

*Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України»
State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and
Metabolism of the Academy of Medical Sciences of Ukraine»*

ЕНДОКРИНОЛОГІЯ

ENDOKRYNOLOGIA

2009

Том 14, № 2
Volume 14, No. 2

Науково-практичний журнал
Medical and experimental journal

Заснований у 1996 р.
Founded in 1996

Київ
Kyiv

Редакційна колегія:

ТРОНЬКО М. Д. (головний редактор), БЕЗВЕРХА Т. П. (відповідальний секретар), БОДНАР П. М., БОЛЬШОВА О. В., ЄФІМОВ А. С. (заступник головного редактора з клінічної ендокринології), КАРАЧЕНЦЕВ Ю. І., КВАЧЕНЮК А. М., КОВАЛЕНКО А. Є., КОВЗУН О. І., КОРПАЧОВ В. В., КРАВЧЕНКО В. І., МАНЬКОВСЬКИЙ Б. М., МАРКОВ В. В., МИКОША О. С. (заступник головного редактора з експериментальної ендокринології), НАУМЕНКО В. Г., ОЛІЙНИК В. А., ОРЛЕНКО В. Л., ПОЛТОРАК В. В., ПУШКАРЬОВ В. М., РЕЗНИКОВ О. Г., ТАРАСЕНКО Л. В. (редактор), ТОМАШЕВСЬКИЙ Я. І.

Редакційна рада:

БОЦЮРКО В. І. (Івано-Франківськ), ВЕНДЗИЛОВИЧ Ю. М. (Львів), ВЛАСЕНКО М. В. (Вінниця), ВОЙНІЛОВИЧ В. О. (Чернігів), ГУЛЬЧІЙ М. В. (Київ), ЕПШТЕЙН Б. В. (Київ), КОМІСАРЕНКО І. В. (Київ), ПАВЛОВСЬКИЙ М. П. (Львів), ПАВЛЮК П. М. (Київ), СЕЛІВАНОВА К. Ф. (Сімферополь), СПРИНЧУК Н. А. (Київ), ТКАЧ С. М. (Київ), ТУРЧИН І. С. (Київ)

Адреса редакції:

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України»,
вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна
тел.: (044) 430-36-94, 431-02-64
факс: (044) 428-19-96
E-mail: iem_admi@bigmir.net

Address of the Editorial Board:

State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the Academy of Medical Sciences of Ukraine»,
Vyshgorodska Str., 69, Kyiv, 04114, Ukraine
Tel.: +380 44 430 36 94, +380 44 431 02 64
Fax: +380 44 428-19-96
E-mail: iem_admi@bigmir.net

Рекомендовано до видання вченою радою ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України» 06.11.2009 (протокол № 10)

Редакція не завжди поділяє думки авторів статей. За точність викладеного матеріалу відповідає автор публікації, за зміст реклами – рекламодавець.

ISSN 1680-1466

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

Здано до набору 06.11.2009. Підп. до друку 25.11.2009. Формат 70 x 108/16.
Офсетний друк. Ум.-друк. арк. 12,95. Наклад 300 прим.

ТОВ «Фірма «ЕСЕ», бульв. Академіка Вернадського, 34/1, м. Київ, 03142, Україна

ЗМІСТ

Оригінальні дослідження

- Спільний науковий Українсько-Американський Тироїдний Проект. II. Епідеміологічна характеристика процедури першого скринінгового обстеження учасників Проекту 166
М. Д. Тронько, В. П. Терещенко, І. П. Пастер, В. М. Шпак, А. А. Дерев'янюк, Л. В. Чайковська, Г. А. Замотаєва, Т. А. Однолько, М. Hatch, I. J. Masnyk, L. V. Zablotska, [G. R. Howe]
- Зміни вмісту циркулюючих імунних комплексів у хворих на диференційований рак щитоподібної залози після лікування радіоїодом 188
Г. А. Замотаєва, Н. М. Степура
- Ефективність масової йодної профілактики у дітей Чернігівської області йодованою сіллю з різною концентрацією йоду 194
О. І. Осадців, В. І. Кравченко, О. М. Стельмах, В. І. Турчин
- Вміст, ультраструктура та функція моноцитів крові у хворих на цукровий діабет 2 типу і метаболічний синдром 201
В. В. Афанасьєва, К. П. Зак, І. М. Кондрацька, Т. А. Семіонова
- Залежність клінічної симптоматики діабетичної ентеропатії від ступеня ураження автономної нервової системи у хворих на цукровий діабет 209
С. М. Ткач
- Вміст лептину у крові хворих з діабетичною нефропатією 216
О. В. Малиновська, Б. М. Маньковський
- Вплив препаратів, що знижують глікемію, на вміст гомоцистеїну у крові хворих на цукровий діабет 2 типу в залежності від статі 221
В. В. Корпачев, А. В. Ковальчук, Н. М. Кушнарєва
- Полиморфізм С1858Т гена *RTPN22* и латентный аутоиммунный сахарный диабет взрослых 227
С. А. Штандель, Т. М. Тихонова, М. И. Федец, [И. Р. Бариляк]
- Дослідження білкових чинників, що зв'язують інсулін у сироватці крові людей, хворих на цукровий діабет 233
С. В. Мельниченко, О. В. Корпачева-Зінич, Р. Г. Лукашова
- Вплив таксолу на рівень фосфоліпідів та мічення ДНК, РНК і білків в позапухлинній тканині та тканині пухлин кори надниркових залоз людини 247
Н. І. Левчук, В. М. Пушкарьов, О. І. Ковзун, Т. О. Хмель, М. Д. Тронько
- Огляд
- Клініко-діагностичні особливості та молекулярно-генетичні аспекти деяких форм низькорослості: ізольований дефіцит гормону росту, синдром біологічно неактивного гормону росту, рецепторна нечутливість до гормону росту (огляд літератури і власні дослідження) 253
Н. А. Спринчук

Коротке повідомлення

- Гормональна активність мікроінкапсульованої тканини
щитоподібної залози людини за умов *in vitro* 262
І. П. Пастер

Лекція

- Інсулінотерапія цукрового діабету 266
П. М. Боднар, Г. П. Михальчишин

Інформація про міжнародні ендокринологічні форуми

- Актуальна епідеміологія: 44-та щорічна конференція
Європейської групи з вивчення епідеміології цукрового діабету (EDEG) 281
М. Д. Халангот
- Жизнь с диабетом: 20-й Всемирный Конгресс
Международной Диабетической Федерации (IDF) 285
Л. К. Соколова
- 45-й щорічний з'їзд Європейської асоціації з вивчення
цукрового діабету та актуальні питання сучасної інсулінотерапії 289
С. М. Ткач

Новини світової ендокринології

- В. М. Пушкарьов* 294

Ендокринологічні події за кордоном у 2010 році

297

Етичний кодекс лікаря України

298

Ювілеї

- Павлюк Павло Михайлович 306
Резніков Олександр Григорович 308

**СПІЛЬНИЙ НАУКОВИЙ УКРАЇНСЬКО-АМЕРИКАНСЬКИЙ ТИРОЇДНИЙ ПРОЕКТ.
II. ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА
ПРОЦЕДУРИ ПЕРШОГО СКРИНІНГОВОГО
ОБСТЕЖЕННЯ УЧАСНИКІВ ПРОЕКТУ**

М. Д. Тронько¹, В. П. Терещенко¹, І. П. Пастер^{1}, В. М. Шпак¹,
А. А. Дерев'янка¹, Л. В. Чайковська¹, Г. А. Замотаєва¹,
Т. А. Однолько¹, М. Hatch², І. J. Masnyk², L. B. Zablotska³,
G. R. Howe³*

¹ Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», м. Київ, 04114, Україна

² National Cancer Institute, Rockville, MD 20852, USA

³ Columbia University, New York, NY 10032, USA

В 1998 році започатковане виконання спільного Українсько-Американського Тироїдного проекту «Науковий проект дослідження раку та інших захворювань щитовидної залози в Україні в результаті аварії на Чорнобильській АЕС» (у подальшому – Проект), який передбачав обстеження мешканців України: а) які на момент аварії на Чорнобильській АЕС постійно проживали або тимчасово перебували в найбільш радіаційно забруднених районах Житомирської, Київської та Чернігівської областей, б) яким на момент аварії було до 18 років, в) яким в перші тижні після аварії було проведено радіометрію щитовидної залози (ЩЗ) та г) яких було відібрано згідно з методом випадкової вибірки. Процедура обстеження учасників Проекту складалася з реєстрації, ультразвукового обстеження ЩЗ, аналізу крові (визначення рівнів тиротропного гормону, вільного тироксину, тироглобуліну, іонізованого кальцію, антитіл до тиропероксидази та тироглобуліну) і визначення рівня йоду в сечі, консультації лікаря-ендокринолога з пальпацією ЩЗ, а також опитування з метою реконструкції доз опромінення ЩЗ. В разі необхідності призначали додаткове поглиблене обстеження в клініці Інституту (зокрема, тонкоголково аспіраційну пункційну біопсію ЩЗ) і відповідне лікування. За період з квітня 1998 року до грудня 2000 року включно пройшли перше медичне обстеження 13243 потенційних учасників Проекту, серед яких 46,4 % осіб мали дозу опромінення ЩЗ менше ніж 0,3 Гр, 26,3 % осіб – від 0,3 до 1,0 Гр і 27,3 % осіб – більше ніж 1,0 Гр (інформація була відсутня для 20 осіб); 50,8 % обстежених були жінками, 49,2 % – чоловіками; 34,2 % осіб на момент аварії на ЧАЕС мали вік до 4 років, 29,7 % – від 5 до 9 років, 29,9 % – від 10 до 14 років, 6,2 % – від 15 до 18 років включно. Учасники Проекту пройшли наступні етапи обстеження: 13243 особи – реєстрацію, 13235 осіб – аналіз крові, 13230 осіб – ультразвукове обстеження ЩЗ, 13230 осіб – огляд ендокринолога, 13181 особа – аналіз сечі та 13228 осіб – дозиметричне опитування. 287 особам була виконана пункційна біопсія, а 83 особи були госпіталізовані в клініку

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

Інституту для стаціонарного лікування і прооперовані. Ендокринологи оформили 13214 остаточних ендокринологічних висновків, терміни відсилення яких становили: до 3 міс включно – 9,5 %, 4-6 міс – 42,3 %, 7-9 міс – 27,7 %, 10-12 міс – 10,9 %, 13-18 міс – 5,1 %, 19-24 міс – 2,4 %, більше ніж 24 міс – 2,1 % від загальної кількості відправлених висновків.

Ключові слова: Чорнобильська катастрофа, Українсько-Американський Тироїдний Проект, перше скринінгове обстеження.

26 квітня 1986 року під час аварії на четвертому реакторі Чорнобильської АЕС в навколишнє середовище було викинуто значну кількість радіоактивних речовин. Приблизно 1760 ПБк (50×10^6 Кі) припадало на ізотопи особливо небезпечного для організму людини радіоактивного йоду, який інтенсивно накопичується в ЩЗ та може призвести до порушення в її роботі. Найчутливішою до негативного впливу радіоїоду є ЩЗ дітей та підлітків [1], що спричинило серед цього контингенту значне збільшення кількості виявлених випадків захворювання на рак ЩЗ [2]. Оцінка біологічного ризику від радіоіотопів йоду є вкрай важливою для системи охорони здоров'я внаслідок подальшого медичного використання йоду-131, а також через вельми значну частку радіоіотопів йоду в структурі радіонуклідних викидів під час ядерних аварій або ядерних вибухів.

Для більш детального вивчення медико-біологічних ефектів іонізуючого випромінювання під час аварії на Чорнобильській АЕС на стан тироїдної системи застосовуються спеціальні епідеміологічні дослідження, які протягом тривалого часу активно проводяться на радіоактивно забруднених територіях Білорусії, Росії та України [3, 4]. Наймасштабнішими епідеміологічними (когортними) дослідженнями патології тироїдної системи після аварії на ЧАЕС як за розміром території проведення, так і за кількістю учасників обстеження є взаємно зв'язані між собою Білорусько-Американський і Українсько-Американський Тироїдні Проекти [5].

Детальна інформація про спільний Українсько-Американський «Науковий проект дослідження раку та інших захворювань щитовидної залози в Україні в результаті аварії на Чорнобильській АЕС» (порядок формування когорти потенційних учасників Проекту, визначення їх теперішнього місця постійного проживання або тимчасового перебування, запрошення на перше скринінгове обстеження та ряд інших питань) була представлена в попередніх публікаціях [6, 7].

Мета роботи – розробка організаційної структури Українсько-Американського Тироїдного Проекту, функціональних обов'язків та методів взаємодії його структурних підрозділів, стандартизація процедури обстеження учасників Проекту, системи обробки документації та контролю якості виконання Проекту, характеристика учасників Проекту, які взяли участь у першому скринінгу, в залежності від дози опромінення ЩЗ, віку на момент аварії на ЧАЕС, статі та соціального статусу, а також характеристика результатів планового, додаткового та поглибленого обстеження учасників Проекту.

Протокол дослідження

Протокол Українсько-Американського Тироїдного Проекту був підписаний українськими та американськими співвиконавцями в 1995 році. Цей документ відображає наукове підґрунтя і цілі Проекту, окреслює і пояснює вибір місця проведення обстеження і когорти учасників, обговорює методи дослідження, які мають бути використані, і містить ключові аспекти виконання Проекту. Протокол Проекту – це основний документ для всіх співвиконавців Проекту, він слугував основою для розробки операційного керівництва.

Стандартизація процедури обстеження учасників Проекту

Процедура обстеження учасників Проекту достатньо стандартизована за рахунок розробки спеціального операційного керівництва, в якому деталізовані всі аспекти медичного обстеження та використання під час обстеження формалізованих форм і опитувальників.

Операційне керівництво

Метою створення операційного керівництва було забезпечення документування всіх процесів дослідження. Передбачалось, що цим керівництвом в якості джерела інформації зможуть користуватися всі виконавці Проекту. Керівництво складено таким чином, що будь-який виконавець Проекту може легко ідентифікувати розділи, в яких описані процеси, що необхідні для виконання певної задачі. Операційне керівництво складається з 9 розділів: «Введення в дослідження», «Мета і структура», «Визначення досліджуваної когорти», «Процеси, пов'язані з встановленням контакту», «Обстеження», «Лабораторні дослідження», «Остаточний ендокринологічний висновок і рекомендації», «Остаточне встановлення діагнозу і контроль за когортою», «Управління даними».

В додатку до операційного керівництва містяться форми збору даних та інструкції з їх використання, а також зразки інших матеріалів дослідження (листи для встановлення контакту, журнали реєстрації, форми управління, звіти тощо).

В процесі виконання Проекту операційне керівництво постійно оновлювалося з урахуванням поточних потреб і зауважень.

Структурні підрозділи та їх взаємодія

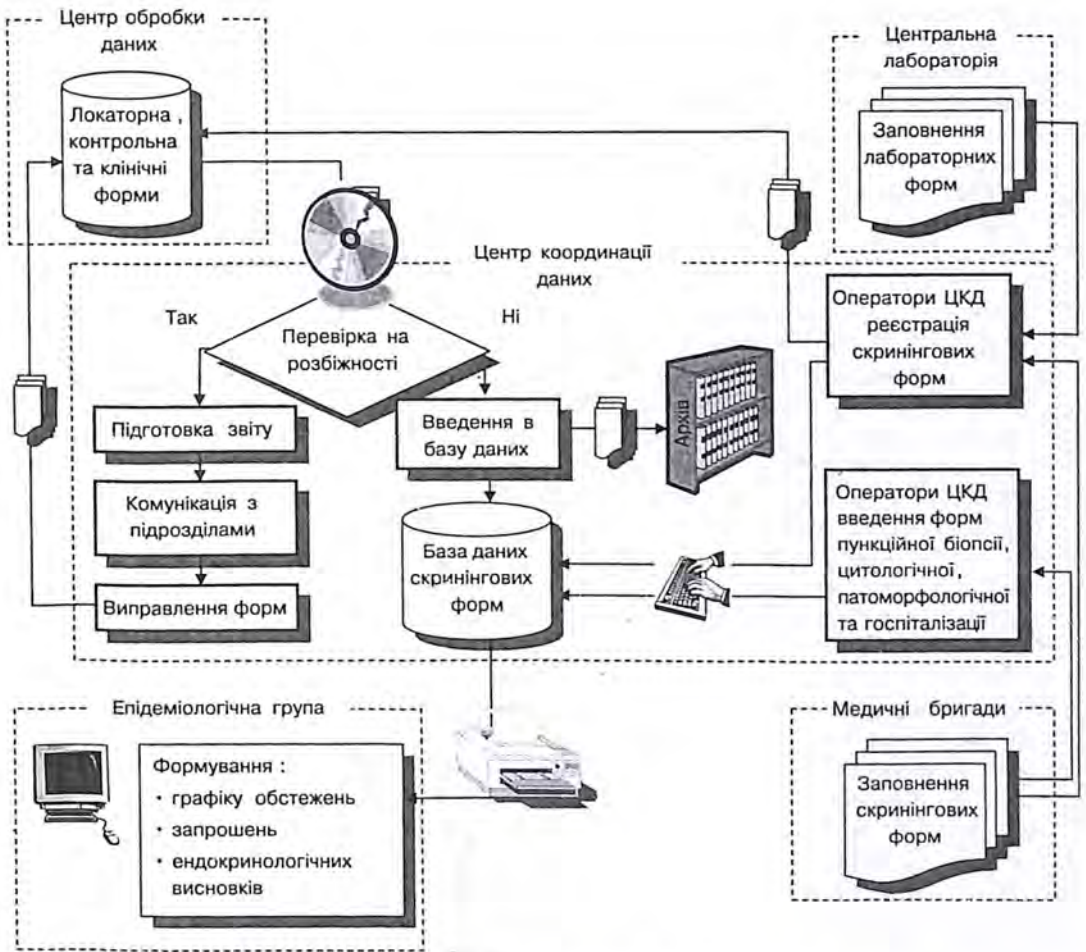
Для успішного виконання Проекту з числа співробітників ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», співробітників ДУ «Науковий центр радіаційної медицини АМН України» та медичних працівників територіальних медичних об'єднань восьми контрольованих районів Житомирської, Київської та Чернігівської областей були організовані наступні структурні підрозділи: адміністрація, центр координації даних, центр обробки даних, епідеміологічна група, клінічна група, центральна лабораторія, лабораторія цитології, патоморфологічна лабораторія та дозиметрична група (мал. 1).

Центр координації даних забезпечує функціонування центральної бази даних Проекту, координує взаємодію його структурних підрозділів, підтримує основні інформаційні потоки між виконавцями Проекту, розробляє спеціалізований програмний інструментарій для автоматизації окремих процесів, реалізує введення даних журналів обстежень та частини клінічних форм безпосередньо до бази даних Проекту, формує та супроводжує аналітичні бази даних Проекту, які використовуються для оперативного управління Проектом, підготовки звітів і наукових публікацій.

Центр обробки даних, функції якого виконує Louise Hamilton Kyiv Data Management Center of the University of Illinois at Chicago, забезпечує комп'ютерне введення повного комплексу скринінгових форм, реєстрацію помилок заповнення форм, розробляє рекомендації по мінімізації помилок при внесенні первинної інформації до скринінгових форм і вдосконаленню процедур контролю якості.

Епідеміологічна група проводить пошук, ідентифікацію та контроль за місцезнаходженням учасників Проекту, забезпечує запрошення потенційних учасників на обстеження, організовує роботу з суб'єктами, від яких не отримано відповіді або які змінили місце проживання, координує роботу з медичними працівниками контрольованих районів, сприяє залученню учасників Проекту, в яких були виявлені відхилення в тироїдній системі, на додаткові медичні обстеження в Інституті, збирає інформацію про госпіталізації та смертельні випадки серед учасників Проекту тощо.

Клінічна група складається з медичних бригад (одна стаціонарна і чотири виїзних) та експертів-клініцистів. Медичні бригади проводять основне, додаткове і поглиблене обстеження членів когорти. Експерти-клініцисти забезпечують перевірку попередніх діагнозів, здійснюють поглиблене дослідження суб'єктів обстеження з



Мал. 1. Схема взаємодії структурних підрозділів Проекту.

патологією ЩЗ, контролюють заповнення форм «Остаточний ендокринологічний висновок» при складних діагнозах, впроваджують клінічні критерії для встановлення діагнозів при всіх видах тироїдної патології, враховуючи особливості когорти.

Центральна лабораторія виконує гормональні дослідження, а також визначення екскреції йоду в учасників Проекту.

Лабораторія цитології робить цитологічний аналіз зразків, отриманих під час тонкоіголкової аспіраційної пункційної біопсії ЩЗ учасників Проекту, та формулює цитологічний висновок.

Патоморфологічна лабораторія проводить інтраопераційну експрес-діагностику та післяопераційну гістологічну діагностику тироїдної патології.

Дозиметрична група узагальнює наявну радіоекологічну інформацію, необхідну для дозиметричних розрахунків, розробляє деталізований індивідуальний дозиметричний опитувальник та формує відповідну базу даних результатів опитування, розробляє дозиметричні моделі розрахунку індивідуальних дозових оцінок та їх невизначеностей, застосування дозиметричних моделей для розрахунку індивідуальних показників радіаційного навантаження на ЩЗ для кожного учасника обстеження, а також розрахувала перший варіант дози опромінення ЩЗ з використанням даних радіометрії ЩЗ та даних анкетного опитування, які були використанні при подальшому аналізі [8, 9].

Всі виконавці Проекту проходили перекваліфікацію кожні два роки до початку чергового скринінгу.

Основні етапи обстеження учасників Проекту

Згідно з протоколом Проекту один раз на два роки всі учасники дослідження проходили обстеження стаціонарною бригадою на базі Інституту та виїзними бригадами співробітників Інституту за місцем проживання (в лікарнях, поліклініках, амбулаторіях або на фельдшерсько-акушерських пунктах). До початку першого обстеження кожному учасникові детально пояснили мету та завдання Проекту, а також процедуру обстеження.

Безпосередньо сама процедура обстеження учасників Проекту складалася з реєстрації, забору крові для визначення рівнів тиротропного гормону, вільного тироксину (тільки в суб'єктів з аномальним рівнем тиротропного гормону), тироглобуліну, антитіл до тиропероксидази та тироглобуліну, іонізованого кальцію і паратиреоїдного гормону (тільки в суб'єктів з аномальним рівнем іонізованого кальцію), збору сечі для визначення рівня екскреції йоду, пальпації та ультразвукового обстеження ЩЗ спеціалістом з ультразвукової діагностики, а також пальпації ЩЗ та клінічного обстеження лікарем-ендокринологом. Всі учасники Проекту, яким на момент аварії було 10 або більше років, або батьки тих учасників Проекту, які на момент аварії були молодші 10 років, проходили дозиметричне опитування для встановлення місця перебування та пересування, способу життя, характеру харчування і можливої йодної профілактики в учасника Проекту у післяаварійний період з метою реконструкції дози опромінення його ЩЗ. Реєстратор медичної бригади отримував від потенційного учасника Проекту письмову інформовану згоду, а також детальну інформацію стосовно місця проживання учасника Проекту та його близьких родичів, сімейного стану, освіти, роду занять тощо. Спеціаліст з ультразвукової діагностики проводив пальпацію ЩЗ та її ультразвукове дослідження, результати якого фіксував на магнітних носіях. Лікар-ендокринолог збирав медичний анамнез (зокрема, стосовно прийому медичних препаратів та споживання йоду у складі харчових продуктів) і розпитував про характерні для функціональних порушень ЩЗ симптоми, після чого здійснював пальпацію ЩЗ та її результати порівнював з результатами спеціаліста з ультразвукової діагностики. В разі суттєвих розбіжностей ці фахівці робили повторне обстеження і спільно обговорювали його результати з метою досягнення консенсусу. За результатами ультразвукового обстеження ЩЗ та власного огляду лікар-ендокринолог встановлював попередній ендокринологічний висновок, який містив попередній діагноз та рекомендації стосовно можливого подальшого обстеження. Так, в разі виявлення певних відхилень (значні розміри, неоднорідність ехоструктури або наявність вузлових утворень в ЩЗ) учасника Проекту направляли на додаткове поглиблене обстеження (зокрема, тонкоголова аспіраційна біопсія ЩЗ) і відповідне лікування в клініці Інституту.

Після отримання від клінічної лабораторії Інституту результатів аналізу крові (рівні тиротропного гормону, вільного тироксину, антитіл, тироглобуліну та іонізованого кальцію), а в разі необхідності також результатів додаткового поглибленого обстеження, лікар-ендокринолог встановлював остаточний діагноз для кожного учасника обстеження. Далі проводилося оформлення остаточного ендокринологічного висновку, який містив паспортну інформацію про учасника Проекту, показники крові, результати ультразвукового дослідження ЩЗ, діагноз і рекомендації лікаря-ендокринолога. Учаснику Проекту могли рекомендувати з'явитися на наступне планове медичне обстеження через 2 роки (в разі відсутності тироїдної патології або за наявності дифузного зоба I ступеня), з'явитися в клініку Інституту на поглиблене (зокрема, пройти тонкоголова аспіраційну пункційну біопсію ЩЗ) або позачергове обстеження через 3, 6 або 12 міс (в разі виявлення порушень в структурі або функції ЩЗ), або пройти оперативне лікування (при виявленні вузлових утворень в ЩЗ). Спочатку остаточні ендокринологічні висновки надсилались в медичні заклади за місцем постійного проживання обстежених, а з червня 2000 року їх почали надсилати безпосередньо на домашню адресу кожного учасника Проекту.

Виконання спільного Українсько-Американського Тироїдного Проекту отримало схвалення Ethical Committee of National Cancer Institute (США) і Комісії з питань

етики ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України». Також всі повнолітні учасники Проекту (або батьки учасників Проекту, які на момент першого обстеження не досягли 16-річного віку) дали письмову інформовану згоду на участь в медичному обстеженні за Проектом.

Скринінгові форми обстеження учасників Проекту

В рамках першого скринінгу використовували два типи форм для аналізу: адміністративні форми для документування і ведення організаційних аспектів дослідження, а також форми збору даних для реєстрації інформації про кожного учасника Проекту.

Під час медичного обстеження учасників Проекту співробітники медичних бригад заповнювали бланки наступних документів: «Форма інформованої згоди» (служує для реєстрації згоди суб'єкта на участь у Проекті), «Контрольна форма» (служує для реєстрації факту і повноти обстеження учасника Проекту), «Первинна реєстраційна форма» (служує для реєстрації демографічної, відповідної медичної та ідентифікаційної інформації про учасника Проекту тільки під час проходження першого скринінгового обстеження), «Локаторна форма» (служує для реєстрації ідентифікаційної інформації, яка може бути використана для знаходження учасника Проекту в майбутньому), «Форма початкового інтерв'ю» (служує для реєстрації медичного анамнезу та інформації про опромінення учасника Проекту тільки під час проходження першого скринінгового обстеження), «Ультразвукове обстеження щитовидної залози» (служує для реєстрації результатів ультразвукового обстеження ЩЗ та прилеглих тканин), «Форма пальпації щитовидної залози» (служує для реєстрації результатів огляду ЩЗ та прилеглих тканин), «Дані індивідуального медичного опитування (медичний анамнез)» (служує для реєстрації даних медичного характеру), «Попередній висновок та рекомендації медичного скринінгу» (містить попередні дані та необхідні рекомендації; видається учаснику Проекту в кінці обстеження, а копія вклеюється в медичну карточку суб'єкта), «Форма забору та обробки крові» (служує для реєстрації факту взяття аналізу крові або можливих причин відсутності аналізу, а також даних про наступну обробку, зберігання і відправлення проб в центральну лабораторію), «Результати лабораторних досліджень крові» (служує для реєстрації результатів аналізу крові), «Форма збору, обробки та аналізу сечі» (служує для реєстрації факту взяття аналізу сечі або можливих причин відсутності аналізу, даних про наступну обробку і відправлення проб в центральну лабораторію, а також результатів аналізу сечі), «Реєстраційний журнал» (служує для реєстрації місця та дати проходження обстеження учасником Проекту), «Остаточний ендокринологічний висновок та рекомендації» (служує для реєстрації остаточного діагнозу після отримання результатів лабораторних досліджень, а також рекомендацій для подальшого обстеження), «Форма тонкогілкової біопсії» (служує для реєстрації показів для біопсії, даних про саму маніпуляцію, інформації про попередню оцінку проби і результатів цитологічного дослідження), «Форма цитологічного висновку» (служує для реєстрації результатів цитологічного дослідження), «Форма госпіталізації» (служує для реєстрації інформації про госпіталізації, пов'язані з патологією ЩЗ, однак поза рамками Проекту), «Звіт про ускладнення» (служує для реєстрації негативних фактів обстеження, які не знайшли своє відображення в інших формах обстеження), «Форма патоморфологічного дослідження» (служує для реєстрації результатів патоморфологічного дослідження ЩЗ), «Форма відсутності відповіді» (служує для реєстрації факту та встановлення причин неучасті суб'єкта в черговому обстеженні) і «Форма свідoctва про смерть» (служує для реєстрації інформації про дату і причину смерті учасника Проекту).

На всіх паперових формах вказували дату заповнення і код співробітника, який заповнив форму. На кожній формі зазначали штрих-код, прізвище та ініціали учасника Проекту, а на «Формі забору та обробки крові», «Результатах лабораторних досліджень крові» і «Формі збору, обробки та аналізу сечі» – додатково штрих-код зразка.

На першому етапі формування когорти до початку ідентифікації суб'єктів всі записи про них були відсортовані методом випадкового відбору, після чого послідовно

кожному потенційному учаснику Проекту присвоїли унікальний ідентифікаційний номер (ID), що забезпечувало анонімність і повністю виключило можливість несанкціонованого визначення дозового навантаження на ЩЗ суб'єктів за його номером. ID суб'єкта складався з восьми цифр: перші шість є унікальним індивідуальним номером, а останні дві – контрольним номером, який є сумою перших шести цифр. Початково визначений ID використовували для ідентифікації потенційного учасника Проекту за будь-якими даними, що мали відношення до цього суб'єкта. Цей номер не міг бути змінений, виключений або присвоєний жодному іншому потенційному учаснику Проекту, що гарантувало зв'язок суб'єкта з його даними та виключало можливість їх втрати або віднесення до іншого суб'єкта.

Крім ID потенційних учасників Проекту, використовували також унікальні ID проб крові та сечі, які разом з ID суб'єкта розміщували на формах забору крові та сечі, а також вводили в комп'ютерну базу даних. ID проби визначав центр координації даних окремо для кожного календарного року і складався з восьми цифр: перші дві відповідали поточному року, а останні шість – послідовному номеру. В кінці ID проби додавали букву, яка відповідала типу дослідження (Ж – для крові, С – для сечі).

Для паперових форм застосовували самоклеючі наліпки з прізвищем та ініціалами, а також датою народження і ID потенційного учасника Проекту, для ємностей з пробами крові та сечі – наліпки з ID проб.

Більшість скринінгових форм (переважно з цифровими даними) кодували, вводили в комп'ютер і піддавали контролю якості, після чого паперові форми зберігали в центральному архіві, а комп'ютерні файли – в центрі координації даних з обмеженим правом доступу.

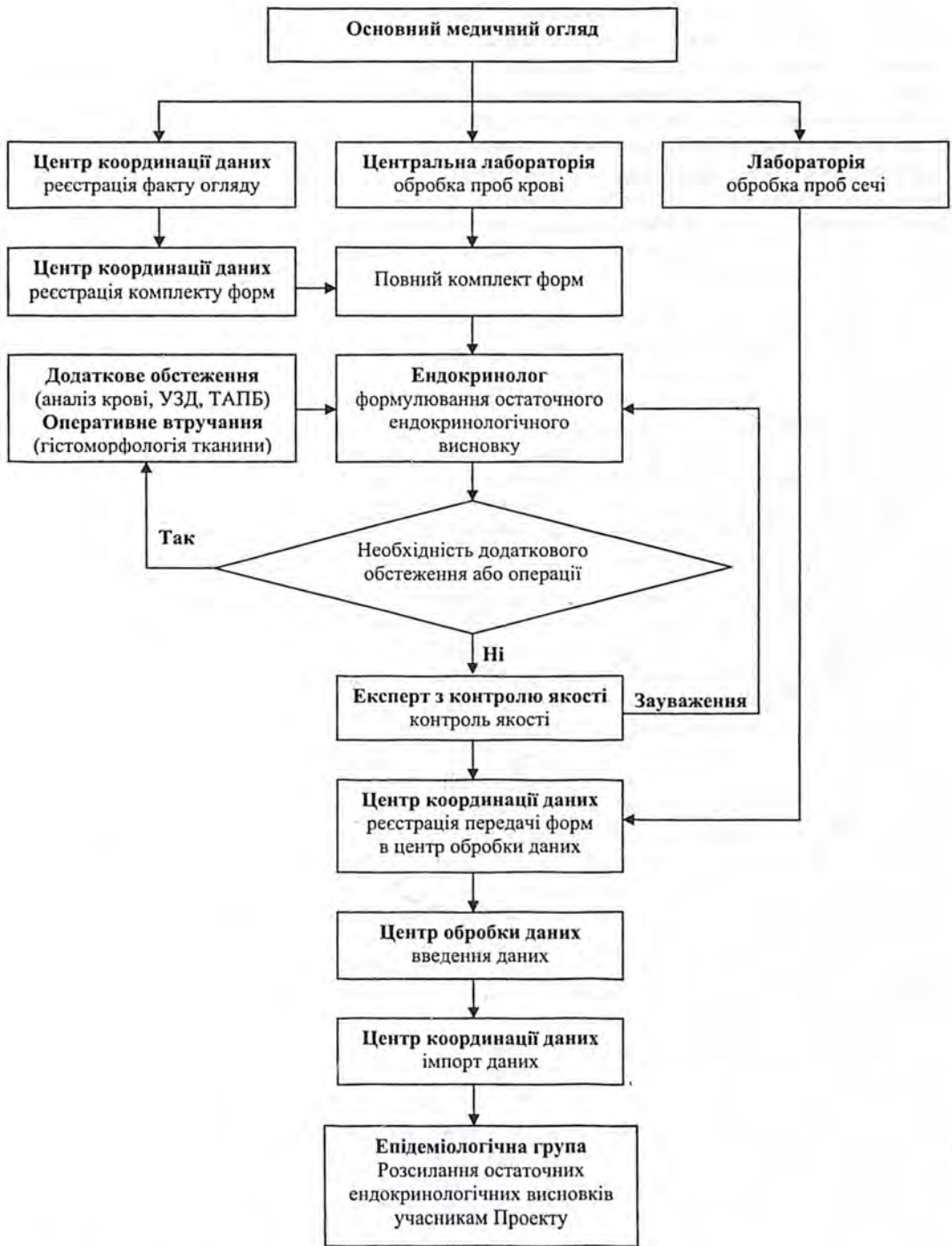
Після встановлення діагнозу кожному учаснику Проекту надсилали остаточний ендокринологічний висновок, який містив: прізвище, ім'я та по батькові учасника Проекту; дату народження; ідентифікаційний номер; домашню адресу; результати лабораторних досліджень (тиротропний гормон, антитіла до тироїдної пероксидази, тироглобулін, іонізований кальцій, антитіла до тироглобуліну, вільний тироксин і паратиротропний гормон); результати ультразвукового дослідження ЩЗ; результати додаткового обстеження (результати тонкогілкової аспіраційної пункційної біопсії, вид операції, результати патоморфологічного дослідження); висновок ендокринолога; рекомендації.

Висновок оформляли на офіційному бланку Проекту, який підписував ендокринолог. В кінці висновку містилася додаткова інформація стосовно терміну проходження наступного планового медичного обстеження, умов проходження додаткового поглибленого медичного обстеження, а також довідкова інформація про контактні телефони скринінгового центру та спеціаліста, відповідального за поглиблене медичне обстеження.

Основні етапи обробки скринінгових форм учасників Проекту

Після планового медичного обстеження учасників Проекту їх скринінгові форми поступали в центр координації даних в день обстеження стаціонарною бригадою або в перший робочий день після повернення виїзної бригади в Інститут, де відразу проводили реєстрацію самого факту обстеження, а також реєстрацію контрольної та локальної форм (мал. 2). Після обробки проб крові та сечі у лабораторіях центр координації даних реєстрував відповідні форми та формував повний комплект скринінгових форм для передачі його лікарю-ендокринологу, який обстежував учасника Проекту.

При необхідності, лікар-ендокринолог призначав додаткове поглиблене обстеження учасника Проекту (проведення тонкогілкової аспіраційної пункційної біопсії ЩЗ при вузловій патології, визначення вмісту паратироїдного гормону при відхиленні показників рівня іонізованого кальцію тощо) або оперативне втручання в хірургічному відділенні Інституту (зокрема, виконання тотальної тироїдектомії при підозрі на злоякісній новоутворення ЩЗ з інтраопераційним та наступним післяопераційним патоморфологічним дослідженням препаратів), результати яких також проходили реєстрацію в центрі координації даних і разом з повним комплектом інших скринінгових форм повторно поступали лікарю-ендокринологу.



Мал. 2. Основні етапи обробки скринінгових форм учасників Проекту.

Після встановлення остаточного діагнозу та заповнення відповідної форми лікар-ендокринолог повертав весь комплект скринінгових форм в центр координації даних. Далі форми поступали в центр обробки даних, де їх вводили в комп'ютерну базу даних і передавали в центр координації даних, а всі паперові носії розміщували в архіві (на

кожного учасника Проекту в окремому конверті формату А4). На останньому етапі центр координації даних формував остаточні ендокринологічні висновки, які співробітники епідеміологічної групи відправляли в медичні заклади за місцем постійного проживання або безпосередньо на домашню адресу кожного учасника Проекту.

При введенні інформації в електронні форми застосовували подвійне кодування і подвійне введення даних з ліквідацією розходжень і 10 % вибіркоким контролем відповідальною особою, перевірку логічних зв'язків, реєстрацію помилок та внесення необхідних виправлень. Всю електронну інформацію зберігали в двох групах файлів: «Original» (первинні дані, отримані безпосередньо під час виконання відповідної процедури) і «Edited» (остаточні дані, отримані після внесення необхідних правок і доповнень в первинні дані).

Система програмно-інформаційного супроводження Проекту

Система програмно-інформаційного супроводження Проекту включала набір ключових інформаційних складових (систему обробки даних скринінгових форм, блок епідеміологічної інформації, медичну інформаційну систему та дозиметричну компоненту), програмний інструментарій та алгоритми інформаційної взаємодії виконавців Проекту. Блок епідеміологічної інформації та медична інформаційна система, об'єднані в центральну базу даних Проекту, зберігали засобами MS SQL Server, а для обробки даних скринінгових форм застосовували стандартні програми Access і SPSS. Для забезпечення поточної роботи всіх структурних підрозділів Проекту застосовували програмний комплекс користувача IVA, розроблений засобами Delphi.

Система контролю якості виконання Проекту

На всіх етапах проводили постійний контроль якості виконання Проекту з метою збору високоякісних даних, для чого був сформований відповідальний за контроль якості підрозділ, розроблений спеціальний посібник по контролю якості та задокументовані відповідні процедури і методи моніторингу. Комітет з контролю якості складався з директора та восьми спеціалістів з контролю якості з усіх напрямків виконання Проекту: епідеміології, ендокринології, ультразвукового дослідження, цитологічного і патоморфологічного дослідження, лабораторного дослідження, дозиметрії, клінічного обстеження, дослідження біологічних проб і управління даними. Всі члени комітету пройшли два навчальних цикли за методикою та участю спеціалістів компанії Westat (Westat Inc., США) і отримали відповідні сертифікати. Компанія Westat (www.westat.com) є відомим лідером з організації та проведення широкого спектра досліджень на замовлення уряду США, наукових центрів і комерційних організацій. Процедури контролю якості детально описані в основному операційному керівництві і у спеціальному посібнику з контролю якості, який складається з форм-таблиць контрольних перевірок якості виконання проекту і форм статистичних звітів, а також інструкцій по їх заповненню.

Контроль якості при проведенні пальпаторного дослідження ЩЗ полягав в атестації до початку проведення досліджень та повторній атестації спеціалістів (щорічно або двічі на рік), безпосередньому спостереженні спеціалістом з контролю якості за процедурами, порівнянні результатів незалежних досліджень ЩЗ кожного учасника Проекту спеціалістом з ультразвукової діагностики та лікарем-ендокринологом з метою досягнення консенсусу, комп'ютерній оцінці причин розходження результатів тощо.

Контроль якості при проведенні ультразвукового дослідження ЩЗ полягав в атестації до початку проведення досліджень та щорічній переатестації спеціалістів, навчанні спеціалістів виробником ультразвукового обладнання з його застосування та обслуговування, вибіркового безпосереднього спостереженні спеціалістом з контролю якості за процедурами, порівнянні результатів обстеження різними спеціалістами з даними обстеження в клініці Інституту, документуванні та аналізі причин виникнення будь-яких проблем, калібровці та перевірки ультразвукового обладнання виїзними бригадами щоденно та стаціонарною бригадою щомісячно (зокрема, оцінці тиреоїдного датчика за допомогою номінальної операції налаштування зображення з використанням багатоцільового фантому ATS Model # 550 Multipurpose Parts Phantom)

з наступним комп'ютерним аналізом отриманих зображень в центрі координації даних, періодичній перевірці на відповідність даних спеціаліста та комп'ютерних даних автоматичного визначення розмірів і структури ЩЗ, перегляді всіх зображень з аномаліями тироїдної тканини в клініці на високоякісному CRT-моніторі робочої станції тощо.

Контроль якості при заборі та обробці проб крові полягав в оцінці спеціалістом з контролю якості майстерності флеботомістів перед початком кожного скринінгового циклу, щорічній переатестації лаборантів центральної лабораторії, вибіркового безпосередньому спостереженні за процедурами, щоденному контролі температури в морозильниках для зберігання проб крові, документуванні та аналізі причин виникнення будь-яких проблем, аналізі результатів лабораторних тестів тощо.

Контроль якості при зборі та обробці проб сечі полягав у вибіркового безпосередньому спостереженні спеціалістом з контролю якості за процедурами, перевірці кожної партії пробірок на можливе забруднення йодом, документуванні та аналізі причин виникнення будь-яких проблем, аналізі результатів лабораторних досліджень тощо.

Контроль якості при проведенні тонкоголкової аспіраційної пункційної біопсії ЩЗ полягав у навчанні та атестації до початку проведення досліджень і повторній атестації спеціалістів, безпосередньому спостереженні спеціалістом з контролю якості за процедурами, аналізі контингенту пацієнтів, відібраних для цієї процедури, аналізі препаратів експертом-цитологом на адекватність і точність діагнозу двічі на рік тощо.

Контроль якості при аналізі медичної документації полягав у перевірці повноти та вірогідності записів у всіх формах (зокрема, інформація про випадки смерті учасників Проекту переглядається групою експертів, які представляють відповідні медичні спеціальності, в тому числі ендокринологію, хірургію, внутрішні хвороби та патанатомію), перевірці на логічну узгодженість, відповідності інформації вимогам дослідницького протоколу та іншим записам в базі даних, відсутності внутрішніх протиріч у записах, а також контролі процедур редагування, кодування і введення даних, системі подвійного введення інформації для виявлення рівня помилок, контролі умов комп'ютерного зберігання ультразвукових зображень тощо.

Безпосереднє спостереження за відповідними процедурами спеціалісти з контролю якості здійснювали як в плановому, так і в позаплановому режимах. Так, в стаціонарній та виїзних бригадах проводили перевірку 100 % списків суб'єктів обстеження і підготовлених анкет, 2,5 % обсягу робіт за кожний день по заповнених формах контролю якості, робочих місць всіх членів бригади (щоквартально), опитування суб'єктів обстеження про якість роботи медичної бригади тощо. Також кожний спеціаліст з контролю якості перевіряв 2,5 % скринінгових форм обстеження учасників Проекту відповідного профілю на повноту та правильність заповнення. Результати роботи спеціалістів з контролю якості розглядали на засіданнях комітету з контролю якості один раз в два місяці.

Результати дослідження та їх обговорення

Обстеження потенційних учасників Проекту

Порядок формування списку потенційних учасників спільного наукового Українсько-Американського Тироїдного Проекту та отримання їх попередньої згоди на перше скринінгове обстеження був описаний в попередній публікації [6].

По мірі формування списку потенційних учасників Проекту, які дали згоду на участь в обстеженні, співробітники епідеміологічної групи щомісячно планували виїзди медичних бригад у відповідні контрольовані райони з врахуванням пропозицій медичних працівників цих районів. За 2-3 тижні до початку обстеження потенційним учасникам Проекту відповідного району (у середньому 100-150 особам, що було пов'язане з нормативами навантаження співробітників медичних бригад) надсилали поштою запрошення

з інформацією про місце та час обстеження. Відповідні списки потенційних учасників Проекту передавали також медичним працівникам місцевих закладів охорони здоров'я для особистого контакту та додаткового запрошення безпосередньо перед датою обстеження.

В період з квітня 1998 року до грудня 2000 року виїзні бригади щотижня працювали на базі одного з місцевих медичних закладів (лікарні, поліклініки, амбулаторії або фельдшерсько-акушерського пункту) контрольованих районів Житомирської, Київської та Чернігівської областей, за винятком Поліського, Прип'ятського і Чорнобильського районів Київської області, які згідно з урядовою постановою були включені в зону обов'язкового відселення всіх мешканців. Потенційних учасників Проекту, які мешкали в Козелецькому районі Чернігівської області, обстежували стаціонарною бригадою в Інституті ендокринології та обміну речовин АМН України, а їх перевезення в обох напрямках було організованим і безкоштовним. Також обстеження стаціонарною бригадою могли пройти інші потенційні учасники Проекту, які висловили таке побажання або які мешкали поза межами контрольованих районів. Декілька разів виїзні бригади проводили обстеження в інших районах Житомирської та Київської областей в місцях компактного проживання потенційних учасників Проекту.

В цілому, за період з квітня 1998 року до грудня 2000 року включно пройшли медичне обстеження 13243 потенційних учасників Проекту (табл. 1), що становить 65,8 % від загальної кількості запрошених [6, 7]. Більше половини всіх обстежених (51,2 %) мешкали в Чернігівській області, 26,9 % – в Житомирській та 15,0 % – в Київській. Найвища явка (88,8 %) зафіксована в Ріпкинському районі Чернігівської області, а найнижча – в Народицькому районі Житомирської області (51,6 %), в Поліському (48,8 %) і Прип'ятському (54,6 %) районах Київської області. Останні в післяаварійний період попали в зони обов'язкового і добровільного відселення людей, що значною мірою вплинуло на цей показник.

Серед обстежених 46,4 % осіб отримали дозу опромінення ЩЗ менше ніж 0,3 Гр, 26,3 % осіб – від 0,3 до 1,0 Гр і 27,3 % осіб – більше ніж 1,0 Гр. 34,2 % осіб на момент аварії на ЧАЕС мали вік до 4 років, 29,7 % – від 5 до 9 років, 29,9 % – від 10 до 14 років, 6,2 % – від 15 до 18 років включно. Серед обстежених 50,8 % були жінками, 49,2% – чоловіками.

9441 особа (тобто 71,3 % від загальної кількості учасників Проекту) пройшли обстеження виїзними бригадами за місцем постійного проживання або тимчасового перебування, а 3802 особи (28,7 %) – стаціонарною бригадою в Інституті. Зокрема, обстеження стаціонарною бригадою пройшли 1622 жителі Козелецького району Чернігівської області (42,7 % від загальної кількості обстежених стаціонарною бригадою), 858 жителів Києва (22,6 %), 825 жителів неконтрольованих районів Київської області (21,7 %) та 350 жителів неконтрольованих районів Житомирської області (9,2 %).

Дані про проходження одного або навіть декількох етапів обстеження виявилися відсутніми у вкрай малої частини учасників Проекту, зокрема, аналізу крові (у 8 осіб, що становить 0,1 % від загальної кількості обстежених), ультразвукового обстеження ЩЗ (у 13 осіб, 0,1 %), огляду ендокринолога (у 13 осіб, 0,1 %), аналізу сечі (у 62 осіб, 0,5 %) і дозиметричного опитування (у 15 осіб, 0,1 %) (табл. 2). Основною причиною відсутності цих даних була відмова учасників Проекту від проходження відповідного етапу обстеження. В разі відсутності даних про реєстрацію або огляд лікаря-ендокринолога потенційних учасників Проекту зараховували до числа тих, хто не пройшов обстеження у вказаний день, і надалі їх знову запрошували на обстеження шляхом відправки другого запрошення, перемовин по телефону або залученням до цього медичних працівників за місцем проживання суб'єкта.

Таблиця 1. Характеристика обстежених учасників Проекту

№№	Адміністративно-територіальні одиниці	Загальна кількість суб'єктів	Розподіл обстежених суб'єктів								
			за дозою, Гр			за віком, років				за статтю	
			<0,3	0,3-1,0	>1,0	≤4	5-9	10-14	≥15	жінки	чоловіки
1	Житомирська область	3562	1073	1139	1350	1208	1001	1113	240	1805	1757
1.1	<i>Народицький район</i>	864	80	234	550	276	242	259	87	447	417
1.2	<i>Овруцький район</i>	2248	937	798	513	782	658	709	99	1103	1145
1.3	<i>Інші райони</i>	450	56	107	287	150	101	145	54	255	195
2	Київська область	1989	857	489	643	434	594	752	209	1040	949
2.1	<i>Іванківський район</i>	795	451	179	165	161	227	320	87	395	400
2.2	<i>Інші райони</i>	1194	406	310	478	273	367	432	122	645	549
3	Чернігівська область	6785	3892	1658	1235	2627	2044	1815	299	3409	3376
3.1	<i>Козелецький район</i>	1833	1041	444	348	786	481	453	113	940	893
3.2	<i>Ріпкинський район</i>	1503	935	378	190	519	473	455	56	764	739
3.3	<i>Чернігівський район</i>	1918	910	493	515	737	581	516	84	877	1041
3.4	<i>м.Чернігів</i>	1492	986	333	173	571	497	383	41	809	683
3.5	<i>Інші райони</i>	39	20	10	9	14	12	8	5	19	20
4	м. Київ	877	306	195	376	251	286	273	67	460	417
5	Інші області	25	9	5	11	7	10	5	3	12	13
6	Інші країни	5	5	0	0	1	0	3	1	3	2
7	Всього	13243	6142	3486	3615	4528	3935	3961	819	6729	6514

Таблиця 2. Повнота обстеження учасників Проекту

№№	Адміністративно-територіальні одиниці	Загальна кількість суб'єктів	Етапи обстеження					
			реєстрація	аналіз крові	УЗД щитовидної залози	огляд лікаря-ендокринолога	аналіз сечі	дозиметричне опитування
1	Житомирська область	3562	3562	3559	3558	3558	3546	3354
1.1	<i>Народицький район</i>	864	864	864	863	863	861	864
1.2	<i>Овруцький район</i>	2248	2248	2245	2245	2245	2236	2242
1.3	<i>Інші райони</i>	450	450	450	450	450	449	448
2	Київська область	1989	1989	1987	1987	1987	1977	1989
2.1	<i>Іванківський район</i>	795	795	794	794	794	787	795
2.2	<i>Інші райони</i>	1194	1194	1193	1193	1193	1190	1194
3	Чернігівська область	6785	6785	6782	6779	6779	6752	6778
3.1	<i>Козелецький район</i>	1833	1833	1833	1833	1833	1824	1829
3.2	<i>Ріпкинський район</i>	1503	1503	1501	1499	1499	1489	1502
3.3	<i>Чернігівський район</i>	1918	1918	1918	1918	1918	1911	1916
3.4	<i>м.Чернігів</i>	1492	1492	1491	1490	1490	1489	1492
3.5	<i>Інші райони</i>	39	39	39	39	39	39	39
4	м. Київ	877	877	877	876	876	876	877
5	Інші області	25	25	25	25	25	25	25
6	Інші країни	5	5	5	5	5	5	5
7	Всього	13243	13243	13235	13230	13230	13181	13228

Крім цього, незначна кількість потенційних учасників Проекту була виключена з Проекту згідно з вимогами операційного посібника як суб'єкти, які емігрували з України або які виїхали за межі зони охоплення обстеженням, а також як суб'єкти, стан здоров'я яких не дозволяє брати участь в обстеженні (фізичні або розумові відхилення).

Соціальна характеристика учасників першого скринінгового обстеження

На момент першого скринінгового обстеження 7244 особи (54,7 % від загальної кількості обстежених) постійно проживали в населених пунктах сільського типу (селах та селищах), а 5999 осіб (45,3 %) були мешканцями селищ міського типу та міст. При цьому 2110 осіб (15,9 %) мешкало в районних центрах, 1544 особи (11,6 %) – в обласних центрах і 877 осіб – (6,6 %) в місті Києві.

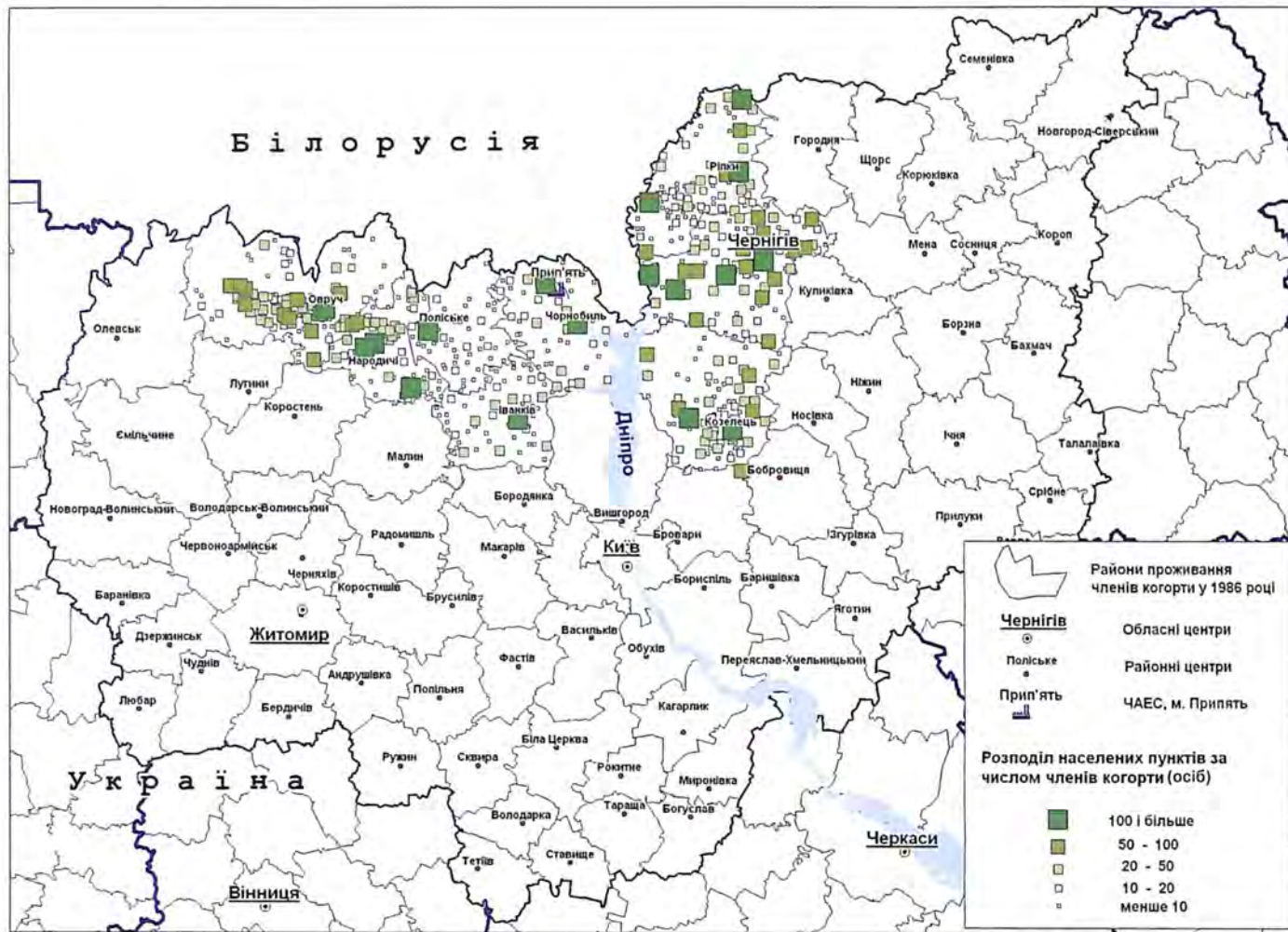
Для 13 років після Чорнобильської катастрофи були характерні значні міграційні процеси, про що свідчить порівняльний аналіз розподілу учасників Проекту за місцем проживання або постійного перебування на момент аварії на Чорнобильській АЕС (мал. 3) та на момент проходження першого скринінгового обстеження (мал. 4).

Так, на момент аварії кількість населених пунктів, в яких постійно проживали або тимчасово перебували ≤ 10 учасників Проекту, становила 55,0 % від загальної кількості (табл. 3). На момент першого скринінгу частка таких населених пунктів зросла до 68,4 %. За 13 років після аварії загальна кількість учасників Проекту в цих населених пунктах зросла від 10,2 % до 13,6 %. Для всіх інших населених пунктів спостерігалось як зменшення їх відсотка в загальній кількості, так і зменшення відсотка учасників Проекту в них. Виняток становило тільки м. Чернігів, де в післяаварійний період кількість учасників Проекту зросла від 8,9 % до 11,3 % від загальної кількості.

Соціальний статус обстежених учасників Проекту був таким: учні та студенти (4309 осіб або 32,5 %), промислові працівники – водії, слюсарі, різноробочі та інші (1719 осіб або 13,0 %), спеціалісти – вчителі, бухгалтери, інженери та інші (1553 особи або 11,7 %), сільськогосподарські працівники – механізатори, доярки, пастухи та інші (576 осіб або 4,3 %), інші категорії – продавці, санітарки, охоронці та інші (1511 осіб або 11,4 %), а 3573 особи (27,1 %) не мали постійного заняття.

Таблиця 3. Характеристика місць проживання учасників Проекту

№№	Населені пункти, в яких постійно проживали або тимчасово перебували учасники Проекту	Дані на момент аварії		Дані на 1-й скринінг	
		кількість населених пунктів	кількість учасників Проекту	кількість населених пунктів	кількість учасників Проекту
1	≤ 10 осіб	328	1356	545	1796
2	11-20 осіб	125	1830	116	1665
3	21-50 осіб	94	3024	97	3013
4	51-100 осіб	32	2063	24	1644
5	101-1000 осіб	16	3797	14	3633
6	≥ 1001 особи	1	1173	1	1492
7	Всього	596	13243	797	13243



Мал. 3. Розподіл учасників Проекту за місцем проживання або постійного перебування на момент аварії на Чорнобильській АЕС (26 квітня 1986 року).

