізі змін індексу маси тіла, який дослідники називають потенційним медіатором зв'язку між марихуаною і кардіометаболічними результатами, простежувалася досить слабка залежність, але й вона залишилася статистично значущою. Після виключення учасників із цукровим діабетом результати також не зазнали істотних змін.

Важливо відзначити, що найкращі результати спостерігались в активних споживачів каннабісу. «Слабший зв'язок було помічено в осіб, які повідомили про вживання марихуани принаймні один раз, але не за останні 30 днів, що дозволяє припустити, що вплив марихуани на інсулін та резистентність до нього здійснюється за умови її нещодавнього вживання», – зауважують пані Penner та її колеги.

Ці нові дані «є воістину дивовижними спостереженнями, які, як відзначають автори, підтверджу-

НОВИНИ

ються фундаментальними науковими експериментами, що дійшли аналогічних висновків,» – зазначає у своїй редакційній статті доктор Alpert.

Заклик до проведення подальших досліджень каннабісу. Враховуючи нещодавню легалізацію медичного використання марихуани у вигляді ТГК в 19 штатах і окрузі Колумбія та рекреаційного використання у 2 штатах, «лікарі дедалі частіше стикатимуться із вживанням марихуани серед своїх пацієнтів», – додає доктор Alpert. За оцінками, у США налічується 17,4 млн споживачів марихуани, близько 4,6 млн із них курять її щодня чи майже щодня.

І хоча дискусія щодо законодавства та медичного використання каннабісу вестиметься й надалі, реальна проблема полягає в тому, що маємо «нестачу наукових, фармакологічних і клінічних досліджень цього препарату», – зауважує Alpert, вказуючи, що більшість наявних досліджень вивчають вплив марихуани на центральну нервову систему і потенційне звикання до неї.

«Я хотів би звернутися до національних інститутів охорони здоров'я та управління з боротьби з наркотиками з проханням співпрацювати в розробці політики щодо здійснення ґрунтовних наукових досліджень, які допоможуть поінформувати лікарів про правильне використання та призначення ТГК в його синтетичній чи рослинній формі», – підсумовує він.

На конференції EuroPCR у Парижі оприлюднено шестимісячні дані дослідження WAVE I щодо застосування ниркової денервації при артеріальній гіпертензії

Джерело: BUSINESS WIRE

Технологія Surround Sound® (об'ємний звук) від компанії Kona передбачає використання зовнішнього ультразвуку для лікування резистентної гіпертензії

Компанія Kona Medical оголосила про оприлюднення три- та шестимісячних результатів дослідження WAVE I. Дані представив Robert Whitbourn, доктор медицини з лікарні Св. Вінсента в Мельбурні, Австралія, під час сесії щодо останніх клінічних випробувань на конференції EuroPCR у Парижі. WAVE I є першим перевіреним на людях дослідженням з оцінки безпеки та ефективності застосування технології Surround Sound® компанії Kona Medical для здійснення ниркової денервації при лікуванні резистентної артеріальної гіпертензії. На відміну від інших методів ниркової денервації, які ґрунтуються на випромінюванні енергії через стінку ниркової артерії за допомогою катетера, метод компанії Kona забезпечує надходження ультразвукової енергії до нервів ззовні тіла. Ця спрямована енергія «оточує» артерію і діє на нерви, розташовані в

безпосередній близькості від судини. Дані, представлені в дослідженні WAVE I, показують, що в пацієнтів, до яких застосовували метод ниркової денервації Surround Sound®, не було помічено серйозних негативних наслідків, які могли б бути спричинені сторонніми пристроями, і спостерігалось зниження систолічного артеріального тиску на 22 мм рт.ст. і діастолічного артеріального тиску – на 9 мм рт.ст. за три місяці (N=24). У тих пацієнтів, які пройшли 6-місячне спостереження (N=14), зниження систолічного артеріального тиску склало 29 мм рт.ст. і діастолічного артеріального тиску – 9 мм рт.ст.

«Результати цього початкового дослідження використання зовнішнього ультразвуку для ниркової денервації є дуже перспективними», – зауважив доктор Whitbourn. «Зниження артеріального тиску в досліджуваній групі пацієнтів із дуже важкою формою гіпертензії з часом прогресує. Ми також бачили, що енергія ультразвуку призводить до ефективної денервації без помітного впливу на ниркову артерію. І хоча для підтвердження цих результатів потрібні подальші дослідження, зовнішній ультразвук, очевидно, має великий потенціал як альтернатива катетерному постачанню енергії при лікуванні пацієнтів із гіпертонією».

Додаткові дані WAVE I, представлені на EuroPCR, є такими:

- Суб'єкти дослідження мали вихідний систолічний артеріальний тиск у середньому 190 мм рт.ст. і діастолічний – 100 мм рт.ст. і вживали приблизно 4,5 види антигіпертензивних ліків.
- В 11/14 суб'єктів (78%), термін лікування яких досяг шести місяців, спостерігалось істотне падіння систолічного артеріального тиску на 10 мм рт.ст. і більше.
- Результати досліджень побічної дії норепінефрину демонструють переконливі докази на користь симпатичної денервації.
- Не було помічено жодних негативних впливів на ниркову судинну систему піддослідних, що засвідчила ангіографія після шести тижнів експерименту (n=9) та МРТ після 24 тижнів (n=14).

Наразі відбувається формування бази даних та терапія піддослідних у наступному дослідженні – WAVE II, яке використовує оптимізований протокол лікування, що скорочує час проведення процедури з близько 12 хвилин із кожного боку (у WAVE I) до менш ніж трьох хвилин. Спонсор дослідження компанія Kona Medical також оголосила про плани розпочати дослідження WAVE III, яке оцінюватиме безпеку та ефективність повністю зовнішньої (неінвазивної) версії ультразвукової терапії. Неінвазивна ниркова денервація має потенціал до розширення доступу пацієнтів до ниркової денервації, а також до зниження вартості лікування.

«Ми дякуємо нашим дослідникам за цю важливу

НОВИНИ

працю», – зазначив Michael Gertner, доктор медицини, засновник і генеральний директор Kona Medical. «Позитивні результати дослідження WAVE I, представлені сьогодні, демонструють перспективу зовнішньої ультразвукової терапії для мільйонів людей, які страждають на резистентну гіпертензію. Ми з нетерпінням чекаємо застосування свого повністю неінвазивного методу Surround Sound у клінічних випробуваннях».

Вплив ситагліптину порівняно з глібенкламідом на артеріальну ригідність, кров'яний тиск, ліпідний профіль та запальні стани у хворих на цукровий діабет 2 типу

Shlomit Koren, доктор медичних наук кафедри медицини внутрішніх хвороб
Медичний центр Assaf Harofeh, Црифін, 70300, Ізраїль

Мета: у дослідженні вивчався вплив ситагліптину порівняно з глібенкламідом на артеріальну ригідність, кров'яний тиск, ліпідний профіль, окислювальний стрес і високочутливий С-реактивний білок (СРБ) у хворих на цукровий діабет 2 типу.

Матеріали і методи: сорок пацієнтів із цукровим діабетом, недостатньо контрольованим метформіном, було рандомізовано розділено на таких, що вживали ситагліптин (100 мг/день), і таких, яким було призначено глібенкламід (5 мг/день) протягом 3 місяців. Після того, як минув місячний період вимивання, пацієнтам замінили глібенкламід на ситагліптин і навпаки ще на 3 місяці. На початку експерименту і після 3 місяців

уживання кожного з досліджуваних препаратів пацієнтам визначали артеріальну ригідність, здійснювали добовий моніторинг артеріального тиску, ліпідів, СРБ, глікованого гемоглобіну, глюкози, проводили експрес-аналіз 8-ізопростану (міра окислювального стресу), вимірювали індекс маси тіла (ІМТ) і окружність талії.