Сімейний статус обстежених учасників Проекту був таким: 8391 особа (63,4 %) були неодружені, 4636 осіб (35,0 %) – одружені, а для 216 осіб (1,6 %) інформації з цього питання не було. В 7306 учасників першого обстеження (55,2 %) був один рідний брат або сестра, в 2913 учасників (22,0 %) – двоє і в 1599 учасників (12,1 %) – троє братів чи сестер, які не потрапили в число потенційних учасників Проекту. 1080 учасників першого обстеження (8,1 %) не мали братів або сестер, а для 345 учасників (2,6 %) інформація була відсутня.

Додаткове поглиблене обстеження учасників Проекту

У зв'язку з виявленими (за даними ультразвукового дослідження або огляду лікаря-ендокринолога) під час першого скринінгу відхиленнями у стані тироїдної системи в деяких учасників Проекту виникла необхідність провести додаткове поглиблене обстеження (додатковий аналіз крові, додаткове ультразвукове дослідження ЩЗ, тонкогілкова аспіраційна біопсія ЩЗ) або стаціонарне лікування в клініці Інституту.

Додатковий аналіз крові виконали 267 особам (2,0 % від загальної кількості обстежених учасників Проекту), ультразвукове обстеження ЩЗ – 234 особам (1,8 %), пункційну біопсію ЩЗ – 287 особам (2,2 %), в тому числі 69 особам – два та більше разів (табл. 4). 83 особи (0,6 % від загальної кількості обстежених учасників Проекту) були госпіталізовані в клініку Інституту для стаціонарного лікування та прооперовані.

Оформлення остаточних ендокринологічних висновків

За результатами ультразвукового дослідження ЩЗ, аналізу крові (вміст тиротропного гормону, вільного тироксину, антитіл, тироглобуліну та іонізованого кальцію) і огляду лікарі-ендокринологи оформили 13214 остаточних ендокринологічних висновків майже для всіх учасників Проекту, які пройшли перше скринінгове обстеження (табл. 5).

На жаль, 29 учасникам Проекту (0,2 % від загальної кількості обстежених) висновки не оформлені до теперішнього часу з об'єктивних причин: більшості з них для встановлення клінічного діагнозу необхідне проведення додаткового поглибленого обстеження (в першу чергу, тонкогілкової аспіраційної пункційної біопсії ЩЗ) за умов клініки Інституту, проте з різних причин вони відмовляються від цього. Однак ці учасники Проекту мають поточний діагноз відповідно до об'єму проведеного обстеження.

Терміни відправки остаточних ендокринологічних висновків в медичні заклади за місцем постійного проживання або безпосередньо на домашню адресу кожного учасника Проекту становлять: до 3 міс включно – 9,5 %, 4-6 міс – 42,3 %, 7-9 міс – 27,7 %, 10-12 міс – 10,9 %, 13-18 міс – 5,1 %, 19-24 міс – 2,4 %, більше ніж 24 міс – 2,1 % від загальної кількості обстежених учасників Проекту.

Основними причинами тривалого часу оформлення остаточних ендокринологічних висновків на початковому етапі виконання Проекту були: необхідність розробки, впровадження і тестування системи та програмного забезпечення комп'ютерної обробки результатів обстеження учасників Проекту і оформлення висновків; певні складнощі з постачанням реактивів для лабораторних досліджень і наборів для визначення вмісту гормонів та антитіл. Крім цього, тривалість оформлення остаточних ендокринологічних висновків визначалася необхідністю проведення поглибленого обстеження для частини

Таблиця 4. Поглиблене обстеження учасників Проекту

№№	Адміністративно-територіальні одиниці	Етапи обстеження												
		аналіз крові				УЗД щитовидної залози				ТАПБ щитовидної залози				операції
		всього	1	2	≥3	всього	1	2	≥3	всього	1	2	≥3	всього
1	Житомирська область	78	75	3	0	75	71	3	1	75	61	13	1	25
1.1	<i>Народицький район</i>	35	34	1	0	33	31	1	1	25	21	4	0	11
1.2	<i>Овруцький район</i>	38	36	2	0	36	35	1	0	33	25	7	1	7
1.3	<i>Інші райони</i>	5	5	0	0	6	5	1	0	17	15	2	0	7
2	Київська область	32	28	2	2	33	28	3	2	44	33	8	3	11
2.1	<i>Іванківський район</i>	22	18	2	2	23	19	2	2	16	11	4	1	4
2.2	<i>Інші райони</i>	10	10	0	0	10	9	1	0	28	22	4	2	7
3	Чернігівська область	131	110	14	7	104	93	9	2	147	108	28	11	40
3.1	<i>Козелецький район</i>	62	57	5	0	46	46	0	0	31	22	6	3	7
3.2	<i>Ріпкинський район</i>	15	15	0	0	10	10	0	0	28	19	8	1	3
3.3	<i>Чернігівський район</i>	25	15	5	5	26	21	4	1	56	38	12	6	21
3.4	<i>м.Чернігів</i>	29	23	4	2	46	46	0	0	31	28	2	1	8
3.5	<i>Інші райони</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
4	м. Київ	26	22	3	1	22	18	3	1	20	16	2	2	7
5	Інші області	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
6	Інші країни	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	Всього	267	235	22	10	234	210	18	6	287	218	52	17	83

Таблиця 5. Тривалість оформлення остаточних ендокринологічних висновків

№№	Адміністративно-територіальні одиниці	Загальна кількість суб'єктів	Загальна кількість висновків	Тривалість оформлення, місяці						
				≤3	4-6	7-9	10-12	13-18	19-24	>24
1	Житомирська область	3562	3553	362	1599	1130	193	137	43	89
1.1	<i>Народицький район</i>	864	860	117	207	364	86	30	22	34
1.2	<i>Овруцький район</i>	2248	2244	222	1095	672	87	100	19	49
1.3	<i>Інші райони</i>	450	449	23	297	94	20	7	2	6
2	Київська область	1989	1985	244	1035	373	199	101	7	26
2.1	<i>Іванківський район</i>	795	794	51	209	309	150	53	1	21
2.2	<i>Інші райони</i>	1194	1191	193	826	64	49	48	6	5
3	Чернігівська область	6785	6773	455	2649	1977	936	390	219	147
3.1	<i>Козелецький район</i>	1833	1833	207	548	590	202	136	95	55
3.2	<i>Ріпкинський район</i>	1503	1499	81	644	237	360	86	54	37
3.3	<i>Чернігівський район</i>	1918	1913	71	918	543	185	101	48	47
3.4	<i>м.Чернігів</i>	1492	1489	89	523	597	185	65	22	8
3.5	<i>Інші райони</i>	39	39	7	16	10	4	2	0	0
4	м. Київ	877	873	190	291	165	113	50	49	15
5	Інші області	25	25	1	14	5	3	0	1	1
6	Інші країни	5	5	0	0	1	3	0	0	1
7	Всього	13243	13214	1252	5588	3651	1447	678	319	279

учасників Проекту: виконання тонкогілкової аспіраційної пункційної біопсії ЩЗ при вузловій патології, частина результатів якої були мало- або неінформативні, що потребувало проведення повторної маніпуляції через певний інтервал часу та відтермінувало оформлення висновків. Також необхідність визначення вмісту паратгормону при відхиленні показників рівня іонізованого кальцію через вкрай низьку частоту гіпокальціємії серед учасників Проекту зумовлювала великі часові інтервали між проведенням досліджень з використанням радіоімунологічних або імуоферментних наборів, а отже, і оформлення остаточних ендокринологічних висновків. На жаль, певна частина учасників Проекту несвоєчасно з'являлася на поглиблене обстеження (біопсію ЩЗ, додаткове гормональне дослідження тощо) з таких же самих суб'єктивних і об'єктивних причин, які були характерними і для неявки учасників Проекту на планове медичне обстеження (зокрема, не цікавить власне здоров'я, страх перед медичними маніпуляціями, відсутність грошей або часу для поїздки в Інститут, хвороба, відрадження, навчання, служба в армії та інші). Однак в процесі виконання Проекту поступово скорочувалась як середня тривалість оформлення остаточних ендокринологічних висновків, так і їх відсоток з великим терміном відправки в медичні заклади за місцем постійного проживання або безпосередньо на домашню адресу кожного учасника Проекту.

Висновок

Виконання спільного наукового Українсько-Американського Тироїдного Проекту дозволило охопити комплексним обстеженням стану ЩЗ значну частину мешканців найбільш радіаційно забруднених внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС районів Житомирської, Київської та Чернігівської областей, надати їм високваліфіковану консультативну та медичну допомогу, а також сформувати когорту, тривале спостереження за членами якої дозволить отримати наукові дані про залежність захворювань щитовидної залози (в першу чергу, злоякісних новоутворень) від рівня опромінення йодом-131.

Подяка

Автори висловлюють щирю подяку U.S. National Cancer Institute та U.S. Department of Energy за фінансову підтримку виконання Проекту.

Література

1. Shore R. E. Issues and epidemiological evidence regarding radiation-induced thyroid cancer // *Radiat. Res.* 1992, **131**, N 1, 98-111.
2. Jacob P., Bogdanova T. I., Buglova E. et al. Thyroid cancer risk in areas of Ukraine and Belarus affected by the Chernobyl accident // *Radiat. Res.* 2006, **165**, N 1, 1-8.
3. Иванов В. К., Цыб А. Ф., Питкевич В. А. и др. Формирование когорты для длительного медицинского наблюдения и оценки радиационных рисков заболеваний щитовидной железы в рамках совместного проекта между Мемориальным фондом здоровья Сасакавы и МРНЦ РАМН // *Радиация и риск.* 1996, № 8, 93-109.
4. Коренев С. В., Цыб А. Ф., Паршков Е. М., Петрова Г. В. Клинико-эпидемиологические аспекты рака щитовидной железы у взрослых на загрязнённых радионуклидами территориях // *Медицинская радиология и радиационная безопасность.* 2004, **49**, № 6, 49-57.
5. Stezhko V. A., Buglova E. E., Danilova L. I. et al. A cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the Chernobyl accident: objectives, design and methods // *Radiat. Res.* 2004, **161**, N 4, 481-492.

6. Тронько М. Д., Терещенко В. П., Пастер І. П. та ін. Спільний науковий Українсько-Американський Тиреоїдний Проект. І. Епідеміологічна характеристика процедури формування когорти та запрошення учасників проекту на перше скринінгове обстеження // *Международный журнал радиационной медицины*. 2005, 7, № 1-4, 116-135.
7. Tronko M. D., Tereshchenko V. P., Pasteur I. P. et al. Epidemiological characteristic of the procedure of cohort formation and invitation of study subjects to the first screening examination of the joint scientific Ukraine-USA thyroid project // *Матер. міждун. науч.-практ. конф. «Чернобыльские чтения-2008»* (г. Гомель, 24-25 апреля 2008 г.) / Под ред. А. В. Рожко. Гомель: КИПУП «Сож», 2008, 293-300.
8. Ковган Л.М., Ліхтарьов І.А., Чепурний М.І. Трирівнева система реконструкції доз опромінення щитовидної залози населення України внаслідок Чорнобильської катастрофи // *Довкілля та здоров'я*, 2005, № 1, 39-43.
9. Likhtarev I., Bouville A., Kovgan L. et al. Questionnaire- and measurement-based individual thyroid doses in Ukraine resulting from the Chornobyl nuclear reactor accident // *Radiat. Res.* 2006, 166, N 1, 271-286.

Совместный научный Украинско-Американский Тиреоидный Проект. II. эпидемиологическая характеристика процедуры первого скринингового обследования участников Проекта

Н. Д. Тронько¹, В. П. Терещенко¹, И. П. Пастер¹, В. М. Шпак¹, А. А. Деревянко¹, Л. В. Чайковская¹, Г. А. Замотаева¹, Т. А. Однолько¹, М. Hatch², I. J. Masnyk², L. V. Zablotska³, G.R. Howe³

¹ *ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины», г. Киев, 04114, Украина*

² *National Cancer Institute, Rockville, MD 20852, USA*

³ *Columbia University, New York, NY 10032, USA*

В 1998 году начато выполнение совместного Украинско-Американского Тиреоидного Проекта «Научный проект изучения рака и других заболеваний щитовидной железы в Украине в результате аварии на Чернобыльской АЭС» (в дальнейшем – Проект), который предполагал обследование жителей Украины: а) которые на момент аварии на Чернобыльской АЭС постоянно проживали или временно пребывали в наиболее радиационно загрязнённых районах Житомирской, Киевской и Черниговской областей, б) которым на момент аварии было до 18 лет, в) которым в первые недели после аварии было проведено радиометрию щитовидной железы и г) которых было отобрано согласно методу случайной выборки. Процедура обследования участников Проекта состояла из регистрации, ультразвукового обследования щитовидной железы, анализа крови (определения уровней тиреотропного гормона, свободного тироксина, антител, тиреоглобулина, ионизированного кальция, антител к тиреопероксидазе и тиреоглобулину) и определения уровня йода в моче, консультации врача-эндокринолога с пальпацией щитовидной железы, а также опроса с целью реконструкции дозы облучения щитовидной железы. В случае необходимости назначали дополнительное углубленное обследование в клинике Института (в частности, тонкоигольную аспирационную пункционную биопсию щитовидной железы) и соответствующее лечение. За период с апреля 1998 года по декабрь 2000 года включительно прошли медицинское обследование 13243 потенциальных участников Проекта, среди которых 46,4 % лиц получили дозу облучения щитовидной железы меньше, чем 0,3 Гр, 26,3 % лиц – от 0,3 до 1,0 Гр и 27,3 % лиц – больше, чем 1,0 Гр; 34,2 % лиц на момент аварии на ЧАЭС имели возраст до 4 лет, 29,7 % – от 5 до 9 лет, 29,9 % – от 10 до 14 лет, 6,2 % – от 15 до 18 лет включительно; 50,8 % были лицами женского пола, 49,2 % – лицами мужского пола. Участники Проекта прошли следующие этапы обследования: 13243 человека – регистрацию, 13235 человек – анализ крови, 13230 человек – ультразвуковое обследование щитовидной железы, 13230 человек – осмотр эндокри-

ногола, 13181 человек – анализ мочи и 13228 человек – дозиметрический опрос. 287 участникам Проекта была выполнена пункционная биопсия, а 83 человека были госпитализированы в клинику Института для стационарного лечения и прооперированы. Эндокринологи оформили 13214 окончательных эндокринологических заключений, сроки отправки которых составили: до 3 мес включительно – 9,5 %, 4-6 мес – 42,3 %, 7-9 мес – 27,6 %, 10-12 мес – 11,0 %, 13-18 мес – 5,1 %, 19-24 мес – 2,4 %, больше чем 24 мес – 2,1 % от общего количества отправленных заключений.

Ключевые слова: Чернобыльская катастрофа, Украинско-Американский Тиреоидный Проект, первое скрининговое обследование.

The joint scientific Ukraine-USA Thyroid Project. II. Epidemiological characteristic of the procedure of first screening examination of study subjects

M. D. Tronko¹, V. P. Tereshchenko¹, I. P. Pasteur¹, V. M. Shpak¹, A. A. Derevyanko¹, L. V. Chaikovska¹, G. A. Zamotayeva¹, T. A. Odnolko¹, M. Hatch², I. J. Masnyk², L. B. Zablotska³, G.R. Howe³

¹ State institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kyiv, 04114, Ukraine

² National Cancer Institute, Rockville, MD 20852, USA

³ Columbia University, New York, NY 10032, USA

In 1998 started implementation of the joint Ukrainian-American Thyroid Project «Scientific protocol for the study of thyroid cancer and other thyroid diseases in Ukraine following the Chornobyl accident», that provides for examination of such inhabitants of the Ukraine that a) were, at the time of the Chornobyl accident, permanent residents or provisionally stayed in the most contaminated regions; b) who were aged up to 18 years at the moment of the accident; c) who had had thyroid radiometry in the first weeks after the accident; and d) who were selected at random. The procedure of screening examination of study subjects includes registration, ultrasound examination of the thyroid, blood tests (determination of thyrotropin stimulating hormone, free thyroxine, thyroglobulin, and ionized calcium levels, antibodies to thyroperoxidase and thyroglobulin), determination of urinary iodine level, examination by an endocrinologist with thyroid palpation, as well as interview with the aim of reconstructing thyroid exposure doses. If necessary, the subject is referred for an additional or more intensive examination at the Clinic of the Institute (in particular, fine-needle aspiration biopsy of the thyroid), and appropriate treatment, if indicated. For the period April 1998 to December 2000, 13243 potential study subjects have undergone first medical examination. Out of this number, 46.4 % had a thyroid exposure dose under 0.3 Gy; 26.3 % between 0.3 and 1.0 Gy; and 27.3 % a dose over 1 Gy (information was missing for 20 persons); at the time of the Chornobyl accident, 34.2 % of persons were aged up to 4 years; 29.7 % were 5 to 9 years old; 29.9 % from 10 to 14 years; 6.2 % were aged 15 to 18 years; among those screened 50.8 % were females and 49.2 % males. Project study subjects have gone through the following stages of examination: 13243 persons – registration, 13235 persons – blood examination, 13230 persons – ultrasound examination of the thyroid, 13230 persons – examination by the endocrinologist, 13181 persons – urine examination and 13228 persons – dosimetry interview. Aspiration biopsy of the thyroid was performed to 287 persons, and 83 persons were hospitalized at the Clinic of the Institute for medical treatment and were operated on. Endocrinologists have completed 13214 final endocrine summaries; the terms of sending were as follows: up to 3 months – 9.5 %; 4-6 months – 42.3 %; 7-9 months – 27.6 %; 10-12 months – 11.0 %; 13-18 months – 5.1 %; 19-24 months – 2.4 %; more than 24 months – 2.1 % of the total number of summaries sent.

Key words: Chornobyl catastrophe, Ukrainian-American Thyroid Project, first screening examination.

(Надійшла 23.07.2009)

ЗМІНИ ВМІСТУ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ У ХВОРИХ НА ДИФЕРЕНЦІЙОВАНИЙ РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ПІСЛЯ ЛІКУВАННЯ РАДІОЙОДОМ

Г. А. Замотаєва, Н. М. Степура*

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», м. Київ, 04114, Україна

В статті наведені дані з впливу радіойодотерапії на рівень циркулюючих імунних комплексів у хворих на диференційований рак щитоподібної залози в залежності від наявності віддалених метастазів. Обстежено 36 хворих на рак щитоподібної залози без віддалених метастазів (13 із них мали метастази у регіональні лімфовузли) та 46 – з метастазами у легені, віком від 38 до 75 років. Папілярний рак було діагностовано у 59 хворих, фолікулярний – у 23. У контрольну групу увійшли 32 особи (донори) відповідного віку. Для деструкції залишкової тканини щитоподібної залози і лікування метастазів застосовували йод-131 з терапевтичною активністю 4130-4730 МБк. Визначення вмісту циркулюючих імунних комплексів проводили напередодні прийому радіойоду та через 6 днів, 1 і 6 міс після радіойодотерапії. Показано, що через 1 міс після лікування йодом-131 у хворих вірогідно підвищується вміст циркулюючих імунних комплексів. Не виявлено особливостей дії радіойоду на рівень імунних комплексів в залежності від наявності віддалених метастазів.

Ключові слова: диференційований рак щитоподібної залози, йод-131, радіойодотерапія, циркулюючі імунні комплекси.

Диференційований рак щитоподібної залози (ДРЩЗ) належить до найбільш розповсюджених злоякісних пухлин органів ендокринної системи і становить від 0,5 до 3 % у загальній структурі онкологічної захворюваності. На сьогодні загальновизнаною тактикою лікування ДРЩЗ є комплексний підхід, що включає хірургічне лікування, радіойодотерапію (РЙТ) і супресивну гормонотерапію. Застосування радіойоду показано як для післяопераційної абляції залишкової тканини щитоподібної залози (ЩЗ), так і для девіталізації регіонарних і віддалених метастазів [1, 2]. Ретроспективні дослідження показали, що тиреоїдна абляція у хворих на ДРЩЗ з розміром пухлини більше 1-1,5 см суттєво знижує смертність, а також вірогідно зменшує частоту рецидивів або розвиток віддалених метастазів. За умов наявності віддалених метастазів радіойодотерапія найчастіше виявляється єдиним методом лікування [3].

До недавнього часу серед клініцистів панувала думка, що через селективне накопичення йоду-131 у щитоподібній залозі його радіаційний вплив на організм в цілому незначний. ґрунтовних досліджень дії I-131 на інші органи та системи майже не проводилось, а наявні наукові роботи, що стосуються

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

розгляду гематологічних та імунологічних наслідків радіойодотерапії, є поодинокими і досить суперечливими. Проте застосування цитогенетичних методів виявило значний генотоксичний ефект радіойоду. Чисельними дослідженнями встановлено, що різноманітні хромосомні аберації в лімфоцитах крові хворих на рак щитоподібної залози (РЩЗ) зберігаються протягом багатьох років після лікування радіоактивним йодом [4, 5]. Підраховано, що середні еквівалентні дози опромінення клітин кісткового мозку і периферичної крові при введенні лікувальних активностей I-131 становлять від 0,32 до 0,54 Гр, при цьому з кожним наступним курсом відбувається акумуляція поглинутих доз [6]. За таких рівнів радіаційного навантаження цілком імовірно структурні і функціональні пошкодження клітин системи імунітету, які мають високу чутливість до іонізуючого опромінення [7].

Одним із важливих показників, що характеризує стан гуморальної імунної відповіді організму, є рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Імунні комплекси (ІК) утворюються при безпосередньому з'єднанні антигенів, як екзогенних, так і ендогенних, з антитілами. В організмі існує ряд імунорегуляторних механізмів, які підтримують рівень ЦІК на фізіологічному рівні. За умов надлишкового утворення, ІК зберігаються в циркуляції впродовж тривалого часу і можуть відкладатися в різних органах та судинах, де здатні ініціювати запальні процеси. Великі концентрації ІК блокують проліферацію В-лімфоцитів (через зв'язок ІК з антигеном і Fc-рецептором, маскування і захист антигену), пригнічують функцію клітин-ефекторів (в тому числі природних клітин-кілерів) і перешкоджають взаємодії клітин в імунній відповіді [8, 9]. Високий рівень ЦІК, особливо тих, що містять IgG, стимулює супресорну активність Т-клітин. Отже, ЦІК є патогенним чинником розвитку запальних та аутоімунних процесів, судинних уражень.

Аналіз наукової медичної літератури виявив істотне збільшення публікацій, присвячених вивченню проблеми новоутворень у щитоподібній залозі. Разом з тим, слід зазначити, що імунологічні аспекти цього захворювання розглядаються в поодиноких наукових працях, а дані про вплив радіойодотерапії на стан імунної системи – практично відсутні.

Мета нашої роботи полягала у дослідженні вмісту ЦІК у сироватці крові хворих на ДРЩЗ після радіойодотерапії.

Матеріали і методи дослідження

Ми обстежили дві групи хворих на диференційований рак щитоподібної залози, які отримували радіойодотерапію у відділенні радіонуклідної терапії та лікування радіофармпрепаратами ДУ «Національний інститут раку». Прийом йоду-131 з лікувальною активністю 4130-4730 МБк проводився перорально натщесерце у вигляді 20-30 мл ізотонічного розчину йодиду натрію (підприємство «Радіофармпрепарат», Узбекистан) або в формі капсул виробництва фірми «Polatom» (Польща).

У першу групу включено 36 хворих на РЩЗ без віддалених метастазів віком від 38 до 70 років (52,4±1,5). Серед них 29 із 36 осіб були жінки, решта 7 – чоловіки. Папілярний рак діагностовано у 32 хворих, фолікулярний – у 4. У 13 пацієнтів виявлені метастази в регіонарні лімфовузли, інші хворі метастатичного ураження не мали. У 50 % пацієнтів розмір пухлини відповідав T_{1,2}, у іншій половини – T_{3,4}.

У другу групу увійшли 46 пацієнтів з наявністю віддалених метастазів у легені, із них 27 (58,7 %) – з верифікованим діагнозом папілярної карциноми і 19 (41,3 %) – фолікулярної карциноми. В цій групі 33 хворих – жінки, 13 – чоловіки. Вік пацієнтів був у межах від 45 до 75 років (53,7±1,3). Переважна більшість хворих (36 із 46 – 78,3 %) за розповсюдженістю пухлинного процесу відносилася до групи T_{3,4}.

Контролем слугувала група донорів відповідної вікової категорії у кількості 32 осіб.

Дослідження рівня циркулюючих імунних комплексів проводили в динаміці: до прийому радіоїоду та через 6 днів, 1 та 6 міс після РЙТ. Вміст ЦІК у сироватці крові хворих на ДРЦЗ визначали методом преципітації їх поліетиленгліколем з молекулярною масою 6000 (фірми «Serva») з наступним вимірюванням оптичної щільності досліджуваних зразків на спектрофотометрі СФ-46 при 450 нм [10]. Вміст імунних комплексів представляли в умовних одиницях ($E_{450} \times 10^3$).

Статистичну обробку даних виконували методом варіаційної статистики з обчисленням t-критерію Стьюдента. Різницю вважали вірогідною при $P < 0,05$.

До початку роботи була отримана інформована згода від пацієнтів та позитивне рішення Комісії з медичної етики ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України».

Результати та їх обговорення

За попередніми дослідженнями, проведеними в нашій лабораторії, розвиток пухлинних новоутворень у щитоподібній залозі супроводжується вірогідним збільшенням вмісту циркулюючих імунних комплексів. Рівень ЦІК у хворих на тироїдну карциному істотно вищий за показники здорових донорів відповідного віку і, на відміну від пацієнтів з доброякісними новоутвореннями, після хірургічного лікування не повертається до норми [11].

Результати дослідження кількості циркулюючих імунних комплексів у хворих на ДРЦЗ напередодні та після проведення радіоїодотерапії представлені в таблиці.

Таблиця. Вплив радіоїодотерапії на рівень циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові хворих на ДРЦЗ ($E_{450} \times 10^3$)

Контроль (донори)	Хворі на ДРЦЗ			
	До введення ізоотопу	Після прийому йоду-131		
		через 6 днів	через 1 міс	через 6 міс
63,4±1,6	I група (без віддалених метастазів)			
	89,6±2,3	92,3±2,0	101,7±4,6	86,5±4,5
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$
		$P_1 > 0,05$	$P_1 < 0,05$	$P_1 > 0,05$
	II група (з наявністю віддалених метастазів)			
	93,1±2,6	99,4±2,9	113,4±5,1	93,2±3,8
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$
		$P_1 > 0,05$	$P_1 < 0,05$	$P_1 > 0,05$
	$P_2 > 0,05$	$P_2 > 0,05$	$P_2 > 0,05$	

Примітка: P – вірогідність різниці між донорами та хворими, P_1 – порівняння між показниками до та після радіоїодотерапії, P_2 – між показниками I та II групи.

Як свідчать наведені дані, вміст циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові хворих на диференційований РЦЗ протягом всього періоду обстеження був вірогідно більшим у порівнянні з донорами.

До радіоїодотерапії у хворих без віддалених метастазів та з їх наявністю кількість ЦІК була вірогідно більшою контрольного значення в 1,4 та 1,5 рази, відповідно. Порівняння вмісту імунних комплексів у хворих I та II групи між собою не виявило вірогідної різниці ($P > 0,05$).

Після проведення радіоїодотерапії виявлені зміни вмісту ЦІК у сироватці крові обох означених груп хворих. У пацієнтів без віддалених метастазів

рівень імунних комплексів на 6 день після прийому радіоїоду майже не змінювався, а через 1 міс збільшився на 15 % порівняно з вихідним значенням. Через 6 міс після радіоїодотерапії вміст імунокомплексів у сироватці крові хворих I групи повернувся до початкового рівня.

Подібна динаміка змін кількості циркулюючих ІК під впливом йоду-131 виявлена і у хворих з наявністю віддалених метастазів. Вірогідне зростання (на 22 %) кількості ЦІК спостерігалось лише через 1 міс після введення йоду-131. Через півроку після інкорпорації ізотопу у цій групі пацієнтів вміст імунних комплексів знизився до рівня показника перед проведенням курсу радіоїодотерапії.

Порівняльний аналіз отриманих даних вмісту циркулюючих імунних комплексів хворих на РЩЗ без та з наявністю віддалених метастазів, в усі строки дослідження після радіоїодотерапії, вірогідної різниці між групами не виявив (див. табл.).

Збільшення утворення ІК за умов РІТ, на наш погляд, є цілком очікуваним. Руйнування і/або збільшення проникності клітин залишкової тканини щитоподібної залози та метастазів після опромінення радіоїодом призводить до виходу в кровотік різних клітинних компонентів, що мають антигенні властивості (тироглобулін, мікросомальні фракції тощо) і стимулюють антитілоутворення. Концентрація антигену залежить від об'єму тироїдної тканини і, можливо, чутливості її до йоду-131. Опромінення від інкорпорованого радіоїоду – пролонговане в часі, і так само поступово, з руйнуванням тироїдної тканини відбувається звільнення антигенів. Таким чином, постійний надлишок ендогенних антигенів підтримує високий рівень імунних комплексів протягом тривалого часу після введення ізотопу. Довгочасна циркуляція ІК в крові хворих може свідчити також про функціональну недостатність системи, що відповідає за їх нейтралізацію або елімінацію. Основними причинами, що можуть призводити до збільшення вмісту ЦІК, є знижена активність системи комплементу, блокада моноцитарно-макрофагальної системи, підвищення проникності судин, послаблення функціональної активності місцевих чинників імунного захисту тощо [8].

Детальний аналіз індивідуальних значень виявив значні коливання. Так, у 21,1 % пацієнтів без віддалених метастазів та у 26,1 % з їх наявністю рівень ІК у сироватці крові після введення радіоїоду майже не змінювався і знаходився в межах контрольних значень. Можливо, це обумовлене тим, що при недостатній активізації компонентів комплементу імунні комплекси слабо формуються або утворившись, відкладаються на стінках судин чи тканин і, таким чином, не надходять у кровообіг. Навпаки, значне збільшення вмісту ЦІК після радіоїодотерапії ми виявили у 32,6 % хворих I групи та у 23,7 % – другої. Крім того, у 12 (33,3 %) хворих першої групи та у 15 (32,6 %) другої протягом всього періоду обстеження (до та через 6 діб, 1 міс і 6 міс) показники вмісту ЦІК були більші за 100 у.о. Високі значення рівня ЦІК у хворих на РЩЗ можуть свідчити про менш сприятливий прогноз захворювання, оскільки в багатьох клінічних роботах встановлена асоціація між рівнем ІК та стадією і прогнозом хвороби [12].

Таким чином, проведене дослідження показало, що введення радіоїоду в терапевтичних дозах призводить до ще більшого підвищення вмісту імунних комплексів в крові хворих на тироїдний рак. Попри відсутність в літературі прямих даних щодо впливу йоду-131 на вміст ЦІК у хворих на РЩЗ, існують чисельні свідчення збільшення кількості комплексів антиген-антитіло у ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС та осіб, які проживають на забруднених радіонуклідами територіях [13, 14], що корелює з одержаними нами результатами.

Висновки

1. Введення йоду-131 (4130-4730 МБк) хворим на диференційований рак щитоподібної залози призводить до вірогідного підвищення вмісту циркулюючих імунних комплексів. Максимальний рівень ІК спостерігається через 1 місяць після радіойодотерапії.

2. Не виявлено особливостей впливу радіойоду на зміни ЦІК в залежності від наявності віддалених метастазів.

3. Через 6 місяць після введення ізотопу, в обох обстежуваних групах хворих, рівень імунних комплексів знижувався до вихідних значень, залишаючись вірогідно вищим показника контролю.

Література

1. Robbins R. J., Schlumberger M. J. The involving role of the ^{131}I for the treatment of differentiated thyroid carcinoma // *J. Nucl. Med.* 2005, 46, N 1, 28S-37S.
2. Weigel R. J., McDougall I. R. The role of radioactive iodine in the treatment of well-differentiated thyroid cancer // *Surg. Oncol. Clin. N. Am.* 2006, 15, N 3, 625-638.
3. Robbins M. J., Pacini F., Schlumberger M. et al. Post surgical use of radioiodine (^{131}I) in patients with papillary and follicular thyroid cancer and the issue of remnant ablation: a consensus report // *Eur. J. Endocrin.* 2005, 153, 651-659.
4. Gutierrez S., Carbonell E., Galofre P. et al. Cytogenetic damage after 131-iodine treatment for hyperthyroidism and thyroid cancer. A study using the micronucleus test // *Eur. J. Nucl. Med.* 1999, 26, N 12, 1589-1596.
5. Erselcan T., Sungu S., Ozdemir S. et al. Iodine-131 treatment and chromosomal damage: in vivo dose-effect relationship // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2004, 31, N 5, 676-684.
6. M'Kacher R., Legal J. D., Schlumberger M. et al. Biological dosimetry in patients treated with iodine-131 for differentiated thyroid carcinoma // *J. Nucl. Med.* 1996, 37, 1860-1864.
7. Ярилин А. А. Действие ионизирующей радиации на лимфоциты (повреждающий и активирующий эффекты) // *Иммунология.* 1988, № 5, 5-11.
8. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. *Иммунология.* 2000, М.: Мир. 581 с.
9. Daniel V., Susal C., Weimer R. et al. Association of immune complexes and plasma viral load with CD4+ cell depletion, CD8+DR+ and CD16+ cell counts in HIV+ hemophilia patients. Implication for the immunopathogenesis of HIV-induced CD4+ lymphocyte depletion // *Immunol. Lett.* 2001, 76, N 2, 69-78.
10. Haskova V., Kaslik J., Riha I. et al. Simple method of circulating immune complex detection in human sera by polyethylene glycol precipitation // *Immunitätsforsch.* 1978, 154, N 4, 399-406.
11. Замотаєва Г. А., Степура Н. М. Вплив хірургічного лікування на рівень циркулюючих імунних комплексів у дорослих і дітей за новоутворень щитоподібної залози // *Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія.* 2005, № 2, 48-52.
12. Golda R., Wolski Z., Wyszomirska-Golda M. et al. The presence and structure of circulating immune complexes in patients with prostate tumors // *Med. Sci. Monit.* 2004, 10, N 3, 123-127.
13. Ветлугина Т. П., Волкова Е. М., Семке В. Я., Бохан Н. А. Типы иммунного статуса у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС в отдаленном периоде после катастрофы // *Иммунология.* 2001, № 4, 54-56.
14. Яковлева И. Н. Заболевания щитовидной железы у детей, подвергшихся радиационному воздействию в результате аварии на ЧАЭС (эпидемиология, патогенез, обоснование тактики лечения, профилактика) // *Міжнародний ендокринологічний журнал.* 2008, № 6(18), 90-105.

Изменение содержания циркулирующих иммунных комплексов у больных дифференцированным раком щитовидной железы после лечения радиоiodом

Г. А. Замотаева, Н. Н. Степура

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины», г. Киев, 04114, Украина

В статье представлены данные изучения влияния радиоiodтерапии на уровень циркулирующих иммунных комплексов у больных дифференцированным раком щитовидной железы в зависимости от наличия отдаленных метастазов. Обследовано 36 больных без отдаленных метастазов (у 13 выявлены региональные метастазы) и 46 – с отдаленными метастазами в легкие; возраст больных составлял от 38 до 75 лет. Папиллярный рак был диагностирован у 59 больных, фолликулярный – у 23. Контрольная группа состояла из 32 доноров соответствующего возраста. Применяемая терапевтическая доза йода-131 с целью деструкции остаточной ткани и лечения метастазов была в пределах от 4130 до 4730 МБк. Определение содержания циркулирующих иммунных комплексов проводили до введения радиоiodа и через 6 дней, 1 и 6 месяцев после радиоiodтерапии. Показано, что через 1 месяц после лечения йодом-131 у больных достоверно повышается содержание иммунных комплексов. Не выявлено особенностей действия радиоiodа на количество циркулирующих иммунных комплексов в зависимости от наличия отдаленных метастазов.

Ключевые слова: дифференцированный рак щитовидной железы, йод-131, радиоiodтерапия, циркулирующие иммунные комплексы.

Changes in circulating immune complex content in patients with differentiated thyroid cancer after radioiodine therapy

G. A. Zamotayeva, N. M. Stepura

State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kyiv, 04114, Ukraine

The authors present the results of a study of radioiodine therapy impact on circulating immune complex levels in patients with differentiated thyroid cancer depending on the presence of distant metastases. 36 patients without distant metastases (of these, 13 with detected metastases to regional lymph nodes) and 46 patients with metastases to lungs have been followed up. Patients were aged 38 to 75 years. Papillary cancer was diagnosed in 59, follicular cancer in 23 patients. The control group comprised 32 subjects (donors) of appropriate age. Therapeutic doses of iodine-131 within the range 4130-4730 MBq were used for residual thyroid tissue destruction and metastases treatment. Circulating immune complex content was assessed the day before radioiodine administration and in 6 days, one month, and 6 months after radioiodine therapy. A reliable increase in the content of circulating immune complexes was found in patients in one month after iodine-131 therapy. No peculiarities of radioiodine effect on the level of immune complex depending on the presence of distant metastases have been reported.

Key words: differentiated thyroid cancer, iodine-131, radioiodine therapy, circulating immune complexes.

(Надійшла 16.04.2009)

ЕФЕКТИВНІСТЬ МАСОВОЇ ЙОДНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ У ДІТЕЙ ЧЕРНІГІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ ЙОДОВАНОЮ СІЛЛЮ З РІЗНОЮ КОНЦЕНТРАЦІЄЮ ЙОДУ

О. І. Осадців, В. І. Кравченко*, О. М. Стельмах, В. І. Турчин

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», м. Київ, 04114, Україна

Дослідження екскреції йоду з сечею у 129 дітей віком 6-13 років, що проживають у північних і західних районах Чернігівської області (Чернігівському, Корюківському, Козелецькому, Семенівському) та у м. Чернігові, виявило потребу у проведенні йодної профілактики – медіана йодурії у обстежених становила 83,80 мкг/л. У Чернігівській школі-інтернаті рандомізованим методом була відібрана контрольна група дітей та дві піддослідні групи, в яких протягом одного місяця у харчуванні використовували сіль, йодовану за допомогою йодату калію, зі вмістом йоду 20 або 40 мг на кг солі. В кожній групі визначали рівень екскреції йоду з сечею. В контрольній групі медіана йодурії становила 95,68 мкг/л. При застосуванні солі з концентрацією йоду 20 мг/кг медіана йодурії була 122,06 мкг/л, а при застосуванні солі з концентрацією йоду 40 мг/кг медіана йодурії становила 126,12 мкг/л. На підставі проведеного дослідження зроблено висновок, що використання йодованої солі зі вмістом йоду 20 і 40 мг/кг однаково ефективно для оптимізації забезпеченості йодом дітей в організованих дитячих колективах Чернігівської області.

Ключові слова: діти, йодний дефіцит, йодована сіль, концентрація йоду в солі.

На сьогодні в Україні існує дефіцит йоду у харчуванні дитячого і дорослого населення [1-3]. Спеціальна сесія Спільного комітету ВООЗ та ЮНІСЕФ з політики в галузі охорони здоров'я рекомендувала загальне йодування солі як безпечну, економічно ефективну та сталу стратегію забезпечення необхідного споживання йоду всіма людьми [4]. На даний час існують суттєві відмінності у проведенні масових профілактичних заходів з використанням цієї стратегії в різних країнах. Найбільші розбіжності відмічені у визначенні ступеня йодування кухонної солі та у виборі йодистих препаратів для цього. З йодистих препаратів використовуються такі сполуки йоду, як йодид калію (KI) та йодат калію (KIO₃). З доступних даних по 33 країнах Європи, 15 країн використовують для йодування солі йодид калію, 6 – йодат калію і 12 країн – обидві сполуки йоду. Концентрація йоду, що вноситься, коливається в межах від 5 мг йодиду калію на 1 кг солі в Норвегії до 70 мг йодиду калію у Швеції. У Швейцарії вноситься 20 мг йодату калію на 1 кг солі, у Данії – 13 мг йодиду калію, в Італії – 30 мг йодату калію, у Франції – 15 мг йодиду калію, у Чехії – 27 мг йодату калію, у Польщі – 30 мг йодиду калію, в Німеччині, Австрії та Угорщині – 20 мг йодату калію [5].

В Україні, як і в Росії, прийнята без апробації рекомендація Міжнародної ради з контролю за йододефіцитними захворюваннями (ICCIDD) та Дитячого фонду ООН (ЮНІСЕФ) про підвищений рівень йодування кухонної солі йодатом калію в кількості 67±22 мг, що відповідає ступеню йодування солі на рівні 40±15 мг йоду на 1 кг кухонної солі [6].

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

Оцінюючи рівень йодної профілактики в окремих населених пунктах, відмічаючи її ефективність, значення для здоров'я населення і чималу соціальну важливість, не можна не враховувати велику відмінність йодного забезпечення в різних населених пунктах та регіонах. Показовими в цьому плані є дослідження до 2000 року, коли профілактику майже не проводили [7]. На особливу увагу стосовно профілактики йододефіциту заслуговують північні регіони України, зокрема Чернігівська область. Внаслідок Чорнобильської аварії відбулися значні викиди в атмосферу ізотопів радіоактивного йоду, що має виражену тропність до щитоподібної залози (ЩЗ). Опромінення радіоактивним йодом є фактором ризику виникнення радіаційно індукованих захворювань ЩЗ, зокрема, доброякісних та злоякісних новоутворень, автоімунного тироїдиту, гіпотирозу.

Отже, до теперішнього часу виникають питання щодо оптимізації йодного забезпечення, як для всієї території України, так і регіонів, забруднених радіацією внаслідок аварії на ЧАЕС, моніторингу йодного забезпечення та запобігання негативним наслідкам як недостатнього надходження йоду, так і гіперйодизації. Метою проведеного дослідження було визначення ефективності йодної профілактики при застосуванні солі з різним вмістом йоду (20 і 40 мг йоду на 1 кг солі) для районів із слабким йодним дефіцитом, що може бути також відповідним для поліпшеного харчування з використанням морепродуктів.

Матеріали та методи

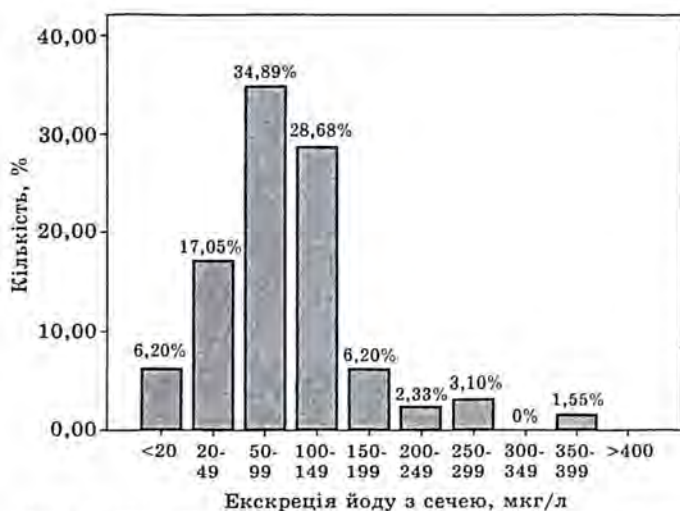
Для оцінки ситуації із забезпеченням йодом в Чернігівській області було проведено визначення екскреції йоду з сечею у 129 дітей віком 6-13 років, що проживають у сільській місцевості північних та західних районів: Чернігівському (n=26), Корюківському (n=24), Козелецькому (n=24), Семенівському (n=25) та у м. Чернігові (n= 30). Аналізи екскреції йоду з сечею виконували у відділі епідеміології ендокринних захворювань Інституту ендокринології за методом Sandell-Kolthoff [8] в модифікації Dunn [9].

Дослідження ефективності масової йодної профілактики при використанні солі з різною концентрацією йоду проводилося на базі Чернігівської школи-інтернату I-II ступенів у дітей віком 6-13 років. Рандомізованим методом була відібрана контрольна група дітей (n=30) та дві відповідні групи, які використовували у харчуванні протягом 1 місяця сіль, йодовану за допомогою йодату калію, зі вмістом йоду 20 або 40 мг на 1 кг солі. Йодована сіль зі вказаними концентраціями йоду була виготовлена за спеціальним замовленням на Державному підприємстві об'єднання «Артемсіль». Сіль відповідає ДСТУ 3583-87 (ГОСТ 13830-97), ТУ У 18.446-97. Діти 1-ої піддослідної групи (n=26) отримували йодовану сіль зі вмістом йоду 20 мг на 1 кг солі, діти 2-ої групи (n=30) – 40 мг на 1 кг. Попередньо проведено огляд дітей з антропометричними вимірюваннями і подальшим обрахуванням площі поверхні тіла, пальпацією ЩЗ (з використанням класифікації ВООЗ, 2001) та ультразвуковим дослідженням (УЗД) ЩЗ і визначенням її розмірів, об'єму і структури за допомогою портативного УЗ-сканера фірми «SLE-101PC» з датчиком 7,5 МГц, за методом Brunn [10]. Використовувались нормативи об'єму ЩЗ за Zimmermann [11].

Ефективність йодної профілактики оцінювали за показниками екскреції йоду з сечею. Отримані результати аналізували згідно з рекомендаціями проведення статистичних досліджень в медицині [12] та за допомогою програми SPSS v.16.0.

Результати дослідження та їх обговорення

У 129 дітей, що проживають у сільській місцевості та в м. Чернігові, загальнонамедіана йодурії становила 83,80 мкг/л (середнє значення – 96,02±5,76 мкг/л, min – 3, max – 364 мкг/л). В межах оптимальної забезпеченості йодом (100-199 мкг/л) було 34,89 % показників йодурії. Аналіз результатів вибірки,



Мал. 1. Шільність розподілу результатів йодурії у дітей Чернігівської області та м. Чернігова.

розбіжність між медіаною та середнім значенням і зміщення її результатів вліво свідчили про неправильний характер вибірки, тому оптимальною для її характеристики є медіана (мал. 1). Статистичний аналіз результатів показав, що 20-й перцентиль відповідав 39 мкг/л, 80-й – 103 мкг/л; 6,2 % зразків сечі мали рівень йоду нижчий за 20 мкг/л, 17,05 % – в межах 20-49,9 мкг/л і в цілому більше 58 % проб – нижче 100 мкг/л, що підтверджувало наявність йододефіциту. Випадків надмірного надходження йоду в організм дитини (понад 500 мкг/л на добу) серед обстежених дітей не виявлено. Медіана йодурії по районах області і в м. Чернігові знаходилася у межах від 66,43 мкг/л до 95,68 мкг/л (табл. 1). Ці дані свідчили про те, що практично у всіх обстежених районах та м. Чернігові спостерігався йододефіцит легкого ступеня, що давало підставу для застосування однакового підходу при проведенні масової йодної профілактики з використанням харчової йодованої солі.

Проведене анкетування дітей школи-інтернату та опитування працівників харчоблоку показало, що харчування дітей інтернату було регулярне і повноцінне. Кожен день діти отримували овочі, м'ясо. Раціон дітей 3-4 рази на тиждень містив морську рибу. Йодованої солі до початку дослідження діти не вживали, йодовмісні препарати та добавки на час проведення дослідження не отримували. Це опитування виявило, що порівняно з дітьми інших районів, харчування в школі-інтернаті було кращим. Про це свідчила і медіана йодурії у дітей, відібраних рандомізованим методом, що відображала ситуацію у дітей всієї школи.

Групова медіана йодурії при споживанні звичайної харчової солі (контрольна

Таблиця 1. Йодна забезпеченість дітей Чернігівської області

Обстежені райони	Результати дослідження йодурії				
	Медіана йодурії, мкг/л	% результатів <20 мкг/л	% результатів 20-49 мкг/л	% результатів 50-99 мкг/л	% результатів >100 мкг/л
Корюківський (24)*	66,43	8,33	25,00	20,84	45,83
Козелецький (24)	72,69	4,17	20,83	37,5	37,5
Семенівський (25)	82,07	12,0	20,0	40,0	28,0
Чернігівський (26)	93,00	7,69	15,39	26,92	50,0
м. Чернігів (30)	95,68	-	6,67	46,67	46,66
Загалом (129)	83,80	6,20	17,05	34,89	41,86

* В дужках – кількість обстежених дітей.

група) становила 95,68 мкг/л (середнє значення – 95,56 мкг/л, діапазон – 28-142 мкг/л), 95 % Д.І. – 83,32, 107,81, що свідчить про наявність у дітей інтернату йододефіциту слабкого ступеня. Різниця між середніми показниками в контрольній групі дітей інтернату та по області в цілому була не значима ($P=0,940$ за одновибірковим критерієм Стьюдента), що дозволяє перенесення даних дослідження на популяцію області.

Визначеним показником поширеності йододефіцитних захворювань є частота випадків ендемічного зоба серед вибраної референтної дитячої групи населення. Результати обстеження щитоподібної залози дітей підтвердили наявність проблеми недостатнього споживання йоду. За даними УЗ-дослідження відібраних для спостереження дітей Чернігівської школи-інтернату у 19 дітей (22,09 %) виявлено збільшення об'єму ЩЗ, що відповідно до сучасних критеріїв свідчить про наявність дифузного зоба, а у 1 дитини (1,16 %) виявлений вузловий зоб.

При застосуванні солі з концентрацією йоду 20 мг/кг медіана йодурії становила 122,06 мкг/л (середнє значення – 125,56 мкг/л, діапазон – 44-197 мкг/л), 95 % Д.І. – 108,36, 141,84. Це свідчить про те, що такої концентрації йоду в солі цілком достатньо для нормальної забезпеченості дитини йодом. Після вживання солі з концентрацією 40 мг/кг медіана йодурії була 126,12 мкг/л (середнє значення – 130,29 мкг/л, діапазон – 14-313 мкг/л), 95 % Д.І. – 101,57, 159,01. При визначенні вірогідності різниці між показниками йодурії на тлі вживання йодованої солі з різним вмістом йоду використовувався непарний (двовибірковий) t -критерій Стьюдента та критерій Вілкоксона. При порівнянні показників йодурії контрольної групи та групи, яка споживала йодовану сіль з вмістом йоду 20 мг/кг за t -критерієм різниця була значимо вірогідна ($P_t=0,001$). При зіставленні показників контрольної групи та групи, що споживала йодовану сіль зі вмістом йоду 40 мг/кг різниця теж була вірогідна ($P_t=0,05$). Однак між групами дітей, що отримували йодовану сіль з різним вмістом йоду, спостерігалася лише тенденція до відмінності ($P_t=0,1>0,05$).

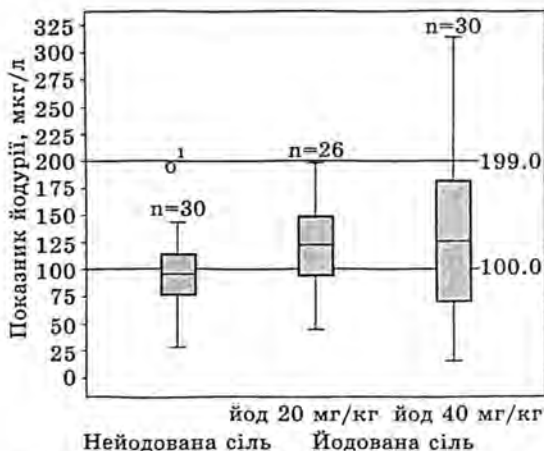
Показники йодурії після вживання йодованої солі з концентрацією йоду 20 і 40 мг/кг були вірогідно вищі ($P=0,018<0,05$, та $P=0,049<0,05$, відповідно, тест Вілкоксона), ніж після вживання звичайної солі. Вірогідної різниці між показниками йодурії після вживання йодованої солі з концентрацією йоду 20 мг/кг та йодованої солі з концентрацією йоду 40 мг/кг за тестом Вілкоксона виявлено не було ($P=0,899>0,05$).

Розподіл значень йодурії у школярів на тлі застосування солі з різним вмістом йоду наведений у табл. 2.

Таблиця 2. Розподіл результатів йодурії у школярів на тлі застосування солі з різним вмістом йоду

Групи обстежених	Медіана, мкг/л	20-й перцентиль	80-й перцентиль	$M \pm m$, мкг/л	Вірогідність різниці між показниками P_t *
Перша група (вживання йодованої солі 20 мг/кг)	122,06	87,83	156,22	125,09 \pm 8,12	0,001
Друга група (вживання йодованої солі 40 мг/кг)	126,12	56,48	198,49	130,29 \pm 14,04	0,021
* Контрольна група (без йодованої солі)	95,68	68,06	118,09	95,56 \pm 5,98	0,940

* – Відносно середньої величини йодурії по області.



Мал. 2. Вплив йодованої солі (20 та 40 мг/кг) на показники йодурії у дітей.

лася хороша компенсація йодної недостатності. Кількість результатів у зоні достатнього і оптимального йодного забезпечення становила 70 %. Значень надлишкового споживання йоду практично не спостерігалось, однак у 6 дітей виявлені показники йодурії більше 200 мкг/л, що вище оптимального рівня забезпеченості йодом. Тому, зважаючи на отримані результати, можна констатувати, що при споживанні йодованої солі з концентрацією йоду в межах 20-40 мг/кг, за умов йодного дефіциту досягається хороша компенсація йодного статусу. Проте після вживання йодованої солі зі вмістом йоду 20 мг/кг більша частина показників йодурії (69,2 %) знаходилася в межах оптимального рівня забезпеченості йодом (100-199 мкг/л).

Висновки

1. В північних та західних районах Чернігівської області і місті Чернігові, за даними дослідження екскреції йоду з сечею, у дітей спостерігається йододефіцит легкого ступеня (медіана йодурії – 83,80 мкг/л).
2. Значна частота випадків зоба (22 %) серед обстежених дітей віком 6-13 років підтверджує наявність йододефіциту і невирішеність проблеми профілактики йодозалежних захворювань в області.
3. Використання йодованої солі із вмістом йоду 20 і 40 мг/кг однаково ефективно для оптимізації забезпеченості йодом дітей в організованих дитячих колективах Чернігівської області.

Література

1. Кравченко В. І., Каракашян А. Н., Луб'янова І. П., Калачева І. П. Звіт про національне дослідження вживання населенням харчових мікронутрієнтів. Україна: ЮНІСЕФ, 2004. 70 с.
2. Tronko M., Kravchenko V., Fink D. et al. Iodine excretion in regions of Ukraine affected by the Chernobyl accident, experience of the Ukrainian-American cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases // *Thyroid*. 2005, 15, N 11, 1291-1297.
3. Кравченко В. І., Ткачук Л. А., Турчин В. І. та ін. Споживання йодованих продуктів та стан йодної забезпеченості населення України // *Доп. НАН України*. 2005, № 10, 188-194.
4. World Summit for Children – Mid Decade Goal: Iodine Deficiency Disorders. UNICEF-WHO Joint Committee on Health Policy. Geneva, United Nations Children's Fund, World Health Organization, 1994 (JCHPSS/94/2.7).

5. Iodine deficiency in Europe : a continuing public health problem / M. Andersson (ed). UNICEF, 2007. 70 p.
6. Recommended iodine levels in salt and guidelines for monitoring their adequacy and effectiveness. Geneva: World Health Organization, 1996 (WHO/NUT/96.13). 10 p.
7. Кравченко В. І., Миронюк Н. І., Турчин В. І. та ін. Динаміка йодного статусу в північних областях України, що були забруднені внаслідок Чорнобильської аварії // Ендокринологія. 2006, 11, № 1, 124-133.
8. Sandell E. B., Kolthoff I. M. Micro determination of iodine by a catalytic method // Microchemica Acta. 1937, 1, 9-25.
9. Dunn J. T., Grutchfield H. E., Gutekunst R., Dunn A. D. Methods for measuring iodine in urine. International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders, Netherlands, 1993. 71 p.
10. Brunn J., Blocjk U., Ruf J. et al. Volumetrie der Schilddrusenlappen mittels real-time-sonographie // Deutsche Medizinische Wochenschrift. 1981, 106, 1338-1340.
11. Zimmermann M. B., Hess S. Y., Molinari L. et al. New reference values for thyroid volume by ultrasound in iodinesufficient schoolchildren: a World Health Organization/Nutrition for Health and Development Iodine Deficiency Study Group Report // Am. J. Clin. Nutr. 2004, 79, 231-237.
12. Петри А., Сэбин К. Наглядная статистика в медицине. Пер. с англ. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. 144 с.

Эффективность массовой йодной профилактики у детей Черниговской области йодированной солью с разной концентрацией йода

О. И. Осадчив, В. И. Кравченко, О. М. Стельмах, В. И. Турчин

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины», г. Киев, 04114, Украина

Исследование экскреции йода с мочой у 129 детей в возрасте 6-13 лет, проживающих в северных и западных районах Черниговской области (Черниговском, Корюковском, Козелецком, Семёновском) и в г. Чернигове, показало необходимость в проведения йодной профилактики – медиана йодурии у обследованных составила 83,80 мкг/л. В Черниговской школе-интернате рандомизированным методом была отобрана контрольная группа детей и две исследуемые группы, у которых в питании на протяжении одного месяца использовали соль, йодированную с помощью йодата калия, с содержанием йода 20 или 40 мг на кг соли. В каждой группе определяли уровень экскреции йода с мочой. В контрольной группе медиана йодурии составила 95,68 мкг/л. При применении соли с концентрацией йода 20 мг/кг медиана йодурии была 122,06 мкг/л, а при использовании соли с концентрацией йода 40 мг/кг медиана йодурии составила 126,12 мкг/л. На основании проведенного исследования сделан вывод, что использование йодированной соли с содержанием йода 20 и 40 мг/кг одинаково эффективно для оптимизации обеспеченности йодом детей в организованных детских коллективах Черниговской области.

Ключевые слова: дети, йодный дефицит, йодированная соль, концентрация йода в соли.

Efficacy of mass iodine prophylaxis in children of Chernihiv region using iodized salt with various iodine concentrations

O. I. Osadtsiv, V. I. Kravchenko, O. M. Stelmakh, V. I. Turchyn

State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kyiv, 04114, Ukraine

Investigations of urinary iodine excretion in 129 children aged 6 to 13 years, residents of northern and western districts of Chernihiv region (Chernihiv, Koryukivka, Kozelets, Semenivka districts) and City of Chernihiv have shown the necessity of iodine prophylaxis in the presence of a ioduria median 83.80 mcg/L. In a boarding school of the City of Chernihiv a control group and two study groups of children have been randomly selected, who were during one month on a iodized-salt-containing diet using potassium iodate in a proportion of 20 or 40 mg of iodine per 1 kg of salt. Urinary iodine excretion was assessed in each of the groups. In control group ioduria median made up 95.68 µg/L. When using salt at a concentration 20 mg/kg, ioduria median was 122.06 µg/L, and at a concentration 40 mg/kg it made up 126.12 µg/L. Based on this study, the authors concluded that the use of iodized salt containing 20 and 40 mg/kg of iodine is equally effective to optimize iodine intake in organized groups of children from Chernihiv region.