Результати: на кінець дослідження залишилося тридцять чотири пацієнти. Глібенкламід продемонстрував кращий цукрознижувальний ефект, ніж ситагліптин, але це було пов'язано з більшою кількістю гіпоглікемічних подій. Внаслідок лікування глібенкламідом у пацієнтів збільшився ІМТ, тоді як ситагліптин не спричинив впливу на вагу. Середні значення приросту ІМТ склали $+0,5 \pm 1,0$ кг/м² для глібенкламід порівняно з $0,01 \pm 0,9$ кг/м² для ситагліптину ($P < 0,001$). Після ситагліптину значно знизився рівень тригліцеридів, тоді як після лікування глібенкламідом вони залишилися незмінними. Середнє зниження тригліцеридів становило $18,4 \pm 45$ мг/мл для ситагліптину і $0,2 \pm 57$ мг/дл для глібенкламід ($P = 0,018$). Жодних змін не зазнали рівень ліпопротеїнів низької щільності, ліпопротеїнів високої щільності, артеріальна ригідність, показники моніторингу кров'яного тиску, СРБ та 8-ізопростану при вживанні кожного з досліджуваних препаратів.

Висновки: ситагліптин, на відміну від глібенкламід, показав значний позитивний вплив на індекс маси тіла та рівень тригліцеридів. Однак, ні додавання ситагліптину, ні глібенкламід до метформінової терапії істотно не вплинуло на артеріальну ригідність, кров'яний тиск, окислювальний стрес і запальні стани у хворих на цукровий діабет 2 типу.

Підбірку новин підготував В.М. Пушкар'єв, переклад О. Заяц



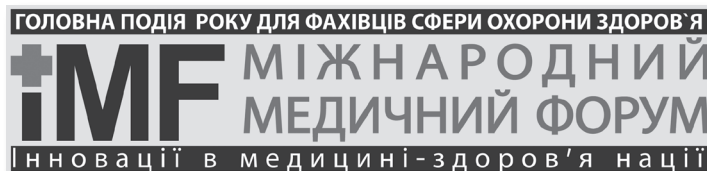
Національна Медична Премія – перший в Україні масштабний проект, у рамках якого відбувається вибір та нагородження найкращих медичних працівників та лікарняно-профілактичних закладів.

Мета конкурсу – публічне відзначення професіоналів та закладів системи охорони здоров'я, які заслуговують на пошану та визнання за їх внесок у розвиток медичної галузі та збереження здоров'я українського народу.

Механізм відбору кандидатів. Переможці конкурсу обираються за результатами щорічного всеукраїнського дослідження «Реєстр Топ100 в медицині», яке здійснюється серед професіоналів системи охорони здоров'я України.

Ендокринологи

ПІБ	Місце роботи	Місто
Дунаєва Діана Дмитрівна	Лікар-ендокринолог КРУ КТМО «Університетська клініка»	Сімферополь
Стаховська Вікторія Павлівна	Лікар-ендокринолог Обласна клінічна лікарня ім. О.Ф. Гербачевського	Житомир
Соколова Любов Костянтинівна	Провідний науковий співробітник відділення клінічної діабетології ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»	Київ
Чакмазова Олена Миколаївна	Лікар-ендокринолог дитячий Запорізька обласна клінічна дитяча лікарня	Запоріжжя



**16-19 квітня 2013 року в ВЦ «КиївЕкспо-
Плаза» відбулася масштабна подія для фахів-
ців галузі охорони здоров'я України –
IV МІЖНАРОДНИЙ МЕДИЧНИЙ
ФОРУМ «ІННОВАЦІЇ В МЕДИЦИНІ –
ЗДОРОВ'Я НАЦІЇ»**

- 380 компаній, 18 країн
- 14 000 спеціалістів
- 60 науково-практичних заходів для лікарів різної спеціалізації
- 800 доповідачів-експертів галузі охорони здоров'я України

Уже вчетверте з 16 по 19 квітня 2013 року у ВЦ «КиївЕкспоПлаза» гостинно відчинив свої двері Міжнародний Медичний Форум «Інновації в медицині – здоров'я нації», який із роками набув статусу масштабного комплексного заходу інноваційного спрямування галузі охорони здоров'я України, що об'єднав потужну науково-практичну програму, школи, виставки та спеціалізовані експозиції, створивши інформаційну платформу для обміну досвідом та підвищення кваліфікації фахівців охорони здоров'я.

Організатори Форуму – Національна академія медичних наук України, Національна академія наук України, Компанія LMT, за підтримки Комітету Верховної Ради з питань охорони здоров'я, Міністерства охорони здоров'я України, Державної служби України з лікарських засобів та при сприянні медичних асоціацій і громадських об'єднань, вищих навчальних медичних закладів України, соціальних фондів.