Key words: children, iodine deficiency, iodized salt, iodine concentration in salt.

(Надійшла 2.11.2009)

ВМІСТ, УЛЬТРАСТРУКТУРА ТА ФУНКЦІЯ МОНОЦИТІВ КРОВІ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ І МЕТАБОЛІЧНИЙ СИНДРОМ

В. В. Афанасьєва*, К. П. Зак, І. М. Кондрацька, Т. А. Семіонова

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України», м. Київ, 04114, Україна

Досліджено кількість циркулюючих моноцитів, їх ультраструктуру та рівень прозапальних моноцитарно/макрофагальних цитокінів (інтерлейкіну-6 і фактора некрозу пухлин-альфа) у периферичній крові 75 осіб обох статей, віком від 30 до 70 років, які були розділені на три групи: 1) з вперше виявленим цукровим діабетом 2 типу (ЦД-2), 2) з метаболічним синдромом (МС) і 3) з ЦД-2 і МС. До контрольної групи увійшли 25 нормоглікемічних здорових осіб (тієї ж статі і віку), які були розділені на дві підгрупи: з нормальною (ІМТ < 25,0 кг/м²) і надлишковою (ІМТ > 25,0 кг/м²) масою тіла. Проведені дослідження виявили значне збільшення відносної та абсолютної кількості моноцитів в крові та зміну їх субмікроскопічної організації, а в окремих осіб – і підвищення вмісту ІЛ-6 та ФНП α як при ЦД-2, так і при МС. Разом з тим, моноцитоз також спостерігався і у здорових людей з надлишком ваги, але меншою мірою, ніж при ЦД-2. Одержані дані вказують на значну роль моноцитів в патогенезі ЦД-2 і МС та наводять на думку про їх тісний зв'язок в низькоградієнтному запаленні у жировій тканині.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу; метаболічний синдром; моноцити: кількість, ультраструктура; цитокіни.

Як відомо, клітини моноцитарно/макрофагального ряду вперше детально описані І. І. Мечніковим, за що йому була присуджена Нобелівська премія. Циркулюючі моноцити походять з гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та є довгоживучими, поліфункціональними клітинами. Мігруючи з периферичної крові (ПК) в тканини та органи, вони перетворюються в макрофаги, остеокласти і мієлоїдні дендритні клітини [1-3]. Головна функція моноцитів/макрофагів полягає у фагоцитозі патогенів, різних деструктивних часточок та їх кілінгу, презентації антигенів Т-клітин, а також в секреції цілого спектра прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ФНП α та інших) і хемокинів (MCP-1, MIP-1, ІЛ-8, IP-10 та інших), що регулюють основні імунні механізми та виконують роль зв'язуючого ланцюжка між природним та адаптивним імунітетом. При розвитку імунної відповіді моноцити/макрофаги можуть ініціювати, посилювати, попереджувати чи завершувати імунну відповідь Т-клітин [2, 4, 5].

До недавнього часу функціональна активність моноцитів ПК визначалась на основі досліджень їх хемотаксису, швидкості руху, адезії до ендотелію стінок судин, фагоцитарної активності, кілінгу *in vitro* та різних імунологічних тестів [1]. Поява методів субмікроскопічного дослідження органодів клітин за допомогою електронної мікроскопії [3] та відкриття і розробка

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

способів визначення цитокінів [6] значно доповнили наші можливості оцінки функції моноцитів. Отже, про функцію моноцитів при різних захворюваннях людини стали судити, поряд з традиційними методами, також на основі вмісту цитокінів в ПК та їх продукції концентратами моноцитів, виділених з ПК, в культурі тканин. Електронна мікроскопія, що по суті є функціональною цитологією, дала можливість одержати інформацію про стан окремих органодів, які секретують цілий ряд біологічно активних сполук, в тому числі цитокінів. Разом з тим, при електронно-мікроскопічному дослідженні процес фіксації лейкоцитарної плівки, виділеної з венозної крові, яка містить моноцити, займає лише лічені хвилини, що дає змогу зберегти майже прижиттєву субмікроскопічну організацію цих клітин.

Однак сучасні роботи, що присвячені вивченню функції моноцитів крові при цукровому діабеті 2 типу (ЦД-2), та, особливо, метаболічному синдромі (МС), поодинокі і фрагментарні та переважно зосереджені на визначенні секреції окремих видів цитокінів чи хемокинів концентратами моноцитів в культурі тканин [7-9]. Майже відсутня інформація про електронно-мікроскопічне дослідження моноцитів ПК при ЦД-2 і МС.

У зв'язку з цим, основною метою роботи стало визначення кількості моноцитів ПК та їх ультраструктури одночасно з дослідженням таких прозапальних макрофагальних адипоцитокінів, як ІЛ-6 та ФНП α у хворих з МС, ЦД-2 і ЦД-2 з МС.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 75 хворих обох статей віком 30-70 років, які були розподілені на три групи: 1) хворі з вперше виявленим ЦД-2, 2) хворі на МС, 3) хворі на ЦД-2 з МС. У контрольну групу (n = 25) увійшли здорові нормоглікемічні особи без МС відповідної статі та віку. Остання група в залежності від маси тіла була розподілена на 2 підгрупи з ІМТ < 25,0 кг/м² та ІМТ > 25,0 кг/м². До групи обстежених не залучались пацієнти з перенесеними інфарктом міокарда, інсультом, злоякісними пухлинами та тяжкими запальними хворобами. До обстеження пацієнти не приймали антигіперглікемічних, гіполіпідемічних та антигіпертензивних препаратів.

Діагноз ЦД-2 встановлювали згідно з рекомендаціями експертів ВООЗ, а МС – відповідно до критеріїв NCEP ATR III [10].

При антропометричному дослідженні у пацієнтів визначали масу тіла, обвід талії (ОТ) і стегон (ОС) з подальшим обчисленням індексу абдомінального ожиріння (ІАО) та індексу маси тіла (ІМТ).

Рівень глюкози у сироватці венозної крові досліджували глюкозооксидазним, а рівень інсуліну – радіоімунним методами з використанням набору реактивів фірми «Insulin-IRMA» (Чехія) на аналізаторі Beckman Gamma 5500 В (США). Індекс НОМА обчислювали за формулою $1/\log G + \log I$, де I – вміст інсуліну натще (мкМО/мл), G – вміст глюкози натще у плазмі (ммоль/л) [11].

Рівень загального холестерину (ХС), тригліцеридів (ТГ), ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) визначали за допомогою реактивів фірми «Biosystem» (Іспанія) на фотометрі BTS-330, а рівень ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ) і ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) розраховували за відомими формулами.

Вміст інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) та фактора некрозу пухлин альфа (ФНП α) визначали імуноферментним методом «ELISA» за допомогою спектрофотометра «Star-fax 3200» фірми «Fax» (США) і набору реактивів фірми «Diacclone» (Франція).

Загальну кількість лейкоцитів та лейкоцитарну формулу крові, взятої з вени, визначали загальноновживаними методами. Мазки крові фарбували за Папенгеймом при рН буферного розчину 6,9. Диференційний підрахунок різних типів лейкоцитів проводили на 200 клітинах в мазках під імерсією. Абсолютну кількість моноцитів в ПК розраховували, виходячи з кількості лейкоцитів та процентного вмісту їх в лейкоцитарній формулі.

Для електронно-мікроскопічного дослідження моноцитів виділену з ПК лейкоцитарну плівку фіксували 2,5 % глутаральдегідом фірми «Fluka» (Німеччина) на 0,1 М какодилатному буфері фірми «Sigma» (США) з 2 % сахарозою, потім фіксували 1 % OsO_4 на тому ж буфері, проводили через спирти та безводний ацетон й вміщували в аралдит фірми «Fluka», (Німеччина). Ультратонкі зрізи виготовляли на мікромомі фірми «LKB-8800» (Швеція) та вивчали під електронним мікроскопом фірми «JEM-100 C» (Японія).

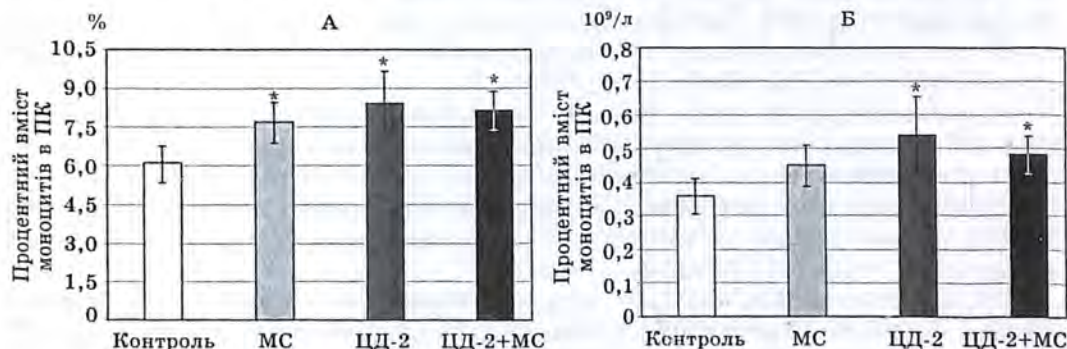
Одержані дані оцінювали за допомогою статистичного аналізу з використанням критерію Стьюдента. Різницю вважали статистично вірогідною при $P < 0,05$. Обчислювали також величину медіани.

Результати та їх обговорення

При дослідженні загальної кількості лейкоцитів в ПК хворих з вперше виявленим ЦД-2 спостерігався невеликий лейкоцитоз у порівнянні з групою здорових осіб ($6,11 \pm 0,48 \cdot 10^9/\text{л}$ проти $5,68 \pm 0,85 \cdot 10^9/\text{л}$, $P < 0,05$), що узгоджується з даними інших авторів [12-14]. Однак в контрольній підгрупі осіб з $IMT > 25,0 \text{ кг/м}^2$ також відмічалась вища кількість лейкоцитів в ПК, ніж у підгрупі з $IMT < 25,0 \text{ кг/м}^2$ (таблиця). Це наводить на думку, що невеликий лейкоцитоз при ЦД-2 обумовлений не тільки гіперглікемією, але і надлишком жирової тканини в організмі.

Чіткіші результати були одержані при дослідженні відносної та абсолютної кількості моноцитів в ПК. Як видно з мал. 1, у хворих на ЦД-2, МС та ЦД-2 з МС відмічалось вірогідне збільшення як процентного, так і абсолютного числа моноцитів в циркуляції у порівнянні з контрольною групою. Причому, найбільш виражений відносний та абсолютний моноцитоз спостерігався при ЦД-2 ($P < 0,05$) та ЦД-2 з МС ($P < 0,05$). Разом з тим, при аналізі даних, одержаних при розділенні контрольної групи на дві підгрупи (з нормальними та підвищеними показниками IMT) було виявлено, що у підгрупі з $IMT > 25,0 \text{ кг/м}^2$ у порівнянні з підгрупою з $IMT < 25,0 \text{ кг/м}^2$ спостерігалось вірогідне підвищення як відносного, так і абсолютного вмісту моноцитів в ПК ($7,92 \pm 0,75 \%$ і $0,440 \pm 0,069 \cdot 10^9/\text{л}$ проти $4,78 \pm 0,46 \%$ і $0,256 \pm 0,028 \cdot 10^9/\text{л}$, $P < 0,05$). Проте при порівнянні результатів досліджень у контрольній підгрупі з надлишком ваги та хворих на ЦД-2 також було виявлено вірогідне підвищення абсолютної кількості моноцитів в ПК у останніх ($0,540 \pm 0,103 \cdot 10^9/\text{л}$ проти $0,440 \pm 0,069 \cdot 10^9/\text{л}$, $P < 0,05$).

Виявлений при ЦД-2 моноцитоз узгоджується з даними інших авторів [15]. Однак сучасні знання з цього питання мізерні, майже відсутня інформація



Мал. 1. Відносний (А) та абсолютний (Б) вміст моноцитів в ПК здорових людей (контроль) та пацієнтів з МС, ЦД-2 та ЦД-2 + МС

Примітка: * – вірогідна різниця з контролем ($P < 0,05$).

Таблиця. Клініко-лабораторна характеристика здорових нормоглікемічних осіб (контроль) та хворих на ЦД-2, МС і ЦД-2+МС

Показник	M±m в групах				
	Контроль		ЦД-2	МС	ЦД-2 з МС
	ІМТ < 25,0 кг/м ²	ІМТ > 25,0 кг/м ²			
Вік, років	48,4±2,5	46,1±1,8	55,5±3,1	48,5±2,7	52,8±1,6
ІМТ, кг/м ²	22,8±0,5	31,1±0,7*	26,8±1,3*	33,5±2,0*	34,6±1,2*
Обвід талії, см					
чоловіки	88,5±5,1	107,4±1,5*	96,2±2,5*	99,8±2,2*	113,7±5,3*
жінки	75,3±1,8	99,7±2,7*	92,5±3,6*	105,4±2,4**	109,1±2,1*
ІАО	0,80±0,02	0,90±0,02*	0,93±0,02*	0,91±0,02*	0,98±0,01*
САТ, мм рт. ст.	112,6±2,9	127,1±2,9*	128,2±7,1*	138,6±5,9*	144,8±3,5*
ДАТ, мм рт. ст.	69,6±1,7	82,3±2,7*	80,6±3,9*	84,8±2,7*	90,6±2,4*
ХС, ммоль/л	5,2±0,3	5,7±0,3	5,7±0,3	6,7±0,45*	6,1±0,3*
ТГ, ммоль/л	1,1±0,1	1,5±0,1*	1,3±0,1	2,05±0,2*	2,3±0,2*
ЛПВЩ, ммоль/л	1,30±0,06	1,10±0,06	1,20±0,07	1,2±0,1	1,02±0,04*
ЛПНЩ, ммоль/л	3,4±0,3	3,9±0,2	3,8±0,3	4,6±0,4	4,1±0,2
ЛПДНЩ, ммоль/л	0,50±0,05	0,70±0,06*	0,60±0,06	0,9±0,1*	1,00±0,04*
Інсулін, МО/мл	6,6±0,7	13,2±1,8*	5,8±1,5	15,8±3,1*	15,8±2,0*
Глюкоза, ммоль/л	4,6±0,2	4,5±0,2	8,0±1,1**	4,9±0,3	8,3±0,5*
Індекс НОМА	1,4±0,2	2,7±0,4*	1,7±0,3	3,3±0,7	5,9±0,8*
Лейкоцити ×10 ⁹ /л	5,47±0,38	6,13±0,48*	6,11±0,48*	5,65±0,37	5,90±0,45*

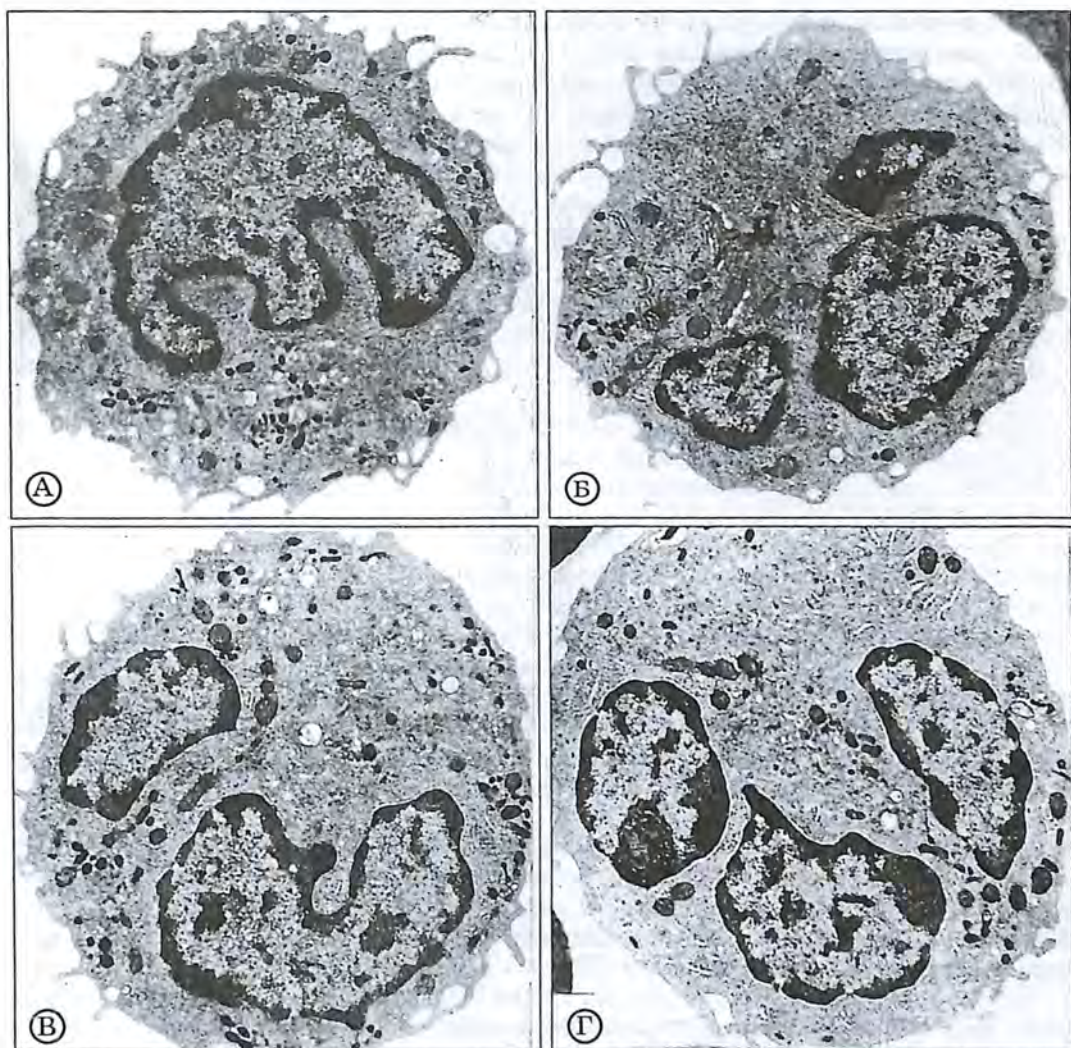
Примітка. По відношенню до контрольної групи з ІМТ < 25,0 кг/м²: * – P<0,05, ** – P<0,01.

щодо причин та механізму моноцитозу при цій патології, особливо – залежності кількості моноцитів в ПК від маси тіла при МС і ЦД-2. Одержані нами дані наводять на думку, що на підвищення рівня моноцитів в ПК при ЦД-2 певною мірою може також впливати і ступінь ожиріння хворого, оскільки відомо, що у 80 % пацієнтів, хворих на ЦД-2, відмічається надлишок маси тіла [16]. Виявлений моноцитоз при МС також значною мірою може бути зумовлений наявністю надлишкової маси тіла, так як ожиріння є одним з головних компонентів МС [10].

При електронно-мікроскопічному дослідженні моноцитів в ПК у пацієнтів з МС, у порівнянні із здоровими особами, було виявлено більш згладжений контур плазматичної мембрани, рідше зустрічались піноцитозні вакуолі, гранули і, особливо, каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (ГЕР) і в ядрі – ядерце. В той же час цитоплазма мала більше піноцитозних та опушених пухирців (мал. 2).

Згідно з даними [3], опушені пухирці беруть участь у транспорті білків в системі комплексу Гольджі (КГ), а також в їх транспорті від транс-стопок КГ до поверхні клітин [17], тобто є залученими у процес екзоцитозу.

У хворих на ЦД-2 моноцити ПК за своєю ультраструктурою подібні до таких в осіб з МС, однак насиченість цитоплазми піноцитозними та опушеними пухирцями у них не відрізнялась від такої у моноцитів здорових осіб.



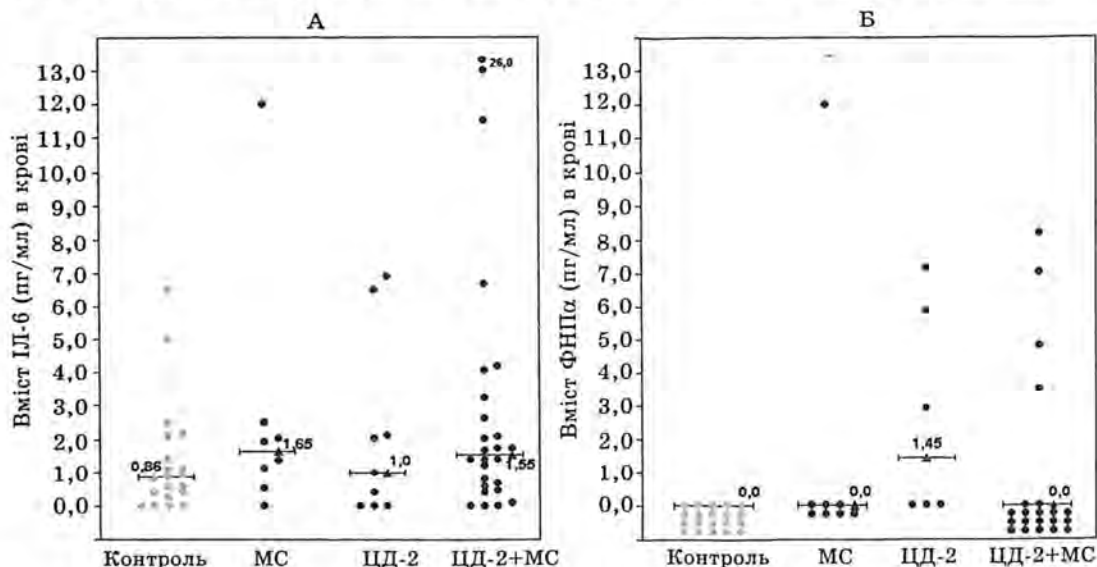
Мал. 2. Ультраструктура моноцитів ПК: А – здорової людини, $\times 10000$; Б – хворого на МС, $\times 10000$; В – хворого на ЦД-2, $\times 11000$; Г – хворого на ЦД-2+МС, $\times 12000$.

У пацієнтів з ЦД-2 і МС моноцити ПК по своїй ультраструктурі були подібні до таких у хворих на ЦД-2+МС, проте звертала на себе увагу підвищена насиченість цитоплазми піноцитозними і опушеними пухирцями.

Таким чином, моноцити ПК пацієнтів всіх трьох груп (МС, ЦД-2, ЦД-2+МС) мають більш згладжений контур плазматичної мембрани, частіше зустрічаються піноцитозні вакуолі, в ядрі рідше – ядрце, цитоплазма має менше гранул і каналців ГЕР. Проте звертає на себе увагу те, що у хворих на ЦД-2 з наявністю МС цитоплазма моноцитів містить більшу кількість піноцитозних і опушених пухирців у порівнянні з такими у здорових осіб, а також хворих на ЦД-2 з МС, що свідчить про підвищену функцію екзоцитозу в цих клітинах. В моноцитах ПК всіх трьох обстежених груп хворих не виявлено будь-яких ознак деструктивних порушень ультраструктури органел.

При дослідженні вмісту макрофагальних цитокінів (ІЛ-6 та ФНП α) у сироватці крові, як у здорових осіб, так і у хворих, відмічалась значна варіація значень цих цитокінів, що узгоджується з даними літератури [4]. В той

же час при визначенні рівня ІЛ-6, як видно з мал. 3А, медіана його вмісту в ПК була підвищеною у осіб з МС, ЦД-2 та ЦД-2 з МС порівняно з особами без МС з нормоглікемією (контролем). У двох осіб із вперше діагностованим ЦД-2 рівень ІЛ-6 в ПК становив 6,5, 7,0 пг/мл, і у трьох хворих на ЦД-2 з МС він дорівнював 6,5-13,0 пг/мл, а у одного пацієнта досягав 26 пг/мл.



Мал. 3 Рівень цитокінів ІЛ-6 (А) та ФНП α (Б) у ПК здорових осіб та хворих на МС, ЦД-2 та ЦД-2+МС.

ФНП α в ПК в усіх осіб контрольної групи зовсім не визначався (див. мал. 3Б). Медіана вмісту ФНП α у пацієнтів з МС та ЦД-2 з МС також була нульовою і тільки у хворих з вперше виявленим ЦД-2 вона становила 1,45 пг/мл. Разом з тим, у одного пацієнта з МС та у чотирьох хворих ЦД-2 з МС виявлявся підвищений вміст ФНП α в ПК.

Отже, одержані дані наводять на думку, що для окремих хворих на ЦД-2 і МС характерно підвищення рівня макрофагальних адипоцитокінів, особливо ІЛ-6. Таке припущення підтверджується роботами, в яких показано, що збагачені фракції моноцитів, виділених з ПК хворих на ЦД-2 в культурі тканин, схильні до підвищеної секреції ІЛ-6 та ФНП α , особливо після їх стимуляції ліпополісахаридами [7, 18, 19].

Значне коливання рівня цитокінів у ПК в обстежених пацієнтів, на відміну від визначення їх секреції безпосередньо моноцитами в культурі тканин, в першу чергу пояснюється тим, що рівень цитокінів в циркуляції є сумарною величиною їх надходження в ПК з багатьох джерел, тобто різних секретуючих клітин різних тканин. Разом з тим, окремі цитокіни в «цитокіновій сітці» знаходяться в тісному взаємозв'язку один з іншим та нерідко мають спільні рецептори і, таким чином, можуть активувати чи навпаки, нейтралізувати дію один одного [5, 6]. Нарешті ЦД-2, поряд з МС, може мати ускладнення (ангіо- та нейропатії), які на початковому етапі розвитку можуть бути ще не діагностованими традиційними методами, але вже спроможні ініціювати підвищення рівня прозапальних цитокінів.

Таким чином, проведені дослідження виявили значне збільшення відносної та абсолютної кількості моноцитів в ПК пацієнтів з МС та ЦД-2, котре супроводжується змінами їх субмікроскопічної організації (ультраструктури), а в окремих осіб – підвищенням рівня циркулюючих прозапальних моноцитарно/макрофагальних адипоцитокінів (ІЛ-6 і ФНП α). Разом з тим,

моноцитоз також спостерігався і у здорових нормоглікемічних осіб з надлишком ваги, хоча не в такій мірі, як при ЦД-2. Так як зараз встановлено, що в основі цих захворювань лежить low-grade запалення, яке регулюється прозапальними адипоцитокінами [20] і в багатьох випадках МС передре ЦД-2, тобто є предіабетом [21], то одержані дані наводять на думку, що в складному механізмі перебігу від стадії предіабету до стадії клінічно вираженого діабету значну роль відіграють клітини моноцитарно/макрофагального ряду.

Література

1. Johnston R. B. Monocytes and macrophages // *N. Engl. J. Med.* 1988, 318, N 12, 747-752.
2. Мейл Д., Бростофф Дж., Рот Д. Б., Ройтт А. Иммунология. М.: Логосферс, 2007. 555 с.
3. Карр Ян. Макрофаги. Обзор ультраструктуры и функции. М.: Медицина, 1978. 188 с.
4. Зак К. П., Попова В. В. Цитокины и сахарный диабет 1-го типа у человека (обзор с включением собственных данных) // *Український медичний часопис.* 2006, № 1 (51), 78-88.
5. Зак К. П., Попова В. В. Хемокины при сахарном диабете 1-го типа у человека (обзор литературы и собственные данные) // *Український медичний часопис.* 2008, № 6 (68), 69-78.
6. Возианов А. Ф., Бутенко А. К., Зак К. П. Цитокины. Биологические и противовоспалительные свойства. К.: Наукова думка, 1998. 317 с.
7. Tsigos C., Tsiotra P., Yfanti E. et al. Peripheral monocytes express high levels of TNF α in type 2 and gestational diabetes // *Diabetologia.* 2002, 45, Suppl. 2, A 200-201.
8. Giulietti A., Stoffels K., Overbergh L., Mathieu C. Monocytes from type 2 diabetic patients have pro-inflammatory cytokine profile // *Diabetologia.* 2004, 47, Suppl. 1, A 188.
9. Devaraj S., Glaser N., Griffen S. et al. Increased monocytic activity and biomarkers of inflammation in patients with type 1 diabetes // *Diabetes.* 2006, 55, N 3, 774-779.
10. 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.
11. Katz A., Nambi S. S., Mather K. et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in human // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 2000, 85, 2402-2410.
12. Aczel S., Saely C., Marte T. et al. The roles of white blood cell count, fibrinogen, and CRP in diabetic coronary atherosclerosis // *Diabetologia.* 2002, 45, Suppl. 2, A 374, 1156.
13. Weston W. M., Huang C., Biswas N., Porter L. E. C-reactive protein and fibrinogen are elevated in insulin-using type 2 diabetic patients with metabolic syndrome // *Diabetologia.* 2004, 47, Suppl. 1, A 296.
14. Pedula K. L., Nichols G. A., Hillier T. A. Diabetes is associated with inflammation independent of obesity: a community-based sample of routine care patients // *Diabetologia.* 2007, 50, Suppl. 1, S 118.
15. Saely C. H., Marte T., Aczel S. et al. White blood cell count, fibrinogen, and CRP in coronary patients with diabetes mellitus // *Diabetologia.* 2003, 46, Suppl. 2, A 385.
16. Lönnqvist F., Nordfors L., Schalling M. Leptin and its potential role in human obesity // *J. Intern. Med.* 1999, 245, 643-652.
17. Fishman J. B., Fine R. E. A trans golgi-derived exocytic coated vesicle can contain both newly synthesized cholinesterase and internalized transferrin // *Cell.* 1987, 48, N 1, 159-164.
18. Ghanim H., Aljada A., Hofmeyer D. et al. The circulating mononuclear cells in the obese is in a pro-inflammatory state // *Diabetologia.* 2003, 46, Suppl. 2, p. 191.
19. Vendrell J. J., Chacon M. R., Garcia-Espana A. et al. // Effects of high glucose treatment

- on the expression of TNF α and its receptors in human monocytes *in vitro* // *Diabetologia*. 2004, 47, Suppl. 1, 926-933.
20. Kolb H., Mandrup-Poulsen T. An immune origin of type 2 diabetes? // *Diabetologia*. 2005, 48, N 6, 1038-1050.
21. Saumell J., Cabre J. J., Picol J. L. et al. Cardiovascular disease prediction and type 2 diabetes: Framingham risk versus metabolic syndrome criteria // *Diabetologia*. 2007, 50, Suppl. 1, p. 147.

Содержание, ультраструктура и функция моноцитов крови у больных сахарным диабетом 2 типа и метаболическим синдромом

В. В. Афанасьева, К. П. Зак, И. Н. Кондрацкая, Т. А. Семионова

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины», г. Киев, 04114, Украина

Исследовано количество циркулирующих моноцитов, их ультраструктура и уровень провоспалительных моноцитарно/макрофагальных цитокинов (интерлейкина-6 и фактора некроза опухолей-альфа) в периферической крови у 75 лиц обоего пола, в возрасте от 30 до 70 лет, которые были разделены на три группы: 1) с впервые выявленным сахарным диабетом 2 типа (СД-2), 2) с метаболическим синдромом (МС) и 3) с СД-2 и МС. Контрольная группа состояла из 25 нормогликемических здоровых лиц (того же пола и возраста), которые были разделены на две подгруппы: с нормальной (ИМТ < 25,0 кг/м²) и избыточной (ИМТ > 25,0 кг/м²) массой тела. Проведенные исследования обнаружили значительное увеличение относительного и абсолютного количества моноцитов в крови и изменение их субмикроскопической организации, а у отдельных лиц – и повышение содержания ИЛ-6 и ФНО α , как у больных СД-2, так и больных МС. Вместе с тем, моноцитоз также наблюдался и у здоровых людей с избытком веса, но не в такой степени, как при СД-2. Полученные данные указывают на значительную роль моноцитов в патогенезе СД-2 и МС, и наводят на мысль об их тесной связи с низкоградиентным воспалением в жировой ткани.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа; метаболический синдром; моноциты: количество, ультраструктура; цитокины.

Content, ultrastructure and function of blood monocytes in patients with type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome

V. V. Afanasyeva, K. P. Zak, I. M. Kondratska, T. A. Semionova

State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kyiv, 04114, Ukraine

The authors have studied the amount of circulating monocytes, their ultrastructure, and level of proinflammatory monocytic/macrophagal cytokines (interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha) in peripheral blood of 75 subjects of both genders, aged 30 to 70 years, who were divided into three groups: 1) with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus (T2DM); 2) with metabolic syndrome (MS); and 3) with T2DM and MS. The control group consisted of 25 normoglycemic healthy subjects (of the same gender and age), who were divided into two subgroups: with normal (BMI < 25.0 kg/m²) and excessive (BMI > 25.0 kg/m²) body mass. The studies conducted have shown a significant increase in relative and absolute amounts of monocytes in blood and changes in their submicroscopic organization, and in some individuals an increase in IL-6 and TNF α content as well both in T2DM and MS patients. At the same time, monocytosis was also reported in healthy persons with excessive body mass, but not to the same extent as in case of T2DM. The data obtained point to an important role of monocytes in T2DM and MS pathogenesis and suggest a close relationship between monocytes and low-gradient inflammation in adipose tissue.

Key words: type 2 diabetes mellitus; metabolic syndrome; monocytes: number, ultrastructure; cytokins.

(Надійшла 31.07.2009)

ЗАЛЕЖНІСТЬ КЛІНІЧНОЇ СИМПТОМАТИКИ ДІАБЕТИЧНОЇ ЕНТЕРОПАТІЇ ВІД СТУПЕНЯ УРАЖЕННЯ АВТОНОМНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

С. М. Ткач*

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», м. Київ, 04114, Україна

Діабетичну ентеропатію, що є складовою діабетичної шлунково-кишкової автономної нейропатії, характеризують порушення випорожнення у вигляді діареї або закрепів. Однак причина виникнення різних видів порушень випорожнення залишається недостатньо зрозумілою. З цією метою вивчали стан автономної нервової системи у 69 хворих на цукровий діабет 1 типу (23 пацієнти з діабетичною діареєю, 12 – з хронічними закрепами, 34 хворих – без порушень випорожнення) та у 40 здорових осіб такого ж віку та статі. Оцінювали автономні рефлекторні тести (ортостатичний, глибокого дихання, коефіцієнта 30:15, Вальсальви) і проводили спектральний аналіз варіабельності серцевого ритму. За результатами автономних рефлекторних тестів у всіх 35 хворих з порушенням випорожнення діагностовано діабетичну автономну нейропатію, а серед 34 пацієнтів без цих порушень – лише у 3 ($P < 0,01$). За даними спектрального аналізу варіабельності ритму серця у хворих з порушеннями випорожнення, на відміну від пацієнтів без них, зареєстровані нижчі за нормальні потужності низькочастотних (LF) та високочастотних (HF) коливань спектра. Крім того, у хворих з діабетичною діареєю, на відміну від хворих із закрепами, спостерігався суттєво нижчий за норму показник низькочастотного компонента спектра (LFn), був вищим показник високочастотного компонента спектра у нормалізованих одиницях (HFn) і був значно нижчим симпато-вагальний індекс (LF/HF). Таким чином, у хворих з діабетичною ентеропатією існує відповідність клінічної симптоматики об'єктивним змінам автономної нервової системи, при яких хронічні закрепи є більш ранньою ознакою діабетичної шлунково-кишкової автономної нейропатії, а порушення випорожнення у вигляді діареї – пізньою. Хронічні закрепи, як і діабетична діарея, спостерігаються на тлі вираженого порушення стану автономної нервової системи, який характеризується падінням тону функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи, церебральних систем вегетативної регуляції. Однак діабетична діарея виникає тоді, коли є порушення симпато-парасимпатичного балансу зі зниженням симпатичної і відносним підвищенням парасимпатичної активності.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична автономна нейропатія, діабетична ентеропатія, діабетична діарея.

Діабетична шлунково-кишкова автономна нейропатія, з характерними для неї гастропарезом, ентеропатією та діабетичним холецистопарезом, є одним з тяжких і поширених уражень, що спостерігається в 40-52,7 % хворих та суттєво впливає на якість їх життя, працездатність і характер перебігу хвороби [1-3]. Для неї є властивим довготривалий латентний або малосимптомний

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

клінічний перебіг при значних функціонально-морфологічних змінах системи травлення і тому тим вагомішим для клінічної практики є виявлення хоча б деяких її клінічних ознак. Численні дослідження підкреслили поганий взаємозв'язок між клінічною симптоматикою порушень верхніх відділів шлунково-кишкового тракту з об'єктивними даними гастропарезу або холецистопарезу [4, 5]. В той же час, клінічні прояви діабетичної ентеропатії – порушення випорожнення у вигляді діареї або закрепів, більшою мірою асоціюються з діабетичною шлунково-кишковою автономною нейропатією [6]. Однак залишається недостатньо вивченою причина виникнення різних клінічних ознак діабетичної ентеропатії, зокрема, виду порушень випорожнення – діареї або закрепів. Подальше вивчення цього питання могло б бути корисним для своєчасної діагностики та лікування даної патології шлунково-кишкового тракту.

Матеріали і методи

Обстежено 69 хворих на цукровий діабет 1 типу тяжкої форми, 44 жінки та 25 чоловіків, середній вік яких становив $28,7 \pm 1,0$ років, і 40 здорових осіб такого ж віку та статі. Тривалість хвороби коливалася від 1 міс до 33 років (середня тривалість – $10,3 \pm 0,9$ років). Пацієнти знаходилися у стані компенсації або субкомпенсації цукрового діабету на тлі інсулінотерапії. Серед хворих було 35 осіб з клінічною симптоматикою діабетичної ентеропатії – у 23 пацієнтів спостерігалась діарея і у 12 відмічали закрепи. 34 хворих на цукровий діабет не мали порушень випорожнення.

Крім загальноклінічного обстеження з оцінкою ендокринологічного і неврологічного статусу, проводилося обстеження автономного і соматичного відділів нервової системи додатковими методами. З метою вивчення стану сегментарних структур автономної нервової системи і діагностики діабетичної автономної нейропатії у хворих вивчали автономні рефлекторні тести: глибокого дихання, коефіцієнта 30:15, Вальсальви та ортостатичний [7, 8].

Для визначення стану парасимпатичного еферентного шляху пацієнтам робили тести глибокого дихання, коефіцієнта 30:15 і Вальсальви.

1. *Тест глибокого дихання.* У горизонтальному положенні хворого під час глибокого повільного дихання, 6 разів на хв, реєструвалася електрокардіограма у II стандартному відведенні. Визначалося відношення найдовшого інтервалу RR під час видиху до найкоротшого інтервалу RR під час вдиху. Значення цього відношення 1,21 і вище є нормальним, 1,11-1,20 – граничним, до 1,10 – патологічним, що свідчить про недостатність парасимпатичної активності.

2. *Тест коефіцієнта 30:15.* Під час реєстрації електрокардіограми у II стандартному відведенні хворий підводиться з горизонтального у вертикальне положення і знаходиться у ньому 1-2 хв. Відношення документованого у вертикальному положенні хворого 30-го RR-інтервалу до 15-го RR-інтервалу характеризує коефіцієнт 30:15. Його значення 1,04 і вище є нормальним, 1,01-1,03 – граничним, 1,00 і менше – патологічним, що вказує на недостатність парасимпатичних впливів на серце.

3. *Тест Вальсальви.* Реєструється електрокардіограма у II стандартному відведенні у хворого під час інтенсивного видиху у мундштук, який з'єднаний з манометром, з підтриманням в останньому тиску на рівні 40 мм рт. ст. протягом 15 с, і ще 20 с – на довільному диханні. Визначається коефіцієнт Вальсальви як відношення найдовшого RR-інтервалу у перші 20 с після проби до найкоротшого RR-інтервалу під час проби. Значення його 1,21 і більше є нормальним, 1,11-1,20 – граничним, а 1,10 і нижче – патологічним, що свідчить про порушення парасимпатичної регуляції серця.

Для характеристики стану симпатичного еферентного шляху проводили ортостатичну пробу, яку виконували наступним чином. Після 5-10 хв відпочинку в горизонтальному положенні у хворого визначався артеріальний тиск, а потім – на 3-й хв після активного переходу у вертикальне положення. Підраховується різниця систолічного артеріального тиску між горизонтальним і вертикальним положенням. Згідно з сучасним уявленням, зниження систолічного артеріального тиску не більш ніж на 10 мм рт.ст. свідчить про нормальну реакцію; падіння на 11-20 мм р.ст. –

гранична реакція, падіння більш ніж на 20 мм рт.ст. – патологічна реакція, що свідчить про еферентну симпатичну недостатність.

Тести виконували за допомогою електрокардіографа «ЭКГТ-03М2» з подальшою математичною обробкою даних за комп'ютерною програмою аналізу серцевого ритму. Результати тестів оцінювалися за прийнятими критеріями як нормальні (0 балів), граничні (1 бал) або патологічні (2 бали). Згідно з міжнародними рекомендаціями, діагноз діабетичної автономної нейропатії встановлювався за наявності у хворого 2 балів і вище (тобто не менш ніж двох граничних або одного патологічного показників) [8, 9].

Крім того, з метою більш детальної об'єктивізації стану автономної нервової системи у всіх хворих його оцінювали за методом спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму, який визнається найадекватнішим та найчутливішим неінвазивним методом оцінки стану автономної нервової системи і ранньої діагностики діабетичної автономної нейропатії [6, 10]. Для цього використовували комп'ютерну програму «Кардіоспектр» фірми «Сольвейг» зі спектральним аналізом кардіоритмограми для оцінки варіабельності серцевого ритму у частотній ділянці, що застосовується в клінічних обстеженнях стану автономної нервової системи [11]. Параметри вегетативного тону вивчали у лежачому положенні хворого, після 10-хвилинного періоду адаптації за допомогою електрокардіографа «ЭКГТ-03М2».

Дані варіабельності ритму серця характеризували на підставі сучасних уявлень про природу їх формування: HF відображає парасимпатичну активність, LF – симпато-парасимпатичну модуляцію, VLF – ступінь активації церебральних систем над-сегментарного рівня вегетативної регуляції, LFn – відносну симпатичну активність, HFn – відносну парасимпатичну активність, LF/HF – симпато-парасимпатичний баланс [12–14].

Результати аналізу варіабельності серцевого ритму були піддані статистичній обробці із застосуванням критерію t Стьюдента і визначенням показника вірогідності різниці (P). Дані автономних рефлексорних тестів статистично оброблені із застосуванням критерію χ^2 і визначенням показника вірогідності різниці (P).

Результати та їх обговорення

Серед 35 обстежених хворих з порушенням випорожнення 23 пацієнти мали клінічну симптоматику діабетичної діареї – протягом декількох місяців-років хворих турбувало безболісне водянисте випорожнення від 3-5 до 20-30 разів на добу, без домішки слизу або крові. Нерідко спостерігалася стеаторея. Типовим було підвищення частоти випорожнення саме в нічний час. Діарея виснажувала хворих, у частини з них була втома, депресія, порушувався сон, знижувалася працездатність. Спочатку діарея мала періодичний характер, триваючи від кількох діб до тижня з перервами від кількох тижнів до місяців. У перервах випорожнення могло бути нормальним або спостерігалися закрепи. Надалі тривалість періоду діареї здебільшого збільшувалася зі зменшенням періоду ремісії. Інколи діарея могла передувати гіпоглікемічному стану. У деяких хворих була зменшена маса тіла зі зниженням тургору шкіри.

Інші пацієнти групи з порушенням випорожнення, а саме 12 осіб, скаржилися на хронічні закрепи, що спостерігалися в них більше року.

За результатами проведених автономних рефлексорних тестів у всіх 35 хворих з порушенням випорожнення були виявлені патологічні або більш ніж один граничний показники, що дало підстави діагностувати в них діабетичну автономну нейропатію (клінічну стадію). Натомість, при обстеженні 34 хворих на цукровий діабет без порушень випорожнення, клінічну діабетичну автономну нейропатію за цими даними було діагностовано лише у 3 пацієнтів (P < 0,01).

За результатами спектрального аналізу серцевого ритму у пацієнтів без порушень випорожнення була нижча, ніж у здорових осіб, потужність дуже низькочастотних (VLF) коливань спектра (таблиця). Потужності

низькочастотних (LF) та високочастотних коливань спектра (HF), а також показники низькочастотного (LFn) та високочастотного (HFn) компонентів спектра у нормалізованих одиницях суттєвих змін не зазнали. Залишився нормальним симпато-вагальний індекс (LF/HF).

У хворих з хронічними закрепамі, на відміну від здорових осіб, за цим методом аналізу зареєстровані нижчі потужності дуже низькочастотних (VLF), низькочастотних (LF) та високочастотних (HF) коливань спектра. Показники низькочастотного (LFn) і високочастотного компонента спектра у нормалізованих одиницях (HFn), а також симпато-вагальний індекс (LF/HF) залишалися нормальними (таблиця).

Таблиця. Результати аналізу варіабельності ритму серця у хворих на цукровий діабет з порушеннями випорожнення та без них і у здорових осіб (M±m)

Показник	Здорові особи (n=40)	Хворі без порушень випорожнення (n=34)	Хворі з хронічними закрепамі (n=12)	Хворі з діабетичною діареєю (n=23)
VLF, мс ²	637,0±76,8	334,4±54,7*	14,9±2,1**	19,6±3,9**, а
LF, мс ²	549,7±60,9	419,9±78,7	9,1±2,5**	9,0±1,3**
HF, мс ²	628,4±101,9	406,6±94,8	11,2±3,3**	14,3±1,5**
LFn, %	49,2±2,5	53,3±3,0	46,3±4,4	35,9±2,6*, аа
HFn, %	50,8±2,5	46,5±3,0	53,5±5,2	62,4±2,4*
LF/HF	1,203±0,133	1,592±0,252	0,880±0,151	0,587±0,070**, а

Примітка: * – P < 0,01, ** – P < 0,001 – у порівнянні з показниками здорових осіб; а – 0,1 > P > 0,05, аа – P < 0,05 – у порівнянні з хворими із хронічними закрепамі.

У хворих з діабетичною діареєю за результатами спектрального аналізу ритму серця, на відміну від здорових осіб, зареєстровані нижчі потужності дуже низькочастотних (VLF), низькочастотних (LF) та високочастотних (HF) коливань спектра. Крім того, в них спостерігався суттєво нижчий, ніж у здорових осіб, показник низькочастотного компонента спектра (LFn) і був вищим показник високочастотного компонента спектра у нормалізованих одиницях (HFn). До того ж у цих осіб був нижчим за норму симпато-вагальний індекс (LF/HF). Слід зазначити, що у порівнянні з пацієнтами із закрепамі, у них був значно нижчим показник низькочастотного компонента спектра (LFn) та мав тенденцію до зниження симпато-вагальний індекс (LF/HF) (таблиця).

За допомогою аналізу варіабельності серцевого ритму безпосередньо оцінюють не лише стан вегетативної регуляції серця, але й інших органів шлунково-кишкового тракту з огляду на їх загальну іннервацію, вважаючи його індикатором нейропатії іншого органа чи системи [15, 16]. На підтримку цього вказують численні дані про паралелізм еволюції кардіоваскулярної і шлунково-кишкової автономних нейропатій у хворих на цукровий діабет [17, 18]. Генералізований характер порушень автономної нервової системи при цукровому діабеті є підставою співвідносити в наукових дослідженнях дані аналізу варіабельності серцевого ритму з результатами порушень в інших органах і системах [6].

Отримані зміни показників спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму у хворих на цукровий діабет без порушень випорожнення, згідно з сучасними поглядами на природу їх формування [12–14], свідчать про зниження активації церебральних систем надсегментарного рівня вегетативної регуляції на тлі ще нормальної функції симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи.

У хворих з хронічними закрепками спостерігалися порушення функціонального стану автономної нервової системи. В них, за даними спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму, зареєстроване суттєве зниження потужності всіх спектральних компонентів. Це свідчить, що крім зниження активації церебральних систем надсегментарного рівня вегетативної регуляції у хворих є значне порушення функціональної активності як симпатичного, так і парасимпатичного відділів автономної нервової системи.

Натомість, у хворих з діабетичною діареєю спостерігалися більш суттєві зміни функціонального стану автономної нервової системи. Так, в них за даними спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму зареєстроване, крім суттєвого зниження функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи, а також церебральних систем надсегментарного рівня вегетативної регуляції, порушення симпто-парасимпатичного балансу зі зниженням активності симпатичного і відносним підвищенням парасимпатичного відділу автономної нервової системи. При цьому ступінь зниження симпатичної активності в них був суттєвіший, ніж у хворих з хронічними закрепками.

Отже, як діабетична діарея, так і хронічні закрепи у хворих на цукровий діабет спостерігалися на тлі діабетичної шлунково-кишкової автономної нейропатії. Це відбувалося при суттєвому зниженні тону симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи та активності церебральних систем надсегментарного рівня вегетативної регуляції, причому діабетична діарея розвивалася у хворих при виникненні симпто-парасимпатичного дисбалансу з істотною відносною перевагою парасимпатичної активності над симпатичною.

Результати дослідження вказують на відповідність клінічної симптоматики об'єктивним змінам автономної нервової системи, при яких хронічні закрепи є ранньої ознакою діабетичної шлунково-кишкової автономної нейропатії, а порушення випорожнення у вигляді періодичної або постійної діареї – більш пізньою. Ці дані можуть бути використані у широкій медичній практиці для своєчасної діагностики та надання адекватної патогенетичної терапії діабетичної шлунково-кишкової автономної нейропатії у хворих з хронічними закрепками, а не тільки на більш пізніх її стадіях при наявності діабетичної діареї.

Висновки

1. У хворих на цукровий діабет 1 типу спостерігається відповідність клінічної симптоматики діабетичної ентеропатії об'єктивним змінам автономної нервової системи, при яких хронічні закрепи є ранньої ознакою діабетичної шлунково-кишкової автономної нейропатії, а порушення випорожнення у вигляді періодичної або постійної діареї – більш пізньою.

2. Хронічні закрепи, як і діабетична діарея, спостерігаються на тлі вираженого порушення стану автономної нервової системи, який характеризується падінням тону функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи, церебральних систем надсегментарного рівня вегетативної регуляції, однак діабетична діарея з'являється тоді, коли виникають зміни симпто-парасимпатичного балансу зі зниженням симпатичної і відносним підвищенням парасимпатичної активності.

Література

1. Feigenbaum K. Update on gastroparesis // *Gastroenterol. Nurs.* 2006, 29, 245-246.
2. Stassen M. P. Diabetic gastroparesis // *Rev. Med. Liege.* 2005, 60, 509-515.
3. Tomi S., Plazinska M., Zagorowicz E. et al. Gastric emptying disorders in diabetes mellitus // *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2002, 108, 879-886.
4. Jones K. I., Russo A., Stevens J. E. et al. Predictors of delayed gastric emptying in diabetes // *Diabetes Care.* 2001, 24, 1264-1269.

5. Samson M., Vermeijden J. R., Smout A. J. P. M. et al. Prevalence of delayed gastric emptying in diabetic patients and relationship to dyspeptic symptoms: A prospective study in unselected diabetic patients // *Diabetes Care*. 2003, 26, 3116-3122.
6. Vinik A. I., Maser R. E., Mitchell B. D., Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy // *Diabetes Care*. 2003, 26, 1553-1579.
7. Ewing D. J., Boland O., Neilson J. M. et al. Autonomic neuropathy, QT interval lengthening, and unexpected deaths in male diabetic patients // *Diabetologia*. 1991, 34, 182-185.
8. Kempler P., Tesfaye S., Chaturvedi N. et al. Blood pressure response to standing in the diagnosis of autonomic neuropathy: the EURODIAB IDDM Complications Study // *Arch. Physiol. Biochem*. 2001, 109, 215-222.
9. Jermendy G., Davidovits Z., Khoor S. Silent coronary artery disease in diabetic patients with cardiac autonomic neuropathy // *Diabetes Care*. 1994, 17, 1231-1232.
10. Boulton A. J., Vinik A. I., Arezzo J. C. et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association // *Diabetes Care*. 2005, 28, 956-962.
11. Коркушко О. В., Шатило В. Б., Писарук А. В. и др. Анализ variability ритма сердца в клинической практике: 25-летний опыт изучения // Анализ variability ритма сердца в клинической практике: Матер. I междунауч. конф. (Киев, 24-25 октября 2002 года). К.: ИПЦ «Алькон», 2002, 5-20.
12. Коркушко О. В., Шатило В. Б., Писарук А. В. и др. Методы анализа и возрастные нормы variability ритма сердца: Рекомендации рабочей группы Института геронтологии по изучению variability ритма сердца // Анализ variability ритма сердца в клинической практике: Матер. I междунауч. конф. (Киев, 24-25 октября 2002 года). К.: ИПЦ «Алькон», 2002, 193-213.
13. Heart rate variability. Standard of measurement, physiological, and clinical use. Task Force of European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology // *Europ. Heart J*. 1996, 17, 354-381.
14. Хаспекова Н. Б., Мусаева З. А., Тумалаева З. Н. и др. Variability сердечного ритма в исследовании панических атак, нейрогенных обмороков и приступов мигрени // *Архив клин. и эксперим. медицины*. 2000, 1, 173-176.
15. Gaur S., Mathur A., Agarwal A. et al. Diabetic autonomic neuropathy causing gallbladder dysfunction // *J. Assoc. Physicians India*. 2000, 48, 603-605.
16. Asakawa H., Onishi M., Hayashi I. et al. Comparison between coefficient of R-R interval variation and gastric emptying in type 2 diabetes mellitus patients // *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2005, 20, 1358-1364.
17. Huszno B., Trofimiuk M., Placzekiewicz E. et al. Co-occurrence of diabetic gastropathy and cardiovascular vegetative neuropathy in patients with diabetes type 1 // *Folia Med. Cracov*. 2001, 42, 105-111.
18. Dupuy O., Mayaudon H., Le Berre J. et al. Evolution of cardiac and gastric autonomic neuropathies in type 1 diabetes // *Diabetologia*. 2005, 48, Suppl. 1, A 367.

Зависимость клинической симптоматики диабетической энтеропатии от степени поражения автономной нервной системы у больных сахарным диабетом

С. Н. Ткач

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины», г. Киев, 04114, Украина

Диабетическую энтеропатию, являющуюся составной диабетической желудочно-кишечной автономной нейропатии, характеризуют нарушения опорожнения в виде диарей или запоров. Однако причина возникновения различных видов нарушений опорожнения остается недостаточно выясненной. С этой целью изучали состояние автономной нервной системы у 69 больных сахарным диабетом 1 типа (23 пациентов с диабетической диареей, 12 – с хроническими запорами, 34 больных – без нарушений опорожнения) и 40 здоровых лиц того же возраста и пола. Оценивали автономные рефлекторные тесты (ортостатический, глубокого дыхания, коэффициент 30:15, Вальсальвы) и анализировали variability сердечного ритма. По результатам автономных рефлекторных тестов у всех 35 больных с нарушениями опорожнения была диагностирована диабетическая автономная нейропатия, а среди 34 пациентов без этих наруше-

ний – лишь у 3 ($P < 0,01$). По данным спектрального анализа variability ритма сердца у больных с нарушениями опорожнения, в отличие от пациентов без изменений, зарегистрированы ниже нормы показатели мощности низкочастотных (LF) и высокочастотных (HF) колебаний спектра. Кроме того, у больных с диабетической диареей, в отличие от больных с запорами, наблюдался существенно ниже нормы показатель низкочастотного компонента спектра (LFn), был выше показатель высокочастотного компонента спектра в нормализованных единицах (HFn) и был значительно снижен симпато-вагальный индекс (LF/HF). Таким образом, у больных с диабетической энтеропатией наблюдается соответствие клинической симптоматики объективным изменениям автономной нервной системы, при которых хронические запоры являются более ранним признаком диабетической желудочно-кишечной автономной нейропатии, а нарушение опорожнения в виде диареи – более поздним. Хронические запоры, как и диабетическая диарея, наблюдаются на фоне выраженного нарушения состояния автономной нервной системы, которое характеризуется падением тонуса функциональной активности симпатического и парасимпатического отделов автономной нервной системы, церебральных систем вегетативной регуляции. Однако диабетическая диарея возникает тогда, когда имеет место нарушение симпато-парасимпатического баланса со снижением симпатической и относительным повышением парасимпатической активности.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая автономная нейропатия, диабетическая энтеропатия, диабетическая диарея.

Relationship between clinical symptoms of diabetic enteropathy and degree of lesion of autonomous nervous system in diabetes mellitus patients

S. M. Tkach

State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kyiv, 04114, Ukraine

Diabetic enteropathy, being a part of diabetic gastrointestinal autonomic neuropathy, is characterized by evacuation disturbances in the form of diarrhea or constipation. However, the cause of development of various forms of evacuation disturbances still remains unclear. To clear up this issue, the author has conducted a study of autonomic nervous system status in 69 patients with type 1 diabetes mellitus (23 patients with diabetic diarrhea, 12 with chronic constipation, 34 without evacuation disturbances), and 40 healthy subjects of the same age and gender, with evaluation of autonomic reflector tests (orthostatic test, deep breathing, coefficient 30:15, Valsalva) and analysis of heart rate variability. According to the results of autonomic reflector tests, in all of 35 patients with evacuation disturbances a diabetic autonomic neuropathy was diagnosed, and among 34 patients without such disturbances an autonomic neuropathy was detected only in 3 persons ($P < 0.01$). According to a spectral analysis of heart rate variability, patients with evacuation disturbances – unlike patients without any changes – showed decreased indices of power of low-frequency (LF) and high frequency (HF) spectral fluctuations. Besides, patients with diabetic diarrhea – unlike patients with constipation – showed a significantly decreased index of low-frequency spectral component (LFn), an increased high-frequency spectral component in normalized units (HFn), and a significantly decreased sympato-vagal index (LF/HF). Thus, in patients with diabetic enteropathy a relationship between clinical symptoms and objective changes of autonomic nervous system is observed, in the presence of which chronic constipation is an earlier sign of diabetic gastrointestinal autonomic neuropathy, while evacuation disturbances in the form of diarrhea are a later sign. Chronic constipation, as well as diabetic diarrhea, is noted in the presence of a marked disturbance of autonomic nervous system, which is characterized by a decreased tonus of functional activity of sympathetic and parasympathetic sectors of autonomic nervous system and cerebral systems of vegetative regulation. However, diabetic diarrhea develops in the presence of an abnormal sympato-parasympathetic balance with a decreased sympathetic and relatively increased parasympathetic activity.

Key words: diabetes mellitus, diabetic autonomic neuropathy, diabetic enteropathy, diabetic diarrhea.