Одночасно з Форумом відбулась II Міжнародна виставка медичного туризму, SPA&Wellness – Healthcare Travel Expo, учасниками якої стали провідні клініки, медичні та реабілітаційні центри, санаторно-курортні заклади, SPA&Wellness курорти Австрії, Ізраїлю, Латвії, Литви, Туреччини, Фінляндії, Чехії, Польщі, Болгарії, Малайзії, Словаччини, Куби, Швейцарії, Хорватії, Німеччини, Угорщини, Йорданії, Казахстану, Росії, України та інші.

У церемонії відкриття IV Міжнародного медичного форуму «Інновації в медицині – здоров'я нації» та II Міжнародної виставки медичного туризму, SPA&Wellness – Healthcare Travel Expo яка відбулася 16 квітня, взяли участь: Олександр Качур – перший заступник міністра охорони здоров'я України; Віталій Цимбалюк – академік, віце-президент Національної академії медичних наук України; Володимир Мачулін – головний вчений секретар, член президії Національної академії наук України; Інна Демченко – перший заступник голови Державної служби України з лікарських засобів; Юрій Вороненко – ректор Національної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика; Микола Маринов – перший заступник міністра

курортів і туризму АР Крим; Анджей Грабовський – Радник-посланник Посольства Республіки Польща в Україні; представники медичних асоціацій, громадських фондів, компаній-виробників медичної техніки та інші. Серед почесних гостей: Ернесто Антоніо Сенті Даріас – Надзвичайний і Повноважний Посол Республіки Куба в Україні; Павло Страхілов – радник з економічних питань Посольства Болгарії в Україні; Берат Йилдиз – аташе з питань культури та інформації Посольства Республіки Турція; Анатолій Заболотний – директор Благодійного фонду Ріната Ахметова «Розвиток України»; Лариса Самойлович – аташе з туризму Представництва міністерства туризму Ізраїлю в Україні; Чуа Теонг Бан – Надзвичайний та Повноважний Посол Малайзії в Україні; Юрій Чорний – почесний консул Посольства Грузії в Україні; Генріх Собішевський – керівник європейського офісу «Toshiba Medical Systems».

Як зазначив перший заступник міністра охорони здоров'я України О.Качур, питання підвищення ефективності заходів щодо збереження здоров'я нації мають загальнодержавне значення та є пріоритетними у стратегії соціально-економічного розвитку України. Завдяки Форуму співпраця органів влади з професійними організаціями науковців, лікарів, об'єднаннями суб'єктів господарювання має значний потенціал для переходу вітчизняної охорони здоров'я на новий якісний рівень. Важливу роль у цьому процесі відіграє Міжнародний медичний конгрес, покликаний сприяти розвитку системи державних гарантій медичної допомоги та сучасних підходів до організації охорони здоров'я, підвищенню суспільного престижу медичної професії та пропагуванню цінностей здорового способу життя.

Основна мета Форуму – створення широкої міждисциплінарної платформи для конструктивного діалогу науковців, практикуючих лікарів, спеціалістів, виробників, постачальників та споживачів медичної техніки та послуг, охопивши усі напрямки даної області від теоретичних до практичних аспектів. Для лікарів суміжних спеціальностей – це можливість підвищити рівень кваліфікації, отримати нові знання,

обміняти досвідом, розширити та вдосконалити практичні і теоретичні навички, дізнатись про нові методи і методики у лікуванні, а також ознайомитись з інноваційними технологіями, професійним сучасним обладнанням, новими фармацевтичними препаратами.

Уся науково-практична програма базувалась на ІІ МІЖНАРОДНОМУ МЕДИЧНОМУ КОНГРЕСІ «Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України», який внесений до Реєстру з'їздів, конгресів, симпозиумів та науково-практичних конференцій, котрі відбудуться у 2013 році (розділ «Конгреси», № 5, стор. 10). У програму Конгресу увійшли 60 науково-практичних заходів для лікарів різної спеціалізації: організація та управління охороною здоров'я, лабораторна медицина, медична радіологія, терапія та сімейна медицина, гастроентерологія, онкологія, кардіологія, ендокринологія, урологія і нефрологія, акушерство і гінекологія, хірургія і нейрохірургія, анестезіологія, неврологія, медична та лабораторна генетика, гематологія та трансфузіологія, екстрена медична допомога, травматологія і ортопедія, фізіотерапія і реабілітація, дерматологія і дерматовенерологія, епідеміологія та інфекційні захворювання, отоларингологія, фтизіатрія і пульмонологія, біомедична інженерія, геронтологія, стоматологія, медичний туризм, заходи для спеціалістів фармацевтичного ринку.