(Надійшла 24.09.2009)

ВМІСТ ЛЕПТИНУ У КРОВІ ХВОРИХ З ДІАБЕТИЧНОЮ НЕФРОПАТІЄЮ

О. В. Малиновська^{1*}, Б. М. Маньковський²

¹ Головний військовий медичний клінічний центр «ГВКГ»,
м. Київ, 01133;

² Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, м. Київ,
02091, Україна

Вивчався вміст лептину у крові хворих на цукровий діабет 1 та 2 типу з діабетичною нефропатією. Групи хворих відрізнялись між собою за типом цукрового діабету та рівнем виділення білка з сечею. У контрольну групу увійшли 34 пацієнти, які не мали цукрового діабету та будь-якого захворювання нирок. Отримані статистично вірогідні дані щодо збільшення рівня лептину у крові хворих на цукровий діабет 1 та 2 типів з наявністю діабетичної нефропатії у стадії протеїнурії. У хворих на діабет з мікроальбумінурією та без неї рівень лептину у крові також збільшувався порівняно з групою контролю, але лише у хворих на діабет 2 типу це підвищення було статистично вірогідним.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична нефропатія, лептин, мікроальбумінурія, протеїнурія.

Цукровий діабет (ЦД) є однією з основних медико-соціальних проблем сучасного суспільства, передусім, завдяки значній розповсюженості захворювання, частому розвитку ускладнень, які призводять до збільшення інвалідизації, зменшення тривалості життя, підвищення смертності у таких хворих порівняно з показниками в загальній популяції. Одне з найчастіших ускладнень ЦД – діабетична нефропатія (ДН), що є причиною ранньої інвалідизації і підвищеної смертності хворих на ЦД. В США і Західній Європі кожний третій пацієнт з термінальною нирковою недостатністю, який потребує лікування гемодіалізом, хворіє на ЦД [1]. Показник смертності від уремії у хворих на ЦД коливається від 30 до 50 % [2]. Останнім часом продовжуються пошуки нових методів ранньої діагностики ДН.

В літературі з'явилися дані про нові гормони, що можуть мати вплив на розвиток ускладнень ЦД. Лептин – це гормон, який секретується адипоцитами в кров у змінних кількостях і контролює масу жирової тканини шляхом стимуляції обміну ліпідів в організмі. Лептин складається з 167 амінокислот і має молекулярну масу 16 кДа [3]. Адипоцити виділяють лептин у кров прямо пропорційно масі жирової тканини і стану харчування [4,5].

В останні роки було встановлено, що лептин бере участь не тільки в регуляції жирового обміну, але має деякі судинні ефекти. Дослідниками був виявлений пошкоджуючий вплив лептину на внутрішню структуру судинної стінки: зниження релаксації артерій [6], посилення кальцифікації судин [7], потенціювання протромботичної агрегації тромбоцитів [8]. Такі чинники сприяють атеросклеротичному ушкодженню судин і формуванню атеросклеротичної бляшки, в тому числі, і в судинах нирок. Відомо, що у хворих з ожирінням і гіперлептинемією реєструється підвищена частота вогнищового

*Адреса для листування (Correspondence): Головний військовий медичний клінічний центр «ГВКГ», вул. Госпітальна, 18, м. Київ, 01133, Україна

гломерулосклерозу [9]. Однак ці дослідження не можуть однозначно підтвердити, що підвищення рівня лептину має значення в процесах склерозування судин нирок при цукровому діабеті.

Метою роботи було визначення рівня гормону лептину у хворих на цукровий діабет 1 і 2 типів з різними стадіями діабетичної нефропатії.

Матеріали і методи

Ми обстежили 162 пацієнти, з яких 61 був хворий на ЦД 1 типу (21 жінка і 40 чоловіків), а 67 мали ЦД 2 типу (4 жінки і 63 чоловіки). 34 особи увійшли до групи контролю – без захворювань нирок і наявності цукрового діабету. Всі хворі знаходились на стаціонарному та амбулаторному лікуванні в клініці нефрології у палатах для ендокринних хворих Головного військового медичного клінічного центру. Тривалість ЦД була не менш ніж п'ять років з моменту встановлення діагнозу. Всі пацієнти отримували лікування цукрознижувальними препаратами – інсулін або похідні сульфанілсечовини, метформін. У всіх обстежених пацієнтів в тій або іншій мірі виявлялися ускладнення цукрового діабету (ретинопатія, ангіопатія, нейропатія, нефропатія). В даній роботі розглядається прицільно таке ускладнення як діабетична нефропатія.

За критерій розподілу хворих на групи було взято рівень виділення білка з сечею за класифікацією С. Е. Mogensen. У здорових людей екскреція альбуміну з сечею становить менш ніж 30 мг/добу. За відсутності інфекцій сечовивідних шляхів або гострого захворювання, підвищена екскреція альбумінів з сечею відображає патологію клубочкового апарату нирок. Мікроальбумінурією (МАУ) вважається діапазон концентрацій альбумінів у сечі від 30 до 300 мг/добу.

Розглядалися показники чотирьох основних груп (таблиця): контролю, хворих на діабет без збільшення виділення альбуміну з сечею (1-2 стадія ДН), з наявністю МАУ (3 стадія ДН) і з протеїнурією (4-5 стадія ДН).

У вищезазначених категорій хворих визначався рівень лептину у крові. Лептин вимірювався турбодиметричним методом на базі науково-практичного підприємства «МТМ». Отримані результати обстежень оброблені методами варіаційної статистики з використанням пакета статистичної обробки STATISTIKA 5.5 [10]. Вірогідність оцінювали за критерієм Стьюдента. Вірогідність відмінності між даними констатувалась при рівні $P < 0,05$; при рівні $P < 0,1$ фіксувалась тенденція до вірогідності відмінності.

Результати і їх обговорення

Ми знайшли вірогідне підвищення ($P < 0,05$) рівня лептину у крові хворих на ЦД 1 типу без МАУ ($13,98 \pm 2,61$ мг/л) порівняно з групою контролю ($8,17 \pm 0,72$ мг/л). У хворих з наявністю МАУ рівень лептину у крові був майже удвічі вищий ($15,26 \pm 2,75$ мг/л, $P < 0,05$), ніж у контролі. Однак найвиразніше збільшення вмісту лептину у крові відзначалося у групі хворих на ЦД з протеїнурією ($18,1 \pm 2,58$ мг/л), де його рівень більше ніж вдвічі (малюнок) перевищував відповідний показник контрольної групи ($P < 0,001$).

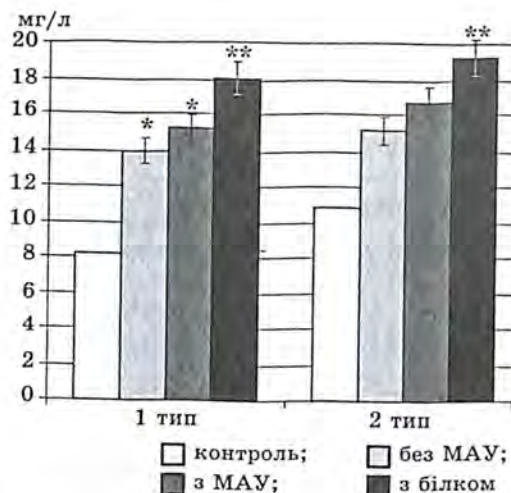
У хворих на ЦД 2 типу рівень лептину у крові в групі обстежених без МАУ ($15,1 \pm 1,82$ мг/л) і в групі з МАУ ($16,79 \pm 2,92$ мг/л) був підвищеним, але це зрушення не було вірогідним порівняно з групою контролю ($10,87 \pm 1,82$ мг/л). У хворих з наявністю протеїнурії вміст лептину у крові ще більше зріс ($19,26 \pm 3,02$ мг/л), і це збільшення уже мало статистичне підтвердження ($P < 0,05$, малюнок).

Вміст лептину у крові не відрізнявся вірогідно між хворими на ЦД з різними ступенями тяжкості ДН, як у хворих на 1 тип, так і 2 тип діабету.

Отримані результати щодо статистично вірогідного збільшення рівня лептину у крові при цукровому діабеті 2 типу в групі пацієнтів з діабетичною нефропатією і протеїнурією відповідають даним літератури [9, 11]. Дослідники

Таблиця. Характеристика обстежених осіб

Група обстежених	Тип ЦД та кількість пацієнтів	Вік (роки)	Тривалість цукрового діабету (роки)	Індекс маси тіла (кг/м ²)	Наявність артеріальної гіпертензії (% хворих)	Наявність ІХС (% хворих)	Наявність ангіопатії, ретинопатії (% хворих)	Фруктозамін (ммоль/л)
Контрольні особи	Молодого віку, n=17	38,3±3,65	-	23,7±0,72	22,5±2,4	5,6±1,2	-	116±15,8
	Літнього віку, n=17	65,7±3,88	-	28,7±1,08	86,5±7,3	100	-	152±18,2
1-2 ст. ДН	1 тип, n=20	36,4±2,4	13,2±2,14	23,9±0,86	35,0±10,6	40,0±10,9	10,0±6,7	368,3±19,2
	2 тип, n=27	56,1±2,9	7,4±0,9	28,6±0,8	81,5±7,4	88,9±6,0	43,3±9,5	330,8±17,6
3 ст. ДН	1 тип, n=19	40,7±3,01	15±1,8	25,8±1,08	52,6±11,4	52,6±11,4	36,8±8,3	341,4±21,8
	2 тип, n=22	58,2±2,03	12,9±1,56	29,7±1,1	86,4±7,3	95,5±4,4	59±13,8	386,1±24,6
4-5 ст. ДН	1 тип, n=22	42,5±3,4	17,8±1,92	26,1±0,73	48	51	45,4±15,7	376,2±17,2
	2 тип, n=18	67,5±1,57	16,4±1,52	28,6±0,9	100	100	72,2±12,4	334,1±18,7



Малюнок. Рівень лептину у крові (мг/л) хворих на цукровий діабет з різними стадіями діабетичної нефропатії.

Примітка: порівняно з групою контролю різниця вірогідна: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,001$.

наводять переконливі свідчення про збільшення частоти ниркових захворювань (які супроводжуються гломерулосклерозом) у хворих з ожирінням навіть без наявності цукрового діабету [12], наростання швидкості їх прогресування [12, 13]. В нашій роботі, не дивлячись на наявність підвищеної маси тіла у всіх хворих на ЦД 2 типу незалежно від стадії ДН (ІМТ знаходився в межах 27,9-30,8 кг/м²), рівень лептину вірогідно був збільшений порівняно з групою контролю тільки у хворих з протеїнурією. Це вказує на те, що рівень лептину пов'язаний не тільки з часткою жирової маси у людини, але і з функцією нирок.

За даними Z. Wang і співавторів [11], в судинах нирок мишей знайдено значну експресію ліпід-регуляторних білків SREBP-1 і -2, що відіграють важливу роль в регуляції обміну жирних кислот, тригліцеридів, лептину, синтезі холестерину. Виявлений взаємозв'язок у внутрішньоклітинній передачі сигналів лептину і інсуліну (реакція з IRS-I і IRS-II). Ці дослідження дозволяють припускати, що вищезгадані рецептори залучені у розвиток ліпід-

асоційованих ниркових захворювань: гломерулосклерозу, тубулоінтерстиціального фіброзу і протеїнурії у мишей з цукровим діабетом 2 типу.

У хворих на ЦД 1 типу отримані дещо інші дані: уже в групах пацієнтів без МАУ і з МАУ рівень лептину вірогідно збільшувався порівняно з групою контролю, а в групі з протеїнурією підвищення було ще вищим. Ці розбіжності можуть вказувати на те, що роль лептину у прогресуванні ДН у хворих на ЦД 1 та 2 типів не є тотожною.

За даними літератури, лептин має виражену дію на судини, беручи участь в регуляції симпатичного тонуусу і артеріального тиску [14]. Лептин також стимулює проліферацію ендотеліальних клітин клубочків і активує механізми, відповідальні за продукування позаклітинного матрикса, а саме – колагену типу IV [15]. Збільшення відкладання колагену і ушкодження ендотеліальних клітин може призвести до гломерулосклерозу, протеїнурії і хронічної ниркової недостатності. У пацієнтів з захворюваннями нирок і особливо при хронічній нирковій недостатності рівень лептину в крові підвищується [16]. Є дослідження [6-8], в яких показано, що атеросклеротичні процеси в судинах нирок навіть у молодих людей без наявності ожиріння можуть прогресувати, і припускається роль у цьому процесі гіперлептинемії.

Таким чином, ми знайшли підвищення рівня лептину у крові хворих на ЦД, яке найбільше виражене за наявності у пацієнтів протеїнурії, що може свідчити про можливу роль порушень продукції лептину у прогресуванні ДН.

Література

1. Акбаров З.С., Касимов У. А., Шамансурова З. М. Диабетическая нефропатия: диагностика, лечение, профилактика. Ташкент, 2000. 24 с.
2. Mogyoros A., Ziadech F. N. Diabetic nephropathy. Textbook of Nephrology. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 2001, 874-895.
3. Kershau E. S., Flier J. S. Adipose tissue as an endocrine organ // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2004, 89, N 6, 2548-2556.
4. Wiecek A., Kokot F., Chudek J., Adamczak M. The adipose tissue – a novel endocrine organ of interest to the nephrologists // Nephrol. Dial. Transplant. 2002, 17, N 2, 191-195.
5. Ahima R. S., Flier J. S. Leptin // Annu Rev. Physiol. 2000, 62, 413-437.
6. Singhal A., Farooqi I. S., Cole T. J. et al. Influence of leptin on arterial distensibility: a novel link between obesity and cardiovascular disease? // Circulation. 2002, 106, 1919-1924.
7. Parhami F., Tintut Y., Ballard A. et al. Leptin enhances the calcification of vascular cells: artery wall as a target of leptin // Circ. Res. 2001, 88, 954-960.
8. Konstantinides S., Schafer K., Kaschnik S., Zoskutoff D. J. Leptin-dependent platelet aggregation and arterial thrombosis suggests a mechanism for atherothrombotic disease in obesity // J. Clin. Invest. 2001, N 8, 1533-1540.
9. Kasiske B. L., Crosson T. Renal disease in patients with massive obesity // Arch. Intern. Med. 1986, 146, 1105-1109.
10. Боровиков В. СТАТИСТИКА: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. СПб.: Питер, 2001. 656 с.
11. Wang Z., Jiang T., Li J. et al. Leptin // J. Diabetes. 2005, 54, N 8, 2328-2335.
12. Bonnet F., Deprele C., Sassolas A. et al. Excessive body weight as a new independent risk factor for clinical and pathological progression in primary IgA nephritis // Am. Kidney Dis. 2001, 37, 720-727.
13. Kambham N., Markowitz G. S., Valeri A. M. Obesity-related glomerulopathy: an emerging epidemic // Kidney Int. 2001, 59, 1498-1509.

14. Hayness W. G., Morgan D. A., Walsh S. A. et al. Receptor mediated regional sympathetic nerve activation by leptin // *J. Clin. Invest.* 1997, **100**, 270-278.
15. Wolf G., Hamann A., Han D. C. et al. Leptin stimulates proliferation and TGF-1 expression in renal glomerular endothelial cells: potential role in glomerulosclerosis // *Kidney Int.* 1999, **56**, N 3, 860-872.
16. Kobot F., Chudek J., Adamczak M., Wiecek A. Interrelationship between plasma leptin concentration and severity of metabolic acidosis in hemodialysed patients with chronic renal failure // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2001, **109**, N 7, 370-373.

Содержание лептина в крови у больных с диабетической нефропатией

О. В. Малиновская¹, Б. Н. Маньковский²

¹ *Главный военный медицинский клинический центр «ГВКГ», г. Киев, 01133;*

² *Украинский научно-практический Центр эндокринной хирургии, трансплантации эндокринных органов и тканей МОЗ Украины, г. Киев, 02091, Украина*

Определялся уровень лептина в крови у больных сахарным диабетом 1 и 2 типов с наличием диабетической нефропатии. Группы больных отличались между собой по уровню выделения белка с мочой, по типу сахарного диабета (СД). Контрольную группу составили 34 пациента, которые не страдали СД и каким-либо заболеванием почек.

Получены статистически достоверные данные об увеличении уровня лептина у больных СД 1 и 2 типов с наличием диабетической нефропатии в стадии протеинурии. У больных СД без наличия микроальбуминурии и с ней уровень лептина также увеличивался по сравнению с группой контроля, но только у больных с 2 типом СД это увеличение было статистически достоверным.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая нефропатия, лептин, микроальбуминурия, протеинурия.

Maintenance of leptin level in patients with diabetic nephropathy

O. V. Malinovska¹, B. M. Mankovsky²

¹ *Main Military Medical Clinical Centre «MMCH», Kyiv, 01133;*

² *Ukrainian Scientific-Practical Centre of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 02091; Ukraine*

The level of leptin in blood in patients with types 1 and 2 of diabetes mellitus (DM) and diabetic nephropathy was determined. Groups of patients differed among themselves by the level of proteinuria, by DM type. The control group comprised 34 patients without DM or any disease of kidneys. Statistically authentic data about level of leptin increase were obtained in types 1 and 2 DM patients with diabetic nephropathy at a stage of proteinuria. In patients without microalbuminuria and with it the level of leptin also increased compared with control group, but only in patients with type 2 DM this increase was statistically authentic.

Key words: diabetes mellitus, diabetic nephropathy, leptin, microalbuminuria, proteinuria.

(Надійшла 2.07.2009)

ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ, ЩО ЗНИЖУЮТЬ ГЛІКЕМІЮ, НА ВМІСТ ГОМОЦИСТЕЇНУ У КРОВІ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СТАТІ

*В. В. Корпачев, А. В. Ковальчук *, Н. М. Кушнарьова*

*Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України», м. Київ, 04114, Україна*

Досліджено статеві особливості впливу препаратів, що знижують глікемію, на вміст гомоцистеїну та фолієвої кислоти в крові 77 хворих на цукровий діабет 2 типу. Встановлено, що на тлі нормального рівня фолієвої кислоти в крові показники гомоцистеїнемії вищі у чоловіків, хворих на ЦД 2 типу, ніж у жінок ($13,55 \pm 0,83$ мкмоль/л проти $10,76 \pm 0,4$ мкмоль/л, $P=0,008$). Статева відмінність у рівні гіпергомоцистеїнемії зберігається серед пацієнтів, які приймають препарати сульфонілсечовини. Припускається негативний вплив похідних сульфонілсечовини на вміст гомоцистеїну в плазмі крові пацієнтів.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, стать, гомоцистеїн, похідні сульфонілсечовини, метформін.

Гомоцистеїн, або (2S)-2-аміно-4-сульфаніл-бутанольна кислота, є гомологом амінокислоти цистеїну, що відрізняється від неї наявністю додаткової метиленової групи (CH_2 -), завдяки чому його молекула може утворювати п'ятичленне кільце – гомоцистеїну тіолактон. Реакція запобігає утворенню стабільних пептидних зв'язків. Внаслідок цього білок, в структурі якого наявний гомоцистеїн, має тенденцію до саморозпаду.

Вміст загального гомоцистеїну в плазмі крові здорової людини становить 5-12 мкмоль/л. Нижчий рівень гомоцистеїну у жінок (у середньому на 2 мкмоль/л у віці після 40 років), порівняно з чоловіками, може бути частково зумовлений гормональними відмінностями, тому що у жінок існує вірогідний зворотний кореляційний зв'язок між рівнями гомоцистеїну та естрадіолу у постменопаузі [1], а частково – різницею у стилі життя (більш правильний режим та раціон харчування).

З чим же пов'язаний підвищений рівень гомоцистеїну у плазмі крові?

Загалом, гіпергомоцистеїнемія може бути зумовлена вродженими дефектами ферментів, що беруть участь у його метаболізмі шляхами деметилювання та транссульфування (найчастіше виявляється в молодому віці); порушенням функції нирок; дією різноманітних лікарських препаратів, зловживанням курінням, алкоголем. Важлива роль в обміні гомоцистеїну належить фолієвій кислоті, вітамінам B_2 , B_6 та B_{12} . У проведених епідеміологічних дослідженнях найсильніший зворотний зв'язок був виявлений між концентраціями гомоцистеїну та фолатів [2]. Тобто, нестача фолієвої кислоти спричиняє нестачу метильних груп, що закономірно викликає порушення реметилювання гомоцистеїну, результатом чого є гіпергомоцистеїнемія [3, 4].

Останнім часом збільшений рівень гомоцистеїну в крові розглядається як незалежний чинник розвитку серцево-судинних захворювань [5, 6].

*Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», вул. Вишгородська 69, м. Київ, 04114, Україна; e-mail: alla.kovalchuk@i.ua

Біохімічним підґрунтям цього є здатність гомоцистеїну деградувати та пригнічувати утворення трьох основних структурних компонентів артеріальної стінки – колагену, еластину та протеогліканів [1]. Вищі рівні гомоцистеїну, навіть у фізіологічних межах, розглядаються як головний чинник, що визначає зниження спадкової тривалості життя у чоловіків [7].

Вміст гомоцистеїну у плазмі крові більшої частини хворих на цукровий діабет (ЦД) вищий, ніж у здорових осіб, і асоціюється зі смертністю від серцево-судинної патології [8, 9]. Припускають, що однією з причин гіпергомоцистеїнемії при цукровому діабеті є гіперглікемія, яка сприяє втраті організмом вітамінів групи В, що відіграють важливу роль в обміні гомоцистеїну. Проте остаточний механізм зв'язку між збільшенням частоти серцево-судинних ускладнень і вмістом гомоцистеїну в крові хворих на ЦД 2 типу невідомий. Нечисленні публікації стосовно гомоцистеїнемії при ЦД здебільшого пов'язані із застосуванням метформіну; щодо інших препаратів, що знижують глікемію (ПЗГ), дані відсутні.

Метою дослідження було вивчення залежності вмісту гомоцистеїну та фолієвої кислоти від статі, виду ПЗГ та стану компенсації хворих на ЦД 2 типу.

Матеріали та методи

Дослідження базується на клінічних та лабораторних даних, отриманих при обстеженні 77 пацієнтів з ЦД 2 типу, з них – 36 чоловіків (середній вік – $54,35 \pm 1,47$ років) та 41 жінка в стані фізіологічного або хірургічного клімаксу (середній вік – $57,76 \pm 1,01$ років). Стан клімаксу у жінок розцінювався як чинник, що запобігає впливу різного рівня статевих гормонів на тлі менструального циклу на концентрацію гомоцистеїну в крові. Пацієнти були розподілені за статевою ознакою, а у подальшому ці групи поділялись за видом ПЗГ: дієтотерапія (група «позитивного» контролю), метформін, похідні сульфонілсечовини (ПС) – гліклазид, глімепірид, комбінована терапія – ПС та метформін, ПС у поєднанні з інсуліном. Згідно з Міжнародним Кодексом медичної етики клінічне дослідження проводилось після отримання інформованої згоди кожного пацієнта.

Вміст гомоцистеїну визначали за принципом хемілюмінісцентного імунологічного аналізу з використанням парамагнітних часток при допомозі імуноаналізатора «Immulite», фолієву кислоту – імуноферментним методом «Axis Shield» (Велика Британія). Глікозильований гемоглобін (HbA1c) оцінювали методом іонообмінної хроматографії-спектрофотометрії «BioSystems».

Статистичне опрацювання матеріалу проведене за допомогою варіаційної статистики з використанням стандартних пакетів статистичних розрахунків Origin 7.0. Для порівняння середніх абсолютних величин в досліджуваних групах застосовувався параметричний критерій Стьюдента для незалежних та парних вибірок. Різниця вважалась вірогідною за умови величини показника $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Ми встановили, що вміст гомоцистеїну у плазмі крові хворих на ЦД 2 типу залежить від статі, і у чоловіків вірогідно вищий, ніж у жінок. При цьому вміст гомоцистеїну не залежав від рівнів фолієвої кислоти та глікозильованого гемоглобіну у крові, що були майже однаковими в групах пацієнтів, поділених за ознакою статі (табл. 1).

Оскільки більшість пацієнтів лікувалася ПЗГ, ми здійснили спробу визначити їх можливу роль у підвищенні вмісту гомоцистеїну в залежності від статі. Так, встановлено, що серед чоловіків вірогідно вищим є рівень гомоцистеїну у хворих, які отримують монотерапію ПС і у поєднанні з метформіном, порівняно з тими, хто застосовує монотерапію метформіном ($P = 0,028$),

чи не приймає будь-яких ПЗГ (група «позитивного контролю», $P=0,081$). При цьому зберігалася статевая розбіжність – вірогідно вищий рівень гомоцистеїну у чоловіків, що одержують комбіновану терапію, яка містить ПС (гліклазид, глімепірид) порівняно з жінками (табл. 2). Але вміст гомоцистеїну у крові не залежав від стану компенсації цукрового діабету 2 типу при застосуванні різних видів ПЗГ (табл. 3).

Таблиця 1. Вміст гомоцистеїну, фолієвої кислоти, HbA1c у крові хворих на ЦД 2 типу в залежності від статі

Група пацієнтів	Показники		
	Гомоцистеїн (мкмоль/л)	Фолієва кислота (нг/мл)	HbA1c (%)
Чоловіки (n=36)	13,55 ±0,83	6,21 ±0,52	8,85 ±0,34
Жінки (n=41)	10,76 ±0,4	7,04 ±0,7	8,98 ±0,46
P	0,008	0,34	0,82

Примітка. В усіх таблицях: P – вірогідність різниці показників між групами чоловіків та жінок.

Таблиця 2. Вміст гомоцистеїну (мкмоль/л) у плазмі крові хворих на ЦД 2 типу в залежності від статі та виду ПЗГ

Група пацієнтів з ЦД 2 типу	Лікування, що знижує глікемію				
	Дієтотерапія	Метформін	ПС	ПС та метформін	ПС та інсулін
Чоловіки	12,26±1,14 (n=9)	10,11±1,57 (n=5)	15,24±2,18 (n=9)	5,54±1,39 (n=8)	13,8±1,17 (n=5)
Жінки	10,19±0,95 (n=6)	11,09±1,05 (n=6)	12,18±0,76 (n=13)	9,86±0,68 (n=11)	8,92±0,83 (n=5)
P	0,23	0,6	0,14	<0,001	0,027

Таблиця 3. Вміст HbA1c (%) у чоловіків та жінок в залежності від виду ПЗГ

Група пацієнтів з ЦД 2 типу	Лікування, що знижує глікемію				
	Дієтотерапія	Метформін	ПС	ПС та метформін	ПС та інсулін
Чоловіки	9,22±0,97 (n=9)	8,35±1,08 (n=5)	8,7±0,48 (n=9)	8,9±0,44 (n=8)	9,93±0,68 (n=5)
Жінки	9,43±1,44 (n=6)	7,16±0,18 (n=6)	8,2±1,78 (n=13)	10,35±0,76 (n=11)	9,1±0,97 (n=5)
P	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

В той же час рівень фолієвої кислоти у групах чоловіків та жінок, що приймали ПЗГ, суттєво не відрізнявся (5,68±1,13 нг/мл проти 6,81±1,09 нг/мл, $P=0,51$).

Поодинокі публікації оглядового характеру без клінічного матеріалу вказують на те, що ПЗГ, зокрема ПС, мають доведені або потенційні ризики серцево-судинних ускладнень і, більш того, ці ризики є не «побічною дією»,

а глибоко вкорінені в механізми дії даних ліків [10]. Показано, що дисфункція міокарда, викликана введенням дипіридамолу, є більш загрозливою у хворих на ЦД при лікуванні ПС, ніж інсуліном [13].

На противагу нашим даним, в деяких вітчизняних публікаціях стверджується нормогомоцистеїнемія у хворих на ЦД 2 типу, незважаючи на наявність атерогенних метаболічних зсувів і підвищеного рівня інсулінорезистентності [11, 12]. Проте це може свідчити про залежність гіпергомоцистеїнемії від інших чинників, наприклад, статевої належності або впливу ПЗГ, що досліджувались нами.

В поодиноких роботах, в яких розглядався вплив метформіну на вміст гомоцистеїну, встановлено, що прийом метформіну призводить до підвищення вмісту гомоцистеїну на 4 % поряд зі зниженням рівнів вітаміну B_{12} та фолатів [14]. Однак при прийомі метформіну знижувались рівні фолієвої кислоти та вітаміну B_{12} , що й спричиняло незначне підвищення рівня гомоцистеїну. В той же час у нашому дослідженні, ми не знайшли підвищення вмісту гомоцистеїну у хворих, які лікувались метформіном, ймовірно, за відсутності дефіциту фолатів. Разом з тим, в інших роботах показано, що метформін не спричиняє ніякого впливу на рівень гомоцистеїну [15], а глімепірид знижує рівень гомоцистеїну у пацієнтів, які хворіли на ЦД 2 типу менше 6 міс та не мали супутніх серцево-судинних захворювань. Автори пов'язують такий ефект з покращенням метаболізму глюкози, проте не можна виключити того, що дані препарати можуть мати прямий вплив на додаткові метаболічні параметри [16].

G. Derosa та співавт. [17] відмічали зниження рівня гомоцистеїну при комбінованій терапії глімепіридом і піоглітазоном на 20,2 %, глімепіридом і розиглітазоном – на 25,0 %, що може бути наслідком поліпшення глікемічного контролю (зниження рівнів HbA_{1c} , глікемії натще та після їжі). Наші ж пацієнти знаходились в стані декомпенсації.

Разом з тим, в жодному зі знайдених наукових джерел не враховується модулюючий вплив статевих гормонів на рівень гомоцистеїну на тлі застосування різних видів ПЗГ. Хоча є дані, якими встановлено зв'язок між поліморфізмом гена бета-естрогенового рецептора та підвищеним рівнем гомоцистеїну у здорових жінок в постменопаузі [18].

Ми вважаємо, що прийом комбінованої (ПС та метформін) терапії у чоловіків чинить адитивний ефект, порівняно з жінками, на збільшення вмісту гомоцистеїну, яке може спричиняти вищу частоту серцево-судинних ускладнень у них.

У пацієнтів групи «позитивного контролю», які застосовували дієтотерапію, вміст гомоцистеїну у крові знаходився біля верхньої межі референтних величин. У випадках призначення метформіну рівень гомоцистеїну є нижчим, що свідчить про позитивний вплив його на серцево-судинну систему. Це узгоджується з даними літератури про сприятливу дію метформіну на ендотелій судин, посилення фібринолізу та пригнічення тромбоутворення [19, 20].

У хворих, які приймали ПС в комбінації з інсуліном, рівень гомоцистеїну у чоловіків знаходився вище верхньої межі референтних величин, а у жінок – в нормальних межах, з вірогідною різницею за статевою належністю. Відомо, що у хворих на ЦД 2 типу моноінсулінотерапія чи її комбінація з ПЗГ призначається після багатьох років захворювання, часто декомпенсованого, яке закономірно супроводжується появою макро- та мікроангіопатій. Очевидно, для запобігання збільшенню вмісту гомоцистеїну в крові та подальшому розвитку серцево-судинних ускладнень доцільно застосовувати інсулінотерапію на більш ранніх етапах лікування.

Визначення вмісту гомоцистеїну у крові груп хворих, розподілених за статтю та видом терапії, що знижує глікемію, є важливим для призначення найбільш адекватного і своєчасного лікування та прогнозування можливих серцево-судинних ускладнень у конкретної категорії хворих.

Висновки

1. У пацієнтів з ЦД 2 типу встановлено статистично вірогідну різницю вмісту гомоцистеїну у плазмі крові в залежності від статі. Виявлено підвищення гомоцистеїнемії у чоловіків, порівняно з жінками, незалежно від насиченості фолатами та рівня компенсації вуглеводного обміну.

2. Серед чоловіків, хворих на ЦД 2 типу, найвищим є рівень гомоцистеїну в осіб, що приймають похідні сульфонілсечовини.

Література

1. Шевченко О. П., Олефиренко Г. А., Червякова Н. В. Гомоцистеин. М., 2002. 47 с.
2. Gravo M. L., Gloria L. M., Selhub J. et al. Hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism: correlation with folate, vitamin B-12, and vitamin B-6 status // *Am. J. Clin. Nutr.* 1996, 63, N 2, 220-224.
3. Ubbink J. B., Hayward Vermaak W. J. H., van der Merwe A., Becker P. J. Vitamin B-12, vitamin B-6, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia // *Am. J. Clin. Nutr.* 1994, 57, 47-49.
4. Selhub J., Jacques P. F., Wilson P. W. F. et al. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population // *JAMA.* 1993, 270, 2693-2698.
5. Audelin M. C., Genest J. R. Homocysteine and cardiovascular disease in diabetes mellitus // *Atherosclerosis.* 2001, 159, 497-511.
6. Boushey B. S., Beresford S. A., Omenn G. S. et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk for vascular diseases: probable benefits of increasing folic acid intakes // *JAMA.* 1995, 274, 1049-1057.
7. Ugalde A., Fabregate M., Fabregate R. et al. Homocysteine levels seem to be the main factor determining familial longevity // *Diabetologia.* 2006, 49, 713-714.
8. Hoogeveen E. K., Kostense P. J., Beks P. J. et al. Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin-dependent diabetes mellitus: a population-based study // *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.* 1998, 18, N 2, 133-138.
9. Soinio M., Marniemi J., Laakso M. et al. Elevated plasma homocysteine level is an independent predictor of coronary heart disease events in patients with type 2 diabetes mellitus // *Ann. Intern. Med.* 2004, 140, N 2, 94-100.
10. Fisman E. Z., Motro M., Tenenbaum A. Non-insulin antidiabetic therapy in cardiac patients: current problems and future prospects // *Adv. Cardiol.* 2008, 45, 154-170.
11. Горшунська М. Ю., Караченцев Ю. І., Красова Н. С. Мінорне значення гомоцистеїнемії в якості чинника ризику атерогенезу у інсулінорезистентних хворих на ЦД 2 типу за відсутності ниркової недостатності // *Ендокринологія.* 2006, 11, № 2, 154-163.
12. Халангот Н. Д., Гринь В. К., Высоцкая В. О. и др. Содержание гомоцистеина в плазме крови больных с сердечно-сосудистой патологией и сахарным диабетом 2 типа: возможный синергизм факторов риска // *Ендокринологія.* 2007, 12, № 2, 262-270.
13. Scognamiglio R., Avogaro A., Kreutzenberg S. V. et al. Effects of treatment with sulfonylurea drugs or insulin on ischemia-induced myocardial dysfunction in type 2 diabetes // *Diabetes.* 2002, 51, 808-812.
14. Wulffel M. G., Kooy A., Lehert E. et al. Effects of short-term treatment with metformin on serum concentrations of homocysteine, folate and vitamin B₁₂ in type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled trial // *J. Inter. Med.* 2003, 254, N 5, 455-463.

15. Essais O., Bouzid C., Ouni Z. et al. Factors influencing homocysteineamia in type 2 diabetic patients // *Tunis Med.* 2006, 84, N 5, 279-281.
16. Derosa G., Franzetti I., Gadaletta J. et al. Metabolic variations with antidiabetic drugs in patients with Type 2 diabetes: comparison between glimepiride and metformin // *Diabetes Nutr. Metab.* 2004, 17, N 3, 143-150.
17. Derosa G., Cicero A., D'Angela A. et al. Effects of 1 year of treatment with pioglitazone or rosiglitazone added to glimepiride on lipoprotein (a) and homocysteine concentrations in patients with type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome: a multicenter, randomized, double-blind, controlled clinical trial // *Clin. Ther.* 2006, 28, N 5, 679-688.
18. Reimann M., Vafeiadou K., Hall W. L. et al. Evidence for associations between common polymorphisms of estrogen receptor beta gene with homocysteine and nitric oxide // *Climacteric.* 2006, 9, N 3, 215-223.
19. Балаболкин М. И., Креминская В. М., Клебанова Е. М. Бигуаниды: их антигипергликемическое и вазопротективное действие // *Здоров'я України.* 2006, № 14/1 (додатковий), 26-27.
20. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group [published erratum appears in *Lancet* 352:1557, 1998] // *Lancet.* 1998, 352, 854-865.

Влияние препаратов, снижающих гликемию, на содержание гомоцистеина в крови больных сахарным диабетом 2 типа в зависимости от пола

В. В. Корпачев, А. В. Ковальчук, Н. М. Кушнарёва

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины», г. Киев, 04114, Украина

Изучены особенности воздействия гипогликемизирующей терапии на содержание гомоцистеина и фолиевой кислоты в крови 77 больных сахарным диабетом 2 типа в зависимости от пола. Установлено, что на фоне нормального уровня фолиевой кислоты в крови показатели гомоцистеинемии выше у мужчин с сахарным диабетом 2 типа по сравнению с женщинами ($13,55 \pm 0,83$ мкмоль/л против $10,76 \pm 0,4$ мкмоль/л, $P=0,008$). Половые различия в уровне гомоцистеинемии сохраняются среди пациентов, принимающих препараты сульфонилмочевины. Предполагается негативное воздействие производных сульфонилмочевины на содержание гомоцистеина в плазме крови пациентов.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, пол, гомоцистеин, производные сульфонилмочевины.

Hypoglycemic therapy impact on blood homocysteine level in patients with type 2 diabetes mellitus depending on gender

V. V. Korpachev, A. V. Kovalchuk, N. M. Kushnareva

State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kyiv, 04114, Ukraine

Gender features of hypoglycemic therapy impact on blood homocysteine and folic acid levels were investigated in 77 patients with type 2 diabetes mellitus. Homocysteine level in males was significantly higher in males than in females among patients with type 2 diabetes mellitus in the presence of a normal blood folic acid level ($13,55 \pm 0,83$ $\mu\text{mol/l}$ vs $10,76 \pm 0,4$ $\mu\text{mol/l}$, $P=0,008$). The gender difference in hyperhomocysteinemia level retains in patients receiving sulfonylurea medications. A negative impact of sulfonylurea derivatives on blood plasma homocysteine level is suspected in patients.

Key words: type 2 diabetes mellitus, gender, homocysteine, sulfonylurea derivatives, metformin.

(Надійшла 13.07.2009)

ПОЛИМОРФИЗМ С1858Т ГЕНА *PTPN22* И ЛАТЕНТНЫЙ АУТОИММУННЫЙ САХАРНЫЙ ДИАБЕТ ВЗРОСЛЫХ

С. А. Штандель¹, Т. М. Тихонова¹, М. И. Федец², И. Р. Бариляк³

¹ Государственное учреждение «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского АМН Украины», г. Харьков, 61002, Украина;

² Институт паразитологии и биомедицины, г. Гранада, Испания;

³ Научный центр радиационной медицины АМН Украины, г. Киев, 04050, Украина

Единичный нуклеотидный полиморфизм С1858Т гена *PTPN22* изучен у 253 здоровых жителей г. Харькова, у 70 больных латентным аутоиммунным сахарным диабетом взрослых (LADA), у 333 больных сахарным диабетом 1 типа и 65 – 2 типа. Показано, что, как и для сахарного диабета 1 типа, полиморфизм С1858Т гена тирозинфосфатазы *PTPN22* играет важную роль в наследственной предрасположенности к LADA в харьковской популяции; также выявлена более выраженная, чем при сахарном диабете 1 типа, ассоциация исследуемого полиморфизма.

Ключевые слова: единичный нуклеотидный полиморфизм С1858Т гена *PTPN22*, латентный аутоиммунный сахарный диабет взрослых (LADA), сахарный диабет 1 и 2 типа.

В настоящее время активно изучается вероятность участия локуса гена *PTPN22* в отрицательном контроле активации и развития Т-лимфоцитов. Ген *PTPN22* (protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22) картирован на 1p13.3–p13.1 хромосоме. Этот ген кодирует лимфоид-специфическую фосфатазу LYP, супрессирующую активацию Т-лимфоцитов. Кроме того, LYP связывается с молекулой Grb2 (growth factor receptor-bound protein 2), что и определяет негативную регуляторную роль в сигнальной функции Т-клеток [1-3]. Активация Т-клеток происходит через стимуляцию комплекса Т-рецептора (TCR/CD3). Распознавание Т-рецептором комплекса антиген-МНС-молекула и связывание костимулирующих молекул вызывают передачу сигнала внутрь Т-клеток. Первый внутриклеточный этап сигнализации состоит в фосфорилировании тирозина с участием тирозинкиназ семейства *src*, в частности *Isk*, ассоциированной с CD4 и *fun*; обе они фосфорилируют последовательности-мишени, обнаруженные в ζ -цепи CD3, а также в молекулах Ig α , Ig β и Fc γ R (иммунорецепторные тирозин-активируемые мотивы – ITAM). Тирозинкиназа ZAP-70 связывается с ITAM и активизируется, в свою очередь, активируя фосфолипазу С и тем самым открывая классический путь сигнализации. Сигналы от TCR и CD28 интегрируются, активируя цитоплазматические факторы транскрипции, такие как NF-AT или NF-kB, которые после этого мигрируют в ядро. Здесь они действуют на гены, необходимые для Т-клеточной активации, включая гены ИЛ-2 и рецептора ИЛ-2. Продуцируемый в результате этой активации ИЛ-2, связываясь со своим рецептором, вызывает деление клеток. Полиморфизм С1858Т обуславливает замену аргинина на триптофан в 620 кодоне SH3-области белка. Два варианта гена

*Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України», вул. Артема, 10, м. Харків, 61002, Україна

PTPN22 – C1858 и T1858 отличаются в важной части аминокислотной последовательности, отвечающей за ассоциацию LYP с Csk-киназой (негативная регуляция). При замене аргинина на триптофан в 620 положении (аллель T1858) не обеспечивается связь с Csk-киназой. Это и определяет склонность к аутоиммунным заболеваниям, в частности, к сахарному диабету (СД) 1 типа [4-7].

В основе развития СД 1 типа и латентного аутоиммунного диабета взрослых (Latent autoimmune diabetes of the adults – LADA) лежат различные патогенетические процессы, общими для которых являются аутоиммунные нарушения. Клиническая манифестация LADA протекает аналогично СД 2 типа, преимущественно в возрасте от 25 до 50 лет [8]. По мере развития патологического процесса (в среднем от 6 мес до 6 лет после диагностирования заболевания) на фоне проводимой сахароснижающей сульфаниламидотерапии ухудшаются показатели гликемического контроля, и возникает необходимость в переводе больных на инсулин [8]. Доказано, что генетическая предрасположенность к СД 1 типа связана с определенными генами системы HLA, тогда как при СД 2 типа этой связи не обнаружено. Определенные ассоциации с этими антигенами найдены и для LADA. Результаты UKPDS выявили ассоциацию между LADA и присутствием предрасполагающих к развитию СД 1 типа HLA-антигенов типа DRB1*03/ DRB1*04-DQB1*0302 [9].

На сегодняшний день известно, что полиморфизм C1858T гена *PTPN22* ассоциирован с СД 1 типа во многих популяциях: в украинской [10], итальянской [11], шведской и финской [12]. В связи с этим имело смысл исследовать возможную ассоциацию полиморфизма C1858T гена *PTPN22* с LADA и СД 2 типа в харьковской популяции, что и явилось целью настоящей работы.

Материалы и методы

Определение полиморфизма C1858T гена *PTPN22* проведено у 333 больных СД 1 типа, 65 пациентов с СД 2 типа, 70 лиц с LADA и 253 здоровых жителей г. Харькова. Характеристика обследованных лиц представлена в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика обследованных лиц

Показатель	Контроль	СД 1 типа	СД 2 типа	LADA
Количество обследованных	253	333	65	70
Возраст пациентов на момент обследования ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), лет	35,40 \pm 0,90	37,10 \pm 0,70	53,94 \pm 0,47	52,19 \pm 1,45
Время манифестации СД у больных ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), лет	—	24,83 \pm 0,75	44,53 \pm 0,51	45,80 \pm 1,34
Возраст пациентов при назначении инсулинотерапии ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), лет	—	24,83 \pm 0,75	53,14 \pm 0,81	48,06 \pm 1,37
Длительность эффективной пероральной сахароснижающей терапии ($\bar{x} \pm S\bar{x}$), лет	—	—	10,48 \pm 0,43	2,57 \pm 0,32

Диагнозы СД 1 и 2 типа устанавливались по общепринятым клинико-лабораторным критериям, а диагноз LADA ставился больным с торпидной манифестацией заболевания, кратковременной и/или нестойкой компенсацией углеводного обмена на фоне приема пероральных сахароснижающих средств и развития инсулинозависимости в ранние (до 6 лет) сроки от начала заболевания. Диагностирование LADA

осуществлялось путем определения антител к цитоплазматическому антигену островков Лангерганса (ICA ab) с использованием набора «Qualitative ELISA» (Test for the detection of circulating autoantibodies against islet cell antigens), антител к декобоксилазе глутаминовой кислоты (GAD ab) – с помощью набора «Qualitative ELISA» (Test for the detection of circulating autoantibodies against GAD antigens) и антител к тирозинфосфатазе (IA-2A ab) – с использованием набора «Qualitative ELISA» (Test for the detection of circulating autoantibodies against IA-2A). Титр антител считали положительным, если оптическая плотность для GAD ab была больше 1,05, для ICA ab – больше 0,23 и для IA-2A ab – больше 0,13. Наличие у больных одного и более вида антител в сочетании с особенностями клинического течения заболевания являлось основанием для диагностирования у этой группы пациентов медленно прогрессирующего аутоиммунного диабета взрослых.

218 bp фрагмент, содержащий единичный нуклеотидный полиморфизм C1858T гена *PTPN22*, был амплифицирован при помощи прямого АСТGATAATGTTGCTTCA-ACGG и обратного ТСАССAGСТТССТСААССАС праймеров. Реакционная смесь содержала 20 нг геномной ДНК, 1,2 мкл 10 x PCR буфера, 1,2 мкл dNTP (1,25 ммоль/л), 0,3 мкл каждого праймера (20 пмоль/л), 0,6 мкл DMSO и 0,1 мкл *Taq* полимеразы (фирма «Сибэнзим») в 12 мкл реакционной смеси. Условия амплификации: первоначальная денатурация – 2 мин при 94 °С, последующие шаги – 94 °С – 30 с, 60 °С – 30 с, 72 °С – 30 с (35 циклов) и 1 цикл – 72 °С 2 мин. Продукт амплификации (12 мкл) инкубировался с 10 ед. *RsaI* рестриктазы (фирмы «Сибэнзим») при температуре 37 °С в течение 12 час. Мутантный аллель 1858T теряет последовательность рестрикции и состоит из фрагмента 218 bp. Рестрикция аллеля 1858С дает фрагменты 176 bp и 46 bp [13].

Статистическая оценка достоверности различий в сравниваемых группах проводилась при помощи критерия χ^2 [14], оценка относительного риска (Odds ratio) – согласно [15].

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ распределения генотипов среди всех сравниваемых групп (табл. 2) выявил статистически значимую разницу распределения здоровых индивидов и больных LADA, СД 1 и 2 типа по генотипам C1858T гена *PTPN22* – $\chi^2 = 47,063$, $P=0,000$.

Изучение распределения генотипов C → T1858T гена *PTPN22* показало значимую ассоциацию гомозигот по этому полиморфизму с LADA, СД 1 и 2 типа. Следует отметить, что среди пациентов с LADA значимо чаще, чем среди больных СД 1 или 2 типа встречались гомозиготные носители этого полиморфизма. Достоверных различий в частотах генотипов между больными СД 1 и 2 типа выявлено не было (табл. 3).

Таким образом, изучение ассоциации единичного нуклеотидного полиморфизма C1858T гена *PTPN22* показало его выраженную ассоциацию с LADA, СД 1 и 2 типа. Полученные данные не противоречат существующим работам по изучению этого полиморфизма в других популяциях Испании, США, Польши, Финляндии, Швеции, Норвегии и пр. [10-12].

Наиболее выраженная ассоциация этого полиморфизма наблюдается с такой клинической формой СД как LADA. Результаты исследования позволяют предположить, что развитие такой формы СД как LADA обусловлено изменениями в генах, контролирурующих нормальный иммунный гомеостаз, что и определяет особенности течения этой формы заболевания даже при отсутствии всех генов системы HLA, необходимых для развития СД 1 типа.

Носительство аллеля 1858T и генотипа 1858T/T повышает относительный риск (OR) развития LADA, СД 1 и 2 типа (табл. 2) в харьковской популяции.

Таблица 2. Частоты генотипов и аллелей полиморфизма C1858T гена *PTPN22* у больных СД и здоровых жителей г. Харькова

Показатель	Контроль, n=253		Больные		χ^2	Значимость различий (P)	Показатель относительного риска (OR) (95 % CI)
	абс.	%	СД 1 типа, n=333				
			абс.	%			
Генотип: С/С	185	73,10	207	62,20	7,31	0,007	0,60 (0,42-0,86)
С/Т	66	26,10	104	31,20	1,61	0,205	1,29 (0,90-1,86)
Т/Т	2	0,80	22	6,60	10,94	0,000	8,88 (2,08-37,88)
Аллель: С	436	86,20	518	77,80	12,81	0,000	0,56 (0,41-0,76)
Т	70	13,80	148	22,20	12,81	0,000	1,78 (1,31-2,44)
СД 2 типа, n= 65							
Генотип: С/С			34	52,30	9,50	0,002	0,43 (0,24-0,76)
С/Т			26	40,00	4,22	0,040	1,89 (1,21-3,35)
Т/Т			5	7,70	8,46	0,004	10,46 (1,98-55,26)
Аллель: С			94	72,30	13,32	0,000	0,42 (0,26-0,66)
Т			36	27,70	13,32	0,000	2,39 (1,50-3,78)
LADA, n=70							
Генотип: С/С			30	42,90	21,23	0,000	0,28 (0,16-0,84)
С/Т			24	34,30	1,45	0,292	0,18 (0,10-0,32)
Т/Т			16	22,90	46,63	0,000	37,19(8,30-166,57)
Аллель: С			84	60,00	46,17	0,000	0,24 (0,16-0,37)
Т			56	40,00	46,17	0,000	4,15 (2,72-6,32)

Таблица 3. Различия в частотах генотипов и аллелей полиморфизма C1858T гена *PTPN22* у больных СД

Сравниваемые группы	Показатель	χ^2	Значимость различий (P)
СД 1 типа – СД 2 типа	Генотип: С/С	1,818	0,178
	С/Т	1,523	0,217
	Т/Т	0,002	0,961
	Аллель: С	1,536	0,215
	Т	1,536	0,215
СД 1 типа - LADA	Генотип: С/С	8,120	0,004
	С/Т	0,128	0,721
	Т/Т	16,033	0,000
	Аллель: С	18,411	0,000
	Т	18,411	0,000
LADA – СД 2 типа	Генотип: С/С	1,805	0,179
	С/Т	0,006	0,939
	Т/Т	4,858	0,028
	Аллель: С	0,411	0,522
	Т	0,411	0,522

Выводы

1. Как и для СД 1 типа, полиморфизм С1858Т гена тирозинфосфатазы *PTPN22* играет важную роль в наследственной предрасположенности к LADA в харьковской популяции.

2. Показана более выраженная, чем при СД 1 типа, ассоциация исследуемого полиморфизма.

3. Носительство аллеля 1858Т гена тирозинфосфатазы *PTPN22* в харьковской популяции ассоциировано с LADA, СД 1 и 2 типа и повышает риск их развития.

4. Гомозиготное носительство аллеля 1858Т гена *PTPN22* соответствует наибольшему риску развития LADA.

Литература

1. Ladner M. B., Bottini N., Valdes A. M., Noble J. A. Association of the single nucleotide polymorphism C1858T of the *PTPN22* gene with type 1 diabetes // *Human Immunology*. 2005, **66**, 60-64.
2. Cohen S., Dadi H., Shaoul E. et al. Cloning and characterization of a lymphoid-specific, inducible human protein tyrosine phosphatase, *Lyp* // *Blood*. 1999, **93**, 2013-2024.
3. Hill R. J., Zozulya S., Lu Y. L. et al. The lymphoid protein tyrosine phosphatase *Lyp* interacts with the adaptor molecule *Grb2* and functions as a negative regulator of T-cell activation // *Exp. Hematol*. 2002, **30**, 237-244.
4. Bottini N., Musumeci L., Alonso A. et al. A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes // *Nat. Genet*. 2004, **36**, 337-338.
5. Begovich A. B., Carlton V. E., Honigberg L. A. et al. A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (*PTPN22*) is associated with rheumatoid arthritis // *Am. J. Hum. Genet*. 2004, **75**, 330-337.
6. Gregersen P. K., Batliwalla F. *PTPN22* and Rheumatoid Arthritis: Gratifying Replication // *Arthritis & Rheumatism*. 2005, **52**, N 7, 1952-1955.
7. Siminovitch K. A. *PTPN22* and autoimmune disease // *Nature Genetics*. 2004, **36**, N 12, 1248-1249.
8. Кононенко И. В., Прокофьев С. А., Смирнова О. М. Функциональное состояние β -клеток, иммунологические и клинико-биохимические характеристики у больных с медленно прогрессирующим аутоиммунным диабетом взрослых // *Пробл. эндокринолог.* 2004, **50**, № 1, 18-22.
9. UKPDS 25: autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes // *Lancet*. 1997, **350**, N 1, 1288-1293.
10. Fedetz M., Matesanz F., Caro-Maldonado A. et al. The 1858T *PTPN22* gene variant contributes to a genetic risk of type 1 diabetes in a Ukrainian population // *Tissue Antigens*. 2006, **67**, N 5, 430-433.
11. Petrone A., Suraci C., Capizzi M. et al. The protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22 (*PTPN22*) is associated with high GAD antibody titre in latent autoimmune diabetes in adults: Non Insulin Requiring Autoimmune Diabetes (NIRAD) Study 3 // *Diabetes Care*. 2008, **31**, N 3, 534-538.
12. Cervin C., Lyssenko V., Bakhtadze E. et al. Genetic similarities between latent autoimmune diabetes in adults, type 1 diabetes, and type 2 diabetes // *Diabetes*. 2008, **57**, N 5, 1433-1437.
13. Zheng W., She J. X. Genetic association between a lymphoid tyrosine phosphatase (*PTPN22*) and type 1 diabetes // *Diabetes*. 2005, **54**, 906-908.
14. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
15. Bland J. M., Altman D. G. The odds ratio // *BMJ*. 2000, **320**, N 5, 1468.

Поліморфізм С1858Т гена PTPN22 і латентний автоімунний цукровий діабет дорослих

С. А. Штандель¹, Т. М. Тихонова¹, М. І. Федець², І. Р. Баріляк³

¹ ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України», м. Харків, 61002, Україна;

² Інститут паразитології і біомедицини, м. Гранада, Іспанія;

³ ДУ «Науковий центр радіаційної медицини АМН України», м. Київ, 04050, Україна

Вивчено одиничний нуклеотидний поліморфізм С1858Т гена PTPN22 у 253 здорових мешканців м. Харкова, 70 хворих на латентний автоімунний цукровий діабет дорослих (LADA), 333 хворих на цукровий діабет 1 типу та 65 – 2 типу. Показано, що як і для цукрового діабету 1 типу, поліморфізм С1858Т гена тирозинфосфатази PTPN22 відіграє важливу роль у спадковій схильності до LADA у харківській популяції. Також визначена більш виражена, ніж у хворих на цукровий діабет 1 типу, асоціація поліморфізму, що досліджувався.

Ключові слова: одиничний нуклеотидний поліморфізм С1858Т гена PTPN22, латентний автоімунний цукровий діабет дорослих (LADA), цукровий діабет 1 та 2 типу.

C1858T PTPN22 polymorphism of PTPN22 gene and latent autoimmune diabetes of the adults

S. A. Shtandel¹, T. M. Tikhonova¹, M. I. Fedets², I. R. Barylyak³

¹ State Institution «V. Ya. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kharkiv, 61002, Ukraine;

² Institute of Parasitology and Biomedicine, Granada, Spain;

³ State Institution «Scientific Center for Radiation Medicine Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kyiv, 04050, Ukraine

The authors have studied nucleotide polymorphism of PTPN22 gene in 253 healthy inhabitants of Kharkiv, 70 patients with latent autoimmune diabetes of the adults (LADA), 333 patients with type 1 diabetes mellitus and 65 with type 2 diabetes mellitus (T2DM). It has been shown that, as in type 1 diabetes mellitus, C1858T polymorphism of tyrosine phosphatase PTPN22 plays an important role in LADA genetic predisposition in Kharkiv population. A more significant association of polymorphism under study, compared with type 1 diabetes mellitus, was also shown.

Key words: C1858T single nucleotide polymorphism of PTPN22 gene, latent autoimmune diabetes of adults, type 1 and 2 diabetes mellitus.

(Надійшла 10.09.2009)

ДОСЛІДЖЕННЯ БІЛКОВИХ ЧИННИКІВ, ЩО ЗВ'ЯЗУЮТЬ ІНСУЛІН У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЛЮДЕЙ, ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

С. В. Мельниченко*, О. В. Корпачева-Зінич, Р. Г. Лукашова

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України», м. Київ, 04114, Україна

В роботі описані способи виділення білків, що зв'язують інсулін (БЗІ) у сироватці крові людей. Надано результати аналізу цих білків методом електрофорезу в поліакриламідному гелі та розробленим методом імуноферментного аналізу для визначення антитіл до інсуліну. Дослідженню підлягали сироватки крові хворих на цукровий діабет 1 типу і 2 типу, лікованих інсуліном або іншими препаратами, що знижують глікемію. В кожному зразку сироватки крові перед виділенням БЗІ визначали антитіла до інсуліну, і в залежності від наявності чи відсутності їх сироватки крові об'єднували в окремі пули. Для виділення БЗІ застосовували афінні сорбенти (інсулін людини + активована BrCN-сефароза 4В), виготовлені стандартним методом або з використанням спейсера – ω -амінокапронової кислоти. Електрофоретичний розподіл БЗІ проводили в 12 % поліакриламідному гелі, а їх аналіз – за допомогою програми «Gelscan V.5.1.».

Зроблено висновок, що з інсуліном у сироватці крові хворих на цукровий діабет та донорів здатна з'єднуватись значна кількість білків з різною молекулярною масою. Для відокремлення білків, які при розподілі БЗІ в поліакриламідному гелі розташовуються в зонах альбумінів та трансферинів, можна проводити елюцію їх, поступово знижуючи рН буферного розчину, а поетапна хроматографія БЗІ на протеїн G-сефарозі 4В сприяє відділенню від БЗІ частини білків імуноглобулінової природи. Однак на основі електрофоретичного аналізу БЗІ в пулах сироваток крові донорів і хворих на цукровий діабет з метаболічним синдромом або без нього встановити особливості окремих фракцій БЗІ поки немає можливості. Для ідентифікації виділених БЗІ, визначення специфічності та ступеню зв'язування їх з інсуліном необхідні додаткові експерименти з використанням імуноблотингу, імуноферментного аналізу окремих фракцій та інших аналітичних методів.

Ключові слова: білки, що зв'язують інсулін; антитіла до інсуліну, інсулін, цукровий діабет.

Основний критерій дієвості засобів, що застосовуються при лікуванні хворих на цукровий діабет (ЦД), – компенсація порушень вуглеводного обміну. Найбільших успіхів в регуляції рівня глюкози у хворих на ЦД, близького до нормальних значень, досягнуто при призначенні препаратів інсуліну. Однак, незважаючи на всі досягнення вчених, які працюють у галузі діабетології, зусилля лікарів при лікуванні хворих на ЦД не завжди успішні. Частково це можна пояснити наявністю у сироватці хворого білкових чинників, які здатні зв'язуватись з інсуліном (БЗІ), що і призводить до порушення взаємодії інсуліну з його мембранними рецепторами. Цей процес може бути високоспецифічним, як, наприклад, зв'язування з антитілами до ендогенного (ІАА) або екзогенного інсулінів (ІА) або ж низькоафінним, як це спостерігається при взаємодії інсуліну з білками альбумінового ряду

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

чи з трансферином. Окрему групу сироваткових білків являють фрагменти інсулінових рецепторів, частина яких здатна приєднуватись до інсуліну та нагадує деякі ділянки імуноглобулінів [1].

Існує також припущення, що БЗІ є схожими на білки, які зв'язують інсуліноподібні ростові фактори (IGF). Специфічні рецептори IGF на мембранах клітин подібні за будовою до рецепторів інсуліну. Описано шість білків плазми крові, що зв'язують IGF (IGFBP) і модулюють біологічну активність цих інсуліноподібних ростових факторів [2]. Виявлено перехресні взаємодії між складовими системи IGF – (IGFBP) – рецептори IGF та інсулін – рецептори інсуліну, але константи асоціації інсуліну з рецепторами ростових факторів значно нижчі, ніж з його власними рецепторами. Нещодавно виявлено новий IGFBP – білок 7/мас25, який, на відміну від шести відомих IGFBP, проявляє низьку афінність до IGF і високу – до інсуліну та блокує зв'язування інсуліну з його рецептором [3]. Деякі з БЗІ у комплексі з інсуліном набувають гіперантитигенних властивостей і викликають утворення цілого каскаду ідіотип-антиідіотипних антитіл [4]. Останнім часом з'явилися дані про те, що у сироватці крові новонароджених виявлено білки невизначеної природи, які зв'язують інсулін і не належать до глобулінової фракції [5].

Вивчення БЗІ доцільне у зв'язку з тим, що існують досить обґрунтовані міркування щодо прямої або опосередкованої їх участі у регуляції гомеостазу та розвитку деяких патологічних станів, таких, як інсулінорезистентність, гіперглікемія або гіпоглікемія. На сьогодні найбільш вивченим процесом гальмування активності введеного інсуліну хворим на ЦД є зв'язування його з утвореними ІА. Що стосується інших чинників, які гальмують взаємодію гормону з його мембранними рецепторами, то й досі не вистачає чітких знань про особливості природи цих білків. Не виключено, що такі ж структури знаходяться в крові не тільки хворих на ЦД, але й здорових осіб, як це спостерігається у випадку з дослідженнями ІАА. Вивчення інших чинників – завдання складне, бо воно вимагає надійних методів для вилучення їх з сироватки крові та визначення кількісного вмісту кожного з них.

У представленому дослідженні наводяться дані про способи виділення БЗІ як з окремих зразків, так і з пулу сироваток крові хворих на ЦД, а також результати їх аналізу методом електрофорезу в поліакриламідному гелі (ПААГ) і розробленим методом імуноферментного аналізу (ІФА) для визначення ІА та ІАА [6]. Застосування останнього методу вважали за необхідне, оскільки в багатьох дослідженнях цю групу білків вважають чи не найважливішими чинниками, що зв'язують інсулін у сироватці крові людей [7].

Матеріали та методи дослідження

На проведення досліджень був отриманий дозвіл комітету з біоетики ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України». Для виділення БЗІ використовували сироватки крові донорів зі Станції переливання крові (м. Київ) та хворих на ЦД, які перебували на стаціонарному лікуванні в клініці Інституту ендокринології та обміну речовин. Проведено декілька серій досліджень, в яких аналізували БЗІ, виділені з сироваток крові донорів та хворих на цукровий діабет 1 (ЦД-1) і 2 (ЦД-2) типів, лікованих інсуліном або іншими препаратами, що знижують глікемію. У першій серії досліджень, після визначення в кожній сироватці крові донорів і хворих на ЦД ІА та ІАА розробленим методом ІФА [6], сироватки об'єднувалися в залежності від типу ЦД та наявності чи відсутності в кожній з них таких антитіл. Дослідженню підлягали сироватки крові хворих на ЦД-1 з ІА та ІАА (або без них) і також ЦД-2 з цими антитілами (або без них). З пулів цих сироваток виділяли БЗІ.

В другій серії досліджень БЗІ виділяли лише з окремих сироваток крові хворих на ЦД-2 з метаболічним синдромом або без нього. На відміну від зазначеної вище

серії, в даному дослідженні вважали за доцільне представити такі показники як вік, стать, тривалість діабету, показники індексу маси тіла (ІМТ) обстежених осіб та вміст у кожному зразку сироватки крові інсуліну, глюкози натще, естрадіолу, тестостерону загального та вільного, і дегідроепіандростерону сульфату (ДГЕА-С). Вміст інсуліну в крові визначали імуноферментною тест-системою виробництва фірми «DRG» (Німеччина) (референтні значення – 2,0-25,0 мкОд/мл). Вміст тестостерону загального (нормальні значення: чоловіки – 8,5-30 нмоль/л; жінки – 0-4,0 нмоль/л), естрадіолу (референтні значення: чоловіки – 10-36 пг/мл; жінки до менопаузи – 13-191 пг/мл, після менопаузи – 11-65 пг/мл), ДГЕА-С (норма: чоловіки – 0,59-2,96 мкг/мл; жінки 12-18 років – 0,23-4,11 мкг/мл, 19-30 років – 0,40-5,74 мкг/мл, 31-50 років – 0,15-3,82 мкг/мл, у постменопаузі – 0,30-2,20 мкг/мл) також визначали комерційними імуноферментними тест-системами виробництва фірми «DRG», а тестостерон вільний (чоловіки – 12,2-43,2 пг/мл; жінки до менопаузи – 0,2-6,3 пг/мл, після менопаузи – 0,1-5,1 пг/мл) – такими ж наборами виробництва «NovaTec» (Німеччина).

В окремі серії експериментів, для детальнішої характеристики БЗІ, останні виділяли тільки з сироваток крові донорів. У цих дослідженнях, як і в тих, про які йшлося вище, було застосовано два різних афінних сорбенти для вилучення БЗІ. Один з них виготовлено стандартним методом з використанням ВгСN-активованої сефарози 4В та інсуліну людини (фірма «Eli Lilly»), а до складу другого також входила ВгСN-активована сефароза 4В, проте у цьому разі інсулін до носія приєднували через спейсер – ω -амінокапронову кислоту [8]. Виділення БЗІ на обох сорбентах з однакових об'ємів сироваток робили паралельно.

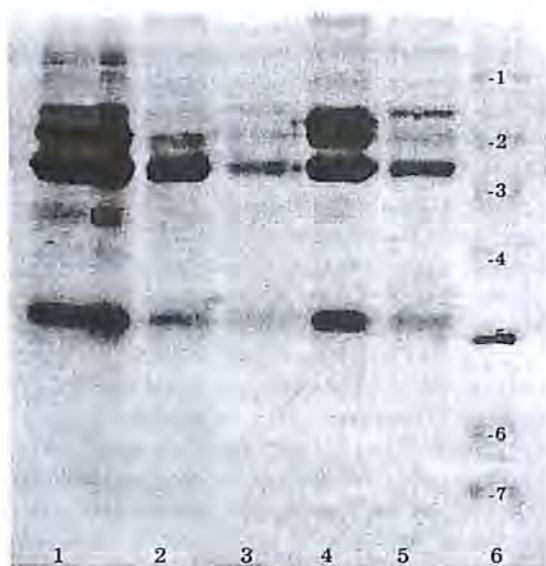
Об'єми інсулінових сорбентів у всіх дослідах становили 10 мл. Перед хроматографічним розподілом пули сироваток крові донорів або хворих на ЦД, як і окремі зразки сироваток, центрифугували 15 хв при 1,5 тис. об/хв та розводили втричі фосфатно-солевим буфером (ФСБ), рН 7,4. Після елюції БЗІ 0,1 М розчином гліцин-НСІ, рН 2,4, та нейтралізації їх 1,0 М трис-НСІ, рН 8,7, оптичну густину (ОГ) кожної проби (по 1 мл) вимірювали при 280 нм. Зразки елюатів з ОГ, яка свідчила про вихід білка, об'єднували і в подальшому аналізували вказаними вище методами.

Виділені на інсулінових сорбентах БЗІ хроматографували на протеїн G-сефарозі 4В фірми «Sigma-Aldrich» (об'єм сорбенту – 2 мл). Перед цією хроматографією елюати з інсулінового сорбенту розводили ФСБ у співвідношенні 1:2. Елюцію білків і нейтралізацію їх здійснювали так само, як і при хроматографії на сорбенті з інсуліном.

Зразки БЗІ для електрофорезу в усіх дослідах готували шляхом осадження білків 10-кратним об'ємом охолодженого до -20 °С 96 % етанолу протягом 12 год з наступним центрифугуванням (3000 об/хв) при +4 °С 20 хв. Осад білків суспендували в буфері Леммлі з β -меркаптоетанолом і прогрівали при 100 °С дві хвилини. Електрофоретичний розподіл БЗІ проводили в 12 % ПААГ. Для аналізу отриманих фореграм використовували програму «Gelscan V.5.1». Білок у всіх експериментах визначали модифікованим біуретовим методом [9].

Результати та їх обговорення

На малюнку 1А представлено електрофореграми БЗІ, елюйованих з інсулінових сорбентів, виготовлених обома вказаними способами. Матеріалом для проведення цих експериментів слугували сироватки крові здорових людей чоловічої (треки 1-3) та жіночої (треки 4 і 5) статі. Можна зазначити, що існує деяка різниця в розподілі БЗІ, виділених з афінного сорбенту із застосуванням ω -амінокапронової кислоти (треки 3, 5), та БЗІ, які отримували з колонок, виготовлених без такого спейсера (треки 1, 2, 4). Аналіз електрофореграм та сканограм БЗІ, представлених на малюнках 1А і 1Б, наочно свідчить про те, що інсуліновий сорбент з ω -амінокапроновою кислотою вилучає з сироваток крові донорів дещо менше білків, здатних приєднуватись до інсуліну, особливо в зоні, в якій розташовуються білки з М.м. 60-100 кДа. Виявлено також і відмінності



Мал. 1А. Електрофореграми БЗІ, виділених з сироваток крові донорів на інсулінових сорбентах, виготовлених звичайним способом та із застосуванням ω -амінокапронової кислоти.

Примітки. 1. Треки 1, 2, 4 – БЗІ, виділені з сироваток крові донорів на інсуліновому сорбенті, виготовленому без спейсера. Треки 3, 5 – БЗІ, виділені з сироваток крові донорів на інсуліновому сорбенті, виготовленому з використанням ω -амінокапронової кислоти. 2. Маркерні білки (трек 6): 1 – β -галактозидаза (116,0 кДа); 2 – бичачий сироватковий альбумін (66,2 кДа); 3 – овальбумін (45,0 кДа); 4 – лактат дегідрогеназа (35,0 кДа); 5 – REase Bsp981 (25,0 кДа); 6 – β -лактоглобулін (18,4 кДа); 7 – лізоцим (14,4 кДа).

в ІФА як антитіла до інсуліну. В той же час у випадку, коли БЗІ виділяються на сорбенті без зазначеного спейсера, з сироваток крові хворих на ЦД-1, у яких попередньо вже були визначені ІА, тобто сироватки ЦД-1 (+), то в їх складі також визначаються ІА (табл. 1). Слід зазначити, що в інших подібних експериментах (дані не наводяться) з використанням інсулінового сорбенту, виготовленого стандартним методом, при виділенні БЗІ з сироваток крові донорів також встановлена наявність ІА в отриманих елюатах, проте в незначній кількості. Наявність ІА в донорських сироватках – явище звичайне і не виключено, що вони виконують певну регуляторну роль у вуглеводному обміні. Про це свідчать і дані, отримані іншими авторами [7].

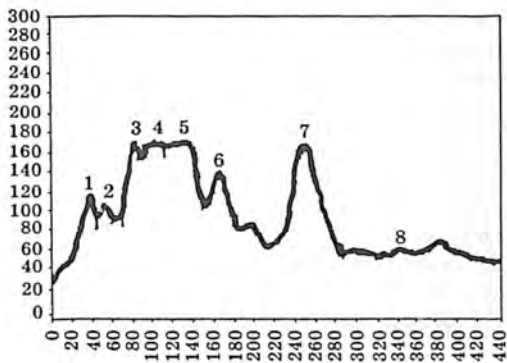
Оскільки за представленими даними при використанні інсулінового сорбенту, виготовленого без ω -амінокапронової кислоти, виділяється більше БЗІ, то в подальшому при дослідженні їх в складі окремих сироваток крові хворих на ЦД і донорів користувались сорбентом, одержаним саме таким способом.

Електрофоретичний розподіл БЗІ за молекулярною масою на окремі фракції (мал. 2) показав, що кількість останніх у кожному окремому зразку виділених БЗІ у сироватках крові хворих на ЦД або донорів майже не відрізняється; не можна також зробити обґрунтованого висновку про переважання якоїсь однієї групи білків у відібраних пулах сироваток крові.

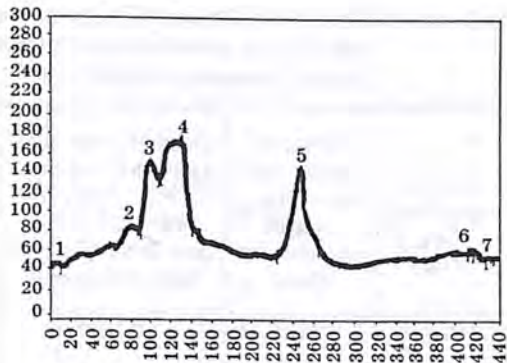
електрофоретичного розподілу БЗІ, елюйованих за різних умов та представлених на треках 1 і 2 (мал. 1А, 1Б). Так, при вищому рН (5,5-6,5, трек 1) виділялось більше білків з молекулярною масою 60-100 кДа, а з пониженням рН частка цих білків зменшувалась. Такі спостереження знайшли своє підтвердження і в дослідженнях, в яких, крім сироваток крові донорів, хроматографічному розподілу підлягали також сироватки крові від хворих на ЦД-1 і ЦД-2.

Важливо зазначити, що в усіх проведених порівняльних експериментах для виділення БЗІ на різних інсулінових сорбентах на кожен колонку з інсуліновим сорбентом наносили однакові об'єми сироваток із пулу від хворих на ЦД того чи іншого типу або донорів. Після проведення афінної хроматографії в зібраних елюатах вимірювали кількість білка, яка потім перераховувалась на 1 мл сироватки крові, з якої виділяли БЗІ, та визначали в цих білках вміст ІА методом ІФА. Результати цих досліджень представлені в табл. 1 і 2.

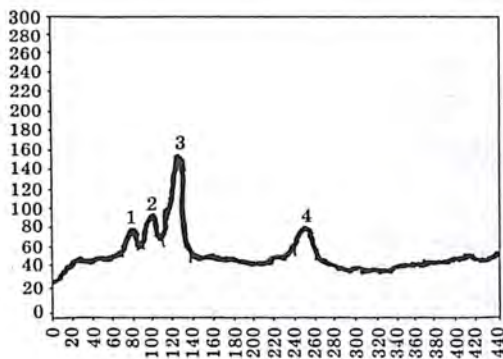
З аналізу даних щодо вмісту ІА в БЗІ, які отримували на обох інсулінових носіях, впливає, що сорбент з ω -амінокапроновою кислотою вилучає більше білків, які реагують



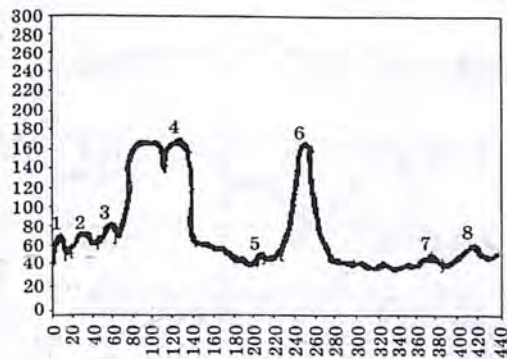
1



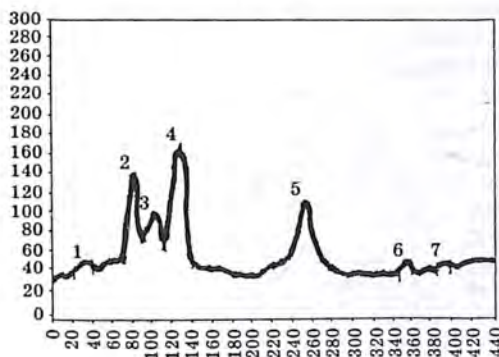
2



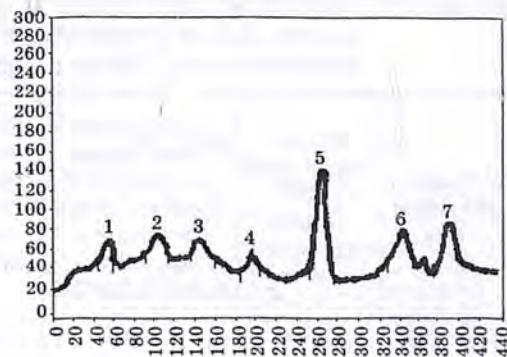
3



4



5



6

Мал. 1Б. Сканограми електрофореграм БЗІ, виділені з сироваток крові донорів на інсулінових сорбентах, виготовлених звичайним способом та із застосуванням ω -амінокапронової кислоти. Примітки такі ж, як на мал. 1А.

Для детальнішого дослідження БЗІ проводилась хроматографія елюатів з інсулінового сорбенту (без спейсера) на афінній колонці з білком G. Вважали, що при такому методичному підході частина БЗІ з властивостями ІА зв'яжуться з білком G і це дасть змогу детальніше дослідити інші БЗІ. Однак як свідчать дані, представлені на мал. 3, суттєвих відмінностей при розподілі фракцій БЗІ, виділених з різних пулів сироваток крові донорів і хворих на ЦД, як і при хроматографії їх тільки на сорбенті з інсуліном, не спостерігається. Можна

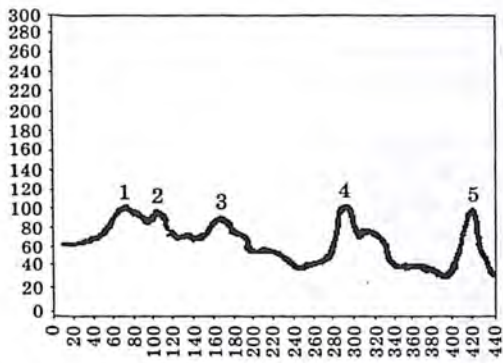
Таблиця 1. Вміст білків, що зв'язують інсулін в 1 мл сироватки крові донорів і хворих на ЦД, та визначення в цих білках вмісту ІА. Дослідження проводились з використанням сорбенту інсулін-сефароза 4В, з'єднаних без спейсера

Група обстежених	Об'єм пулу досліджуваних сироваток (мл)	Результати тестування сироваток із пулу на вміст ІА методом ІФА (ОГ) до хроматографії	Вміст білків (мг), що зв'язують інсулін в 1 мл сироватки крові людей	Дослідження елюатів сироватки крові після хроматографії		
				елюати		ОГ зразків елюатів після визначення ІА
				об'єм (мкл)	вміст білка (мкг)	
Донори	27,5	0,036	0,170	25	3,75	0,097
				10	1,5	0,042
				5	0,75	0,020
ЦД-1 (-)	18	0,024	0,260	25	26,5	0,141
				10	10,6	0,041
				5	5,3	0,020
ЦД-1 (+)	9	0,500	0,162	25	10,7	0,961
				10	4,3	0,152
				5	2,1	0,050
ЦД-2 (-)	19	0,019	0,300	25	19,5	0,039
				10	7,8	0,020
				5	3,9	0,009
ЦД-2(+)	5	0,463	0,334	25	16,5	0,053
				10	6,6	0,020
				5	3,3	0,014

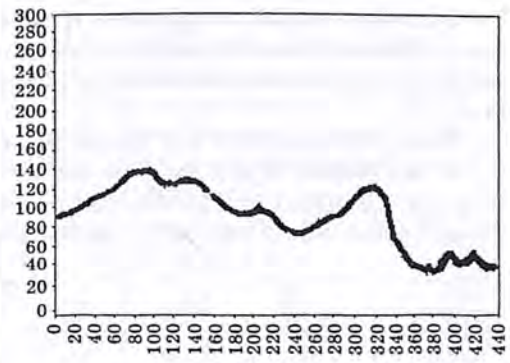
Примітки. В табл. 1-3: ЦД-1 (-), ЦД-2 (-) – сироватки хворих, у крові яких не виявлено ІА; ЦД-1 (+), ЦД-2 (+) – сироватки хворих, у крові яких виявлено ІА; ОГ – оптична густина зразків після визначення ІА методом ІФА.

Таблиця 2. Вміст білків, що зв'язують інсулін в 1 мл сироватки крові донорів і хворих на ЦД, та визначення в них білків з активністю ІА. Дослідження з використанням сорбенту інсулін-сефароза 4В, з'єднаних через спейсер

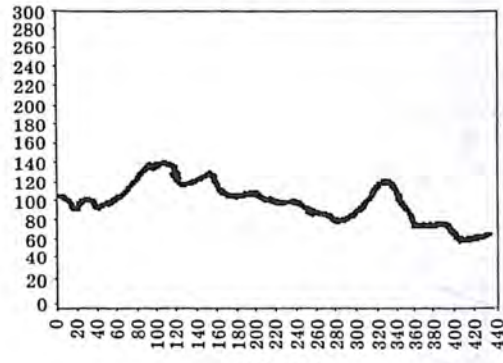
Група обстежених	Об'єм пулу досліджуваних сироваток (мл)	Результати тестування сироваток із пулу на вміст ІА методом ІФА (ОГ) до хроматографії	Вміст білків (мг), що зв'язують інсулін в 1 мл сироватки крові людей	Дослідження елюатів сироватки крові після хроматографії їх на інсулін-сефарозі 4В		
				елюати		ОГ зразків елюатів після визначення ІА
				об'єм (мкл)	вміст білка (мкг)	
Донори	27,5	0,036	0,081	25	13,5	0,878
				10	5,4	0,454
				5	2,7	0,206
ЦД-1(-)	18	0,024	0,071	25	9,5	0,674
				10	3,8	0,297
				5	1,9	0,174
ЦД-1 (+)	9	0,500	0,154	25	15,1	1,725
				10	6,0	0,677
				5	3,0	0,297
ЦД-2(-)	19	0,019	0,069	25	21,0	0,375
				10	8,4	0,175
				5	4,2	0,100
ЦД-2 (+)	5	0,463	0,148	25	10,5	1,566
				10	4,2	0,571
				5	2,1	0,184



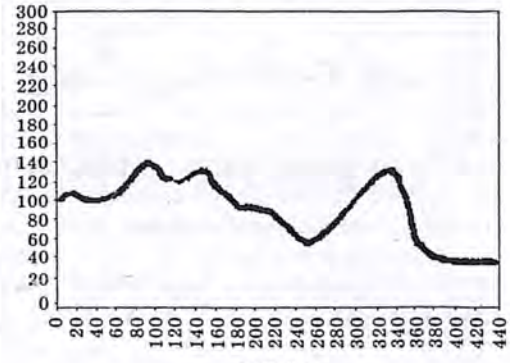
Маркерні білки



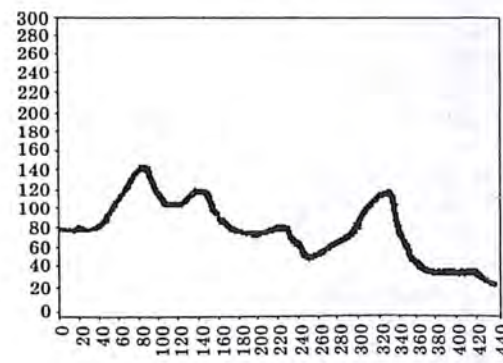
Донори



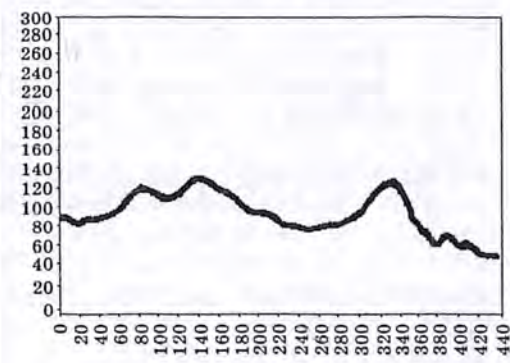
ЦД-1(-)



ЦД-2(-)



ЦД-1(+)



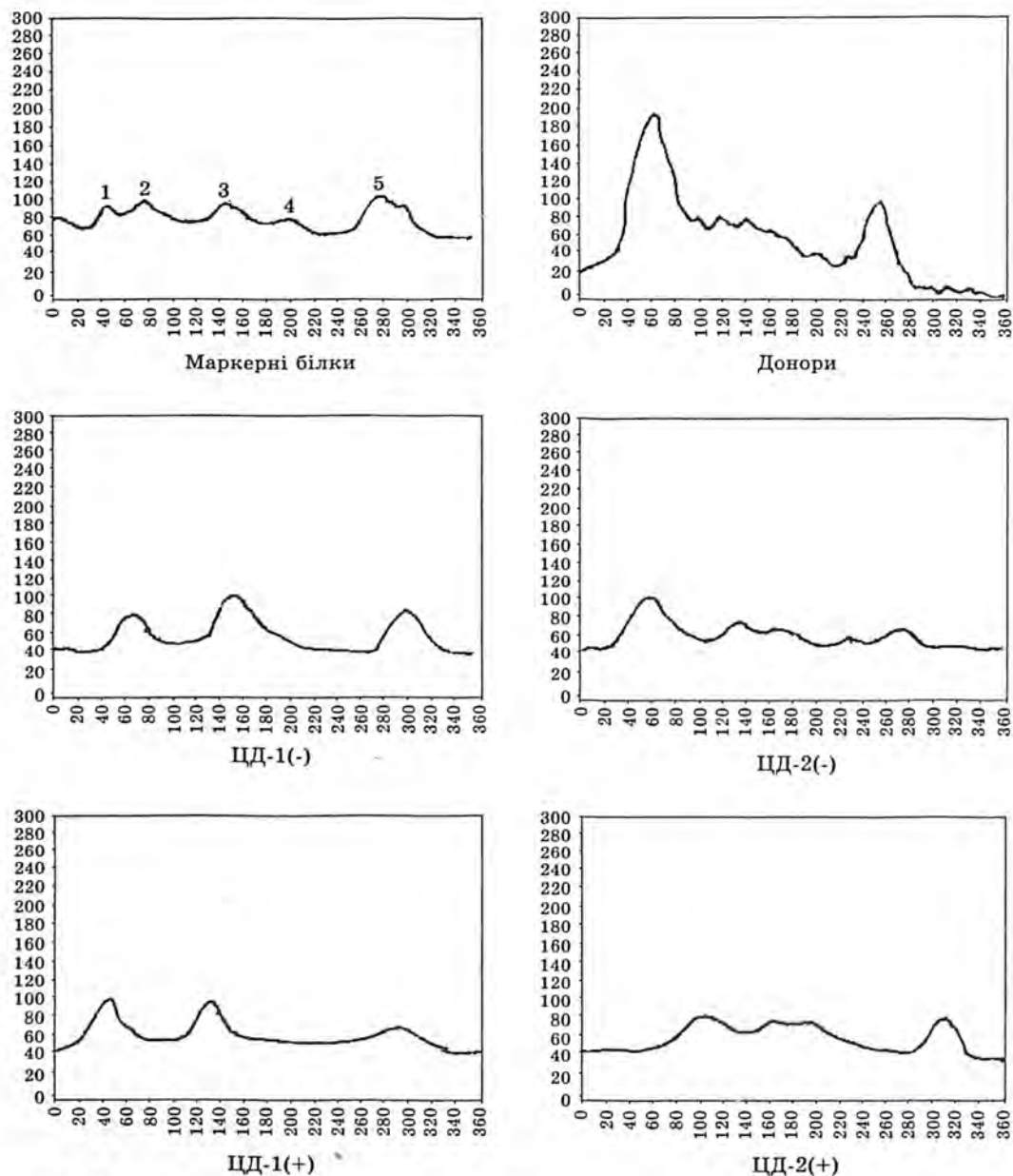
ЦД-2(+)

Мал. 2. Сканограми електрофореграм білків сироваток крові донорів та хворих на ЦД. Білки, слийовані з сорбенту інсулін + сефароза 4В. Маркерні білки: 1 – овотрансферин (76,0 кДа); 2 – бичачий сироватковий альбумін (66,2 кДа); 3 – овальбумін (42,7 кДа); 4 – карбоангідраза (30,0 кДа); 5 – міоглобін (16,95 кДа).

зупинитися лише на дослідженні сироваток крові від осіб, які не страждають на ЦД. Після застосування колонки з протеїном G у виділених БЗІ, як і очікувалось, все ж таки залишається значна частка білків, які за М.м. з деяким припущенням можна віднести до альбумінів або трансферинів. Цій групі білків приділяють останнім часом все більше уваги [10]. Що стосується інших білків, які розташовуються в зоні, характерній для білків з М.м. приблизно 20-40 кДа, то про їх природу також немає можливості щось стверджувати впевнено. Не виключено, що це можуть бути уламки молекул імуноглобулінів.

Зроблено спробу підрахувати вміст окремих білків у % від загальної кількості БЗІ, які розділилися при електрофорезі в ПААГ. Найбільш чіткими, на нашу думку, є результати дослідження БЗІ, які не зв'язалися з протеїном G (табл. 3).

Прослідковується той факт, що й при такому аналізі БЗІ після вилучення з них білків з властивостями ІА в їх складі залишається частка білків з М.м. 66-75 кДа, і цей висновок стосується як БЗІ у крові донорів, так і хворих на ЦД (мал. 3). Крім того, необхідно відмітити, що, незважаючи на те, що



Мал. 3. Сканограми електрофореграм БЗІ, виділених із сироваток крові донорів та хворих на ЦД. Білки попередньо елюйовані з сорбенту інсулін + сефароза 4В і в подальшому хроматографовані на протеїн G + сефароза 4В. На малюнку представлені фракції білків, які не сорбуються на цьому сорбенті. Маркерні білки – див. мал.2.

Таблиця 3. Розподіл білків на фракції після хроматографії на протеїні G з сфарозою 4В елюатів з інсулінового сорбенту сироваток крові донорів і хворих на ЦД. Кількість білка у фракціях представлена у % від загальної кількості білка, який електрофорегували в ПААГ

Зони білків, до яких можуть бути віднесені виявлені фракції	Зразки сироваток крові донорів та хворих на цукровий діабет				
	Донори	ЦД-1(-)	ЦД-1(+)	ЦД-2(-)	ЦД-2(+)
Овотрансферин + альбумін (76,00 кДа + 66,25 кДа)	58,7	39,6	47,1	37,5	22,7
Овоальбумін (42,70 кДа)	9,5	37,3	35,1	20,4	24,4
Карбоангідраза (30,00 кДа)	-	-	-	-	29,1
Міоглобін (16,95 кДа)	23,7	27,0	17,8	14,3	23,8

сорбент з білком G має велику ємність і може виділяти до 20 мг IgG з 1 мл сироватки крові, у складі БЗІ залишаються такі ж самі фракції (за М.м.), як і при хроматографії сироваток крові тільки на сорбенті з інсуліном. Однак важливо зауважити, що елюати з інсулінових колонок, які наносили на протеїновий сорбент, мали значно меншу ніж 20 мг кількість білка. Тобто, залишається відкритим питання про природу БЗІ, виділених із застосуванням поетапної афінної хроматографії, особливо в зоні, де знаходяться фракції з М.м. 42,7 кДа. Дати відповідь на це можна лише при додаткових експериментах з використанням імуноблотингу, проведенні ІФА окремих фракцій та інших досліджень.

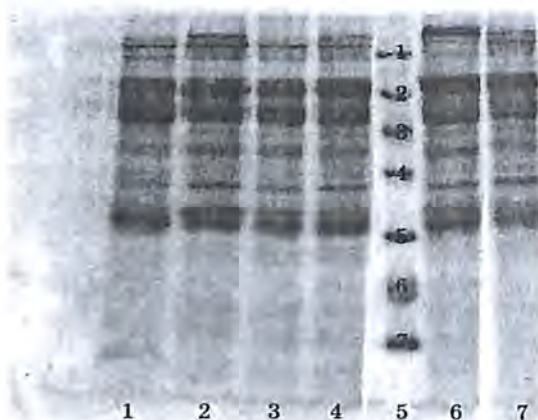
Застосовуючи ті ж методичні підходи, які представлені вище, в подальшому аналізували зразки БЗІ, які виділяли окремо з кожної сироватки п'яти хворих на ЦД-2. При відборі сироваток крові звертали увагу на наявність чи відсутність метаболічного синдрому (МС) у хворих, залучених до цих досліджень. Крім того, вважали за доцільне представити дані про вміст у сироватках крові інсуліну та статевих гормонів. Підставою для цього є ряд даних про те, що до основних чинників розвитку МС та ЦД-2, крім інсулінорезистентності, слід віднести порушення балансу стероїдних гормонів. Так, наприклад, виявлена у жінок гіперандрогенія поєднується з інсулінорезистентністю, що може стати однією з причин ризику розвитку цукрового діабету. Саме ж сполучення (комбінація) гіперандрогенізації та інсулінорезистентності при цьому отримало назву HAIR-синдрому. Проблема вивчення взаємозв'язку між статевими гормонами, з одного боку, і порушеною чутливістю до інсуліну, з другого, у хворих на ЦД-2 є надзвичайно актуальною і потребує детального вивчення. Найважливіші і доведені положення з цього питання викладено в монографії [11].

З джерел літератури та власних даних випливає, що до БЗІ можуть входити і позаклітинні ділянки рецепторів інсуліну та уламки легких і важких ланцюгів імуноглобулінів, які мають значну гомологію з рецепторами інсуліну та іншими білками імуноглобулінової природи. Враховуючи такі обставини, перед виділенням БЗІ з сироваток крові хворих на ЦД-2, в цій серії досліджень в кожному зразку проводилось визначення ІА (ІАА) як важливого чинника сироватки крові з властивостями БЗІ. У кожній з відібраних для виділення БЗІ сироваток крові донорів і хворих на ЦД-2 цих антитіл не виявили. Характеристика обстежених осіб і деякі показники вуглеводного обміну та андрогенної забезпеченості їх представлені в табл. 4, а фореграми БЗІ, виділених після афінної хроматографії на інсуліновому сорбенті сироваток крові відповідних хворих та їх сканограми відтворено на мал. 4А і 4Б.

Таблиця 4. Деякі антропометричні дані, показники вуглеводного обміну та андрогенно-естрогенної забезпеченості осіб, сироватки крові яких були відібрані для виділення і дослідження БЗІ

Обстежені особи	Стать	Вік (роки)	Тривалість діабету (роки)	ІМТ (кг/м ²)	Інсулін (мкОд/мл)	Естрадіол (пг/мл)	Тестостерон вільний (пг/мл)	Тестостерон загальний (нмоль/л)	ДГЕА-С (мкг/мл)	Глюкоза (ммоль/л)
Л-ва	ж	69	-	27,3	14,91	19,3	0,70	1,36	0,64	4,9
О-ко*	ж	51	4	46,7	23,24	23,1	0,11	0,63	0,32	9,8
А-ва	ж	57	5	31	10,99	22,7	0,32	0,70	0,90	8,3
Б-ий	ж	56	4	26	2,45	11,5	0,12	0,74	0,42	11,0
Д-ко*	м	61	6	38	15,75	33,8	13,59	7,94	2,28	9,6
П-а*	ж	48	5	39,5	13,82	57,0	3,00	0,1	0,54	8,7
С-на	ж	65	7	36,3	1,98	35,6	0,75	0,86	0,44	7,8

Примітки: Л-ва – здорова людина, * – хворі на ЦД-2 з метаболічним синдромом.

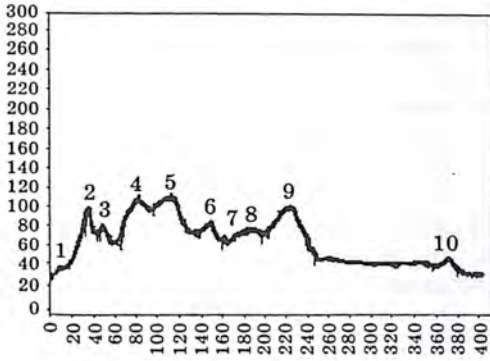


Мал. 4А. Електрофореграми БЗІ, виділених з сироваток крові донора та хворих на ЦД-2 з метаболічним синдромом (МС) і без нього.

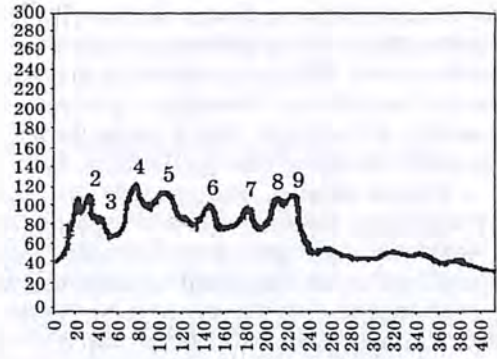
Примітки: трек 1 – донор (Л-ва); треки 2,6,7 – хворі на ЦД-2 з МС (О-ко, Д-ко, П-а); треки 3,4 – хворі на ЦД-2 без МС (А-ва, Б-ий), трек 5 – маркерні білки (див. мал. 1А).

Слід також звернути увагу на те, що в жодній з досліджуваних сироваток крові хворих на ЦД-2 не було зареєстровано ІАА, проте на фореграми чітко видно смуги в зоні, де зазвичай знаходяться фрагменти імуноглобулінів. Не виключено, що з молекулою інсуліну у сироватці крові людей (а тим більше в досліді *in vitro*, як і в нашому випадку) можуть реагувати як антитіла до інсуліну, так і антитіла до інших антигенів (або фрагментів молекул антигенів) [12]. Слід також припустити, що у виділених БЗІ можуть бути і залишки рецепторів інсуліну, подібних до ростових факторів (IGF). Аналіз сканограм БЗІ, отриманих з відповідних електрофореграм (мал. 4А і 4Б), свідчить про те, що, незважаючи

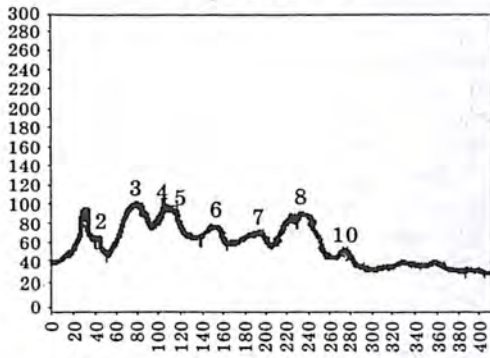
Аналізуючи отримані результати розподілу в ПААГ білків, що входять до складу БЗІ в досліджуваних сироватках крові, можна дійти висновку, що з інсуліном здатна з'єднуватись значна кількість білків з різною молекулярною масою; в деяких випадках кількість смужок при електрофорезі сягає десяти. Як і в досліді з пулами сироваток крові хворих на ЦД, простежується наявність фракцій БЗІ, які розташовані в зоні 60-70 кДа і які, очевидно, мають властивості трансферинів та альбумінів. Ці дані, як і попередньо отримані, збігаються з даними наукової літератури, які свідчать, що у складі БЗІ містяться білки альбумінового ряду з низькою спорідненістю до інсуліну; це сприяє формуванню деякого резерву цього гормону в крові людини і вивільненню його у разі потреби [7, 10].



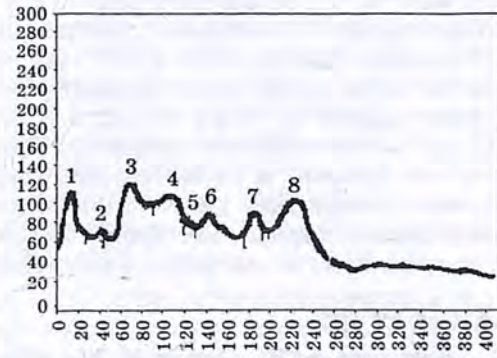
Донор (трек 1)



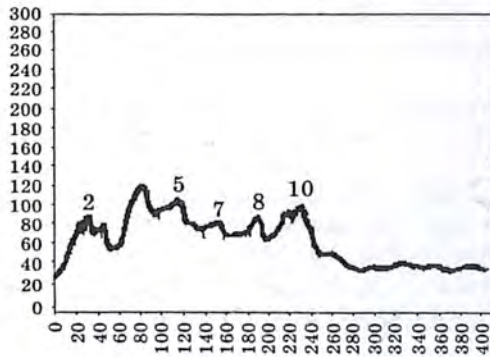
ЦД-2, МС+ (трек 2)



ЦД-2, МС- (трек 3)



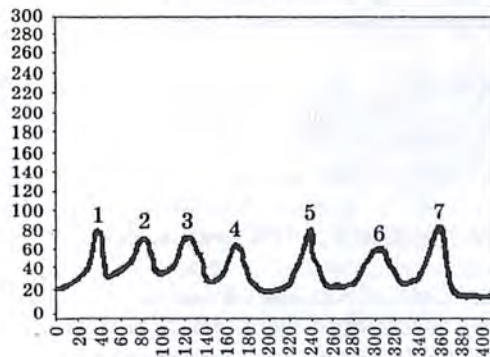
ЦД-2, МС+ (трек 6)



ЦД-2, МС- (трек 4)



ЦД-2, МС+ (трек 7)



Маркерні білки (трек 5)

Мал. 4Б. Сканограми електрофореграм БЗІ, виділених із сироваток крові донора та хворих на ЦД-2 і представлених на мал. 4А. Білки, елюйовані з сорбенту інсулін + сефараза 4В. Маркерні білки – див мал. 1.

на їх схожість, вміст кожного білка в окремих елюатах дещо відрізняється, проте загалом ця різниця незначна, і це не дає змоги зробити висновок про особливості БЗІ, виділених із сироваток крові хворих на ЦД-2 з МС (або без нього) та донора. Ймовірно, для цього більш придатними можуть бути тонкіші аналітичні методи, які б дали змогу визначити ступінь афінності зв'язування інсуліну з окремими фракціями БЗІ, як це було зроблено в роботі [10].

Таким чином, спираючись на отримані дані, ми дійшли висновку, що застосування методу афінної хроматографії на сорбентах з інсуліном людини, з'єднаних прямим способом або через спейсер – ω -амінокапронову кислоту, дозволяє виділити різні за молекулярною масою білки, що зв'язують інсулін у сироватках крові здорових людей або хворих на ЦД. Підтверджено, що для відокремлення білків, які при розподілі БЗІ в ПААГ розташовуються в зонах альбумінів та трансферинів, можна проводити елюцію їх, поступово знижуючи рН буферного розчину 0,1 М гліцин-HCl, що призводить до їх «вимивання». Поетапна хроматографія цих білків на протеїні G-сефарозі 4В сприяє відділенню від БЗІ частини білків імуноглобулінової природи. На основі подальшого електрофоретичного дослідження БЗІ в пулах сироваток крові хворих на ЦД-1 та ЦД-2 в 12 % ПААГ, а також в окремих зразках пулів сироваток крові хворих на ЦД-2 з МС або без нього, встановити різницю між кількістю та особливістю окремих фракцій поки немає можливості. Ідентифікація БЗІ, визначення їх специфічності та ступеня зв'язування їх з інсуліном у сироватках крові хворих на ЦД, всебічно обстежених, різних за віком та статтю, потребує додаткових досліджень.

Література

1. Корпачев В. В., Гуріна Н. М., Мельниченко С. В. та ін. Білки, що зв'язують інсулін, та контррецепторні білки сироватки крові хворих на цукровий діабет і здорових людей // *Ендокринологія*. 2004, 9, №2, 221-235.
2. Chan K., Spenser E. General aspects of insulin-like growth factor binding proteins // *Endocrine*. 1997, 7, N 1, 95-97.
3. Yamanaka Y., Wilson E. M., Rosenfeld R. G., Oh Y. Inhibition of insulin receptor activation by insulin-like growth factor binding proteins // *J. Biol. Chem.* 1997, 272, N 49, 30729-30734.
4. Root-Bernstel R. S., Dobbelsstein C. Insulin binds to glucagon forming a complex that is hyper-antigenic and inducing complementary antibodies having an idiotype-anti-idiotype relationship // *Autoimmunity*. 2001, 33, N 3, 153-169.
5. Ronkainen M. S., Hamalainen A. M., Koskela P. et al. Pregnancy induces nonimmunoglobulin insulin-binding activity in both maternal and cord blood serum // *Clin. Exp. Immunol.* 2001, 124, 190-196.
6. Корпачев В. В., Мельниченко С. В., Карабун П. М. та ін. Порівняння розробленої імуноферментної тест-системи ("ІФА-АТ-інс") з комерційними наборами для виявлення антиінсулінових антитіл у сироватках крові людей // *Ендокринологія*, 2003, 8, № 2, 158-168.
7. Корпачев В. В., Мельниченко С. В., Лукашова Р. Г. та ін. Антигенність інсуліну та методи визначення антитіл до нього в сироватках крові здорових людей та хворих на цукровий діабет // *Ендокринологія*. 2005, 10, № 2, 206-223.
8. Остерман Л. А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1985. 536 с.
9. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е.Северина, Г.А. Соловьева. МГУ, 1989, 80-81.
10. Sundsten T., Ostenson C., Bergsten P. Differentially displayed serum proteins of individuals with type 2 diabetes mellitus // *Diabetologia*. 2005, 48, N 1, p. 196.
11. Тронько М. Д., Корпачева-Зінич О. В. Гендерні та статеві особливості цукрового діабету. К.: Книга плюс, 2008. 208 с.

12. Oldstone M. B. Molecular and cellular mechanisms, pathogenesis, and treatment of insulin-dependent diabetes obtained through study of a transgenic model of molecular mimicry. *CTMI*. 2005, 296, 65-87.

Изучение белковых веществ, связывающих инсулин в сыворотке крови людей, болеющих сахарным диабетом

С. В. Мельниченко, Л. В. Корпачева-Зинич, Р. Г. Лукашова

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины», г. Киев, 04114, Украина

В работе приводятся данные о способах выделения инсулинсвязывающих белков (ИСБ) из сывороток крови людей. Представлены результаты анализа этих белков методом электрофореза в полиакриламидном геле и разработанным методом иммуноферментного анализа для определения антител к инсулину. Исследовались сыворотки крови больных сахарным диабетом 1 и 2 типа, леченных инсулином (или другими сахароснижающими препаратами). В каждом образце сыворотки крови перед выделением ИСБ определяли антитела к инсулину и в зависимости от наличия или отсутствия их, сыворотки крови объединялись в отдельные пулы. Для выделения ИСБ использовали аффинные сорбенты (инсулин человека + BrCN-сефароза 4В), изготовленные стандартным способом или с использованием спейсера – ω -аминокапроновой кислоты. Электрофоретическое разделение ИСБ проводили в 12 % полиакриламидном геле, а их анализ – с помощью программы «Gelscan V.5.1.».

Сделан вывод, что с инсулином в сыворотке крови доноров и больных сахарным диабетом способно соединяться значительное количество белков с различным молекулярным весом. Для отделения белков, которые при разделении ИСБ в полиакриламидном геле располагаются в зонах альбуминов и трансферринов, можно проводить элюцию их, постепенно снижая рН буферного раствора, а поэтапная элюция ИСБ на протеин G-сефарозе 4В благоприятствует отделению от ИСБ части белков иммуноглобулиновой природы. Однако на основе электрофоретического анализа ИСБ в пулах сывороток крови доноров и больных сахарным диабетом, а также в отдельных образцах сывороток крови больных сахарным диабетом 2 типа с метаболическим синдромом или без него, обнаружить особенности отдельных фракций ИСБ пока не представляется возможным. Для идентификации выделенных ИСБ, определения специфичности и степени сродства их к инсулину, необходимы дополнительные эксперименты с использованием иммуноблоттинга, иммуноферментного анализа отдельных фракций и других аналитических методов.

Ключевые слова: инсулинсвязывающие белки, антитела к инсулину, инсулин, сахарный диабет.

Investigation of protein insulin-binding substances in sera of diabetes mellitus patients

S. V. Melnychenko, L. V. Korpacheva-Zynych, R. G. Lukashova

State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology & Metabolism, Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kyiv, 04114, Ukraine

This paper deals with methods of isolation of insulin-binding proteins (IBPs) present in human blood sera. The authors describe the results obtained following an analysis of data obtained by a technique of polyacrylamide gel electrophoresis as well as data obtained by a modification of immune-enzyme analysis elaborated for anti-insulin antibody detection. The sera of patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus treated by insulin and other substances lowering blood glucose level were taken for investigation. Before isolation of IBPs, each sample was studied to determine anti-insulin antibodies;

depending on their presence or absence, the sera were pooled separately. To isolate IBPs, affine sorbents (including human insulin + BrCN-Sepharose 4B) were taken, prepared by a standard technique or by a technique using a spacer – ω -aminocaproic acid. IBPs separation was carried out using 12 % PAGE, their analysis having been made with a computer program «Gelscan V.5.1.».

The authors conclude that a lot of blood proteins with different molecular masses are able to bind insulin. To separate the proteins situated in albumin and transferrin zones following PAGE, their elution may be made by a gradual pH value decrease of buffer solution; the step-by-step IBP elution on a protein G-Sepharose 4B column permits to separate them from some immunoglobulin-like proteins. However, it is not yet possible to describe the properties of separate IBP fractions from the data obtained using of polyacrylamide gel electrophoresis analysis of IBPs isolated from diabetes patients and donors, as well as in individual blood samples of type 2 diabetes mellitus patients with or without metabolic syndrome. Additional experiments are needed for isolated IBPs identification, for assessment of their affinity degree for insulin; immunoblotting techniques, as well as immune-enzyme analysis of separate fractions must be made; some other approaches may be also necessary.

Key words: insulin-binding proteins, anti-insulin antibodies, insulin, diabetes mellitus.

(Надійшла 24.09.2009)

ВПЛИВ ТАКСОЛУ НА РІВЕНЬ ФОСФОЛІПІДІВ ТА МІЧЕННЯ ДНК, РНК І БІЛКІВ В ПОЗАПУХЛИННІЙ ТКАНИНІ ТА ТКАНИНІ ПУХЛИН КОРИ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ЛЮДИНИ

Н. І. Левчук*, В. М. Пушкарьов, О. І. Ковзун,
Т. О. Хмель¹, М. Д. Тронько

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України»; м. Київ, 04114;

¹ Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, м. Київ, 01601, Україна

Досліджували вплив різних концентрацій таксолу на мічення нуклеїнових кислот і білків та на рівень фосфоліпідів в клітинах позапухлинної та гормонально активної пухлинної тканини надниркових залоз людини. Показано, що таксол пригнічує включення мітки в білки та ДНК в позапухлинній та пухлинній тканині. Ефект таксолу щодо трансляції був більш вираженим в пухлинних тканинах. Таксол також зменшував рівень сфінгомієліну, сфінгозину та дифосфатидилгліцеролу в пухлинних тканинах надниркових залоз людини. Обговорюються можливі механізми впливу таксолу на метаболічні процеси в пухлинних тканинах кори надниркових залоз людини.

Ключові слова: пухлини надниркових залоз людини, таксол, фосфоліпіди, ДНК, РНК, білки.

Таксол – ефективна протипухлинна сполука, яку виділяють з деяких видів тису. Відомо, що таксол посилює апоптоз та пригнічує проліферацію пухлинних клітин різного генезу. У попередніх дослідженнях було показано, що таксол також посилює апоптозні процеси в деяких типах пухлинних тканин надниркових залоз (НЗ) людини [1, 2]. Проте механізми проапоптозних ефектів таксолу в пухлинах НЗ залишаються недостатньо вивченими. Практично відсутні дані щодо впливу таксолу на метаболічні процеси в пухлинних клітинах різного походження, в тому числі і клітинах НЗ.

Метою роботи було дослідження впливу таксолу на вміст фосфоліпідів та мічення ДНК, РНК і білків в пухлинних тканинах НЗ.

Матеріали та методи

На проведення досліджень був одержаний дозвіл від комісії Інституту з питань біоетики. Дослідження проводились на постопераційних позапухлинних та пухлинних тканинах кори надниркових залоз людини, а також на диспергованих клітинах, одержаних з цих тканин.

Всього досліджено 10 зразків позапухлинної тканини та 14 зразків тканини доброякісних пухлин (9 зразків тканин гормонально активних пухлин і 5 зразків – гормонально неактивних). Були досліджені такі типи гормонально активних пухлин: альдостерома (5 зразків), андростерома (2 зразки), кортикостерома (2 зразки).

Тонкошарова хроматографія. Тканину НЗ переносили на лід, звільняли від сполучної, жирової тканини та мозкового шару, відділяли позапухлинну тканину від

* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна; E-mail: endo@i.kiev.ua

тканини пухлини, подрібнювали та інкубували при 37 °С протягом 3 год з таксолем у кінцевій концентрації 10^{-7} – 10^{-5} М. Контрольна проба містила розчинник (диметилсульфоксид), концентрація якого не перевищувала 1 %. Після інкубації зрізів тканин ліпиди екстрагували методом E. G. Bligh, W. I. Dyer [3]. Розділення фосфоліпідів проводили за допомогою двовимірної тонкошарової хроматографії на пластинах з силікагелем з використанням таких хроматографічних систем: перший напрямок – хлороформ : метанол : бензол : аміак (65 : 30 : 10 : 6), другий напрямок – хлороформ : метанол : бензол : ацетон : крижана оцтова кислота : вода (70 : 3 : 10 : 5 : 4 : 1) [4]. Кількість фосфоліпідів визначали, використовуючи мікрометод з реактивом Васильковського [5].

Визначення сфінгозину проводили за методом, який базується на властивості сфінгозину утворювати забарвлений комплекс з метилоранжем [6].

Одержання диспергованих клітин. Дисперговані клітини отримували за наступною методикою. Зрізи тканини НЗ інкубували в середовищі Ігла, що містило 2 мг/мл БСА («Serva», Німеччина), 10 мМ HEPES (рН 7,4) («Calbiochem», США), 0,125 мг/мл колагенази (0,15-0,4 од/мг) («Fluka», Швейцарія), при 37 °С протягом 40 хв. Після інкубації тканину дезагрегували за допомогою піпетки з розширеним та оплавленим носиком. Інкубат фільтрували через нейлон. Тканину НЗ, що залишилась на фільтрі переносили у нову порцію живильного середовища з колагеназою та продовжували інкубувати за тих же умов протягом 20 хв. Таку процедуру повторювали 2-3 рази. Фільтрати об'єднували та осаджували при 2200 об/хв протягом 10 хв. Суспензію клітин розводили в середовищі Ігла з 2 мг/мл БСА та 10 мМ HEPES і розділяли в ступінчастому градієнті перколу («Sigma», США). На верхній шар градієнта обережно наносили клітинну суспензію і центрифугували протягом 40 хв при 2200 об/хв. Після центрифугування клітини, які розміщені в перколі на межі шарів 10 % (0,8 мл перкол + 1,2 мл середовища Хенкса – NaCl) та 40 % (0,3 мл перкол + 2,7 мл середовища Хенкса), відбирали піпеткою. Клітини відмивали від розчину перколу центрифугуванням при 2200 об/хв протягом 20 хв та підраховували кількість клітин в камері Горяєва. Для оцінки життєздатності клітин використовували забарвлення трипановим синім.

Короткочасна клітинна культура. Дослідження проводили на диспергованих клітинах, отриманих з позапухлинної та пухлинної тканини, як описано вище. Суспензію клітин розливали у пробірки (100-200 тис. клітин в 1 мл середовища RPMI-1640 («Sigma», США), що містило 5 % сироватки великої рогатої худоби та антибіотики (100 од/мл пеніциліну та 100 од/мл стрептоміцину) («Sigma», США)). До досліджуваних проб додавали розчин таксолу у концентраціях, які зазначено вище.

У проби також додавали попередники синтезу ДНК (^3H -тимідин, 0,04 мБк/мл на пробу), РНК (^3H -уридин, 0,04 мБк/мл), білка (^3H -лейцин, 0,2 мБк/мл) та інкубували на водяній бані при повільному струшуванні протягом 18 год при 37 °С. Після закінчення інкубації клітини осаджували 7 % ТХО, осад переносили на фільтри GF/C («Whatman», Велика Британія), промивали двічі на фільтрах 5 % ТХО та 96 % етиловим спиртом. Фільтри підсушували при кімнатній температурі, переносили у флакони зі сцинтиляційною рідиною ЖС-8 та рахували радіоактивність в лічильнику LS 5000ТА («Beckman-Coulter», Австрія).

Одержані дані опрацьовані статистично з використанням критерію t Стьюдента та непараметричного критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні.

Результати та їх обговорення

Таксол є сполукою дитерпеноїдної природи, яка досить легко проникає в клітину, проте механізм його взаємодії з мембранами пухлинної клітини майже не вивчався. Ми досліджували зміни вмісту основних клітинних фосфоліпідів в тканинах НЗ при дії таксолу. Потрібно відмітити більшу чутливість пухлинних тканин, порівняно з позапухлинною тканиною, щодо впливу препарату на рівень ліпідів. В позапухлинній тканині спостерігалось тільки невелике, але вірогідне, підвищення кількості фосфатидилхоліну (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив таксолу на рівень фосфоліпідів в позапухлинній тканині кори надниркових залоз людини (у % до контролю без таксолу, $M \pm m$)

Фосфоліпіди	Кількість у контрольних пробах (мкг/г)	Позапухлинна тканина		
		Концентрації таксолу		
		10^{-7} М	10^{-6} М	10^{-5} М
Загальний фосфор	202,1±93,3	112,3±20,8	117,0±24,8	114,0±17,1
Сфінгомелінін	56,7±21,1	166,7±82,7	208,7±122,2	148,7±114,7
Сфінгозин	149,4±65,3	136,0±36,6	131,7±27,2	206,7±107,8
Фосфатидилсерин	52,8±16,8	91,7±24,6	95,3±39,1	108,3±44,1
Фосфатидилінозитол	80,5±11,5	110,7±20,7	104,3±23,4	90,7±18,8
Фосфатидилхолін	446,0±9,5	102,0±10,0	104,7±0,7**	102,0±5,1
Фосфатидилетаноламін	279,3±19,2	97,7±7,5	96,7±5,2	114,7±15,4
Дифосфатидилгліцерол	54,1±3,8	187,5±96,8	175,5±88,6	162,5±81,2

Примітка: ** — за критерієм t Стьюдента різниця у порівнянні з контрольною групою вірогідна ($P < 0,01$), $n = 3$.