Традиційні заходи, що відбулися в рамках Конгресу: практична конференція для приватних медичних закладів, спеціальні програми з медичної радіології та лабораторної медицини, науково-практична конференція досягнень у нейрохірургії, заходи по медичній та фізичній реабілітації, заходи для терапевтів та сімейних лікарів, семінари для гастроентерологів та інші. Вперше відбулися науково-практичні заходи, присвячені актуальним проблемам кардіології. Цього року в рамках спеціального проекту MEDZoom було проведено Українську лабораторну школу, Школу ультразвукової та функціональної діагностики, Школу екстреної медичної допомоги, Міжнародну школу з реабілітаційної терапії, Українську школу медсестринства.

Експозиційна частина Форуму об'єднала Міжнародну виставку охорони здоров'я – MEDICAEXPO та Міжнародну фармацевтичну виставку – PHARMAEXPO. Генеральний партнер Форуму – Представництво Toshiba Medical Systems в Україні. Вперше, у статусі Офіційного Партнера Форуму виступила компанія «Авто Капітал» – Mercedes-Benz. У статусі Соціального Партнера Форуму виступив Благодійний фонд Ріната Ахметова «Розвиток України», спеціальним дарунком якого для усіх відвідувачів Форуму стала можливість безкоштовної комплексної діагностики репродуктивної системи в жінок у пересувному медичному комплексі

«Мобільна жіноча консультація».

Серед Партнерів Форуму: АТ «УМТ», «Хімлаборреактив», ТОВ Центр реабілітації «Медіо-Груп», ТОВ «Мед Ексім», ТОВ «ЗРО «Квант», ТОВ «Поліпромсинтез», ТОВ «Інтеро», Tokyo Boeki Technology Ltd., ТОВ «ДіаВерітас», ТОВ «ТехМедКонтракт», ТОВ «СІНЕВО Україна», ТОВ «НБК «КРАС», OСТANORM Україна.

Традиційно у Форумі взяли участь: ТОВ «ДІАМЕБ», ТОВ «Вектор-Бест-Україна», НВО «Телеоптик», ДП «БіоЛайн Україна», ТОВ «Модем 1», «Рош Діагностікс», «Абботт Лабораторізі», Фірма «Радмір», КВО «МЕДАПАРАТУРА», ТОВ «Медігран», ТОВ «Біонікс Лаб», ТОВ «НІЦ «Сканер», ТОВ «Здрово», ТОВ «МедХауз - Україна», MedPack Swiss GmbH, ТОВ «Вілан медікал», ТОВ «Нью Медікал Технолоджіс», ТОВ «Медімекс-Україна», ТОВ «НВЛ «Гранум», ПАТ «Гемопласт» та інші.

Серед нових учасників: Представництво SAM-SUNG-MEDISON, ТОВ «Профімед-Сервіс», Medonics Co. Ltd., ПП «МЕДРАМ», ТОВ «ДЮСО», ТОВ «Да-на», ТОВ «Організація Медичного Бізнесу», Фірма «Балтон», Компанія «ЗМ Україна», ІКА-Werke GmbH&Co. KG, ТОВ «Шерл» та багато інших.