В пухлинах таксол у концентрації 10^{-5} М вірогідно знижував рівень сфінгомелініну – структурного компонента клітинної мембрани (табл. 2). 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 за наявності таксолу, хоча й при меншій концентрації препарату. Це дозволяє припустити, що зменшення кількості сфінгомелініну може призводити до накопичення саме кераміду, який може утворюватись і з сфінгозину шляхом приєднання N-ацильної групи. Одержані дані, що індукція таксолом програмованої клітинної смерті в деяких типах клітин безпосередньо пов'язана з утворенням кераміду [7]. Показано, що керамід індуктує мітохондріальний шлях апоптозу [8]. Накопичення кераміду при дії таксолу може відбуватися такими шляхами: за рахунок розщеплення сфінгомелініну сфінгомеліназами, внаслідок його синтезу *de novo*

Таблиця 2. Вплив таксолу на рівень фосфоліпідів в гормонально активних пухлинних тканинах кори надниркових залоз людини (у % до контролю без таксолу, $M \pm m$)

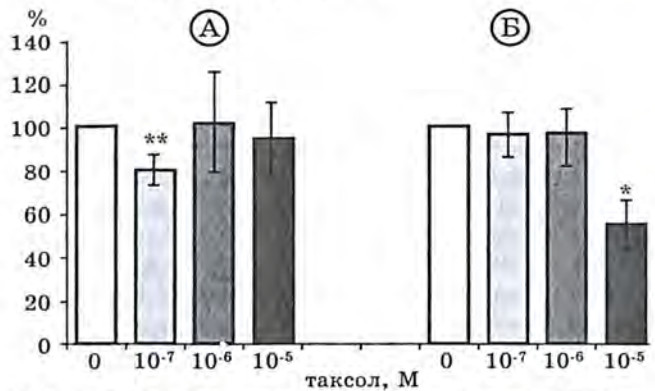
Фосфоліпіди	Кількість у контрольних пробах (мкг/г)	Пухлинна тканина		
		Концентрації таксолу		
		10^{-7} М	10^{-6} М	10^{-5} М
Загальний фосфор	531,2±100,2	112,7±11,1	112,5±16,0	104,0±13,3
Сфінгомелінін	61,6±13,1	111,0±16,0	105,8±21,9	75,0±11,9*
Сфінгозин	136,5±92,3	91,3±4,1*	99,2±10	97,4±6,7
Лізофосфатидилхолін	52,7±36,4	59,3±39,1	68,5±56,5	81,5± 19,5
Фосфатидилсерин	30,9±5,2	95,8±8,3	105,8±12,9	106,8±15,8
Фосфатидилінозитол	71,1±11,0	94,0±5,6	99,3±8,6	108,5±13,8 +
Фосфатидилхолін	453,3±18,3	101,8±4,9	99,6±3,1	99,6±3,7
Фосфатидилетаноламін	278,7±18,8	107,6±6,5	103,4±4,8	104,4±3,9
Дифосфатидилгліцерол	70,0±16,6	87,3±5,8*	117,7±13,1	93,0±13,0

Примітка: * — за непараметричним критерієм різниця у порівнянні з контрольною групою вірогідна ($P < 0,05$); + — за непараметричним критерієм різниця у порівнянні з ефектом таксолу у позапухлинній тканині вірогідна ($P < 0,05$); $n = 4-6$, $n = 10$ (для сфінгозину).

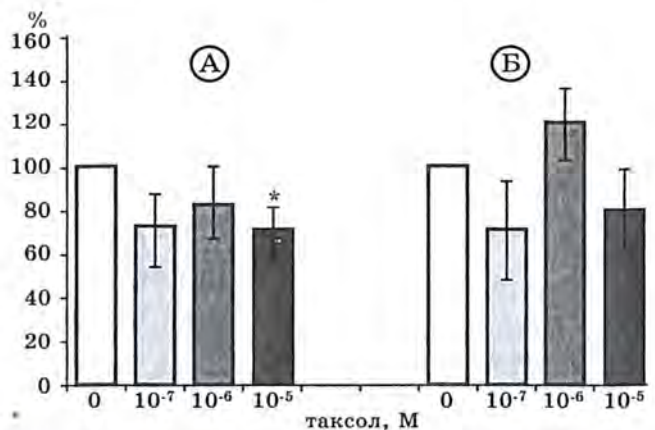
та внаслідок гальмування його метаболізму [9, 10]. Отже, отримані дані дозволяють припустити, що зниження рівня сфінгомеліну в пухлинах НЗ, можливо, відбувається за рахунок активації сфінгомелінази, що, в свою чергу, може призводити до накопичення кераміду.

Під впливом таксолу в тканинах гормонально активних пухлин спостерігалось також зменшення кількості дифосфатидилгліцеролу (кардіоліпін), який є важливим компонентом внутрішнього шару мітохондріальних мембран. Кількість цього гліцероліпиду може досягати 20 % від загальної кількості ліпідів [11]. В мітохондріях кардіоліпін зв'язаний з цитохромом С і є дані, що його деградація чітко корелює з прогресуванням апоптозних процесів та звільненням цитохрому з мітохондрій [11]. Останній факт може вказувати на спосіб взаємодії таксолу з мітохондріями на мембранному рівні, що призводить до ініціації апоптозу. Цікаво, що зміни сфінгозину та кардіоліпину спостерігались при концентрації таксолу, яка індукує справжній апоптоз (10^{-7} М), на відміну від сфінгомеліну, рівень якого знижується при концентрації таксолу, що викликає некротичні процеси.

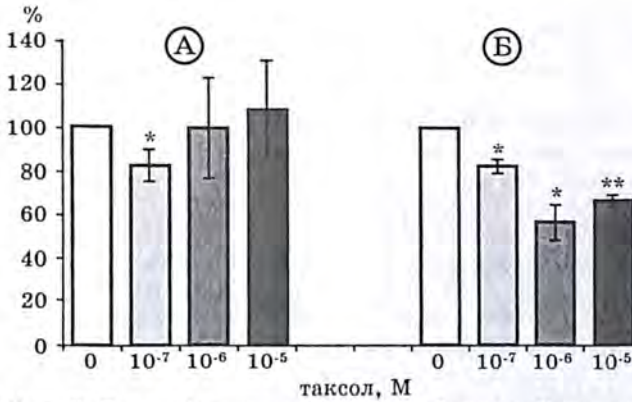
Іншим завданням роботи було вивчення впливу таксолу на мічення ДНК, РНК та білки. На малюнках 1, 2, 3 представлені результати дослідження включення мітки ^3H -тимідину в ДНК, ^3H -уридину в РНК та ^3H -лейцину в білки. З мал. 1 та 2 видно, що таксол мало впливає на синтез нуклеїнових кислот у тканині надниркових залоз. У позапухлинній тканині зниження мічення ДНК спостерігалось при концентрації сполуки 10^{-7} М, в пухлинній (гормонально неактивні пухлини) – тільки при концентрації таксолу 10^{-5} М. Таку стійкість метаболізму нуклеїнових кислот щодо таксолу можна пояснити тим, що головною мішенню цієї сполуки в клітині є мікротрубочки, і вплив на ядро здійснюється тільки опосередковано, через низку біохімічних процесів, пов'язаних із зупинкою клітинного циклу [12]. Вірогідне зниження мічення РНК спостерігалось тільки в позапухлинній тканині при максимальній концентрації сполуки. Цей факт, можливо, пояснюється тим, що дія таксолу на клітину супроводжується активацією процесів, що протидіють один одному.



Мал. 1. Залежність включення ^3H -тимідину у ДНК позапухлинної тканини (А) та тканини гормонально неактивної пухлини (В) кори НЗ від концентрації таксолу в інкубаційному середовищі; $M \pm m$; $n = 3$; вірогідні зміни щодо контролю (без таксолу): * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,001$.



Мал. 2. Залежність включення ^3H -уридину у РНК позапухлинної тканини (А) та тканини гормонально неактивної пухлини (В) кори НЗ від концентрації таксолу в інкубаційному середовищі; $M \pm m$; $n = 3$; * - вірогідні зміни ($P < 0,05$) щодо контролю.



Мал. 3. Залежність включення ³H-лейцину у білки позапухлинної тканини (А) та тканини гормонально неактивної пухлини (Б) кори НЗ від концентрації таксолу в інкубаційному середовищі; $M \pm m$; $n = 3$; вірогідні зміни щодо контролю: * - $P < 0,05$, ** - $P = 0,001$.

Внаслідок такої активації може відбуватися посилення синтезу РНК, яке компенсує гальмівний ефект таксолу щодо транскрипційних процесів.

Значно чутливішим до таксолу, особливо в пухлинній тканині, виявився процес трансляції. Якщо в позапухлинній тканині зниження включення ³H-лейцину в білки спостерігалось, як і мічення ДНК, при низькій концентрації сполуки, то в гормонально неактивних пухлинах всі досліджувані концентрації таксолу вірогідно

пригнічували трансляцію (мал. 3). Останній факт, можливо, пояснюється пригніченням таксолом однієї з центральних клітинних протеїнкіназ – Akt [13, 14], яка бере участь у процесах, що захищають клітину від апоптозу, сприяють виживанню та проліферації пухлинних клітин. Akt активує протеїнкіназу mTOR, яка є інтегральним центром, що регулює білковий синтез та постачання клітини енергією, а та, в свою чергу, активує p70S6K, яка знаходиться нижче в сигнальному ланцюгу mTOR і безпосередньо регулює швидкість трансляції [15]. Цікаво, що сфінгозин-1-фосфат, фосфорильоване похідне сфінгозину, здатний прямо активувати mTOR [16]. Зниження кількості сфінгозину може також (додатково) бути причиною пригнічення білкового синтезу в клітинах гормонально неактивних пухлин за наявності таксолу.

Висновки

1. Дія таксолу в пухлинній клітині спричиняє зміни кількості ряду важливих ліпідів у клітинній та мітохондріальній мембранах.
2. Таксол не впливає суттєво на мічення нуклеїнових кислот, проте помітно пригнічує в пухлинах білковий синтез.

Література

1. Левчук Н. І., Пушкарьов В. М. Вплив таксолу на рівень фрагментації ДНК і стероїдогенну функцію в доброякісній гормонально неактивній пухлині та позапухлинній тканині кори надниркових залоз людини // *Ендокринологія*. 2008, 13, N 1, 98-103.
2. Левчук Н. І., Пушкарьов В. М., Ковзун О. І., Тронько М. Д. Вплив таксолу на апоптозу фрагментацію ДНК в позапухлинних та пухлинних тканинах надниркових залоз людини // *Ендокринологія*. 2009, 14, N 1, 126-133.
3. Bligh E. G., Dyer W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification // *Can. J. Biochem. Physiol.* 1959, 37, N 8, 911-917.
4. Vaskovsky V. E., Terekhova T. A. HPTLC of phospholipid mixtures containing phosphatidylglycerol // *J. High. Resol. Chromatogr. & C. C.* 1972, 67, 671-672.
5. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. Y., Vasendin I. M. A universal reagent for phospholipid analysis // *J. Chromatogr.* 1975, 114, N 1, 129-141.
6. Беспалова М. А. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под. ред. М. И. Прохоровой. Л.: Изд. Ленингр. ун-та, 1982, 91-96.
7. Пушкар С. М. Вплив хемотерапії з таксотером на керамідний шлях активації апоптозу у хворих на рак грудної залози // *Укр. радіол. журн.* 2007, 15, 440-444.
8. Siskind L. J., Feinstein L., Yu T. et al. Anti-apoptotic Bcl-2 family proteins disassemble ceramide channels // *J. Biol. Chem.* 2008, 283, N 11, 6622-6630.

9. Sietsma H., Veldman R. J., Kolk D. et al. 1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol chemosensitizes neuroblastoma cells for taxol and vincristine // *Clin. Cancer Res.* 2000, **6**, 942-948.
10. Мітряєва Н. А., Гребіник Л. В., Узленкова Н. Є. та ін. Вплив іонізуючого випромінювання та таксотеру на церамідний шлях активації апоптозу в пухлині Герена // *Укр. радіол. журн.* 2005, **13**, 58-61.
11. Schlame M. Cardiolipin synthesis for the assembly of bacterial and mitochondrial membranes // *J. Lipid Res.* 2008, **49**, N 8, 1607-1620.
12. Demidenko Z. N., Kalurupalle S., Hankon 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.
13. Asakuma J., Sumitomo M., Asano T. et al. Selective Akt inactivation and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand sensitization of renal cancer cells by low concentrations of paclitaxel // *Cancer Res.* 2003, **63**, 1365-1370.
14. Guo C., Gasparian A. V., Zhuang Z. et al. 9-Aminoacridine-based anticancer drugs target the PI3K/AKT/mTOR, NF- κ B and p53 pathways // *Oncogene.* 2009, **28**, 1151-1161.
15. Polak P., Hall M. N. mTOR and the control of whole body metabolism // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2009, **21**, 1-10.
16. Maeurer C., Holland S., Pierre S. et al. Sphingosine-1-phosphate induced mTOR-activation is mediated by the E3-ubiquitin ligase PAM // *Cell. Signal.* 2009, **21**, 293-300.

Влияние таксола на уровень фосфолипидов и мечение ДНК, РНК и белков во внеопухолевой ткани и ткани опухолей коры надпочечников человека

Н. И. Левчук*, В. М. Пушкарев, Е. И. Ковзун, Т. А. Хмель¹, Н. Д. Тронько

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины», г. Киев, 04114;

¹Институт биохимии А. В. Палладина НАН Украины, г. Киев, 01601, Украина

Исследовали влияние различных концентраций таксола на мечение нуклеиновых кислот и белков и на уровень фосфолипидов в клетках внеопухолевой и гормонально активной опухолевой ткани надпочечников человека. Показано, что таксол ингибирует включение метки в белки и ДНК внеопухолевой и опухолевой ткани. Эффект таксола на трансляцию был более выражен в опухолевых тканях. Таксол также снижал уровень сфингомиэлина, сфингозина и дифосфатидилглицерола в опухолевых тканях надпочечников человека. Обсуждаются возможные механизмы влияния таксола на метаболические процессы в опухолевых тканях коры надпочечников человека.

Ключевые слова: опухоли надпочечников человека, таксол, фосфолипиды, ДНК, РНК, белки.

The effect of Taxol on level of phospholipids and DNA, RNA and proteins labeling in extratumoral and tumor tissues of human adrenal cortex

N. I. Levchuk*, V. M. Pushkarev, O. I. Kovzun, T. O. Khmel¹, M. D. Tronko

State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kyiv, 04114;

¹Palladin Institute of Biochemistry, Natl. Acad. Sci. of Ukraine, Kyiv, 01601, Ukraine

The effects of different taxol concentrations on nucleic acid and protein labeling and on phospholipid level in cells of extratumoral and hormonally-active tumor tissues of human adrenals were studied. We have demonstrated that taxol inhibited the label incorporation in proteins and DNA in extratumoral and tumor tissues. The effect of taxol upon translation was more marked in tumor tissues. Taxol also decreased the levels of sphingomyeline, sphingosine and diphosphatidylglycerol in tumor tissues of human adrenals. The possible mechanisms of taxol influence on metabolic processes in tumor tissues of human adrenal cortex were discussed.

Key words: tumors of human adrenals, taxol, phospholipids, DNA, RNA, proteins.

(Надійшла 13.07.2009)

**КЛІНІКО-ДІАГНОСТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ
ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ
ДЕЯКИХ ФОРМ НИЗЬКОРОСЛОСТІ: ІЗОЛЬОВАНИЙ
ДЕФІЦИТ ГОРМОНУ РОСТУ, СИНДРОМ БІОЛОГІЧНО
НЕАКТИВНОГО ГОРМОНУ РОСТУ, РЕЦЕПТОРНА
НЕЧУТЛИВІСТЬ ДО ГОРМОНУ РОСТУ
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ І ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

*Н. А. Спринчук**

*Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України», м. Київ, 04114, Україна*

В огляді представлена клініко-лабораторна диференційна діагностика ізольованого дефіциту гормону росту, синдрому біологічно неактивного гормону росту та рецепторної нечутливості до гормону росту, наведені їх молекулярно-генетичні особливості, а також лікування даних видів низькорослості. Описаний фенотип хворих з синдромом біологічно неактивного гормону росту. Показана інформативність проби на чутливість до гормону росту у хворих з вищевказаною патологією для призначення адекватної соматотропної терапії.

Ключові слова: ізольований дефіцит гормону росту, біологічно неактивний гормон росту, синдром Коварської, синдром Ларона, інсуліноподібний фактор росту-1.

Фізичний розвиток людини регулюється взаємодією генетичних, гормональних, метаболічних, клітинних та багатьох інших складних процесів в організмі. У широкому спектрі гормонів, за участю яких відбувається ріст людини, життєдіяльність та функціонування органів і систем, ключовими є соматотропний гормон та інсуліноподібні фактори росту.

Останнім часом, з активним розвитком медико-молекулярної генетики та відкриттям нових соматотропін-регулюючих біологічних чинників (таких, як епідермальний фактор росту, фактор росту фібробластів, трансформуючі фактори росту α і β , інсуліноподібні фактори росту та їх зв'язуючі білки, інтерлейкін-1, грелін та інші) [1-5], погляд на етіопатогенез, діагностику та лікування соматотропної недостатності починає змінюватись. Діагноз гіпофізарного нанізму сьогодні набуває ширшого значення.

Відомо, що причини дефіциту гормону росту (ГР) різноманітні – ушкодження гіпоталамічних або гіпофізарних структур, порушення периферичної чутливості до дії гормону внаслідок патології рецепторного апарату на периферії, синтез біологічно неактивного ГР та інші. Накопичено досить багато фактів, що описують, яким чином гормон росту бере участь у тих або інших біологічних процесах, і які додаткові чинники забезпечують його роботу.

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

Перші наукові публікації відносно «гіпофізарного фактора з ростовою активністю» з'явилися у 1912 році і були описані Н. Cushing, як результат спостереження клінічного ефекту оперативного лікування хворого з акромегалією, проведеному в 1909 році. Тривалий час фізіологічна роль гіпофізарних структур, на відміну від їх анатомічного опису, залишалася невідомою. Тільки майже через піввіку, у 1956 році С. Li й Н. Parkoff вперше виділили гормон росту із тканини гіпофіза, а ще значно пізніше була розшифрована амінокислотна послідовність соматотропного гормону [1, 6].

На сьогодні відомо, що ген гормону росту локалізується на довгому плечі 17 хромосоми (q22-24). У геномі людини є кластер з п'яти генів – GH-N, CS-L, CS-A, GH-V і CS-B – з висококонсервативними послідовностями. Всі п'ять генів у кластері містять по п'ять екзонів і чотири інтрони, у кожному з яких можуть відбуватися один або більше альтернативних сплайсингів, що створює умови для різних клінічних можливостей ГР. Ген GH-N або GH-1 експресується в соматотропних клітинах передньої долі гіпофіза. Він кодує пептид, що складається з 217 амінокислотних залишків, 26 з яких відщепляються, в результаті утворюється білок, що містить 191 амінокислотний залишок, молекулярна маса якого 22 кДа. Ця ізоформа превалює в організмі та становить більше 85 %. Інші 10-15 % молекул гормону росту представлені іншою ізоформою, молекулярна маса якої 20 кД. Ця ізоформа експресується, головним чином, у плаценті й не має інсуліноподібної активності. Гени CS-A і CS-B кодують плацентарний лактоген (HPL), якому належить головна роль у регуляції метаболізму матері. Ген GH-V кодує пептид, який експресується на пізніх стадіях вагітності. CS-L є псевдогеном [6-10].

Роль гормону росту не обмежується тільки регуляцією росту. Показано, що ГР викликає безліч біологічних ефектів, серед яких, крім соматогенезу, описана його участь у лактації, активації макрофагів, інсуліноподібний і діабетогенний ефекти та багато іншого. Таким чином, гормон росту проявляє, принаймні, три типи біологічної активності, а саме: соматогенну, лактогенну і метаболічну. Разом з тим, уточнення фізіології системи гіпоталамус-соматотрофи-периферичні фактори росту та її взаємозв'язків за умов патології триває дотепер.

Соматотропна низькорослість у людини не завжди пов'язана з дефіцитом гормону росту, це доведено молекулярно-біологічними й генетичними дослідженнями останніх 10-15 років. Адже, крім гормону росту, є ряд чинників, з якими він взаємодіє для того, щоб проявився ростовий ефект, а за умов зміни цієї взаємодії спостерігається порушення росту.

Але гормон росту залишається головним гормональним регулятором експресії гена інсуліноподібного фактора росту (ІФР-I) як у циркуляції, так і в периферичних тканинах (печінка, серце, легені та підшлункова залоза). Ефекти ГР проявляються на рівні транскрипції ІФР-I, у зв'язку з чим останній знижений за умов недостатності гормону росту. Інсуліноподібні фактори росту є головними медіаторами пре- та постнатального росту. У розвитку плода особливе значення має ІФР-II. У постнатальному періоді більшого значення набуває ІФР-I (соматомедін С), що має певні вікові коливання. У сироватці новонародженого рівень ІФР-I становить приблизно 30-50 % від рівня дорослої людини. З раннього дитинства рівень ІФР-I поступово підвищується, досягаючи в пубертатному періоді максимальних значень, які перевищують рівень у дорослих в 2-3 рази. Починаючи з 20-30-річного віку й у подальшому концентрація ІФР-I поступово знижується [1, 11].

ІФР-I й ІФР-II являють собою два близькоспоріднених пептидних гормони з молекулярною масою приблизно 7 кД. Вперше вони були ідентифіковані в 1956 році за назвою соматомедіни. Вони належать до сімейства пептидних гормонів, що включають релаксин та інсулін, і за структурою дуже близькі

до проінсуліну. Як і проінсулін, вони містять А, В, С і D домени, утворюючи зрілий пептид ІФР. Обидва фактори синтезуються з додатковим пептидом Е, але в результаті посттрансляційного процесингу пептид Е відщеплюється. У деяких випадках ІФР (зокрема ІФР-II) секретується разом з пептидом Е, і в результаті глікозилювання утворюються молекули від 10 до 20 кД [2, 12].

Ген ІФР-I розташований на довгому плечі хромосоми 12 (q25aq26) і включає шість екзонів, два з яких альтернативно використовуються при утворенні попередників (ІФР-IA і ІФР-IB). Головними регуляторами ІФР-I є гормон росту та режим харчування [2, 12].

Введення адекватної дози соматотропіну пацієнтам з дефіцитом ГР призводить до значного і швидкого підвищення рівня ІФР-I у крові внаслідок стимулювання синтезу ІФР-I у печінці, з максимальним рівнем через 12-24 год. Крім того, експресія ІФР-I стимулюється у різних тканинах, в тому числі, в епіфізарному хрящі, що сприяє росту кісток у довжину. Існує негативний зворотний зв'язок щодо секреції ГР, який індуковано ІФР, як на гіпофізарному, так і на гіпоталамічному рівнях: за умов недостатнього харчування і патології рецепторів до ГР, рівень ІФР-I залишається низьким, а рівень ГР підвищується [7, 13, 14].

Відомо, що у плазмі крові та інших біологічних рідинах ІФР комплексується із ІФР-зв'язуючими білками (ІФРЗБ), які є провідними модуляторами локального та системного ефектів ІФР. На молекулярному рівні вивчено шість класів ІФР-зв'язуючих білків. ІФРЗБ-3 є єдиним серед всіх зв'язуючих білків, що служить резервуаром для ІФР і запобігає значним коливанням концентрацій вільних ІФР у крові. Утворення потрійного комплексу при зв'язуванні з кислотно-лабільною субодиницею (ALS) є важливим етапом, оскільки цей великий комплекс (молекулярна маса сягає 125-150 кДа) не піддається клубочковій фільтрації і не проходить у позасудинний простір [1, 2, 15, 16].

Кількість ІФР-I й ІФР-II, а також ІФРЗБ-3 різко знижується при дефіциті гормону росту. У відповідь на терапію ГР у пацієнтів зростає кількість ІФР-I та ІФРЗБ-3. Харчування відіграє мінорну роль у регуляції кількості сироваткового ІФРЗБ-3, а рівень ІФР при голодуванні й важких формах захворювань, які супроводжуються порушенням функції печінки та інших органів, знижується [1, 2, 6, 12].

Оцінка соматотропної функції. Отже, причини дефіциту ГР різноманітні. Для того, щоб з'ясувати, що саме послужило чинником низького росту пацієнтів, першочергово необхідно провести дослідження антропометричних показників та соматотропної функції.

Ріст повинен оцінюватись за даними перцентильних таблиць стандартів росту й ваги, окремо для хлопчиків і дівчаток відповідної популяції. Крім абсолютних величин росту, украй важливим показником є швидкість росту. Перцентильні таблиці швидкості росту розроблені J. M. Tanner, P. S. W. Davies [5]. У дітей з дефіцитом соматотропного гормону (СТГ) швидкість росту не перевищує 4 см на рік, найчастіше вона становить 1-2 см на рік.

При вродженому дефіциті гормону росту кістковий вік відстає від паспортного більше ніж на 2 роки. Для визначення кісткового віку, в основному, використовують два методи: Гроліха-Пайла або Таннера-Уайтхауса.

Одноразове визначення СТГ у крові не має діагностичного значення для підтвердження соматотропної недостатності внаслідок епізодичного спонтанного характеру секреції СТГ і через можливість отримання вкрай низьких (нульових) базальних значень СТГ навіть у здорових дітей. У зв'язку із цим використовуються визначення піку викиду СТГ на тлі стимуляційних фармакологічних проб. Провокаційні тести засновані на здатності різних фармакологічних препаратів стимулювати секрецію й викид СТГ соматотрофами.

У клінічній практиці найбільш поширені стимуляційні проби з інсуліном, клонидином, рідше з аргініном. Тотальна соматотропна недостатність діагностується у випадку піку викиду СТГ на тлі стимуляції менше 7 нг/мл, частковий дефіцит – при піку викиду СТГ від 7 до 10 нг/мл. Необхідною умовою проведення фармакологічних проб є еутироїдний стан щитоподібної залози. У випадку гіпотирозу спочатку необхідно пролікувати пацієнта тиреоїдними препаратами мінімум протягом 1 місяця [6, 13, 17].

Найзначимішою константою у виявленні дефіциту СТГ у дітей є ІФР-I (соматомедин С), який прямо зв'язаний зі зниженим рівнем ГР в плазмі крові [12, 13, 18].

Так само, у діагностиці соматотропного дефіциту в дітей високоінформативним показником є рівень високомолекулярного ІФРЗБ-3. Рівень його в плазмі крові залежить від секреції гормону росту і знижується за умов недостатності ГР [1, 2, 11].

Але для того, щоб розібратися у формах низькорослості, іноді буває недостатньо вивчити тільки соматотропну функцію. У сучасних дослідженнях, присвячених розшифруванню структури й уточненню механізмів експресії генів, вивчається роль дефектів на всіх рівнях, відповідальних за процеси росту й розвитку генів, включаючи ген ГР, ген рецептора ГР, ген рилізінг-гормону ГР, а також порушення проведення гормонального сигналу на рецепторному й пострецепторному рівнях.

Синдром біологічно неактивного гормону росту. Завдяки проведенню медико-генетичних досліджень у кінці минулого сторіччя в гені гормону росту описано два типи мутацій, один з яких призводить до патології під назвою «синдром Коварски» або синдром біологічно неактивного гормону росту (БНГР), а інший – до патології, що характеризується ізольованим дефіцитом гормону росту (ІДГР).

Пацієнти з синдромом біологічно неактивного гормону росту вперше були описані в 1978 році, але молекулярна основа цього захворювання була розшифрована Y. Takahashi тільки в 1996 році [9]. З 1999 року патологія БНГР віднесена до дефіциту гормону росту визначеного походження вродженої форми (KIGS Aetiology Classification List, Ranke MB, 1999).

Y. Takahashi описав два різних випадки синдрому біологічно неактивного гормону росту. У першому випадку імуноферментний аналіз виявляв високий рівень ГР, але низьку концентрацію ІФР-I, який індукується при взаємодії гормону росту зі своїм рецептором. Кількість цього фактора значно збільшувалася після призначення пацієнтові гормону росту, при цьому спостерігалось і посилення соматичного росту. Ці дані дуже важливі для відмінності «синдрому Коварски» від синдрому рецепторної нечутливості до гормону росту [7, 9, 10, 19].

Новий тип нечутливості до гормону росту із-за ендогенного антагоніста ГР, яким є мутантний соматотропін, став відомий у тому ж році. Гетерозіготна мутація R77C призводить до конформаційних змін молекули ГР і знижує його біологічну активність. Цей мутантний гормон росту проявляв в 6 разів більшу спорідненість до рецепторного білка, що зв'язується з гормоном росту, у порівнянні з нормальним гормоном росту. Також він блокував фосфорилування тирозину в 10 разів активніше, ніж нормальний гормон росту, у результаті чого кількість ІФР-I та ІФРЗБ-3 була зниженою [7, 9, 11]. Таким чином, цей мутантний гормон мав антагоністичну або домінантно негативну дію, при цьому призначення терапії гормоном росту не підвищувало рівня ІФР-I й не призводило до терапевтичної дії. Але даний приклад не є типовим для «синдрому Коварски», хоча в обох цих випадках описані мутантні форми гормону росту [9]. Для визначення форми синдрому БНГР та призначення адекватної дози гормону росту, у відділенні дитячої ендокринної

патології Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України застосовується чотириденна проба з введенням ГР та подальшим дослідженням ІФР-I. Цей тест полягає у введенні генно-інженерного СТГ (0, 033 мг/кг/добу, підшкірно, протягом 4 днів) і визначенні рівня ІФР-I до першої ін'єкції СТГ та наступного дня після закінчення проби.

Діагностика багатьох рідкісних змішаних синдромів первинного порушення росту й хромосомної патології заснована головним чином на типовому фенотипі. За даними проведених досліджень у відділенні дитячої ендокринної патології Інституту, діти, які страждають на синдром біологічно неактивного гормону росту, за фенотипом не відрізняються від таких з ізольованою соматотропною недостатністю, а також від дітей, які мають низькорослість внаслідок рецепторної нечутливості до гормону росту. На тлі різкого відставання в рості, затримки швидкості росту й кісткового дозрівання в дітей зберігаються нормальні пропорції тіла, але спостерігаються такі особливі риси обличчя, як виступаюче чоло й сідлоподібний ніс.

Ізольована недостатність гормону росту. Друга група мутацій у гені гормону росту призводить до патології ізольованої соматотропної недостатності, яку поділяють на чотири групи IGHD (Isolated Growth Hormone Deficiency): IGHD IA, IGHD IB, IGHD II та IGHD III [3, 8, 11].

IGHD IA – це найважча форма захворювання, яка має автосомно-рецесивну спадковість. Продукція ендогенного гормону росту практично відсутня. Хворі цієї групи, як правило, народжуються з внутрішньоутробною затримкою росту, недорозвиненими статевими органами, пролонгованою гіпербілірубінемією та гіпоглікемією в перші роки життя. На терапію гормоном росту ці хворі відповідають хорошим анаболічним і ростовим ефектами. При цьому, часто спостерігається поява антитіл до гормону росту, які блокують ростовий ефект. Делеції та крапкові мутації зустрічаються у всіх генах кластера гормону росту, але більші делеції від 6,7 до 7,6 тпн виявлені в гені N, який робить найбільший внесок у забезпечення патології IGHD IA [8, 11].

Група патологій IGHD IB так само, як і IGHD IA, має автосомно-рецесивну спадковість. Дефіцит гормону росту не настільки високий, як у групі IGHD IA, тому і ріст таких хворих вищий, ніж у групі IGHD IA. Хворі групи IGHD IB, як правило, позитивно реагують на терапію гормоном росту й проявляють імунологічну толерантність [8, 9, 10].

У групі IGHD II захворювання успадковується за автосомно-домінантною схемою. Рівень гормону росту дуже низький, і хворі добре реагують на терапію гормоном росту. У цій групі описана мікроделеція в інтроні 3 і сім нуклеотидних замінів у гені GH-N.

Група IGHD III має X-щеплену схему успадкування, але молекулярний механізм цього захворювання не вивчений. Рівень гормону росту низький; у хворих часто зустрічається гаммаглобулінемія. У деяких пацієнтів виявлена делеція Xp22.3 або дуплікація Xq13.3-Xq21.1 [9, 10, 11].

Критичну роль у регуляції синтезу гормону росту в гіпофізі і його секреції відіграє соматоліберин. Соматоліберин експресується, головним чином, в аркуатних ядрах гіпоталамуса, а також і в інших клітинах і тканинах, а саме: у плаценті, яєчниках, яєчках, лімфоцитах, підшлунковій залозі, шлунково-кишковому тракту, де він проявляє свою біологічну активність. Мутація в гені рецептора соматоліберину людини описана в 1996 році у двох членів родини (дві сестри 3,5 і 16 років, які мали дуже маленький ріст і надмірну повноту). В результаті цієї мутації спостерігався сильний дефіцит гормону росту. Цей синдром був названий «карликовість Сіндха», за іменем провінції в Пакистані, де ця патологія була вперше описана. Вказані порушення компенсувалися терапією гормоном росту [9, 10].

При ізольованому дефіциті ГР синтез тропних гормонів гіпофіза не порушений, перебіг захворювання легший, а ріст дорослих хворих трохи

вищий, ніж за умов гіпопітуїтаризму. Статеве дозрівання у пацієнтів з IGHD починається на 2-4 роки пізніше, ніж серед здорової популяції, але на тлі терапії препаратами ГР – прискорюється. На момент встановлення діагнозу «кістковий» вік хворих відстає від хронологічного. Після закінчення пубертатного періоду зони росту у хворих закриваються. Таким чином, кінцевий ріст пацієнта залежить не тільки від стану його соматотропної функції та адекватної замісної терапії, але й від того, в якому віці почалось статеве дозрівання, від його тривалості та строків завершення кісткового росту. Тому у категорії хворих з IGHD з появою перших ознак статевого дозрівання рекомендовано призначати антигонадотропну терапію для того, щоб зупинити прискорення «кісткового» віку та збільшити кінцевий ріст пацієнтів [20, 19, 21]. За даними відділення дитячої ендокринної патології, за умов застосування комбінованої терапії препаратами СТГ та аналогами гонадотропін-рилізінг-гормону, ми отримали позитивні результати відносно кінцевого росту хворих з IGHD. Додаткова прибавка росту до прогнозного становила від 5 до 7 см на рік. За нашими спостереженнями, оптимальне застосування аналогів гонадотропін-рилізінг-гормону триває 2 роки.

Рецепторна нечутливість до гормону росту. Як згадувалося вище, гормон росту, як і всі пептидні фактори, діє через зв'язування зі своїм рецептором на поверхні клітини, що є першим кроком у дії гормону росту.

Ген рецептора ГР знаходиться на короткому плечі 5-ї хромосоми (5p13.1-p12) і є представником родини рецепторів GH/PRL/cytokine. Зріла форма рецептора гормону росту містить 620 амінокислотних залишків і складається з 3-х доменів: цитоплазматичного домену, що містить 345 амінокислотних залишків; трансмембранного домену, що містить 30 амінокислотних залишків, і позаклітинного гормонозв'язуючого домену, що містить 245 амінокислотних залишків. Рецептор гормону росту існує у двох формах: у формі мембранозв'язаного рецептора й у формі розчинного рецептора, що відповідає позаклітинному домену мембранного рецептора. Взаємодія гормону росту з його рецептором на клітинній поверхні призводить до димеризації рецептора гормону росту, що, у свою чергу, сприяє активації асоційованої з рецептором цитоплазматичної тирозинкінази, яка фосфорилує як сам рецептор, так і інші білки. Це є першим кроком сигнальної трансдукції та синтезу ІФР-I [1, 2, 11, 12].

Дефіцит рецептора гормону росту може спричинити повну (GHI – Growth Hormone Insensitivity) або часткову (P-GHI – Partial Hormone Insensitivity) нечутливість до ГР. Нечутливість до гормону росту визначається як нездатність пацієнта відповідати позитивно як на ендогенний, так і на екзогенний гормон росту [19, 22].

Синдром «нечутливості до гормону росту» класифікують на первинний і вторинний. Вторинний, або придбаний, синдром зустрічається у хворих з важкими системними захворюваннями, такими, як уремія, важка форма діабету, недоїдання й гіперкатаболізм. У цьому випадку ефективним є лікування системного захворювання.

Що стосується первинної групи GHI, яку ще називають синдромом Ларона, то ця патологія пов'язана з дефіцитом рецептора гормону росту. Синдром Ларона вперше був виявлений в 1966 у трьох арабських пацієнтів, у яких, незважаючи на високий рівень гормону росту, спостерігалася клінічна картина дефіциту гормону росту. І тільки в 1989 році були представлені перші дані, які продемонстрували наявність мутацій у гені рецептора гормону росту. Описано делецію в ділянці гена, що кодує позаклітинний домен рецептора, та знайдено в цій же ділянці точкову мутацію. Пізніше у хворих із синдромом Ларона було виявлено велику кількість генних дефектів. Тип спадкування найчастіше автосомно-рецесивний, але описані також складні

гетерозиготні і домінують негативні гетерозиготні схеми успадкування, що свідчить про значну генетичну гетерогенність синдрому Ларона [22].

Синдром Ларона традиційно асоціюють із типовими фенотипічними характеристиками: надзвичайно низький ріст, хоча при народженні довжина в дитини, як правило, нормальна; черепно-лицьова диспропорція, специфічні мускульно-кісткові й метаболічні ознаки [7].

Що стосується гормональних показників, то у пацієнтів із синдромом Ларона виявляється високий рівень гормону росту, іноді до 50-100 нг/мл (нормальний або підвищений у дорослих), значно знижені ІФР-I та ІФРЗБ-3, кількість яких не змінюється за умов призначення терапії гормоном росту [6, 22].

Для диференційної діагностики синдрому Ларона з іншими формами низькорослості можна застосовувати чотирьохденний ІФР-I-стимулюючий тест. У дітей із синдромом Ларона відсутнє підвищення рівнів ІФР-I на тлі стимуляції, на відміну від пацієнтів із класичним варіантом біологічно неактивного гормону росту.

Лікування. На сьогодні в усьому світі для лікування гіпофізарного нанізму досить успішно застосовують препарати генно-інженерного гормону росту. Стандартна доза гормону росту, яка використовується у дітей з недостатністю ГР, дорівнює 0,025-0,035 мг/кг/добу, кожного дня, постійно, до закриття епіфізарних зон; у подальшому призначають підтримуючу дозу гормону росту протягом всього життя [6, 17, 18, 23].

За умов призначення рекомбінантного соматотропіну людині дітям з синдромом біологічно неактивного гормону росту, дотримуючись вищевказаних дозових рекомендацій, відмічається недостатній ростовий ефект, який можна пояснити антагоністичним впливом мутантного гормону росту на рецептор ГР. Ця обставина вимагає вдосконалення алгоритму діагностики та розробки нових схем терапії ГР у дітей з синдромом біологічно неактивного гормону росту.

Критерієм ефективності рістстимуляційної терапії є збільшення швидкості росту від вихідної в кілька разів. За даними різних авторів, максимальна швидкість росту відзначається в перший рік лікування (від 8 до 13 см), особливо в перші 3-6 міс, потім швидкість росту уповільнюється від першого до другого року лікування (при збереженні прибавки росту більше 5-6 см на рік) [3, 6, 13, 18]. При рано розпочатому й регулярному лікуванні можливе досягнення нормальних, генетично запрограмованих показників росту.

Лікування препаратами ГР застосовують до закриття зон росту або досягнення соціально-сприятливого росту. Клінічним орієнтиром для відміни лікування є швидкість росту менше 2 см на рік [6, 23].

Позитивний ефект у дітей з дефіцитом рецептора гормону росту дає терапія рекомбінантним інсуліноподібним фактором-I [8, 19, 22].

Діагностика вищевказаних станів низькорослості досить складна, тому що гормональні дисфункції не завжди проявляються яскраво й однозначно, а інколи маскуються супутніми захворюваннями. Найважливішою клінічною проблемою затримок росту в дітей є диференційна діагностика нанізму різної етіології з метою визначення точного варіанта низькорослості, прогнозу захворювання й вибору адекватних методів терапії. Тому проведення медико-генетичного дослідження в деяких пацієнтів є необхідним.

Таким чином, розв'язання проблем етіопатогенезу, вдосконалення методів діагностики та лікування хворих з патологією росту є актуальним і являє собою важливу проблему дитячої ендокринології. Адже досягнення оптимального кінцевого росту в межах генетично прогнозованого є одним з головних чинників у нормалізації психологічного стану та життєвого тону пацієнтів, що в результаті дасть можливість займатися улюбленою справою у житті та забезпечить адекватну соціальну адаптацію хворого в суспільстві.

Література

1. Зайчик А. Ш., Чурилов Л. П. Общая патофизиология (с основами иммунопатологии). СПб:ЭЛБИ-СПб, 2005. 624 с.
2. Зайчик А. Ш., Чурилов Л. П. Патохимия (эндокринно-метаболические нарушения). СПб:ЭЛБИ-СПб, 2007. 580 с.
3. Hinney A., Hoch A., Geller F. et al. Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002, 87, N 6, 271-276.
4. Haqq A. M., Stadler D. D., Rosenfeld R. G. et al. Circulating ghrelin levels are suppressed by meals and octreotide therapy in children with Prader-Willi syndrome // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003, 88, N 8, 3573-3576.
5. Kojima M., Hosoda H., Date Y. et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach // *Nature.* 1999, 402, N 9, 656-660.
6. Дедов И. И., Тюльпаков А. Н., Петеркова В. А. Соматотропная недостаточность. М.: ИндексПринт, 1998. 302 с.
7. Фофанова О. В. Клинический полиморфизм и молекулярно-генетическая гетерогенность соматотропной недостаточности у детей: Автореф. дис. д-ра мед. наук. М., 2000. 281 с.
8. Layman L. C. Human gene mutations causing infertility // *J. Med. Genet.* 2002, 39, 153-161.
9. Takahashi Y., Kaji H., Okimura Y. et al. Short stature caused by a mutant growth hormone with an antagonistic effect // *Endocrine J.* 1996, 43, N 1, 27-32.
10. Tanaka T. Global situation of growth hormone treatment in growth hormone-deficient children // *Horm. Res.* 1999, 51, N 3, 75-80.
11. Camacho C., Storr A., Miraki-Moud F. et al. Recombinant human insulin-like growth factor (IGF-1) / IGF-binding protein-3 complex administered to patients with growth hormone insensitivity syndrom // *Horm. Res.* 2002, 60, N 2, 15-16.
12. Juul A., Bang P., Hertel N. T. Serum insulin-like growth factor-I in 1030 healthy children, adolescents, and adults: relation to age, sex, stage of puberty, testicular size, and body mass index // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994, 78, N 3, 744-752.
13. Петеркова В. А., Фофанова О. В., Тюльпаков А. Н. и др. Национальный консенсус. Диагностика и лечение соматотропной недостаточности у детей. М.: АСК Юнион Печатные работы, 2005. 5 с.
14. Bechtold S., Ripperger P., Hafner R. et al. Growth hormone improves height in patients with juvenile idiopathic arthritis: 4-year data of a controlled study // *J. Pediatr.* 2003, 143, N 4, 512-519.
15. Bozzola E., Lauriola S., Messina M. F. et al. Effect of different growth hormone dosages on the growth velocity in children born small for gestational age // *Horm. Res.* 2004, 62, N 3, 141-142.
16. Colao A., Vitale G., Pivonello R. et al. The heart: an end-organ of GH action // *Eur. J. Endocrinol.* 2004, 151, N 1, 93-101.
17. Consensus guidelines, for the diagnosis and treatment of adults with growth deficiency: summary statement of the Growth Hormone Research Society Workshop on adult growth hormone deficiency // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998, 83, 379-381.
18. Attanasio A., Lamberts S., Matranga A. et al. Adult growth hormone (GH)-deficient patients demonstrate heterogeneity between childhood onset and adult onset before and during human GH treatment // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997, 82, N 1, 82-88.
19. Layman L. C., Porto A. L. A., Xie J. et al. FSH beta gene mutations in a female with partial breast development and a male sibling with normal puberty and azoospermia // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002, 87, N 8, 3702-3707.
20. Largo R. H., Prader A. Pubertal development in Swiss girls // *Helv. Paediat. Acta.* 1983, 38, N 3, 229-243.

21. Leung K. C., Johannsson G., Leong G. M. Estrogen regulation of growth hormone action // *Endocr. Rev.* 2004, 25, N 5, 693-721.
22. Laron Z., Sarel R., Pertzalan A. Puberty in Laron type dwarfism // *Eur. J. Pediat.* 1980, 134, N 1, 79-83.
23. Eiholzer U., Nordmann Y., Allermann D. et al. Fatal outcome of sleep apnoea in PWS during the initial phase of growth hormone treatment // *Horm. Res.* 2002, 58, N 3, 24-26.
24. Lindsay R., Feldkamp M., Harris D. Utah Growth Study: growth standards and the prevalence of growth hormone deficiency // *J. Pediat.* 1994, 125, N 1, 29-35.

Клинико-диагностические особенности и молекулярно-генетические аспекты некоторых форм низкорослости: изолированный дефицит гормона роста, синдром биологически неактивного гормона роста, рецепторная нечувствительность к гормону роста (обзор литературы и собственные исследования)

Н. А. Спринчук

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины», г. Киев, 04114, Украина

В обзоре представлена клинико-лабораторная дифференциальная диагностика изолированного дефицита гормона роста, синдрома биологически неактивного гормона роста и рецепторной нечувствительности к гормону роста, приведены их молекулярно-генетические особенности, а также лечение данных видов низкорослости. Описан фенотип больных с синдромом биологически неактивного гормона роста. Показана информативность пробы на чувствительность к гормону роста у больных с вышеуказанной патологией для назначения адекватной заместительной соматотропной терапии.

Ключевые слова: изолированный дефицит гормона роста, биологически неактивный гормон роста, синдром Коварски, синдром Ларона, инсулиноподобный фактор роста-I.

Clinical-diagnostic features and molecular-genetic aspects of some forms of short stature: isolated growth hormone deficiency, syndrome of biologically inactive growth hormone, growth hormone insensitivity (review of literature and own data)

N. A. Sprinchuk

State Institution «V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Acad. Med. Sci. of Ukraine», Kyiv, 04114, Ukraine

In the review, clinical-laboratory differential diagnosis of isolated growth hormone deficiency, syndrome of biologically inactive growth hormone, and growth hormone receptor insensitivity, as well as treatment of children with the above types of short stature are considered; their molecular-genetic features are presented. The phenotype of patients with a syndrome of biologically inactive growth hormone is described. The necessity of carrying out a test of growth hormone sensitivity in patients with short stature for the purpose of an adequate growth hormone replacement therapy.

Key words: isolated growth hormone deficiency, biologically inactive growth hormone, Kowarski syndrome, Laron syndrome, insulin-like growth factor-I.

(Надійшла 6.07.2009)

**ГОРМОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ
МІКРОІНКАПСУЛЬОВАНОЇ ТКАНИНИ
ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ЛЮДИНИ
ЗА УМОВ *IN VITRO***

*І. П. Пастер**

*Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України», м. Київ, 04114, Україна*

Стійкий гіпотироз досить часто є наслідком надмірного хірургічного втручання на щитоподібній залозі (ЩЗ) і вимагає лікування L-тироксिनном протягом тривалого часу і навіть усього життя [1]. Це робить необхідним проводити часту клініко-лабораторну оцінку стану пацієнта для підбору адекватної дози препарату з метою досягнення гормональної компенсації та запобігання можливим ускладненням, особливо у пацієнтів похилого віку та при захворюваннях серцево-судинної системи.

Гормональна терапія стійкого гіпотирозу трансплантацією тканини ЩЗ є привабливою альтернативою, бо може звільнити цих хворих від тривалої медикаментозної терапії [2]. Попередити можливі негативні наслідки пересадки ало- або ксеногенного донорського матеріалу, а також виключити необхідність застосування імуносупресивної терапії можна за допомогою методу інкапсуляції тканини або клітин в капсули з напівпроникними мембранами, які створюють імунологічний бар'єр між трансплантатом та організмом реципієнта при можливості необмеженої дифузії гормонів, поживних речовин, кисню, месенджерів і метаболітів [3].

Протягом двох останніх десятиліть спеціалісти вивчали три головні підходи до інкапсуляції: інтраваскулярні макрокапсули, які мають анастомози з васкулярною системою, що подібні до артеріо-венозного шунта; екстраваскулярні макрокапсули, які трансплантують в різні позасудинні місця; екстраваскулярні мікрокапсули, які трансплантують головним чином в черевну порожнину [4]. Переваги та недоліки цих трьох підходів активно дискутуються та порівнюються у світлі можливості їх застосування в практиці клінічної трансплантації ендокринних залоз. На сьогоднішній день, всі три системи показали успішні результати при доклінічних дослідженнях, але не всі підходи задовольняють технічні та фізіологічні вимоги для ефективного застосування у пацієнтів з відповідною патологією.

Найсуттєвішого прогресу досягнуто у використанні методу мікроінкапсуляції тканин або клітин в малих капсулах з різних груп полімерів (зокрема, альгінату, агарози та желатину) [5]. Дослідження на тваринах і недавні клінічні випробування показали, що мікрокапсули з гідрогелю і, особливо, альгінату найоптимальніше забезпечують необхідну тривалу імуноізоляцію та одночасне збереження функції трансплантату [3].

Останнім часом отримані позитивні результати експериментальних досліджень з використанням мікроінкапсульованих клітин гіпофіза [6], клітин Сертолі [7], хромафінних клітин медулярного шару надниркових залоз

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

[8] і ряду інших типів гормонпродукуючих клітин. Розпочаті клінічні випробування ефективності трансплантації мікроінкапсульованої паратироїдної тканини [9] і мікроінкапсульованих острівців підшлункової залози [10, 11]. Свого часу були розпочаті дослідження мікроінкапсульованої тироїдної тканини за умов *in vitro* [12], однак вони не знайшли свого подальшого продовження.

Метою роботи було дослідити гормональну активність мікроінкапсульованої тканини ЩЗ людини за умов *in vitro*.

Матеріали та методи

До початку дослідження було отримано позитивне рішення Комісії з етики Державної установи «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», а також інформована згода від кожного пацієнта.

Для проведення експериментальних досліджень тканину ЩЗ людини отримували в хірургічному відділі клініки Інституту. Тироїдну тканину промивали декілька разів стерильним 0,9 % розчином хлориду натрію з антибіотиками (з розрахунку 100 од бензилпеніциліну натрієвої солі та 100 мкг стрептоміцину сульфату на 1 мл розчину), очищали від жирової та сполучної тканин, після чого сікли на шматочки розміром до 1 мм³ та знову промивали декілька разів стерильним 0,9 % розчином хлориду натрію з антибіотиками.

Шматочки тканини ЩЗ людини переносили в 1 % розчин альгінату («Fluka», Норвегія), який безпосередньо перед застосуванням стерилізували фільтрацією через фільтр з порами 0,45 мкм («Filttron», Німеччина), що дозволяє також видалити з розчину альгінату деякі забруднюючі речовини, такі як білки і поліфеноли, та досягти високої прозорості кінцевого розчину [13], після чого здійснювали мікроінкапсуляцію тканини ЩЗ за стандартним методом [14].

Для цього через перший канал генератора мікрокапсул (трёхканальний генератор біополімерних мікрокапсул виробництва Philipps-University, м. Марбург, Німеччина) пропускали 1,0 % розчин альгінату з рівномірно розподіленими шматочками тироїдної тканини; через другий канал – повітря зі швидкістю 8-10 л/хв. З вихідного отвору генератора мікрокапсули з тканиною потрапляли в гелеутворюючий розчин хлориду кальцію («Sigma», США) з концентрацією 100 ммоль/л для перехресного зв'язування карбоксильних груп мануронової та гулууронової кислот альгінату, в якому їх інкубували протягом 30 хв і промивали кілька разів 0,9 % розчином хлориду натрію.

Мікроінкапсульовану тканину ЩЗ людини культивували по 2 мікрокапсули у флакончиках з 1 мл середовища RPMI-1640 («Sigma», США), яке містило 10 % сироватки новонародженого теляти («INC Biomedicals GmbH», Німеччина) і антибіотики, при постійному обертанні з частотою 10-12 об/год та температурі 37 °С. Частина проб містила також тироген (тиротропін альфа для ін'єкцій, «Genzyme», США) в кінцевій концентрації 5 мкг/мл. Середовище культивування змінювали через кожні два дні. На 2-, 5-, 8- і 11-добу культивування відбирали аліквоти середовища та заморожували при температурі -20 °С для наступного визначення рівня загального тироксину (ЗТ₄) людини.

На всіх етапах мікроінкапсуляції та в динаміці культивування здійснювали макроскопічний контроль стану альгінатних мікрокапсул за допомогою мікроскопу «Біолам» («ЛЮМО», Росія). Кількісне визначення рівня ЗТ₄ людини в аліквотах середовища культивування робили з використанням набору для радіоімунологічного визначення ЗТ₄ («Immunotech», Чехія) та лічильника «Beckmann 5500В» («Beckmann», США).

Обробка отриманих даних здійснена стандартними методами варіаційної статистики.

Результати та їх обговорення

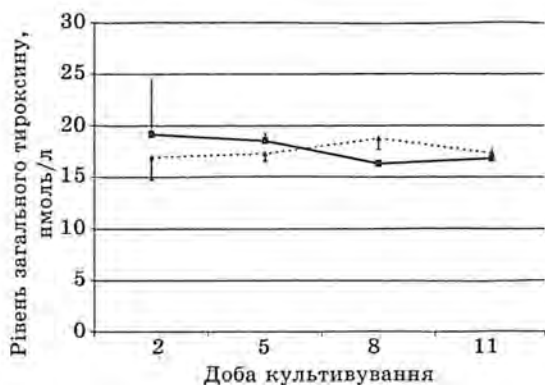
Гормональні дослідження встановили наявність функціональної активності як нативної, так і мікроінкапсульованої тканини ЩЗ людини в динаміці культивування (мал. 1). Так, кількісне визначення ЗТ₄ в культуральному

середовищі показало, що його базальний рівень на 2-, 5-, 8- і 11-добу культивування мікроінкапсульованої тканини ЩЗ людини становив відповідно $16,89 \pm 2,18$ нмоль/л ($n=3$), $17,24 \pm 0,77$ нмоль/л ($n=3$), $18,78 \pm 1,07$ нмоль/л ($n=3$) і $17,27 \pm 0,59$ нмоль/л ($n=3$). Для порівняння, в ці ж строки базальний рівень $3T_4$ в культуральному середовищі культивування нативної тканини ЩЗ людини становив відповідно $19,17 \pm 5,33$ нмоль/л ($n=3$), $18,54 \pm 0,76$ нмоль/л ($n=3$), $16,24 \pm 0,25$ нмоль/л ($n=3$) і $16,79 \pm 0,95$ нмоль/л ($n=3$). Культивування мікроінкапсульованої тканини з тирогеном (5 мкг/мл) призводило до вірогідного зростання рівня $3T_4$ в середовищі на 5-, 8- і 11-у добу відповідно на 49,2 %, 73,9 % і 34,2 % порівняно з базальними показниками, прийнятими за 100 % (мал. 2).

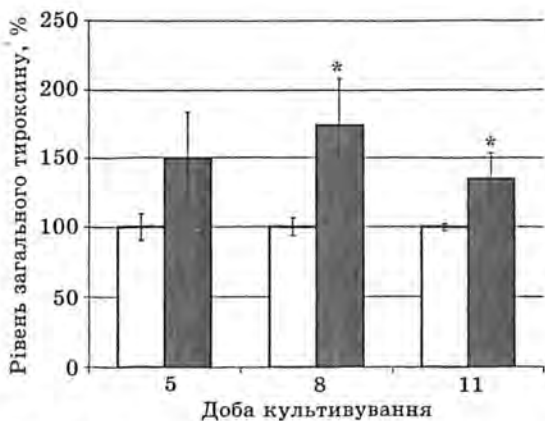
Для порівняння, мікроінкапсульована тканина ЩЗ кролів секретувала трийодтиронін і тироксин, концентрації яких через 3 доби культивування досягали відповідно $8,68 \pm 2,93$ нмоль/л і $245,23 \pm 124,87$ нмоль/л; цей рівень залишався незмінним від 6-ї до 9-ї доби культивування [12].

На відміну від трансплантації прищитоподібної залози або острівців Лангерганса, де функціональну здатність продукувати гормони має кожна клітина, трансплантація щитоподібної залози потребує повноцінного тироїдного фолікула, як мінімальної одиниці для забезпечення відповідної функції [15]. Для синтезу та секреції гормонів у відповідне середовище цілком достатньо тироїдної тканини з максимальним розміром шматочків до 1 мм^3 (такого розміру досить, аби запобігти центральному некрозу в кожному зразку тканини), що у разі трансплантації тироїдної тканини забезпечує хороші наслідки [16]. Крім цього, трансплантація тироїдної тканини замість трансплантації тироцитів є зручнішою в технічному плані [15].

Незважаючи на те, що функціонування додаткового джерела тироїдних гормонів визнано основним механізмом лікувального ефекту трансплантації при гіпотирозі [15], не виключена також можливість стимулюючого впливу на ЩЗ реципієнта [17]. Так, під час дослідження йодакумулюючої функції куски ЩЗ у пацієнтів з післяопераційним гіпотирозом було встановлено, що після автоімплантації кріоконсервованої тироїдної паренхіми спостерігається поступове збільшення здатності накопичувати йод [17].



Мал. 1. Рівень загального тироксину в середовищі культивування нативної (суцільна лінія) та мікроінкапсульованої (пунктирна лінія) тканини щитоподібної залози людини.



Мал. 2. Вплив тирогену на рівень загального тироксину в середовищі культивування мікроінкапсульованої тканини щитоподібної залози людини. Контроль (світлі стовпчики), тироген (темні стовпчики). * - $P < 0,05$ - у порівнянні з контролем відповідного строку культивування.

Висновок

Мікроінкапсульована тканина щитоподібної залози людини зберігає гормональну активність за умови *in vitro*, що свідчить про перспективність її застосування для компенсації гіпофункціонального стану тироїдної системи у тварин з експериментальним гіпотирозом.

Подяка

Автор висловлює щире подяку Гулеватому Сергію Васильовичу, завідувачу відділенням променевої терапії з відкритими джерелами випромінювання ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», за наданий тироген (тиротропін альфа для ін'єкцій, «Genzyme», США).

Література

1. Lombardi C. P., Raffaelli M., De Crea C. et al. Complications in thyroid surgery // *Minerva Chir.* 2007, **62**, N 5, 395-408.
2. Турчин І. С. Проблема трансплантації культур клітин і тканин залоз внутрішньої секреції хворим з різними формами ендокринопатії // *Ендокринологія.* 1996, **1**, N 2, 6-13.
3. Zimmermann U., Cramer H., Jork A. et al. Microencapsulation-based cell therapy / In.: H.-J. Rehm and G. Reed (eds.). *Biotechnology.* Weinheim, Wiley-VCH, 2001, 547-571.
4. Uludag H., De Vos P., Tresco P. A. Technology of mammalian cell encapsulation // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2000, **42**, N 1-2, 29-64.
5. Zimmermann U., Hasse C., Rothmund M., Kührtreiber W. Biocompatible encapsulation materials: fundamentals and application / In.: W. M. Kührtreiber, R. P. Lanza, W. L. Chick (eds.). *Cell encapsulation technology and therapeutics.* Birkhäuser, Boston, 1999, 40-52.
6. Chen Z. P. and Bao Y. D. Study of microencapsulated pituitary transplantation. Preparation of the capsule and its property // *Chin. Med. J. (Engl.)*. 1994, **107**, N 3, 200-204.
7. Luca G., Calvitti M., Nastruzzi C. et al. Encapsulation, *in vitro* characterization, and *in vivo* biocompatibility of Sertoli cells in alginate-based microcapsules // *Tissue Eng.* 2007, **13**, N 3, 641-648.
8. Kim Y. M., Kwak K. H., Lim J. O., Baek W. Y. Reduction of allodynia by intrathecal transplantation of microencapsulated porcine chromaffin cells // *Artif. Organs.* 2009, **33**, N 3, 240-249.
9. Hasse C., Klöck G., Schlosser A. et al. Parathyroid allotransplantation without immunosuppression // *Lancet.* 1997, **350**, N 9087, 1296-1297.
10. Calafiore R., Basta G., Luca G. et al. Standard technical procedures for microencapsulation of human islets for graft into nonimmunosuppressed patients with type I diabetes mellitus // *Transplant. Proc.* 2006, **38**, N 4, 1156-1157.
11. Elliott R. B., Escobar L., Tan P. L. et al. Live encapsulated porcine islets from a type 1 diabetic patient 9.5 yr after xenotransplantation // *Xenotransplantation.* 2007, **14**, N 2, 157-161.
12. Chen G. X., Peng Y., Lou P. L., Liu J. P. Bioartificial thyroid. The *in vitro* culture of microencapsulated rabbit thyroid tissue // *ASAIO Trans.* 1991, **37**, N 3, M439-M440.
13. Smidsrød O. and Skjåk-Bræk G. Alginate as immobilization matrix for cells // *Trends Biotechnol.* 1990, **8**, N 3, 71-78.
14. Figliuzzi M., Plati T., Cornolti R. et al. Biocompatibility and function of microencapsulated pancreatic islets // *Acta Biomaterialia.* 2006, **2**, N 2, 221-227.
15. Shimizu K., Kumita S., Kitamura Y. et al. Trial of autotransplantation of cryopreserved thyroid tissue for postoperative hypothyroidism in patients with Graves' disease // *J. Am. Coll. Surg.* 2002, **194**, N 1, 14-22.
16. Bauer M. F., Herzog V. Mini organ culture of thyroid tissue: a new technique for maintaining the structural and functional integrity of thyroid tissue *in vitro* // *Lab. Invest.* 1988, **59**, N 2, 281-291.
17. Пушкарь Н. С., Македонская В. А., Утевский А. М. и др. Аутоимплантация криоконсервированной (-196 °C) тиреоидной паренхимы как метод лечения послеоперационного гипотиреоза // *Пробл. эндокринолог.* 1984, **30**, N 5, 42-46.

(Надійшла 10.07.2009)

ІНСУЛІНОТЕРАПІЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

П. М. Боднар, Г. П. Михальчишин

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця,
м. Київ, 01601, Україна

Понад сто років тому назад цукровий діабет називали «водяним раком». Подібна грізна аналогія була викликана значним виснаженням та летальними наслідками від діабетичної (гіперкетонемічної) коми у хворих на цукровий діабет типу 1. Світлом в кінці тунелю стало відкриття інсуліну у 1922 році Ф. Вантингом і Ч. Бестом та створення ними разом з Д. Маклеодом і Дж. Колліпом першого препарату інсуліну (мал. 1).



Мал. 1. Вони створили препарат інсуліну: Джон Маклеод (1876–1935), Фредерік Бантинг (1891–1941), Чарльз Бест (1899–1978), Джеймс Колліп (1892–1965)*.

Значну роль в обґрунтуванні інсулінотерапії, оцінці її ефективності, розробці методики використання препаратів інсуліну відіграли проф. Е. Джослін із США, М. Бергер з Німеччини, С. Г. Генес з України, В. Г. Баранов з Росії та багато інших відомих і маловідомих науковців і практиків.

Інсулінотерапія значно продовжила тривалість та покращила якість життя хворих на цукровий діабет. Відомо, що середня тривалість життя дітей у віці до 10 років після маніфестації діабету в доінсуліновий період становила 1,3-2,6 років, а в 1939-1945 рр. – 45 років. Уміле використання інсулінотерапії сьогодні дає можливість хворим на діабет відчувати себе повноцінними членами суспільства.

Інсулін є гормональним препаратом поліпептидної природи. Сьогодні використовується біосинтетичний (ДНК-рекомбінантний, генно-інженерний) метод виробництва інсуліну, який передбачає використання генома людини, мавпи або кишкової палички. Препарати людського інсуліну по реалізації складають близько 94 %, в той час як препарати тваринного (свинячого)

*З книги М. Bliss «The Discovery of Insulin», Canada, McClelland & Stewart Inc, 1982.

походження – всього 6 %. Практичний досвід засвідчує, що клінічних відмінностей між людським інсуліном і високоякісним монокомпонентним свинячим інсуліном немає. Для створення оптимального фармакокінетичного профілю введеного інсуліну відповідно до фізіологічного ритму секреції гормону людини розробляються так звані аналоги інсуліну.

Інсулін – єдиний гормон, що знижує рівень глюкози в крові, впливаючи на всі органи і тканини, а особливо – печінку, м'язову та жирову тканини (схема 1).

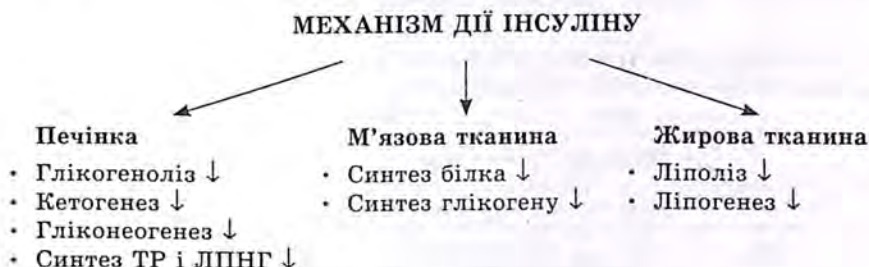


Схема 1. Головні мішені дії інсуліну в організмі.

Основними показаннями до інсулінотерапії є:

- Цукровий діабет типу 1 незалежно від віку
- Кетоацидоз та діабетичні коми (кетоацидотична, гіперосмолярна)
- Неєфективність дієти і пероральних цукрознижувальних засобів (глікемія натще > 8 ммоль/л, глікогемоглобін > 7 %)
- Тяжкі інфекційні захворювання
- Хронічні ускладнення цукрового діабету з порушенням функції органів
- Хірургічні втручання, панкреатектомія
- Гострі судинні катастрофи (інфаркт міокарда, інсульт)
- Вагітність, пологи, лактація
- Значна втрата маси тіла за короткий термін

Сьогодні у світі нараховують кілька сотень комерційних препаратів інсуліну. Вони різняться між собою клініко-фармакологічними характеристиками, тривалістю дії, лікарськими формами, видовою специфічністю, ступенем очистки. Близько 85 % виробництва препаратів інсуліну у світі припадає на три провідні фармацевтичні компанії: «Елай Ліллі» (США), «Ново Нордиск» (Данія), «Санofi Авентіс» (Франція). Вітчизняне виробництво інсулінів розпочато у червні 1999 р. на ЗАТ «Індар». Нещодавно виробництво інсулінів розпочато на київських заводах «Фармак» і «Дарниця».

Якість інсуліну залежить від його виду і ступеня очищення, яке виражається в ррп (particles per million) – кількість часток домішок на 1 млн часток інсуліну. Сучасні технології дозволяють отримати високоочищені монокомпонентні інсуліни. Згідно з вимогами Європейської фармакопеї, ррп для монокомпонентних інсулінів не повинна перевищувати 10. Окрім того, рН препаратів інсуліну має бути нейтральним.

Препарати інсуліну вважаються якісними, якщо вони:

- людські або свинячі,
- монокомпонентні,
- мають нейтральний рН,
- допускають змішування препаратів різної тривалості дії в одному шприці.

В клінічній практиці препарати інсуліну поділяють на чотири групи: інсулін ультракороткої дії, інсулін короткої дії, інсулін проміжної дії, інсулін тривалої дії, а також комбіновані препарати інсуліну.

Аналоги інсуліну – це генетично-модифіковані рекомбінантні препарати інсуліну, які максимально відтворюють фізіологічний ритм секреції інсуліну. Вони суттєво поліпшують глікемічний контроль, знижують пре- та постпрандіальну глікемію, перепади (піки) глікемії, сприяють стабілізації перебігу діабету, зменшуючи кількість гіпоглікемії, знижують рівень глікованого гемоглобіну. Все вищезначене значно покращує якість життя хворих, уповільнює розвиток хронічних ускладнень цукрового діабету.

Рекомбінантні (генно-інженерні) аналоги інсуліну поділяються на аналоги інсуліну ультракороткої дії (аспарт, глулізин, лізпро), аналоги інсуліну тривалої дії та комбінованої дії (гларгін, детемір, аспарт двофазний) (табл. 1).

Таблиця 1. Рекомбінантні аналоги людського інсуліну

Препарати інсуліну	Дія препарату			
	Початок	Пік	Тривалість	Країна, компанія
Аналоги інсуліну ультракороткої дії				
Аспарт (Новорапід)	5-10 хв	0,5-2 год	3-5 год	Данія, «Ново Нордіск»
Глулізин (Епайдра)	5-10 хв	0,5-2 год	3-5 год	Франція, «Санофі Авентіс»
Лізпро (Хумалог)	5-10 хв	0,5-2 год	3-5 год	США, «Елай Ліллі»
Аналоги інсуліну тривалої та комбінованої дії				
Гларгін (Лантус)	0,5-1 год	безпіковий	16-24 год	Франція, «Санофі Авентіс»
Детемір (Левемір)	1 год	8-12 год	17-23 год	Данія, «Ново Нордіск»
Аспарт двофазний (НовоМікс 30)	10-20 хв	3-4 год	до 20 год	Данія, «Ново Нордіск»
Хумалог Мікс 25, 50	10-20 хв	3-5 год	20-24 год	США, «Елай Ліллі»

Препарати інсуліну ультракороткої дії мають невелику тривалість дії (всього 3–5 год), знижують ризик гіпоглікемії до наступного прийому їжі. Це рекомбінантні аналоги людського інсуліну. Серед них інсулін аспарт (новорапід) являє собою аналог, в якому пролін в положенні 29 В-ланцюга (В-29) замінено на аспарагінову кислоту. Інсулін лізпро (хумалог) – рекомбінантний аналог інсуліну людини, у ньому змінена послідовність амінокислот: проліну – в позиції 29 та лізину – в позиції 28 В-ланцюга. Третім швидкодіючим аналогом інсуліну людини є інсулін глулізин (епайдра), в якому аспарагінова амінокислота замінена в позиції 3 на лізін, а глютамінова кислота – на лізін в позиції В29. Аналоги інсуліну ультракороткої дії вводяться безпосередньо перед прийомом їжі, під час їжі, після прийому їжі. Ці препарати інсуліну всмоктуються швидше, ніж інсулін людини, і забезпечують контроль постпрандіальної глікемії краще за інсулін короткої дії. Аналоги інсуліну ультракороткої дії вводяться 4–6 разів на добу переважно під шкіру живота на тлі препаратів інсуліну тривалої дії. В подібній ситуації варто надавати перевагу аналогам інсуліну тривалої дії.

Показанням для застосування аналогів інсуліну ультракороткої дії є цукровий діабет типу 1 з важким і лабільним перебігом для інтенсивної терапії, лікування кетоацидозу, тяжких інфекційних та супутніх захворювань, хірургічні втручання.

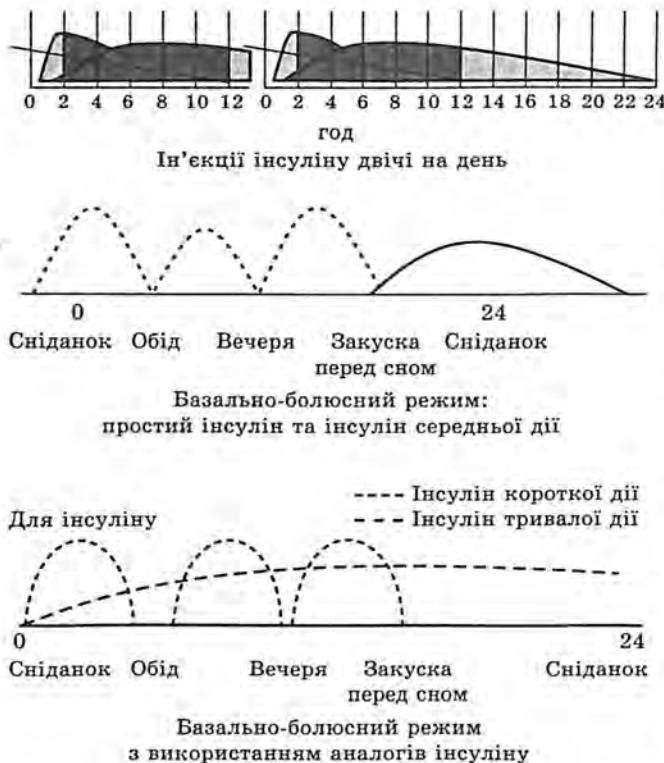
Загальна характеристика препаратів інсуліну наводиться у табл. 2. Препарати інсуліну короткої дії вводяться 3–4 рази на добу самостійно або в комбінації з інсулінами проміжної або тривалої дії. Препарати інсуліну проміжної дії вводять переважно двічі на день самостійно або в комбінації з інсуліном короткої дії (мал. 2).

Таблиця 2. Характеристика основних препаратів інсуліну

Препарати інсуліну	Країна, компанія
Препарати інсуліну короткої дії (початок дії – 0,5-30 хв, пік 2-3 год, тривалість 5-8 год)	
Актрапід НМ	Данія, «Ново Нордск»
Хумулін R	США, «Елай Ліллі»
Хумодар Р	Україна, ЗАТ «Індар»
Фармасулін Н	Україна, ВАТ «Фармак»
Генсулін Р	Польща, «Біотон С. А.»
Препарати інсуліну проміжної дії (початок дії – 0,5-1,5 год, пік 4-6 год, тривалість 8-16 год)	
Протафан НМ	Данія, «Ново Нордск»
Хумодар Б	Україна, ЗАТ «Індар»
Фармасулін Н-NP	Україна, ВАТ «Фармак»
Генсулін Н	Польща, «Біотон С. А.»
Препарати інсуліну тривалої дії (початок дії – 3-4 год, пік 8-18 год, тривалість 24-28 год)	
Хумулін Ультраленте	США, «Елай Ліллі»
Ультратард НМ	Данія, «Ново Нордск»
Інгаляційний інсулін (початок – 30 хв, пік – 2-2,5 год, тривалість дії – 6-8 год)	
Суміші інсулінів (препарати двофазної дії)	
Хумулін 30/70, 50/50	США, «Елай Ліллі»
Мікстард 30 НМ	Данія, «Ново Нордск»
Хумодар К-15; К-25; К-50	Україна, ЗАТ «Індар»
Фармасулін Н 30/70	Україна, ВАТ «Фармак»
Генсулін М30	Польща, «Біотон С. А.»

Серед препаратів інсуліну тривалої дії сьогодні широко використовуються базальні аналоги гларгін (лантус) та детемір (левемір). Інсулін гларгін отримують шляхом заміни гліцину на аспарагін в позиції 21 А-ланцюга (А21) і доповненням позиції В30 двома молекулами аргініну. Тривалість дії гларгіну понад 24 год, а його комбінація з швидкодіючими аналогами покращує компенсацію цукрового діабету, знижує ризик нічних гіпоглікемій. Одна ін'єкція гларгіну краще імітує фізіологічну базальну секрецію інсуліну порівняно з традиційними інсулінами тривалої дії. На цьому інсуліні рідше виникають нічні гіпоглікемії та ранкова гіперглікемія перед сніданком.

Інсулін детемір отримують шляхом рекомбінації лізину з позиції В29 на треонін в позиції В30. Тривалість дії детеміру в дозі 0,3-0,8 МО/кг – 17-23 год. Його вводять 1-2 рази на добу.



Мал. 2. Режими інсулінотерапії.

у прес-релізі від 29.06.2009 повідомляє про вивчення чотирьох досліджень, опублікованих на веб-сайті «Diabetologia» 26 червня 2009 про можливий зв'язок інсуліну гларгін (лантус, оптісулін) з ризиком захворювання на рак. Сьогодні неможливо підтвердити або виключити зв'язок між інсуліном гларгін та захворюванням на рак. Опубліковані матеріали потребують глибшого аналізу. Хворим, які отримують інсулін гларгін, рекомендується продовжити курс лікування у звичайному режимі.

Понад 80 років хворі на цукровий діабет отримують підшкірні ін'єкції інсуліну, але проблема болючості ін'єкцій завжди турбувала їх. Через те пошуки альтернативних шляхів введення завжди були важливими. Увагу дослідників привернули легені, які мають поверхню площею 75 м², покриту альвеолярним епітелієм товщиною 0,1-0,5 мм, що може бути альтернативним шляхом потрапляння ліків в організм.

Ряд фармацевтичних компаній («Пфайзер», «Елай Ліллі») підготували аерозольні препарати інсуліну у порошок, а «Ново Нордіск» – рідинну форму для інгаляцій. Біодоступність інгаляційних інсулінів становить 10-15 % у порівнянні з підшкірними ін'єкціями. 1 мг інгаляційного інсуліну містить 2-3 МО інсуліну короткої дії. Його використовують замість інсулінів короткої та ультракороткої дії. Хворі на діабет схвально відносяться до інгаляційного введення інсуліну.

В клінічній практиці США використовується генно-інженерний людський інгаляційний інсулін. Початок ефекту – 30 хв, пік дії – 2-2,5 год, тривалість дії – 6-8 год. Він поєднує в собі характеристику інсуліну ультракороткої та короткої дії. У кровоносне русло всмоктується близько 1/6 вдихальної дози (1-6 мг). Інгаляційні інсуліни можна використовувати при хорошому глікемічному контролі, а також у комбінації з підшкірними ін'єкціями.

Двофазний інсулін аспарт (новомікс) складається на 30 % з інсуліну аспарт і на 70 % – з протамінізованого інсуліну аспарт. Доведено, що новомікс 30 має виражений гіпоглікемізуючий ефект самостійно або на тлі пероральних цукрознижувальних препаратів. Аналог інсуліну новомікс 30 можна призначати 1 – 2 – 3 рази на добу. Він суттєво знижує ризик гіпоглікемій.

Двофазний інсулін хумалог мікс 25 містить 25 % інсуліну ліпро та 75 % інсуліну ліпро протамінової суспензії, а хумалог мікс 50 містить відповідно 50 % ліпро та 50 % ліпро з протаміновою суспензією.

Використання аналогів інсуліну знаходиться під наглядом лікарів та науковців. Європейська агенція з лікарських засобів (ЕМЕА)

Протипоказанням для їх використання є важка форма астми, обструктивні захворювання легень.

Для призначення інсулінотерапії необхідно:

- визначити показання;
- провести алергічні проби на інсулін;
- вибрати необхідний препарат інсуліну;
- визначити дозу інсуліну та час ін'єкцій;
- визначити режим інсулінотерапії;
- провести моніторування глікемії (глікемічний профіль, зокрема з використанням сенсора медтронік (7102);
- підібрати дозу інсуліну;
- оцінити ефективність терапії.

У відповідності до рекомендацій ВООЗ у клінічній практиці застосовують одиниці концентрації інсуліну IU – 100 (100 МО/мл). Для цього необхідно використовувати відповідний шприц, градуйований на цю концентрацію. 1 МО – це така кількість інсуліну, яка в разі введення голодному кролику масою 2 кг, протягом 12-16 год знижує рівень глікемії до 45 мг %, визначеної за методом Хагедорна-Йенсена.

Добову потребу в інсуліні орієнтовно розраховують на 1 кг ідеальної маси тіла. Доза інсуліну коливається в межах 0,3-0,8 МО/кг на добу і залежить від стану компенсації, тривалості захворювання (табл. 3).

Таблиця 3. Орієнтовний розрахунок дози інсуліну у хворих на цукровий діабет типу 1

Цукровий діабет	Добова доза інсуліну в МО/кг маси тіла
<i>Вперше діагностований діабет:</i>	0,5 – 0,6
у дітей до 1 року	0,1 – 0,125
в 1-3 роки	0,15 – 0,17
після 3 років	0,2 – 0,5
пубертатний період	1,0 – 2,0
стадія ремісії	0,1 – 0,2
цукровий діабет понад 5 років	0,7 – 1,0
декомпенсація (кетозидоз)	1,5 – 2,0
стан стійкої компенсації	0,4 – 0,5
вагітність	0,6

Розрахована доза орієнтовно розподіляється так: перед сніданком та обідом – 2/3 добової дози, перед вечерею і сном 1/3 добової дози. Внутрішньошкірна проба дозволяє оцінити характер чутливості до інсуліну. Для її проведення в згинальну поверхню передпліччя вводять внутрішньошкірно 0,4 МО інсуліну. Характер реакції оцінюють за загальними правилами: почервоніння, свербіж, папула на місці введення.

Середня добова доза інсуліну становить 0,6-0,7 МО/кг ідеальної маси тіла. Більшість хворих на діабет потребує введення 40-50 МО інсуліну на добу. Дозу інсуліну коригують кожні 2-3 доби залежно від показників глікемічного профілю (кількаразового визначення рівня глюкози плазми крові протягом доби).

Розрахунок дози інсуліну проводиться також стосовно хлібних одиниць (ХО). Вважається, що у фізіологічних умовах базальна секреція інсуліну дорівнює близько 1 МО/год. Під час прийому їжі необхідна ще додаткова (болюсна) секреція інсуліну. Вона становить 1 – 2 МО/ХО. Відомо, що 1 МО

інсуліну короткої дії знижує рівень глікемії на 2 ммоль/л. Через те додатково до базальної дози інсуліну необхідно ввести 2 МО на 1 ХО.

Середня добова доза інсуліну ультракороткої/короткої дії перед прийомом їжі на 1 ХО становить: перед сніданком – 1,5-2 МО, перед обідом – 0,8-1,2 МО і перед вечерею – 1-1,5 МО.

Значний вибір препаратів інсуліну, наявність аналогів ультракороткої та тривалої дії створюють умови для розробки раціональних режимів інсулінотерапії з комбінацією препаратів ультракороткої (ІУД), короткої (ІКД), проміжної (ІПД) та тривалої (ІТД) дії (табл. 4).

Таблиця 4. Раціональні режими інсулінотерапії при цукровому діабеті типу 1

Перед сніданком	Перед обідом	Перед вечерею	Перед сном
ІУД (ІКД)	ІУД (ІКД)	ІУД (ІКД)	ІПД
ІУД (ІКД)	ІУД (ІКД)	ІУД (ІКД)	ІТД
ІУД (ІКД)+ІТД	ІУД (ІКД)	ІУД (ІКД)	–
ІУД (ІКД)+ІПД	ІУД (ІКД)	ІУД (ІКД)	ІПД
ІУД (ІКД)+ІПД	ІУД (ІКД)	ІУД (ІКД)+ІПД	–
ІУД (ІКД)+ІПД	ІУД (ІКД)+ІПД	ІУД (ІКД)	ІПД

Мета – підтримувати рівновагу між введеним екзогенним інсуліном і потребою в ньому, характером харчування та фізичною активністю.

Використовуються традиційний та інтенсивний (базисно-болусний) режим інсулінотерапії. Традиційна інсулінотерапія передбачає щоденне використання мінімальної кількості ін'єкцій (частіше 2 на день) однієї і тієї ж дози інсуліну. Для цього використовується, як правило, інсулін короткої та проміжної дії. При традиційному режимі інсулінотерапії харчування хворого, фізичні навантаження і весь розпорядок дня обумовлені схемою інсулінотерапії і не може змінюватися. Для молодих і соціально активних пацієнтів традиційний режим інсулінотерапії суттєво знижує якість їхнього життя. Традиційна інсулінотерапія показана лише розумово неповноцінним, психічно хворим та особам, що потребують стороннього догляду.

Інтенсивна інсулінотерапія відповідає ритму фізіологічної секреції інсуліну. При цьому базальна секреція інсуліну забезпечується препаратами інсуліну проміжної або тривалої дії, а харчову (болусну) секрецію інсуліну заміщують інсуліни ультракороткої або короткої дії перед кожним прийомом їжі.

Інтенсивна інсулінотерапія допомагає значно швидше досягнути компенсації діабету, поліпшити якість життя. Переваги інтенсивної інсулінотерапії доведені в дослідженні DCCT (The Diabetes Control and Complication Trial), яке проводилось під егідою Американської діабетичної асоціації. Згідно з цим дослідженням поліпшення глікемічного контролю знижує частоту непроліферативної та проліферативної ретинопатії на 47 %, мікроальбумінурії – на 39 %, клінічної нефропатії – на 54 %, нейропатії – на 60 %. При цьому ризик розвитку тяжких гіпоглікемій збільшився у 3 рази.

Для успішного проведення інтенсивної інсулінотерапії необхідна активна позиція і мотивація хворого, усвідомлення переваг інтенсивної терапії, можливості компенсації цукрового діабету і профілактики його хронічних ускладнень. Для цього необхідно вибрати показання до інтенсивної терапії (табл. 5).

Ефективність інсулінотерапії значною мірою залежить від правильно виконаної ін'єкції інсуліну. Щоденні ін'єкції інсуліну роблять переважно підшкірно. Для цього шкіру беруть у складку і вводять голку під кутом 45° на глибину близько 8 мм.

Таблиця 5. Показання до інтенсивної інсулінотерапії цукрового діабету типу 1

1.	Вперше діагностований цукровий діабет типу 1 у дітей та дорослих
2.	Профілактика мікросудинних уражень
3.	Діабет вагітних або планування вагітності у хворих на діабет
4.	Тяжка форма, лабільний перебіг цукрового діабету, кетоацидоз
5.	Трансплантація нирок при діабетичній нефропатії

Ін'єкції роблять одноразовими шприцями. Для зручності користуються спеціальними пристроями – шприц-ручками, які значно полегшують процедуру ін'єкції. Даний пристрій нагадує собою авторучку, де замість резервуара з чорнилом знаходиться спеціальний резервуар (картридж, патрон) з інсуліном. Це зручно і хворі широко ним користуються. В Україні частіше всього користуються ручками: NovoPen («Novo Nordisk», Данія), HumaPen («Lilly», США), OptiPen («Sanofi Aventis», Франція), DarPen («Індар», Україна). Патрони (картриджі) містять 1,5-3 мл інсуліну по 100 МО в 1 мл. Хворим рекомендується мати 2 шприц-ручки: одну для інсуліну ультракороткої (короткої) дії, а другу – для інсуліну тривалої дії.

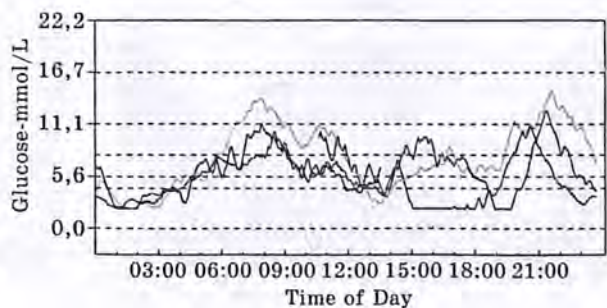
При змішуванні препаратів інсуліну короткої та тривалої дії бажано використовувати їх однієї фірми-виробника. Препарати інсуліну мають зберігатися при температурі 2–8 °С в холодильнику.

Глікемічний контроль є невід'ємною і фундаментальною частиною успішної терапії цукрового діабету. Він досягається кількарразовим дослідженням рівня глюкози крові протягом доби.

Хворим на діабет необхідно рекомендувати проведення самоконтролю рівня глюкози крові, тому що це найпрактичніший метод моніторингу показників глікемії до та після прийому їжі. З цією метою використовуються глюкометри – невеликі, зручні портативні аналізатори глюкози крові. Всі хворі на цукровий діабет за допомогою цих глюкометрів повинні контролювати перебіг діабету. Найпоширенішими глюкозними аналізаторами в Україні є Вантач Ультра, Вантач Горизонт, Акку – Чек Актив і Гоу, Медісенс, Глюкокард та інші.

Останнім досягненням в удосконаленні глікемічного контролю є Система тривалого моніторингу глюкози (System Gold Continuons Glucose Monitoring System). Прилад для реалізації Системи (Medtronic, Minimed, USA) складається з підшкірного сенсора для постійного моніторингу глюкози протягом трьох днів, монітора для реєстрації показників глікемії і комп'ютера. Отримані криві порівнюються з прийомом їжі, ін'єкціями інсуліну (мал. 3).

Інсулінова помпа забезпечує постійну підшкірну інфузію інсуліну (помпова терапія), наближену до фізіологічних умов методом Біо-Пульса по 0,05/0,1 МО. Відомо, що підшлункова залоза здорової людини секретує інсулін кожні 10-14 хв. За таким принципом працює помпа і забезпечує контрольоване, поступове введення базальних і болюсних ін'єкцій. Подібна методика значно підвищує якість життя хворого, сну, створює сприятливі умови для занять фізичними вправами без страху за гіпоглікемії, планування вагітності, забезпечує соціальну адаптацію.



Мал. 3. Результати трьохдобового моніторингу глюкози крові у хворого на цукровий діабет.

Сучасна інсулінова помпа Парадигма Реал Тайм – інтегрована система з постійним моніторингом глікемії в режимі реального часу. В Україні використовуються помпи Парадигма компанії «Медтронік» (США) (мал. 4).



Мал. 4. Інсулінова помпа Парадигма Реал Тайм.

Найбільшою перевагою Парадигма Реал Тайм є зниження ризику гіпоглікемій. Якщо рівень глюкози крові знижується до 5 ммоль/л або нижче, то помпа відключається на 2 год.

Показання до помпової терапії:

- Гіпоглікемії: часті, важкопрогнозовані, приховані, безсимптомні
- Декомпенсація цукрового діабету, поганий глікемічний контроль (HbA1c > 7,5 %, а у вагітних > 7 %)
- Вагітність
- Неконтрольований діабет
- Гіперглікемія натще (симптом «вранішньої зорі»)
- Висока чутливість до інсуліну
- Неможливість контролювати рівень глікемії вночі із використанням аналогів інсуліну тривалої дії
- Бажання хворого

Метод постійної підшкірної інфузії інсуліну має суттєві переваги перед класичною інсулінотерапією. Нижче наводимо порівняльну характеристику методів лікування із застосуванням інтенсивної терапії та інсулінової помпи (табл. 6).

Таблиця 6. Порівняльна характеристика інтенсивної інсулінотерапії та лікування за допомогою інсулінової помпи

Показники	Інтенсивна терапія	Інсулінова помпа
Частота ін'єкцій	4-5 разів на добу	1 раз на 3 доби
Підшкірне депо інсуліну	Є	Немає
Стан гіпер- та гіпоглікемій	Часто	Рідко
Частота введення інсуліну тривалої дії	1-2 рази на добу	Вводиться тільки інсулін (ультра) короткої дії в базальному режимі
Препарати інсуліну	Різні	Тільки один (ультракороткий)
Доза інсуліну	Зберігається попередня	Знижується на 20-25 %
Технічні навички	Мінімальні	Необхідне навчання
Стиль життя	Обмежений	Вільний
Вартість лікування	Звичайне	Дороге

В 17 країнах Європи проводилось багатоцентрове міжнародне дослідження глікемічного контролю під впливом тривалих підшкірних інфузій інсуліну CSII (Continuous Subcutaneous Insulin Infusion) у дітей та підлітків з цукровим діабетом типу 1. В публікації 34 авторів в журналі «Diabetologia» (T. Danne et al., 2008) доведено, що помпотерапія значно поліпшує глікемічний контроль, знижує рівень глікованого гемоглобіну.

Перехід на помпову терапію необхідно проводити в спеціалізованих ендокринологічних центрах за наявності показань, з урахуванням відповідальності хворого, досвіду його з проблеми цукрового діабету, можливості постійного спостереження у лікаря та фінансової підтримки.

Ускладнення інсулінотерапії

Негативні реакції на інсулінотерапію зумовлені білковою структурою гормону, неадекватною дозою інсуліну, недотриманням рекомендацій лікаря, іншими чинниками. До основних побічних реакцій інсулінотерапії належать: алергія до інсуліну, гіпоглікемічні стани, інсулінові ліподистрофії та ліпогіпертрофії, інсулінорезистентність, інсулінові набряки, хронічне передозування інсуліну (синдром Сомоджі).

Гіпоглікемічні стани є найчастішим ускладненням інсулінотерапії і виникають внаслідок неадекватного дозування інсуліну, порушення режиму харчування та фізичних навантажень. Вони розвиваються швидко, проявляються загальною слабкістю, відчуттям голоду, пітливістю, судомою, непритомністю.

Алергійні реакції спостерігаються у вигляді місцевих реакцій та загальних проявів, які виникають відразу після введення інсуліну або через деякий час. Характер чутливості до інсуліну можна виявити за допомогою внутрішньошкірної проби. Для її виконання в середню третину згинальної поверхні передпліччя вводять внутрішньошкірно 0,4 МО інсуліну в 0,1 мл розчину (4 МО інсуліну розчиняють у 0,9 мл ізотонічного розчину натрію хлориду). Реакцію вважають позитивною у разі виникнення на місці введення через 20-30 хв набряку, гіперемії, сверблячки. Реакція може виникнути також через декілька годин.

Інсулінорезистентність пов'язана з утворенням антитіл до інсуліну і про неї можна говорити, коли доза інсуліну перевищує 1,5 МО/кг. Для лікування інсулінорезистентності необхідно замінити препарат інсуліну на монокомпонентний чи аналог.

Інсулінові ліподистрофії та ліпогіпертрофії є місцевими реакціями у відповідь на введення інсуліну (мал. 5). Вони являють собою деструктивні процеси у підшкірній жировій тканині. Ліподистрофія сьогодні практично не



Мал. 5. Інсулінова ліпоатрофія (А) та ліпогіпертрофія (Б).

зустрічається. Ліпогіпертрофія розвивається при використанні високоочищених препаратів людського інсуліну і для деяких хворих представляє собою лише косметичну проблему. Для попередження розвитку ліподистрофії необхідно постійно міняти місце введення інсулінів (живіт, стегно, плече).

Синдром Сомоджі (синдром хронічного передозування інсуліну) проявляється значним підвищенням рівня глікемії після гіпоглікемічної реакції. При підозрі на цей синдром, коли гіпоглікемія була вночі, необхідно знизити вечірню дозу інсуліну на 10-20 % і посилити глікемічний контроль.

Інсулінові набряки виникають впродовж перших тижнів інсулінотерапії внаслідок затримки в організмі натрію. Набряки спонтанно зникають через кілька тижнів лікування.

Інсулінова пресбіопія проявляється порушенням зору, виникає на початку інсулінотерапії, зумовлена порушенням рефракції та змінами фізичних властивостей кристалика. Вона проходить самостійно через 2-3 тижні, про що необхідно попередити хворого.

З метою оптимізації терапії хворих на цукровий діабет необхідно виробити мотивацію у хворих до активного лікування в процесі навчання (схема 2).



Схема 2. Шляхи оптимізації лікування хворих на цукровий діабет.

Американська діабетична асоціація радить хворим на цукровий діабет типу 1 дотримуватись таких правил (2009):

- Використовувати багаторазові ін'єкції (3-4 на день) базальним і прандіальним інсуліном
- Підбирати дозу прандіального інсуліну у відповідності зі споживанням вуглеводів, рівнем глікемії та фізичною активністю
- Пацієнтам зі схильністю до гіпоглікемії рекомендувати аналоги інсуліну

Прогноз цукрового діабету типу 1 порівняно сприятливий при стабільному перебігу, стійкій і постійній компенсації, систематичному спостереженні. Тривала декомпенсація є підґрунтям для розвитку хронічних ускладнень цукрового діабету. Стабільна компенсація дає змогу запобігти розвитку діабетичної ангіопатії або стабілізувати її перебіг. За даними авторитетних дослідників, цукровий діабет підвищує летальність у 2-3 рази і скорочує тривалість життя на 10-30 %.

Інсулінотерапія цукрового діабету типу 2 має певні особливості. Згідно з протоколами надання медичної допомоги хворим на цукровий діабет (наказ МОЗ України № 356 від 12.05.2009) наводимо основні показання до інсулінотерапії хворих на цукровий діабет типу 2 (табл. 7).

Таблиця 7. Показання до інсулінотерапії при цукровому діабеті типу 2

Неефективність дієти і максимальної дози пероральних цукрознижувальних препаратів
• Глікований гемоглобін >7,5 %
• Глікемія натще >8,0 ммоль/л при ІМТ<25 кг/м ²
• Кетоацидоз
• Оперативне втручання, інфекційні ускладнення, інфаркт міокарда, інсульт (можливий тимчасовий перехід на інсулінотерапію)

Метою інсулінотерапії має бути хороший глікемічний контроль, при якому рівень HbA1c <7 %, глікемія натще – <6,5 ммоль/л, а глікемія через 2 год після прийому їжі – < 9 ммоль/л.

Перед переведенням на інсулінотерапію хворих необхідно навчити методам самоконтролю, попередити про можливість гіпоглікемії та шляхи її усунення, переглянути принципи раціонального харчування.

У відповідності до протоколів МОЗ України рекомендується комбінована терапія (табл. 8) або монотерапія (табл. 9).

Для інсулінотерапії хворих на цукровий діабет 2 типу лікарськими засобами вибору є людські генно-інженерні інсуліни (клас ІІА, рівень доказовості В). Аналоги інсуліну людини призначаються у випадках нетерпимості до інших видів інсуліну, лабільному перебігу діабету зі схильністю до тяжких гіпоглікемії.

Таблиця 8. Комбінація інсуліну та пероральних цукрознижувальних препаратів (دوزи орієнтовні)

Режими інсулінотерапії	Стартова доза	Час введення	Корекція дози
Інсулін середньої тривалості дії	8-12 МО	Перед сном	Корекція дози інсуліну (+2+4 МО) через кожних 2-3 дні до досягнення мети:
Інсулін середньої тривалості дії	8-12 МО	Перед сніданком і перед сном	глікемія натще < 6,5 ммоль/л, глікемія через 2 год після їжі < 9 ммоль/л
Інсулін заздалегідь змішаний (30/70) один або два рази на добу	8-12 МО	Перед вечерею або перед сніданком та вечерею	

Таблиця 9. Монотерапія інсуліном з відміною пероральних цукрознижувальних препаратів (доза орієнтовні)

Схема	Вид інсуліну	Стартова доза	Час введення	Корекція дози
1	Інсулін заздалегідь змішаний (30/70)	8-12 МО	Перед сніданком	Корекція дози інсуліну (+2+4 МО) через кожних 2-3 дні до досягнення мети: глікемія натще < 6,5 ммоль/л, глікемія через 2 год після їжі < 9 ммоль/л
		8-12 МО	Перед вечерею	
2	Інсулін середньої тривалості дії	8-12 МО	Перед сніданком і перед сном	Корекція дози інсуліну (+2+4 МО) через кожних 2-3 дні до досягнення мети: глікемія натще < 6,5 ммоль/л, глікемія через 2 год після їжі < 9 ммоль/л
	Інсулін короткої дії	6-8 МО	Перед основним прийомом їжі	

Середня доза інсуліну у хворих на цукровий діабет 2 типу, які потребують інсулінотерапії, становить 50 МО (клас ІІА, рівень доказовості С). Доза залежить від маси тіла, дієти, фізичних навантажень, ступеня інсулінорезистентності, супутних захворювань та ін.

Провідні діабетологи Європи та США запропонували узгоджений алгоритм метаболічного управління цукровим діабетом типу 2 (Консенсус ADA і EASD, 2009; схема 3).



Схема 3. Алгоритм метаболічного управління цукровим діабетом 2 типу.

В редакційній статті журналу «Diabetologia» (2009, vol. 52, N 4) головний редактор і визначний британський діабетолог Е. А. М. Gale відмітив, що для тривалого життя з діабетом важливо:

- мати батьків-довгожителів,
- залишатися худим,

- мати нормальний артеріальний тиск,
- утримувати рівень глікованого гемоглобіну близько 7 %,
- мати низькі дози інсуліну,
- мати високий рівень холестерину ЛПВЩ,
- регулярно робити фізичні вправи.

З консенсусу метаболічного управління цукровим діабетом типу 2 випливають наступні поради для його лікування:

- Досягнення та утримання цільових показників глікемічного контролю ($HbA_{1c} \leq 7,0\%$)
- Початкова терапія з корекцією способу життя і метформіном
- Швидке доповнення препаратів та перехід на нові режими, коли цільові показники глікемічного контролю не досягнуті або не утримані
- Раннє призначення інсулінотерапії хворим, у яких не досягнуто цільового глікемічного контролю

Інсулінотерапія цукрового діабету була і залишається найефективнішим методом лікування. Вона продовжує відігравати свою революціонізуючу роль у терапії хворих на цукровий діабет типу 1 та бути надійним гарантом якості життя хворих на діабет типу 2. Завдання лікарів та шкіл соціальної адаптації переконати хворих на діабет в необхідності своєчасної інсулінотерапії на тлі раціонального харчування та фізичних вправ з хорошим глікемічним контролем (схема 4).

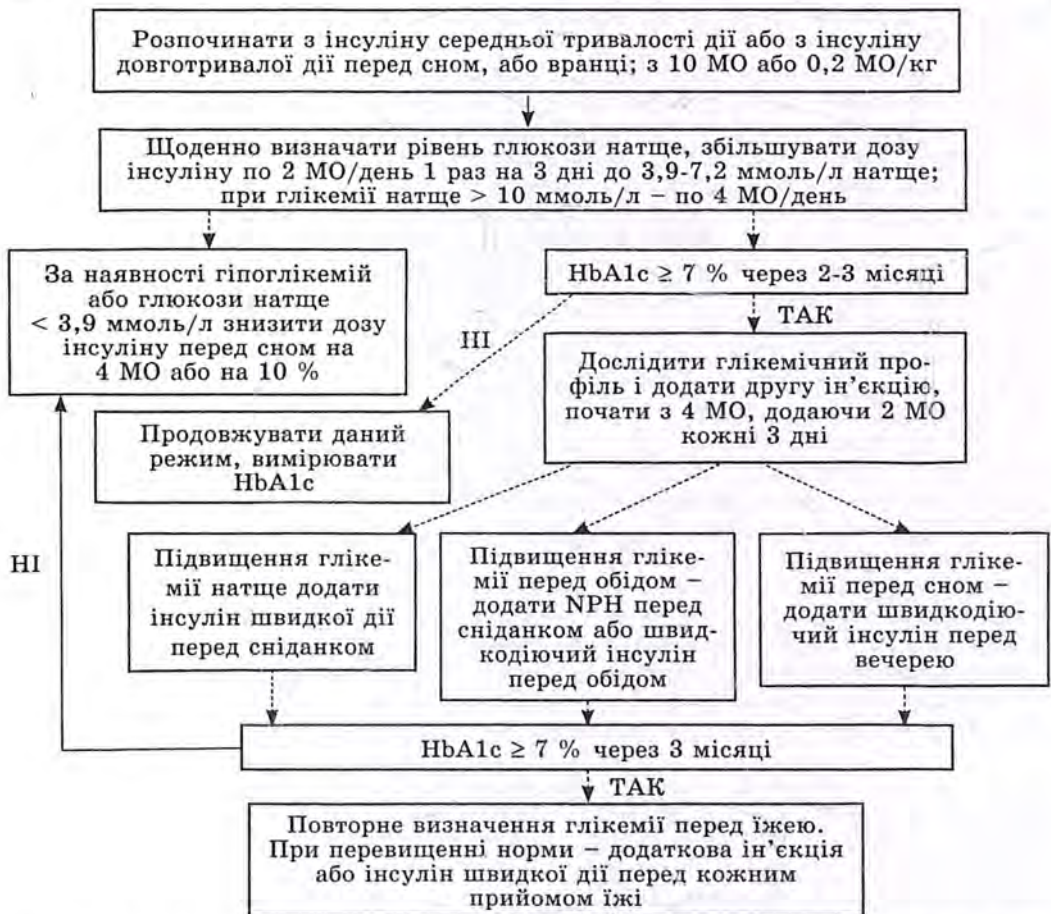


Схема 4. Інсулінотерапія у хворих на цукровий діабет типу 2 (Консенсус ADA і EASD, 2009)

Література

1. Ендокринологія: Підручник. Вид. 2-е. За ред. П. М. Боднара. Вінниця: Нова Книга, 2009. 582 с.
2. Эндокринология: национальное руководство / Под. ред. И. И. Дедова, Г. А. Мельниченко. М.: ГЭОТАР, 2008. 1072 с.
3. Ефимов А. С., Скробонская Н. А., Ткач С. Н., Сакало О. А. Инсулинотерапия больных сахарным диабетом. К.: Здоров'я, 2000. 248 с.
4. Корпачев В. В. Инсулин и инсулинотерапия. К.: РИА «Триумф», 2001. 456 с.
5. Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Ендокринологія» (наказ МОЗ України № 356 від 12.05.2009). Київ, 2009. 55 с.
6. International Textbook of Diabetes Mellitus. 3-rd ed. / R. A. DeFronzo, E. Ferrannini, H. Keen, P. Zimmet (eds.). John Wiley & Sons, Ltd, 2004; Vol. 1. – 1100 p., Vol. 2. – 1913 p.
7. Williams Textbook of Endocrinology. 11th ed. / H. M. Kronenberg et al. (eds.). Saunders Elsevier, Philadelphia, PA, USA, 2008. 1911 p.

**АКТУАЛЬНА ЕПІДЕМІОЛОГІЯ:
44-та ЩОРІЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ
ЄВРОПЕЙСЬКОЇ ГРУПИ З ВИВЧЕННЯ
ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ (EDEG)
(м. Вагенінген, Нідерланди, 9-12 травня 2009 р.)**

Грецькі терміни «епідемія» (від $\epsilon\pi\lambda$ – на і $\beta\epsilon\rho\sigma$ – народ) та «епідеміологія» у широкому розумінні означають масове поширення якогось явища серед людей і відповідну науку, що вивчає це поширення. Себто, таким явищем не обов'язково має бути інфекція. EDEG є першою науковою групою, що була створена в межах Європейської асоціації з вивчення діабету (EASD), та яка проводить свої наукові конференції з 1966 р. До теперішнього складу наукового комітету EDEG входять такі відомі у світі дослідники цукрового діабету, як Сара Вайлд (Sarah Wild) з Единбурзького університету, Ніколас Варігам (Nickolas Wareham) з Кембріджського університету та інші вчені з провідних наукових центрів Європи. Зокрема, саме Сара Вайлд у співавторстві з експертами ВООЗ першою визначила незалежний від ожиріння епідемічний характер поширення цукрового діабету (ЦД) у світі. На цю публікацію [1] системою Google scholar вже зареєстровано 2322 посилання інших авторів, тобто, вона викликала «епідемію» посилань. Наш скромний внесок у розповсюдження цієї «епідемії» виправдовується тим, що повний текст статті та подальшої полеміки зацікавлені можуть безкоштовно отримати в Інтернеті.

Своєрідною ілюстрацією правдивості оцінок про епідемічний характер поширення діабету була спільна доповідь на EDEG-2009 китайських (Feng Ning et al.) і шведських (Niklas Hammar et al.) епідеміологів та відомого дослідника ЦД з Фінляндії Jaakko Tuomilehto про чинники, які пов'язані зі значним збільшенням поширеності діабету у китайській провінції Qingdao. Вимірювання глюкози у 11,5 тис. дорослих у віці 35-74 рр. встановило розповсюдженість ЦД серед міського населення 10,3 % і 10,8 % для чоловіків і жінок у 2001-2002 рр., та 18,7 % і 15,3 % – у 2006 р. Для сільського населення поширеність ЦД становила 4,6 % та 6,1 % у 2001-2002 рр. і 13,6 % та 13,1 % – у 2006 р. у чоловіків і жінок, відповідно. Виявилось, що низький соціально-економічний статус більше впливав на зростання ризику діабету у міського населення, ніж у сільського. У спільній публікації Jaakko Tuomilehto разом з іншою групою авторів з Китаю [2] подано результати ще масштабнішого дослідження, згідно з якими при визначенні глікемії та анкетуванні (з метою збору даних про раніше відомий діагноз) у майже 770 тисяч сільських дорослих з іншої китайської провінції, ЦД вперше діагностовано у 7,9 % чоловіків та 9,7 % жінок, а раніше він був відомий лише у 0,4 % і 0,9 % чоловіків та жінок, відповідно. Поширеність, як виявленого завдяки скринінгу, так і раніше встановленого діабету, в даній популяції значуще вищою була серед жінок ($P < 0,001$).

Ці дослідження з Китаю, на нашу думку, підтверджують прогнози Сари Вайлд та співавт. [1] про епідемічний характер розповсюдження ЦД. Очевидно, що принаймні в Китаї це збільшення частоти буде відбуватися як за рахунок нових випадків діабету, так і за рахунок поліпшення діагностики ЦД 2 типу. В деяких європейських країнах та Канаді схильні пояснювати зростання поширеності діабету за рахунок збільшення тривалості життя хворих на ЦД, тому епідеміологи з Данії взагалі вважають епідемію ЦД

«статистичним артефактом» [3]. На жаль, принаймні для азійських країн епідемія діабету виглядає цілком реальною.

Іншим цікавим для нас фактом, встановленим Н. Tian et al. [2] було більше зростання ЦД у жінок. Він цілком збігається з нашими оцінками статевого розподілення діабету 2 типу в Україні, зробленими на основі аналізу реєстру хворих, які були представлені у 2006 р. на конгресі Європейського товариства ендокринологів [4] та в інших публікаціях [5, 6]. У більшості країн сучасної Європи поширеність ЦД 2 типу серед жінок та чоловіків або однакова, або вища у чоловіків [7, 8]. На нашу думку, одним з пояснень гендерної різниці щодо ризику ЦД 2 типу, зафіксованої в Україні та сільських районах Китаю, є вплив соціально-економічних умов. Відомо, що низький соціально-економічний статус є чинником ризику ЦД 2 типу лише або переважно для жінок [8]. Причина різної чутливості жінок і чоловіків до соціально-економічних чинників достеменно невідома, але можна висунути припущення, що вона може бути пов'язана, у тому числі, із неоднаковим ступенем використання замісної гормональної терапії (ЗГТ) естрогенами у жінок в постменопаузі, тому що зменшення захворюваності на ЦД 2 типу під впливом ЗГТ нещодавно встановлене у великому когортному дослідженні [9].

В одному повідомленні важко висвітлити всі з прослуханих нами за три конференційних дні 32 усних та 45 стендових доповідей, тому уникнути суб'єктивізму при подальшому їх відборі неможливо. На нашу думку, вдалим було рішення розпочати конференцію з лекції одного з виконавців дослідження ADVANCE, професора Гроббе (Rick Grobbee) з університету Утрехту, в якій він порівняв наслідки інтенсифікації гіпоглікемізуючого лікування щодо смертності серед хворих на ЦД 2 типу в інтервенційних дослідженнях ACCORD та ADVANCE. Виявилось, що намагання досягти рівня $HbA_{1c} < 6\%$ (ACCORD) та $< 6,5\%$ (ADVANCE) призвели до збільшення смертності від серцево-судинної патології у дослідженні ACCORD та не призвели до її змін у дослідженні ADVANCE у порівнянні з стандартним лікуванням. Інтенсифікація досягалась за рахунок лікування глімеперидом (ACCORD) або гліклазидом (ADVANCE), до яких додавались метформін, тіазолідиндіони та інсулін, переважно в комбінаціях. Ми звернули увагу на те, що частка використання тіазолідиндіонів у інтенсивній частині ACCORD досягала 92 %, а у ADVANCE – лише 17 %. Різниця наявна і для часток використання інсуліну – 77 % та 40 %, відповідно. Тяжкі гіпоглікемії зафіксовані відповідно у 3,1 % та 0,7 % хворих інтенсивних частин цих досліджень. На наше запитання, чи не можна вважати результати цього порівняння одним з пояснень результатів обсерваційних досліджень, які встановили підвищення ризику смерті серед хворих на ЦД 2 типу, що змушені лікуватися інсуліном, про що свідчать і наші дослідження в Україні [10], професор Гроббе не дав однозначної відповіді. Головним його висновком було те, що намагатися знижувати $HbA_{1c} < 7\%$ недоцільно. Цей висновок є відповіддю на ті сподівання, що могли бути викликані статтею епідеміологів з Кембріджського університету [11], у якій вперше сповіщалося про те, що серед чоловіків навіть без ЦД збільшення HbA_{1c} в діапазоні 5-6,9 % пов'язане з ризиком смерті 1,46. На жаль, останні інтервенційні дослідження вказують на потенційну шкідливість досягнення рівня $HbA_{1c} < 7\%$ шляхом комбінованого інтенсивного лікування хворих на ЦД 2 типу. Тобто, надто «жорстка» медикаментозна нормалізація глікемії не зменшує серцево-судинну смертність (ADVANCE), а може і збільшувати її (ACCORD).

Кілька доповідей були присвячені немедикаментозним засобам попередження підвищення глікемії до діабетичного рівня в осіб з порушеною глікемією натще та/або з порушеною толерантністю до глюкози. Зокрема, дослідники з Данії (Suzanne Endberg et al.) встановили, що збільшення фізичної активності запобігає розвитку ЦД в осіб з первинною м'язовою резистентністю до інсуліну (її ознакою є порушена толерантність до глюкози), тоді як в осіб з первинною печінковою резистентністю до інсуліну, про що свідчить ізольована гіперглікемія натще, фізична активність не дає позитивного

результату. Автори рекомендують зосередитись на інших чинниках профілактики діабету для цієї категорії осіб.

Нідерландські дослідники (Ivonne Sluijs et al., EPIC-NL study) сповістили про неочікувані результати спостереження протягом 10-ти років над когортою з 40 072 дорослих щодо впливу дієти з різним вмістом білків та вуглеводів. Виявилось, що підвищений вміст білків збільшує ризик розвитку ЦД 2 типу в осіб з нормальною вагою та не впливає на цей ризик за умов наявності підвищеної ваги або ожиріння. Інша група епідеміологів (Suzan van Diegen et al.) в межах цього ж дослідження EPIC-NL теж 10 років спостерігала за когортою з 38 176 дорослих, вивчаючи розвиток ЦД залежно від споживання кави та чаю. Щоденне вживання щонайменше 3 чашок кави або чаю зменшує ризик розвитку ЦД 2 типу на 40 %. Цей ефект не опосередкований артеріальним тиском або вмістом кофеїну, калію чи магнію. Група дослідників з Нідерландів (університет Амстердаму) та США (Гарвардський університет) на чолі з Aimee van Dijk представили результати гострого впливу екстрагованих з кави компонентів – 1 г хлорогенної кислоти (chlorogenic acid) та 500 мг тригонелліну (trigonelline) на толерантність до глюкози у 15 добровольців із підвищеною вагою. Обидві речовини продемонстрували здатність знижувати рівні глюкози та інсуліну крові на 15-й хвилині після стандартного глюкозного навантаження, тобто, потенційно вони захищають від розвитку діабету. Саме ця доповідь отримала приз конференції EDEG-2009.

Майже 10 років тому у відомому міжнародному епідеміологічному журналі була надрукована стаття під назвою «Чи існує епідеміологія в Росії?» [12]. Стаття аналізувала наявність ознак неінфекційної епідеміології у журнальних публікаціях та учбових програмах пострадянського простору. Висновок цієї статті був невтішний: «пацієнт (тобто, епідеміологія) скоріше мертвий, ніж живий». На конференцію EDEG-2009 було прийнято 2 доповіді з Росії (Olga Berdennikova et al., I. Misnikova et al.), по одній доповіді з України (Mykola Khalangot et al.) та Латвії (Ieva Strele et al.). Всі ці доповіді представляють результати аналізу національних реєстрів ЦД або його регіональних фрагментів. Російські дослідники сповіщали про те, що діабетична нефропатія досі є головною причиною смерті серед хворих на ЦД 1 типу. На жаль, цей висновок збігається з нашим аналізом реєстру СИНАДІАБ, що був представлений на конгресі ендокринологів України у 2007 р. [13], та зовсім не сходиться з сучасними даними західних дослідників [14], які вважають серцево-судинну патологію головною причиною смерті цих хворих. Імовірно, що основною причиною таких розбіжностей є низька середня тривалість життя хворих на ЦД типу 1 в Україні (40,2 р.) та Росії (49,6 р., Московська обл.), за якої багато хворих просто «не доживають» до серцево-судинної патології. У доповіді з Латвії наведені результати поєданого аналізу реєстрів ЦД та національного реєстру смертності. Цей підхід є дуже продуктивним щодо реальної оцінки смертності хворих на діабет. На жаль, він поки що не використовується в Україні. Наша доповідь була присвячена порівнянням ризику, що пов'язаний з лікуванням глібенкламідом або гліклазидом. Ці дані опубліковані в Україні [15] і у доповненому вигляді за кордоном [16].

Нарешті, не можна не сказати про надзвичайно теплу та невимушену атмосферу конференції. Наукові доповіді іноді переривалися 5-хвилинними заняттями «кардіо-респіраторної» гімнастики, які проводила доктор Dorigen Zelle з університету Гронінгену, що сама була автором дуже цікавої доповіді про додатковий ризик смертності після трансплантації нирки, пов'язаної з підвищенням рівнів γ -глутамінтрансферази та лужної фосфатази сироватки. Голова EDEG професор Ronald Stolk особисто очолював ранішні пробіжки для бажаячих. Головними спонсорами конференції були міністерство охорони здоров'я Нідерландів та місцевий університет. Участь деяких доповідачів була профінансована коштом конференції за ініціативою оргкомітету.