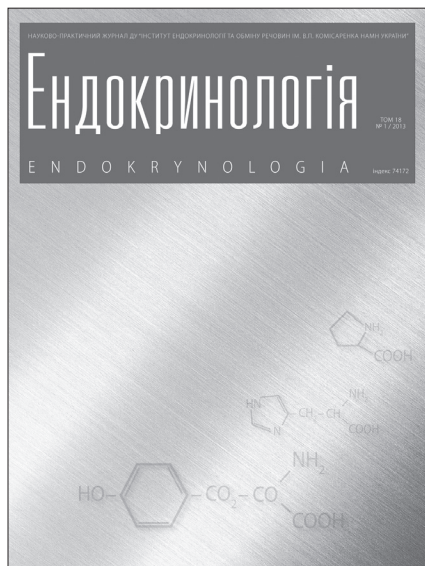
Захід супроводжується масштабною рекламною кампанією у ЗМІ. Генеральним стратегічним партнером Форуму є ВД «Заславський»; Генеральним інформаційним партнером виставки PHARMAEXPO – щотижневик «АПТЕКА»; Генеральним інформаційним партнером – журнал «Управління закладом охорони здоров'я»; Офіційними інформаційними партнерами – Медична газета «Здоров'я України», «Український Медичний Часопис», Видавництво «Медкнига», журнал «Фармацевтичний Кур'єр»; Спеціалізованим партнером – ТОВ «МЕДІАСЕРВІС»; Генеральним Інтернет-партнером – Медичний портал України ZDOROV-INFO.COM.UA та багато інших інформаційних та Інтернет партнерів.

Оргкомітет ІV МІЖНАРОДНОГО МЕДИЧНОГО ФОРУМУ «Інновації в медицині – здоров'я нації» щиро дякує співорганізаторам, партнерам, учасникам, відвідувачам та запрошує з 15 по 17 квітня 2014 року прийняти участь та відвідати V Ювілейний МІЖНАРОДНИЙ МЕДИЧНИЙ ФОРУМ «Інновації в медицині – здоров'я нації»

Оргкомітет Форуму
Тел.: +380 (44) 526-90-25, +380 (44) 361-07-21
marketing@medforum.in.ua
www.medforum.in.ua

Передплата через Каталог видань України на 2013 рік журналу "ЕНДОКРИНОЛОГІЯ"

Шукайте в Каталозі видань України за передплатним індексом 74172



Зазначте в купоні Ваші дані для передплати

Державний комітет зв'язку та інформатизації України ф. СП-1

ДОСТАВНА КАРТКА-ДОРУЧЕННЯ

пв	місце	літер.

На газету журнал **74172**

Журнал "Ендокринологія"
найменування видання

Вартість	передплата	_____ грн. _____ коп.	Кількість комплектів
	переадресування		

На 20__ рік по місяцях

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Поштовий індекс _____

Код вулиці _____

буд. _____ корп. _____ кв. _____

місто _____

село _____

область _____

район _____

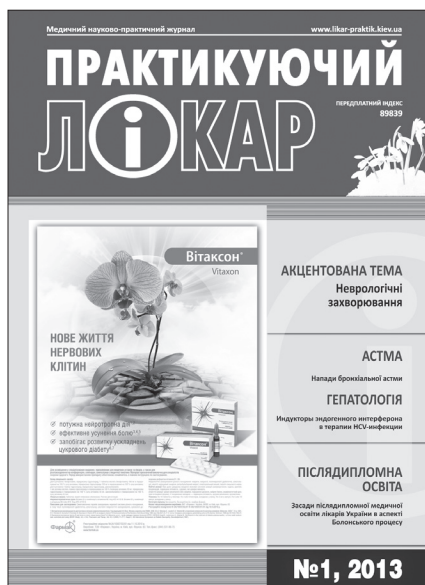
вулиця _____

Прізвище, ініціали _____

Відріжте купон і зверніться до будь-якого відділення "Укрпошти"

Передплата через Каталог видань України на 2013 рік журналу "ПРАКТИКУЮЧИЙ ЛІКАР"

Шукайте в Каталозі видань України за передплатним індексом 89839



Зазначте в купоні Ваші дані для передплати

Державний комітет зв'язку та інформатизації України ф. СП-1

ДОСТАВНА КАРТКА-ДОРУЧЕННЯ

пв	місце	літер.

На газету журнал **89839**

Журнал "Практикуючий лікар"
найменування видання

Вартість	передплата	_____ грн. _____ коп.	Кількість комплектів
	переадресування		

На 20__ рік по місяцях

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Поштовий індекс _____

Код вулиці _____

буд. _____ корп. _____ кв. _____

місто _____

село _____

область _____

район _____

вулиця _____

Прізвище, ініціали _____

Відріжте купон і зверніться до будь-якого відділення "Укрпошти"