Організатори конференції обережно поцікавилися про можливі перспективи організації однієї з наступних конференцій в Україні. Сьогодні ці

перспективи виглядають не дуже реалістично. Все ж ми вважаємо, що кілька наукових міжнародних конференцій можуть зробити для іміджу України значно більше, ніж футбольні змагання, та закликаємо науковців і лікарів активніше приєднуватися до наукових спільнот, подібних EDEG.

Література

1. Wild S., Roglic G., Green A. et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030 // *Diabetes Care*. 2004, 27, N 5, 1047-1053.
2. Tian H., Song G., Xie H. et al. Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose among 769,792 rural Chinese adults // *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2009, 84, N 3, 273-278.
3. Green A., Støvring H., Andersen M., Beck-Nielsen H. The epidemic of type 2 diabetes is a statistical artefact // *Diabetologia*. 2005, 48, N 8, 1456-1458.
4. Tronko M., Khalangot M., Kravchenko V. et al. Gender distribution in Ukrainian adult insulin-treated diabetics depending of age at diagnosis // *Endocrine Abstracts*. 2006, 11, p. 298.
5. Тронько М. Д., Халангот М. Д., Кравченко В. І. та ін. Гендерний ризик не фатальних випадків інсульту, інфаркту та сліпоти у хворих на цукровий діабет 2 типу розрізняється в залежності від виду лікування // *Лікарська справа*. 2006, № 1-2, 23-27.
6. Khalangot M., Kravchenko V., Tronko M., Vaiserman A. Assessment of current insulin usage in type 2 diabetics according to diabetes type distribution among insulin-treated patients in Ukraine // *Diabetologia Croatica*. 2007, 36, 15-21.
7. Gale E. A., Gillespie K. M. Diabetes and gender // *Diabetologia*. 2001, 44, N 1, 3-15.
8. Connolly V., Unwin N., Sherriff P. et al. Diabetes prevalence and socioeconomic status: a population based study showing increased prevalence of type 2 diabetes mellitus in deprived areas // *J. Epidemiol. Community Health*. 2000, 54, N 3, 173-177.
9. Margolis K. L., Bonds D. E., Rodabough R. J. et al. Effect of oestrogen plus progesterin on the incidence of diabetes in postmenopausal women: results from the Women's Health Initiative Hormone Trial // *Diabetologia*. 2004, 47, N 7, 1175-1187.
10. Khalangot M., Tronko M., Kravchenko V. et al. The joint effects of different types of glucose-lowering treatment and duration of diabetes on total and cardiovascular mortality among subjects with type 2 diabetes // *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2008, 82, 139-147.
11. Khaw K. T., Wareham N., Luben R. et al. Glycated haemoglobin, diabetes, and mortality in men in Norfolk cohort of european prospective investigation of cancer and nutrition (EPIC-Norfolk) // *BMJ*. 2001, 322, N 7277, 15-18.
12. Vlassov V. Is there epidemiology in Russia? // *J. Epidemiol. Community Health*. 2000, 54, N 10, 740-744.
13. Халангот М. Д., Кравченко В. І., Тронько М. Д., Кульчинська Я. Б. Епідеміологічний аналіз за допомогою реєстру хворих на цукровий діабет в Україні: перші результати // *Ендокринологія*. 2007, 12, додаток: Матер. VII з'їзду ендокринологів України. Київ, 2007, с. 302.
14. Soedamah-Muthu S. S., Chaturvedi N., Witte D. R. et al. EURODIAB Prospective Complications Study Group. Relationship between risk factors and mortality in type 1 diabetic patients in Europe: the EURODIAB Prospective Complications Study (PCS) // *Diabetes Care*. 2008, 31, N 7, 1360-1366.
15. Халангот Н. Д., Тронько Н. Д., Кравченко В. И. Риск общей и сердечно-сосудистой смертности, связанный с лечением глибенкламидом (по данным обсервационного когортного исследования больных сахарным диабетом в Украине) // *Український медичний часопис*. 2008, 66, № 4, 88-93.
16. Khalangot M., Tronko M., Kravchenko V., Kovtun V. Glibenclamide-related excess in total and cardiovascular mortality risks: data from large Ukrainian observational cohort study // *Diabetes Research and Clinical Practice*. DOI :10.1016/j.diabres.2009.09.008

*Підготував М. Д. Халангот
ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України»*

ЖИЗНЬ С ДИАБЕТОМ: 20-й ВСЕМИРНЫЙ КОНГРЕСС МЕЖДУНАРОДНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (г. Монреаль, Канада, 18-22 октября 2009 г.)

Место проведения Конгресса Международной Диабетической Федерации (IDF) было выбрано не случайно. Впервые препарат инсулина был получен в лаборатории профессора Маклеода в Торонто в 1921 г. Работа Бантинга, Беста, Маклеода и Коллипа в 1920-х годах ознаменовала один из самых важных моментов в истории медицины – внедрение препарата инсулина в клиническую практику.

Основные вопросы, которые обсуждались на Конгрессе, таковы:

Как решать те серьезные проблемы, которые возникают вследствие повсеместной урбанизации и выливаются в эпидемию ожирения?

Как бороться с изменением образа жизни, когда предпочтение отдается потреблению большого количества калорий и снижению уровня физической активности?

Что можно сделать для того, чтобы помочь людям с диабетом лучше понять свое заболевание и осознать необходимость режима введения инсулина, то есть помочь им улучшить самоконтроль ради достижения и долгосрочного поддержания хорошего гликемического контроля?

Какие методы являются лучшими для лечения людей, входящих в группу риска и тех, кто уже болеет сахарным диабетом (СД)?

Программа Конгресса была разделена на шесть направлений («Развитие ассоциации», «Клинические исследования», «Обучение», «Фундаментальная наука», «Здравоохранение и эпидемиология», «Жизнь с диабетом») и включала в себя презентации, встречи со специалистами, симпозиумы, обучающие лекции и интерактивные семинары. Цель Конгресса – предоставить самую последнюю информацию из наиболее важных областей исследования диабета в таком формате, который будет доступен всем участникам, а также стимулировать дискуссии и, что самое важное, внедрить теоретические знания в клиническую практику.

Развитие ассоциации. Основа сообщества IDF – ассоциации. Одна из важных задач Конгресса – помочь ассоциациям-членам IDF, которых более двухсот, разработать стратегии по предотвращению диабета в 161 стране, а также предоставлению оптимального лечения и обучения людей с диабетом. Поддержка ассоциаций-членов была основной темой «глобальной деревни», где каждая ассоциация-член IDF имела возможность представить свою страну на стенде и рассказать о своей общественной деятельности, участвуя в семинарах.

Обучение. В этом направлении внимание было уделено вопросам обучения самоконтролю. Освещался широкий ряд тем, включая дискуссии по проблемам питания и мониторинга, эффективности применения арт-терапии и психотерапии, поскольку призвание и основная цель работы Международной Диабетической Федерации состоит в том, чтобы улучшить исход заболевания и повысить качество жизни людей с диабетом.

Фундаментальная наука. Фундаментальные исследования, создающие основу для дальнейших достижений в области предотвращения диабета и его терапии, были основной темой этого направления. Обсуждались такие вопросы, как воспроизведение бета-клеток из стволовых клеток; роль стресса в развитии диабета; иммунология сахарного диабета 1 типа; генетика ожирения и диабета; нечувствительность к инсулину.

Клинические исследования. Были, пожалуй, самым главным из шести направлений Конгресса. Обсуждался широкий ряд тем, таких как: последние результаты клинических испытаний, ожирение, диабет и мозг, генетика сахарного диабета 2 типа, сахарный диабет у детей, новые терапевтические подходы в предотвращении и лечении осложнений диабета, таких как диабетическая стопа, ретино- и нефропатия. Также были представлены обновленные Рекомендации IDF по ведению пациентов с сахарным диабетом 2 типа, детей и беременных, страдающих СД.

Много внимания на Конгрессе было уделено первичной профилактике СД и изменению образа жизни, как наиболее эффективной мере в предотвращении как развития СД, так и профилактике осложнений. В докладе D. Nathan (USA) было подчеркнuto, что главными внешними факторами риска развития СД 2 типа являются переизбыток и малоподвижный образ жизни и их последствия – избыточный вес и ожирение. Поэтому не удивительно, что коррекция этих факторов оказывает выраженное благоприятное влияние на контроль гликемии при СД 2 типа.

Финское исследование DPS (Diabetes Prevention Study) и американская программа профилактики диабета DPP (Diabetes Prevention Program) подтвердили, что интенсивные вмешательства по модификации образа жизни, включающие мероприятия по снижению калорийности рациона и увеличению физической активности, снижают риск развития СД у лиц с нарушенной толерантностью к глюкозе. В этих исследованиях было отмечено снижение относительного риска диабета на 58 % в группах модификации образа жизни. Как результат, в обоих исследованиях отмечена возрастающая разница между частотой диабета в основных и контрольных группах, что объясняется влиянием терапии на патогенез и замедлением прогрессирования метаболических нарушений.

Метформин в исследовании DPP и акарбоза в исследовании STOP-NIDDM продемонстрировали 31 % и 25 % относительного снижения риска соответственно у мужчин и женщин с нарушенной гликемией по сравнению с группами плацебо. Однако на протяжении 2-4 недель наблюдения после прекращения терапии в DPP частота новых случаев СД в бывшей основной группе стала в два раза выше, чем в группе сравнения. Аналогично в исследовании STOP-NIDDM за 3 месяца после прекращения приема акарбозы частота новых случаев СД в бывшей основной группе возросла на 45 %. Таким образом, эффективность лечения ограничена продолжительностью приема препарата (метформина или акарбозы), вместе с тем эта тактика оказывает и определенное модифицирующее влияние на патогенез заболевания.

В настоящее время целевым уровнем HbA_{1c} – маркера хронической гликемии – является <7,0 % по мнению ADA и IDF (ранее IDF рекомендовала целевой уровень HbA_{1c} < 6,5 %). Сигналом для начала или изменения гипогликемического лечения служит уровень HbA_{1c} > 7 %, при этом целью терапии является снижение HbA_{1c} <7 %. Решение об интенсификации лечения должно приниматься индивидуально и учитывать такие факторы, как ожидаемая продолжительность жизни пациента, риск гипогликемии и наличие сопутствующих кардиоваскулярных заболеваний.

На протяжении длительного времени лечение СД 2 типа состояло из изменения образа жизни, назначения метформина, препаратов сульфонилмочевины и, при необходимости, инсулина. Появление новых классов гипогликемических препаратов, с одной стороны, расширило возможности лечения СД 2 типа, а с другой – усилило неопределенность как среди врачей, так и пациентов относительно выбора наиболее эффективной терапии.

На Конгрессе была подчеркнута необходимость применения в лечении СД 2 типа алгоритма, разработанного экспертами ADA и EASD в 2008 году,

в котором учитываются результаты клинических исследований, изучавших эффективность и безопасность различных подходов к лечению СД 2 типа. К первому ряду препаратов, имеющих достаточный период клинического использования с доказанной безопасностью, относятся метформин, производные сульфонилмочевины и инсулин. Все эти препараты имеют длительный период использования в клинической практике, мощную доказательную базу их безопасности и клинической эффективности, а также значительные преимущества по сравнению с более новыми классами пероральных сахароснижающих препаратов (ПССП) с позиции анализа затраты/эффективность. Ингибиторы α -глюкозидазы, глиниды и ингибиторы DPP-4 не включены в терапию 1-й и 2-й линии алгоритма, что связано с их более низкой гипогликемической эффективностью, более высокой стоимостью и/или ограниченными опытом клинического применения. Однако у некоторых пациентов назначение этих препаратов может быть приемлемым.

Согласно обновленному Консенсусу ADA/EASD (2008), при неэффективности первого этапа лечения СД типа 2 – модификации образа жизни и терапии метформином, что проявляется сохранением в течение 2-3 месяцев уровня HbA_{1c} > 7 %, рекомендован переход к следующему этапу – интенсификации сахароснижающей терапии. На втором этапе к метформину могут быть добавлены базальный инсулин или препарат сульфонилмочевины, охарактеризованные экспертами ADA/ EASD как «хорошо подтвержденная базовая терапия». Говоря о последних достижениях в управлении СД 2 типа, необходимо отметить кардинальное изменение стратегии лечения, заключающейся в значительном укорочении периода времени, требуемого для перехода от одной стадии лечения к другой.

Таким образом, для достижения основных целей лечения заболевания необходимо изменить ранее установленный стереотип лечения больных с СД 2 типа и перейти к более интенсивной тактике лечения: раннему началу комбинированной терапии ПССП, у некоторых пациентов – практически с момента постановки диагноза. Наиболее оптимальная комбинированная терапия – сочетание метформина с производными сульфонилмочевины. Эти препараты в сравнении с метформином имеют сравнимую и даже несколько большую эффективность по влиянию на постпрандиальную гликемию и HbA_{1c} (снижение на 1,5-2 % от исходного уровня). В то же время у этой группы ПССП есть и ряд преимуществ. Их действие начинается быстрее, чем у метформина. Эти препараты воздействуют на первую фазу выделения инсулина. А также, с экономической точки зрения, это наиболее дешевая группа препаратов. В то же время производные сульфонилмочевины могут способствовать увеличению веса и чаще вызывают гипогликемию.

Альтернативным вариантом лечения, согласно алгоритму, является комбинация метформина с базальным инсулином, однако данный вариант терапии может вызывать гипогликемические состояния и требует более тщательного проведения самоконтроля.

Последние месяцы мировая медицинская общественность обсуждает публикации в журнале «Diabetologia», посвященные анализу безопасности применения инсулина гларгин, проведенным в Германии, Швеции, Шотландии и Великобритании на основании данных регистров больных сахарным диабетом этих стран. Естественно, эта тема была в центре внимания и на Конгрессе. Сотрудники института качества и эффективности здравоохранения (IQWiG), Германия, проанализировали данные 130 тысяч пациентов с диагнозом сахарный диабет. Все они лечились либо человеческим инсулином, либо его аналогами короткого действия, либо аналогом инсулина длительного действия (речь шла о лантусе) в период с января 2001 по июнь 2005 года.

В процессе исследования не было обнаружено никаких различий в лечении

аналогами синтетического инсулина короткого действия и человеческим гормоном. Тогда как при применении пролонгированного инсулина лантус обнаружили его влияние на организм человека в плане развития злокачественных опухолей. Было также установлено, что риск рака увеличивается с ростом дозы препарата. Следует отметить, однако, что риск развития злокачественных опухолей был относительно небольшим и сочетался с такими показателями, как возраст, пол и ежедневная доза инсулина. Средний возраст пациентов составлял 65-70 лет, когда риск появления рака повышен по статистике.

Во время Конгресса на семинаре «Инсулин и онкологические заболевания» учеными из Великобритании, Канады, США было подчеркнуто, что руководство Европейской Ассоциации по изучению сахарного диабета (EASD), Американской Диабетической Ассоциации (ADA), Американской ассоциации клинических эндокринологов (AACE) и, наконец, Американской организации по регистрации и надзору за безопасностью лекарственных средств и продуктов (FDA) заключают, что выводы этих работ противоречивы, неоднозначны, а потому не должны служить основанием для отмены инсулина гларгин, перевода с него на другие инсулины или ограничением в назначении этого препарата новым больным. Для выяснения реальных фактов, по утверждению выступающих, требуются дополнительные широкомасштабные исследования в разных странах.

В сессии, посвященной анализу результатов закончившихся клинических исследований, были представлены новые данные исследования ADVANCE. В настоящее время исследование ADVANCE представляет собой самое крупное клиническое исследование у больных сахарным диабетом 2 типа. В исследование было включено 11 140 больных в 20 странах мира.

Основной целью исследования ADVANCE было изучение отдельного и совместного влияния интенсивной гипотензивной и интенсивной сахароснижающей терапии на риск макро- и микрососудистых осложнений у пациентов с СД 2 типа. Целью гипогликемической ветви исследования ADVANCE было выяснить, приведет ли более жесткий контроль гликемии (до уровня HbA1c 6,5 %) при сахарном диабете 2 типа к достоверному снижению риска развития сосудистых осложнений диабета.

В исследовании применялась интенсивная пошаговая сахароснижающая терапия. Терапия проводилась на основе препарата сульфанилмочевины Диабетона MR, доза которого повышалась от 30 мг до 120 мг (70 % пациентов принимали 120 мг) с последующим добавлением сахароснижающих препаратов других классов и инсулина.

Результаты исследования убедительно показали, что снижение HbA1c до 6,5 % у пациентов с СД 2 типа в группе интенсивной терапии приводило к достоверному снижению совокупной частоты возникновения основных макро- и микрососудистых событий на 10 %, снижению относительного риска возникновения или прогрессирования нефропатии на 21 % и макроальбуминурии – на 30 %. Сформирована четкая тенденция к снижению сердечно-сосудистой смертности на 12 %, что послужило поводом для продолжения 5-летнего наблюдения за пациентами группы интенсивного лечения на основе Диабетона MR.

Представлены также совместные результаты гипогликемической и антигипертензивной ветви исследования. Чрезвычайно важно отметить, что в группе сочетанной терапии интенсивный контроль глюкозы, основанный на применении Диабетона MR, и контроль АД, основанный на приеме Нолипрела форте, обеспечивает суммацию эффектов и позволяет достичь еще более значимых результатов. В исследовании ADVANCE было достигнуто достоверное уменьшение общей смертности на 18 %, сердечно-сосудистой смертности – на 24 %, снижения риска развития диабетической нефропатии на 33 %, а также уменьшение новых случаев макроальбуминурии на 54 % и новых случаев микроальбуминурии – на 26 %.

В данной сессии проф. J. Chalmers представил новые эпидемиологические результаты исследования ADVANCE и подчеркнул, что сахароснижающая терапия на основе Диабетона MR способствует достижению целевого уровня HbA1c < 7 % у 80 % пациентов и < 6, 5 % – у 60 % больных и, что очень важно, снижение HbA1c на 1 % приводит к снижению микро- и макро-сосудистых осложнений СД на 26 % и 22 %, соответственно, снижению общей смертности на 22 % и кардиальной смертности – на 25 %. Терапия на основе Диабетона MR была эффективной и сопровождалась снижением уровня HbA1c вне зависимости от возраста, длительности заболевания диабетом, пола, ВМІ и исходного уровня HbA1c, а также не сопровождалась развитием тяжелых гипогликемий и увеличением веса.

Более подробно с материалами 20-го Конгресса Международной Диабетической Федерации можно ознакомиться на сайте <http://www.IDF.org>

*Подготовила Л. К. Соколова
ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ
им. В. П. Комиссаренко АМН Украины»*

Ендокринологія 2009, Т. 14, № 2, с. 289-293

45-й ЩОРІЧНИЙ З'ЇЗД ЄВРОПЕЙСЬКОЇ АСОЦІАЦІЇ З ВИВЧЕННЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СУЧАСНОЇ ІНСУЛІНОТЕРАПІЇ (м. Відень, Австрія, 29 вересня – 2 жовтня 2009 р.)

Серед найважливіших науково-практичних напрямків вивчення цукрового діабету, що розглядалися учасниками медичного форуму, особливий інтерес викликали питання, що стосувалися нових тенденцій у лікуванні хворих.

Останнім часом інтенсивного розвитку набули роботи з доклінічного і клінічного дослідження ефективності і безпечності пероральних засобів лікування хворих на цукровий діабет 2 типу, нового класу препаратів – інкретинів. Услід за появою в арсеналі лікування агоніста глюкагонподібного пептиду-1 (GLP-1) – препарату езенатид [1, 2], з'явилися роботи з успішного використання іншого цуркознижувального аналога GLP-1 – препарату ліраглутид [3, 4] та агоніста GLP-1 – препарату AVE 0010 [5], що приймаються парентерально раз на добу. Зацікавили присутніх і дані дослідження на толерантність ще одного агоніста рецептора GLP-1 – препарату альбіглутиду, що призначався хворим від одного разу на тиждень до одного разу на місяць і мав добру перетерплюваність при першому варіанті прийому [6]. Тривають експериментальні дослідження з аналогом GLP-1 таспоглутидом, який демонструє цуркознижувальну дію при прийомі один раз на тиждень [7].

Набула подальшого розвитку група препаратів інгібіторів DPP-4. Крім робіт по ефективності та безпечності першого препарату цієї групи сітагліптину, який вже почав використовуватися у клінічній практиці в багатьох країнах світу, з'явилися дані про позитивний вплив на метаболічні порушення у хворих на діабет інших препаратів цієї групи: віддагліптину [8, 9], алогліптину [10, 11] та саксагліптину [12, 13].

Однак найбільший інтерес мали роботи, що дотикалися сучасних проблем і майбутнього інсулінотерапії – найефективнішого напрямку лікування хворих на цукровий діабет.

Широке застосування препаратів людського інсуліну дозволило значно знизити кількість побічних реакцій, що спостерігалися при лікуванні

В данной сессии проф. J. Chalmers представил новые эпидемиологические результаты исследования ADVANCE и подчеркнул, что сахароснижающая терапия на основе Диабетона MR способствует достижению целевого уровня HbA1c < 7 % у 80 % пациентов и < 6, 5 % – у 60 % больных и, что очень важно, снижение HbA1c на 1 % приводит к снижению микро- и макро-сосудистых осложнений СД на 26 % и 22 %, соответственно, снижению общей смертности на 22 % и кардиальной смертности – на 25 %. Терапия на основе Диабетона MR была эффективной и сопровождалась снижением уровня HbA1c вне зависимости от возраста, длительности заболевания диабетом, пола, ВМІ и исходного уровня HbA1c, а также не сопровождалась развитием тяжелых гипогликемий и увеличением веса.

Более подробно с материалами 20-го Конгресса Международной Диабетической Федерации можно ознакомиться на сайте <http://www.IDF.org>

*Підготувала Л. К. Соколова
ГУ «Інститут ендокринології і обміну речовин
ім. В. П. Комиссаренко АМН України»*

Ендокринологія 2009, Т. 14, № 2, с. 289-293

45-й ЩОРІЧНИЙ З'ЇЗД ЄВРОПЕЙСЬКОЇ АСОЦІАЦІЇ З ВИВЧЕННЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ТА АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СУЧАСНОЇ ІНСУЛІНОТЕРАПІЇ (м. Відень, Австрія, 29 вересня – 2 жовтня 2009 р.)

Серед найважливіших науково-практичних напрямків вивчення цукрового діабету, що розглядалися учасниками медичного форуму, особливий інтерес викликали питання, що стосувалися нових тенденцій у лікуванні хворих.

Останнім часом інтенсивного розвитку набули роботи з доклінічного і клінічного дослідження ефективності і безпечності пероральних засобів лікування хворих на цукровий діабет 2 типу, нового класу препаратів – інкретинів. Услід за появою в арсеналі лікування агоніста глюкагонподібного пептиду-1 (GLP-1) – препарату езенатид [1, 2], з'явилися роботи з успішного використання іншого цуркознижувального аналога GLP-1 – препарату ліраглутид [3, 4] та агоніста GLP-1 – препарату AVE 0010 [5], що приймаються парентерально раз на добу. Зацікавили присутніх і дані дослідження на толерантність ще одного агоніста рецептора GLP-1 – препарату альбіглутиду, що призначався хворим від одного разу на тиждень до одного разу на місяць і мав добру перетерплюваність при першому варіанті прийому [6]. Тривають експериментальні дослідження з аналогом GLP-1 таспоглутидом, який демонструє цуркознижувальну дію при прийомі один раз на тиждень [7].

Набула подальшого розвитку група препаратів інгібіторів DPP-4. Крім робіт по ефективності та безпечності першого препарату цієї групи сітагліптину, який вже почав використовуватися у клінічній практиці в багатьох країнах світу, з'явилися дані про позитивний вплив на метаболічні порушення у хворих на діабет інших препаратів цієї групи: вілдагліптину [8, 9], алогліптину [10, 11] та саксагліптину [12, 13].

Однак найбільший інтерес мали роботи, що дотикалися сучасних проблем і майбутнього інсулінотерапії – найефективнішого напрямку лікування хворих на цукровий діабет.

Широке застосування препаратів людського інсуліну дозволило значно знизити кількість побічних реакцій, що спостерігалися при лікуванні

препаратами інсуліну тваринного походження: алергічні реакції, ліподистрофії та інші. Однак залишилася значна вірогідність розвитку гіпоглікемічних ситуацій, що становлять суттєвий ризик для життя хворих. У дослідженні вчених з Нідерландів, що спостерігали за 5983 хворими на цукровий діабет у віці 65 ± 14 років, які знаходилися у відділенні інтенсивної терапії і лікувалися інсуліном, був проаналізований зв'язок летальних випадків (6,7 %) і гіпоглікемічних станів [14]. Автори дійшли висновку, що смертність серед хворих, в яких були зареєстровані гіпоглікемічні стани, була в 2 рази вищою, ніж у пацієнтів без гіпоглікемії.

Порівнянню частоти гіпоглікемії при застосуванні препаратів людського інсуліну і його аналогів була присвячена робота іспанських лікарів [15]. Спостереження протягом 6 міс за двома групами хворих на цукровий діабет 1 типу, одна з яких приймала регулярний інсулін та NPH, а друга – аналоги інсуліну аспарт і гларгін, зареєструвало зменшення втричі гіпоглікемічних станів (0,4 проти 1,4 випадків на тиждень) у групі пацієнтів, що лікувалися аналогами інсуліну, при порівняно однакових в обох групах дозах інсуліну і показниках HbA1c.

В роботі лікарів Чехії, Польщі, Сербії та компанії Ново-Нордіск [16] зіставлялася дія двофазного інсуліну BiAsp 30 (Novomix 30) та аналога інсуліну гларгіну протягом 26 тижнів від початку інсулінотерапії у 480 хворих на цукровий діабет 2 типу з тривалістю діабету 9 років. Отримані дані засвідчили, що ризик розвитку епізодів гіпоглікемії вночі у хворих, які приймали інсулін BiAsp 30 (Novomix 30), у 2 рази вищий, ніж у пацієнтів, що лікувалися аналогом інсуліну гларгін, – 1,1 проти 0,5 епізодів за рік, відповідно.

Дослідження вчених з США та Великої Британії, що також стосувалося терпимості лікування у 334 хворих на діабет препаратами інсуліну BiAsp 70/30 та гларгін з інгаляційним інсуліном Technosphere, дало подібні результати [17]. Протягом року на інсуліні BiAsp 70/30 спостерігалось вдвічі більше важких епізодів гіпоглікемії, ніж на інсуліні гларгін у комбінації з інгаляційним інсуліном Technosphere, – 9,97 проти 4,33 епізодів за рік.

На з'їзді були представлені цікаві результати порівняння різних аналогів інсуліну. У міжнародному західноєвропейському 24-тижневому дослідженні з 964 хворими на цукровий діабет аналізували ефективність та безпечність аналогів інсуліну детеміра або гларгіна після першого призначення інсулінотерапії до метформіну [18]. Обидва препарати були однаково ефективні у нормалізації глікемії, знизивши за цей період часу початковий рівень HbA1c з 8,7 % на 1,5 % в обох групах. Однак необхідна для цього доза гларгіну була майже вдвічі меншою, ніж детеміру, – 43,5 проти 76,5 МО ($P < 0,001$), відповідно. Гіпоглікемічні епізоди спостерігалися на інсуліні детемір частіше – 1,64 проти 1,06 випадків/рік на гларгіні ($P < 0,05$). Маса тіла за час спостереження зросла на детемірі вдвічі більше, ніж на гларгіні (1,4 кг проти 0,6 кг ($P < 0,001$)). До аналогічних висновків прийшли також вчені США, які проаналізували вплив аналогів інсуліну гларгіну у 11861 хворого і детеміру – у 2285 пацієнтів, що були вперше переведені на інсулінотерапію у 2005-2008 роках [19].

Частота призначення препаратів інсуліну та його аналогів висвітлена у роботі датських фахівців [20]. Цікаво, що в Нідерландах серед хворих на цукровий діабет 2 типу різні аналоги інсуліну приймають від 54,9 % до 87,4 % пацієнтів різних груп.

Деякі роботи на з'їзді було присвячено важливому питанню вартості терапії аналогами інсуліну. Датські автори зробили комплексну оцінку вартості медичних витрат у 8523 хворих, які приймали препарати людського інсуліну, і у 303 пацієнтів, що отримували аналоги інсуліну у 2005 році за даними національного реєстру. Вони визначили, що хоча самі аналоги інсуліну коштували більше, загальна вартість лікування була вищою у хворих, що одержували препарати

людського інсуліну – 6230 євро проти 5524 євро на аналогах, головним чином, за рахунок збільшення вартості лікування під час госпіталізації [21].

Німецькими авторами проведений аналіз вартості лікування аналогами інсуліну детеміром у 581 хворого і гларгіном – у 1150 пацієнтів, з урахуванням всіх пов'язаних з інсулінотерапією складових (інсуліну, засобів лікування гіпоглікемічних станів, тест-смужок для самоконтролю, ланцетів та голків для ін'єкцій) [22]. Підрахунки довели, що нижчими були затрати при лікуванні гларгіном і становили 932 євро за 6 міс проти 1060 євро при терапії детеміром.

Фармакокінетиці та фармакодинаміці аналогів інсуліну детемір і нейтральний протамін ліспро (NPL) присвячувалася робота вчених Австрії та Данії [23]. На 30 хворих цукровим діабетом було показано, що дія обох препаратів в середньому триває менше доби – $22,6 \pm 7,2$ год у NPL та $23,6 \pm 6,2$ год у детеміра. Обидва аналога мають виражені піки дії: NPL – $6,2 \pm 4,5$ год і детемір – $7,2 \pm 2,4$ год.

Порівнянню фармакокінетики та фармакодинаміки аналогів інсуліну ультракороткої дії, а саме – аспарта і глюлізіна торкалася робота французьких вчених, виконана у 12 здорових волонтерів [24]. Встановлено, що при однаковій метаболічній активності та тривалості дії, спостерігається швидша абсорбція інсуліну глюлізину – дія його починається скоріше, ніж у аспарта. Швидка дія глюлізину також відрізняє його від іншого аналога – інсуліну ліспро, який вчені вивчали раніше. Цю, більш фізіологічну дію глюлізину, вчені пов'язують з тим, що даний препарат не містить цинку у своєму складі.

Звернула на себе увагу робота з клінічної практики лікарів з Німеччини, які у рандомізованому перехресному відкритому дослідженні у 100 хворих на цукровий діабет 2 типу протягом 3-х міс з'ясовували, чи впливає інтервал між ін'єкцією регулярного інсуліну та прийомом їжі на вуглеводний обмін та якість життя [25, 26]. Було доведено, що при терапії людським регулярним інсуліном нема потреби робити інтервал між ін'єкцією та прийомом їжі, оскільки його наявність чи відсутність не впливала на показники глікозилюваного гемоглобіну, а встановлення вищезгаданого інтервалу знижувало задоволення хворих від терапії.

На з'їзді також обговорювалася тема «Терапія діабету і рак», в рамках якої оцінювали результати лікування хворих, що приймали різні види інсулінів, за даними національних реєстрів. Побоювання з приводу того, що застосування аналога інсуліну гларгіну може підвищувати частоту виникнення злоякісних новоутворень [27], не підтвердились при аналізі деяких інших національних реєстрів і це питання, як було зазначено на з'їзді, потребує подальшого вивчення [28, 29].

Великий інтерес мали доповіді, що стосувалися використання результатів нещодавно впровадженого в клінічну практику інгаляційного інсуліну та пошуку нових форм оральних видів інсуліну. Більше 4-х років американські лікарі вивчали у 229 хворих на цукровий діабет 2 типу безпечність та ефективність короткодіючого інгаляційного інсуліну Technosphere [30]. Протягом усього часу спостереження у хворих підтримувалися цільові показники нормального глікемічного контролю і за цей час зміни у функції легенів не відрізнялися від таких у хворих на цукровий діабет 2 типу, які не приймали інгаляційного інсуліну.

Використанню букального спреєвого інсуліну Oral-lup була присвячена робота італійських вчених [31]. Крім відомого впливу цього виду короткодіючого інсуліну у хворих на цукровий діабет (який вже зареєстрований як лікарський препарат у декількох країнах світу), в цьому дослідженні було доведено позитивну дію букального спреєвого інсуліну в осіб з порушенням толерантності до глюкози. Було відмічено у цих осіб зниження постпрандіальної глікемії на $26,8-29,6$ % без гіпоглікемічних епізодів та інших побічних явищ.

Оскільки перорально прийнятий інсулін погано адсорбується у шлунково-кишковому тракті у зв'язку з його руйнуванням під впливом кислоти та протеолітичних ферментів шлунка і кишечника, вчені Канади, Франції та Португалії представили роботи з вивчення у щурів з експериментальним діабетом подвійно-інкапсульованого інсуліну [32, 33]. Встановлена здатність даного виду інсуліну знижувати глікемію. У порівнянні з парентерально введеним короткодійним інсуліном біодоступність інкапсульованого інсуліну становила 20-21 %.

Таким чином, результати робіт, представлених на 45-му щорічному з'їзді Європейської асоціації з вивчення цукрового діабету, вказують на ефективність існуючих засобів терапії та активні пошуки нових препаратів для успішного лікування хворих на цукровий діабет.

Література

1. Cohen A., Horton E., Gibson H. et al. Effects of exenatide vs insulin glargine on central haemodynamics in subjects with type 2 diabetes // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S297-298.
2. Shen L., Han J., Yushmanova I. et al. Cardiovascular safety of exenatide BID: an integrated-analysis from long-term controlled clinical trials in subjects with type 2 diabetes // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S298.
3. Tomaselli K., Herich J., Xu K. et al. Comparative pharmacology of the Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) metabolites of GLP-1 and the GLP-1 analogue, liraglutide // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S305.
4. Bjerre Knudsen L., Nielsen P.F., Steensgaard D.B. et al. Liraglutide, the once-daily human GLP-1 analogue, has a protracted profile based on both delayed absorption and a long plasma half-life // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S305-306.
5. Liu Y.-H., Ruus P. Effect of the GLP-1 receptor agonist AVE0010 on the absorption of concomitant oral drugs: acetaminophen and ethinylestradiol/levonorgestrel // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S306.
6. Stewart M. W., Reusch J. E., Bush M. A. et al. Albiglutide, a long-acting GLP-1-receptor agonist, for the treatment of type 2 diabetes: an analysis of gastrointestinal adverse events over time // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S302.
7. Sebkova E., Sewing S., Sprecher U. et al. Postprandial glucose levels and long-term glucose control are improved with tasoglutide, a human once-weekly GLP-1 analogue, in an animal model of type 2 diabetes // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S308.
8. Kothny W., Schweizer A., Dickinson S., Ligueros-Saylan M. Hepatic safety profile of vildagliptin, a new DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S301.
9. Fogari R., Cicero A., Ragonesi P. et al. Metabolic and insulin resistance-related indices during pioglitazone and vildagliptin association versus glimepiride and vildagliptin association in type 2 diabetic patients // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S314.
10. Pratley R., McCall T., Fleck P. et al. Alogliptin use in the elderly: a pooled analysis from Phase 2-3 studies // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S301.
11. Burant C., Fleck P., Wilson C. et al. Effect of alogliptin combined with pioglitazone on beta cell function and insulin resistance in metformin-treated patients with type 2 diabetes // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S314.
12. Maheux P., Doucet J., Allen E. et al. Efficacy and safety of saxagliptin 5 mg once-daily therapy in elderly patients with type 2 diabetes mellitus // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S302.
13. List J.F., Henry R., Smith S. et al. Beta cell stimulation by saxagliptin in patients with type 2 diabetes // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S317.
14. Hoekstra J.B., Hermanides J., Bosman R.J. et al. Hypoglycaemia is related to mortality in the ICU // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S237.
15. Caballero-Corchuelo J., Boltana A., Insa R. et al. Comparison between human insulin and insulin analogues treatment with regard to hypoglycaemia (HYPO score) and metabolic lability (Lability Index) in type 1 diabetes mellitus // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S388.

16. Franek E., Kalra S., Pesic M. et al. Once daily initiation with biphasic insulin aspart 30 (BIAsp 30) versus insulin glargine in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with oral drugs – a randomized controlled trial // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S93.
17. Gnudi L., Lorber D., Rosenstock J. et al. Basal/bolus with prandial inhaled Technosphere insulin plus insulin glargine vs biaspart 70/30 insulin in type 2 diabetes inadequately controlled on insulin with/without oral agents // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S360.
18. Swinnen S.G., Dain M.P., Aronson R. D. et al. Once-daily insulin glargine requires a significantly lower dose than insulin detemir twice daily to achieve good glycaemic control in patients with type 2 diabetes failing oral therapy // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S380.
19. Blonde L., Vaur L., Levin P., Kendall D. M. Glycaemic outcomes 1 year after initiation of insulin glargine or detemir in type 2 diabetes in the US // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S350.
20. Heintjes E. M., Plat A. W., Lyager Thomsen T. et al. Real-life prescription patterns of insulin for patients with type 2 diabetes in The Netherlands // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S356.
21. Gundgaard J., Aagren M., Thomsen T. L. Healthcare costs of long-acting insulin analogues compared with NPH insulin in patients using a basal regimen: a Danish perspective // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S94- S95.
22. Bierwirth R. A. Lower treatment costs with insulin glargine compared to insulin detemir as part of a basal-bolus regime in type 2 diabetes: results from the LIVE-COM study in Germany // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S349.
23. Korsatko S., Glettler K., Olsen K.J. et al. A direct comparison of pharmacodynamics and pharmacokinetics of insulin detemir and neutral protamine lispro (NPL) insulin in subjects with type 1 diabetes // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S200.
24. Hovelmann U., Arnolds S., Rave K. et al. Insulin glulisine has a faster onset of action than insulin aspart // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S349.
25. Frank T., Muller N., Kloos C. et al. Treatment satisfaction was impaired in patients with diabetes type 2 using ICT with human insulin and who were obliged to keep a regular injection to meal interval. A randomised cross-over study // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S355.
26. Muller N., Frank T., Kloos C. et al. Randomized 2-phases-crossover-study to examine the necessity of an injection-to-meal-interval in patients with diabetes mellitus type 2 and flexible insulin therapy with human insulin // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S356.
27. Hemkens L. G., Grouven U., Bender R. et al. Risk of malignancies in patients with diabetes treated with human insulin or insulin analogues: a cohort study // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, 1732-1744.
28. Colhoun H. M., SDRN Epidemiology Group. Use of insulin glargine and cancer incidence in Scotland: a study from the Scottish Diabetes Research Network Epidemiology Group // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, 1755-1765.
29. Currie C. J., Poole C. D., Gale E. A. M. The influence of glucose-lowering therapies on cancer risk in type 2 diabetes // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, 1766-1777.
30. Amin N., Boss A., Richardson P. Long-term sustained safety and efficacy of continued use of Technosphere insulin in subjects with type 2 diabetes // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S94.
31. Palermo A., Napoli N., Costanza F. et al. Management of impaired glucose tolerance using buccal spray insulin // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S373.
32. Damge C., Reis C., Veiga F. et al. A new approach for oral delivery of insulin // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S372.
33. Reix N., Seyfritz E., Ebel N. et al. In vivo validation of a double encapsulation of insulin for an oral administration // *Diabetologia*. 2009, 52, Suppl. 1, S372.

*Підготував С. М. Ткач
ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України»*

ПРЕПАРАТИ, ЩО ПРИГНІЧУЮТЬ РІСТ СУДИН, АТАКУЮТЬ АГРЕСИВНИЙ РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Орlando, Mayo Clinic. Медикаменти, які допомагають зупинити ріст нових кровоносних судин виявились ефективними для лікування агресивних форм раку щитоподібної залози (ЩЗ).

На конференції Американського товариства клінічної онкології (ASCO) дослідники цієї клініки представили дані, за якими злоякісні пухлини приблизно у 2/3 з 37 пацієнтів з агресивними формами диференційованого раку, які приймали Pazopanib, або припиняли ріст, або швидко зменшувалися у об'ємі. Були підібрані пацієнти з пухлинами, що швидко росли, з метастазами у легені, лімфатичні вузли та кістки. У багатьох хворих ефект був вражаючий і помітно переважав відповідь на інші види терапії, включно з радіоїодотерапією (д-р Keith Bible). Приблизно у третини хворих ефект був дуже виразний і тривалий, тоді як ще у третини спостерігалась стабілізація росту пухлини або деяке її зменшення. У решти пацієнтів лікувальний ефект був відсутній. Препарат добре сприймається більшістю хворих. Невідомо, проте, яким буде ефект тривалого лікування. Досі простежена доля пацієнтів тільки протягом трохи більше одного року.

Pazopanib є експериментальним препаратом, який досить успішно використовується для лікування пухлин нирок, яєчників та інших видів раку на пізніх стадіях розвитку останніх. Він випускається у вигляді таблеток і пригнічує функцію деяких білків (VEGFR, PDGFR, c-kit та Ret), що залучені у ангиогенез, тобто розвиток нових кровоносних судин, що є критичним для росту пухлини.

Дослідники клініки Mayo також займають провідні позиції по тестуванню Pazopanib'a для лікування двох інших типів раку ЩЗ – медулярного та анапластичного.

Джерело: Cell signaling newsletter (20/05/2009).

Mayo Clinic news release (травень 2009).

ДОСЛІДНИКИ З ПІТСБУРГУ ІДЕНТИФІКУВАЛИ КЛЮЧОВИЙ СИГНАЛЬНИЙ ШЛЯХ, ЩО РЕГУЛЮЄ РЕПЛІКАЦІЮ ПАНКРЕАТИЧНИХ БЕТА-КЛІТИН

Група дослідників, яку очолює Andrew F. Stewart, M.D., зав. відділом ендокринології та метаболізму університету у Пітсбургу, в досліді на мишах продемонструвала, що вилучення (нокаут) двох білків, які регулюють клітинний цикл, призводить до покращення реплікації бета-клітин. Результати були презентовані на 69-й річній сесії Американської діабетичної асоціації у Новому Орлеані і опубліковані у журналі «Diabetes», резюме № 343-OR. Ці білки діють як гальма, що перешкоджають регенерації клітин, пояснює д-р Stewart. Вказана регуляторна система є надлишковою, тому виключення тільки одного з цих білків не є ефективним. Такими білками є: важливий регулятор клітинного циклу, пухлинний супресор pRB та

споріднений з ним p130. Існує ще один білок зі схожими функціями – p107, і дослідники сподіваються, що вилучення всіх трьох білків може дати ще більший ефект щодо регенерації інсулін-продукуючих клітин. Іншим підходом для посилення відтворення бета-клітин може бути підвищення рівня інших регуляторів клітинного циклу – cdk-6 та цикліну D1 за допомогою генно-інженерної техніки. Дослідження показали, що трансплантація клітин з підвищеною експресією цих білків призводила до нормалізації рівня глюкози у мишей з індукованим діабетом. Автори планують вивчити роль інших важливих регуляторів клітинного циклу у регенерації бета-клітин.

Джерело: Cell signaling newsletter (10/06/2009).

University of Pittsburgh Schools of the Health Sciences.

ДВА РІЗНИХ СИГНАЛЬНИХ МЕХАНІЗМИ БЕРУТЬ УЧАСТЬ У ДИФЕРЕНЦІЮВАННІ РЕГУЛЯТОРНИХ ІМУННИХ КЛІТИН (TREG)

Пошук шляхів, які дозволили б уникнути подій на клітинному та молекулярному рівнях, що призводять до розвитку автоімунності, міг би дати можливість розробити нові підходи до лікування пов'язаних з цим явищем хвороб. У роботі, що опублікована у «PLoS Biology», наводяться докази на користь існування двох незалежних молекулярних шляхів, які контролюють утворення регуляторних Т-лімфоцитів (Treg). Ці клітини є життєво важливими для обмеження небажаної імунної відповіді. Вони лімітують активність ефекторних Т-клітин і зменшення їх кількості може призвести до автоімунних процесів, які руйнують життєво важливі тканини і органи. Більшість Treg за нормальних умов утворюються в тимусі. Дослідники з Children's Hospital Medical Center (Цинциннаті) та Каліфорнійського Scripps Research Institute показали, що мутація у гені Carma1 може призвести до неможливості продукування тимусом Treg (д-р Kasper Hoebe з Цинциннаті). Дослідження вказують і на інший шлях утворення Treg – у периферичній лімфоїдній системі. Компенсаторний розвиток регуляторних Т-клітин відбувається у випадку дисфункції тимусу або мутації у вищевказаному гені. Це свідчить про гнучкість та надійність імунної системи, а розуміння механізмів утворення Treg в перспективі може стати основою для терапевтичних втручань, наприклад, з метою посилення генерації Treg при діабеті.

Джерело: Barnes M. J, Krebs P., Harris N. et al. (2009) Commitment to the regulatory T cell lineage requires CARMA1 in the thymus but not in the periphery. PLoS Biol 7(3): e1000051. doi:10.1371/journal.pbio.1000051.

РОЛЬ РЕАКТИВНИХ КИСНЕВИХ СПОЛУК В УТВОРЕННІ МЕТАСТАЗІВ

LA JOLLA, Каліфорнія, вересень 15, 2009. Дослідники Burnham Institute for Medical Research довели, що реактивні кисневі сполуки (ROS), такі як супероксиди та перекис водню, відіграють ключову роль у формуванні так званих інвадоподій – клітинних виступів, залучених у міграційні процеси ракових клітин та утворення метастазів. Проф. Sara Courtneidge, директор Програми з вивчення мікрооточення пухлин, з колегами знайшли, що пригнічення ROS зменшує формування інвадоподій і обмежує інвазію ракових клітин. У супутній роботі, опублікованій в цьому ж номері журналу, д-р Gary Bokoch, з Scripps Research Institute, у співпраці з д-ром Courtneidge,

показано, що білки Tks4 та Tks5, які зазвичай експресуюються у ракових клітинах, є функціонально спорідненими до p47phox – білка, знайденого у фагоцитах, який є частиною комплексу, що бере участь в продукуванні ROS. Інвадоподії сприяють міграції ракових клітин через руйнування позаклітинного матриксу, який у нормі утримує клітини на своєму місці. Білок Tks5 є критичним у формуванні інвадоподій і близький за структурою до p47phox, який є частиною оксидазної системи НАДФН (система Nox). З відкриттям ролі ROS у формуванні інвадоподій дослідники одержали додаткові засоби для лікування пухлин. Майбутні дослідження і розробка лікарських препаратів може бути сфокусована на пригніченні активності Nox і обмеженні утворення інвадоподій з метою запобігання міграції ракових клітин.

Джерело: Burnham Institute for Medical Research, журнал Science Signaling за 15 вересня 2009 р.

*Підібрано В. М. Пушкарьовим
ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України»*

ЕНДОКРИНОЛОГІЧНІ ПОДІЇ ЗА КОРДОНОМ У 2010 РОЦІ

СІЧЕНЬ 2010

- XI Congress of the Portuguese Society of Endocrinology, 29-31 January 2010, Lisbon, Portugal. Contact: Portuguese Society of Endocrinology.
Email: cimi@infarmed.pt

БЕРЕЗЕНЬ 2010

- Society for Endocrinology BES 2010, 15-18 March 2010, Manchester, UK.
Contact: Shirine Borbor.
Tel: +44 (0)1454 642 210.
Email: conferences@endocrinology.org
Website: <http://www.endocrinology.org>
- 14th International Congress of Endocrinology (ICE 2010), 26-30 March 2010, Kyoto, Japan.
Early registration deadline: 31 October 2009. Abstract submission: 15 July – 15 September 2009. Contact: ISE Secretariat.
Tel: +81-6-6229-2555.
Email: ice2010@congre.co.jp
Website: <http://www.congre.co.jp/ice2010/>

КВИТЕНЬ 2010

- 6th World Congress on Prevention of Diabetes and its Complications, 8-11 April 2010, Dresden, Germany. Website: <http://www.wcpd2010.com>
- AACE 19th Annual Meeting and Clinical Congress, 21-25 April, 2010, Sheraton Boston Hotel and the John B. Hynes Veterans Memorial Convention Center, Boston, Mass., USA.
Website: www.aace.com
- 12th European Congress of Endocrinology, 24-28 April 2010, Prague, Czech Republic, Contact: EFES. Early registration deadline: 12 March 2010. Abstract submission deadline: 8 January 2010.
Website: <http://www.euro-endo.org>

ТРАВЕНЬ 2010

- 20th FIP World Congress of Podiatry, 13-15 May 2010, Amsterdam, The Netherlands.
Website: www.fipworld-congress.org
- 52nd National Congress of the Spanish Society of Endocrinology and Nutrition, 26-28 May 2010, Salamanca, Spain. Contact: SEEN.
Email: secretaria@seen.es
Website: http://www.seen.es/seen/Cliente?id_aplic=2

ЧЕРВЕНЬ 2010

- The Endocrine Society ENDO 2010, 19-22 June 2010, San Diego, Ca., USA.
Website: <http://www.endo-society.org>
- 89th European Atherosclerosis Society Congress, 20-23 June 2010, Hamburg, Germany.
E-mail: eas@kenes.com.
Website: www.kenes.com/eas

ЛИПЕНЬ 2010

- 11th International Congress on Obesity – ICO 2010, 11-15 July 2010, Stockholm, Sweden.
Early registration deadline: 26 March 2010. Abstract submission deadline: 29 January 2010.
Website: <http://www.ico2010.org>

ВЕРЕСЕНЬ 2010

- 14th International Thyroid Congress – ITC 2010, 11-16 September, 2010, Paris, France. Abstract submission: November 2009 – 30 April 2010.
E-mail: itc2010@mci-group.com
Website: www.itc2010.com
- 46th EASD Meeting, 20-24 September 2010, Stockholm, Sweden.
E-mail: secretariat@easd.org
Website: www.easd.org

ЕТИЧНИЙ КОДЕКС ЛІКАРЯ УКРАЇНИ

Виходячи з принципів гуманізму та милосердя, Декларацій Всесвітньої медичної асоціації та законодавства України про права громадян на якісну та доступну охорону здоров'я, декларуючи провідну роль лікарів в системі охорони здоров'я, керуючись Клятвою лікаря України, враховуючи особливий характер взаємовідносин лікаря та пацієнта і необхідність доповнення механізмів правового регулювання цих взаємовідносин нормами медичної етики і деонтології, а також моральну відповідальність лікаря перед медичною спільнотою та суспільством за свою професійну діяльність, Всеукраїнський з'їзд лікарських організацій приймає цей Етичний кодекс лікаря України.

Вступ

Життя та здоров'я людини – головні, фундаментальні цінності. Діяльність лікаря спрямована на їх збереження від моменту зачаття та вимагає від нього гуманного ставлення до людини, поваги до її особистості, співчуття та співучасті, доброзичливості, благодійності та милосердя, терплячості, взаємодовіри, порядності та справедливості. Лікар повинен пам'ятати, що головний суддя на його професійному шляху – це, насамперед, совість.

Ці моральні засади систематизовані в Етичному кодексі лікаря України (далі – Кодекс) з урахуванням положень Міжнародного кодексу лікарської етики, Гельсінської декларації, Загальної декларації про геном і права людини й Конвенції про захист прав та гідності людини з огляду на застосування досягнень біології і медицини.

Цей Кодекс призначений для застосування у професійній діяльності лікарів і науковців, сфера професійної діяльності яких охоплює пренатальне та постнатальне життя і здоров'я людини, її народження і смерть.

Розділ 1. Дія кодексу

1.1. Положення Кодексу необхідно виконувати лікарям, адміністративному персоналу і науковцям, які мають безпосереднє відношення до лікувально-профілактичної та наукової діяльності у галузі охорони здоров'я.

1.2. Підтримувати і контролювати виконання Кодексу повинні етичні комісії та комітети при закладах охорони здоров'я і наукових установах; медичних та наукових федераціях, асоціаціях, товариствах та інших громадських організаціях у галузі охорони здоров'я, що визнають цей Кодекс.

1.3. Визнання Кодексу колективом лікарів закладу охорони здоров'я, наукової установи, вищого медичного навчального закладу або закладу післядипломної освіти, медичною чи науковою федерацією, асоціацією, товариством або іншою громадською організацією, що діє у галузі охорони здоров'я, підтверджується офіційною заявою до Комісії з питань біоетики при Міністерстві охорони здоров'я України (далі – Комісія з питань біоетики).

У разі порушення Кодексу лікарями медичних, наукових, освітніх закладів, членами федерацій, асоціацій, товариств або інших громадських організацій, що діють у галузі охорони здоров'я та визнають цей Кодекс, до них можуть бути застосовані санкції з боку етичних комісій або комітетів цих закладів і організацій.

Крайньою формою громадського осуду порушення фахових і загально-людських морально-етичних принципів є виключення лікаря або науковця з професійної асоціації, членом якої він є.

1.4. У кожному випадку невизнання або порушення Кодексу громадськими організаціями, окремими юридичними та фізичними особами, які діють у сфері охорони здоров'я, відповідна Комісія з питань біоетики зобов'язана досліджувати можливі негативні наслідки для окремих людей і суспільства та вживати заходи з їх профілактики і усунення шляхом клопотання перед відповідними організаціями та органами державної влади про дисциплінарні, адміністративні і юридичні санкції.

1.5. У разі виникнення непередбачених Кодексом ситуацій, невизначених питань і суперечок щодо тлумачення, виконання або порушення положень Кодексу остаточне рішення залишається за Комісією з питань біоетики.

1.6. Комісія з питань біоетики, етичні комісії або комітети закладів охорони здоров'я, наукових установ, вищих навчальних закладів, лікарські об'єднання і асоціації мають право у разі потреби відстоювати і захищати у засобах масової інформації, суспільному житті та в суді честь і гідність лікаря за його згодою, якщо його професійні дії відповідають Етичному кодексу лікаря України.

Розділ 2. Лікар та суспільство

2.1. Головна мета професійної діяльності лікаря (практика і вченого) – збереження та захист життя й здоров'я людини в пренатальному і постнатальному періоді, профілактика захворювань і відновлення здоров'я, а також зменшення страждань при невиліковних хворобах, при народженні і настанні смерті.

Етичне ставлення до особистості пацієнта не припиняється і після його смерті.

2.2. Лікар виконує свої обов'язки з повагою до життя, гідності і особистості кожного пацієнта на основі морально-етичних принципів суспільства, виходячи з Клятви лікаря України та цього Кодексу.

2.3. Лікар несе повну відповідальність за свої рішення і дії щодо життя та здоров'я пацієнтів. Він зобов'язаний систематично вдосконалювати свій професійний рівень, використовуючи у своїй діяльності найбільш ефективні відомі раніше і новітні досягнення медичної науки в порядку, встановленому законодавством.

2.4. Гуманні цілі, яким служить лікар, дають йому підставу вимагати законного захисту власних морально-етичних позицій і принципів, особистої гідності, матеріального забезпечення, створення належних умов для здійснення фахової діяльності.

2.5. Лікар ні в якому разі не повинен втрачати професійної незалежності. При прийнятті лікарем фахових рішень мотиви матеріальної та особистої вигоди, кар'єри, задоволення власних амбіцій не повинні переважати.

2.6. У державних та комунальних лікувально-профілактичних установах лікар надає пацієнтам медичну допомогу безкоштовно в межах фінансування, виділеного цій установі. Вимагання лікарем від пацієнта або його родичів будь-яких винагород, не передбачених законодавчими і нормативними актами, є злочинним та аморальним.

Право лікаря на приватну практику регулюється законом.

2.7. Лікар має право на матеріальну винагороду своєї праці у встановленому законом порядку, він повинен захищати право на справедливу оцінку й оплату своєї праці з боку держави, уникати принижень і фінансової дискримінації, працюючи в приватних установах і під час приватної практики.

Разом з тим лікар не повинен:

- займатися недобросовісною рекламою і дозволяти використовувати своє ім'я та висловлювання з метою реклами недостовірної медичної інформації;
- розповсюджувати з метою прибутку лікарські засоби та вироби медичного призначення, за винятком окремих, визначених законодавством обставин;
- брати участь у змові з лікарями, фармацевтами, представниками медичної та фармацевтичної промисловості, іншими фізичними чи юридичними особами з метою отримання незаконного прибутку;
- приймати винагороди від виробників і розповсюджувачів за призначення запропонованих ними лікарських засобів, лікувальних, діагностичних і гігієнічних медичних виробів, продуктів дієтичного харчування, за винятком окремих, визначених законодавством обставин;
- займатися іншою діяльністю, несумісною з його професійною честю і авторитетом;
- використовувати свою виборну, адміністративну чи іншу службу посаду для необґрунтованого збільшення кількості пацієнтів власної лікарської практики або закладу охорони здоров'я, який ним очолюється;
- створювати передумови для нелегального отримання винагород та ухилятися від сплати податків.

2.8. Лікар може займатися будь-якою іншою діяльністю, якщо вона сумісна з фаховою незалежністю, не принижує його гідності та не завдає шкоди пацієнтам і його лікарській практиці.

2.9. Лікар повинен надавати медичну допомогу за спеціальністю хворим незалежно від віку, статі, раси, національності, віросповідання, соціального стану, політичних поглядів, місця проживання, громадянства та інших немедичних ознак, включаючи матеріальне положення.

2.10. Лікар своїм професіоналізмом, морально-етичними переконаннями, поведінкою у будь-яких життєвих ситуаціях, ставленням до людини і до виконання фахових обов'язків повинен бути гідним прикладом для своїх колег та інших членів суспільства.

2.11. Лікар зобов'язаний своєю поведінкою та іншими доступними йому засобами (лекції, бесіди, ЗМІ, Інтернет тощо) пропагувати здоровий спосіб життя і бути прикладом у дотриманні його норм і правил.

2.12. Лікар має право брати активну участь в роботі професійних об'єднань і асоціацій, одночасно отримуючи їх захист і підтримку. Лікарські об'єднання та асоціації зобов'язані сприяти і надавати кожному із своїх членів допомогу у дотриманні та відстоюванні принципів високого професіоналізму, фахової незалежності, моральності, етики і деонтології.

2.13. Лікар повинен бути чесним з пацієнтами та колегами, принциповим у своїй позиції щодо професійних недоліків інших лікарів, визнавати власні помилки, а також не допускати обману і шахрайства.

2.14. Лікар не повинен займатись політичною, релігійною агітацією і пропагандою в робочий час, спонукати колег до дій та вчинків, несумісних із званням лікаря.

2.15. Лікар має право брати участь в передбачених законодавством України формах протесту, але не звільняється від обов'язку забезпечувати необхідну медичну допомогу пацієнтам, які знаходяться під його спостереженням.

Розділ 3. Лікар і пацієнт

3.1. Від моменту прийняття лікарем рішення про особисте надання будь-якій людині необхідної лікарської допомоги або про залучення її до наукових досліджень як волонтера він повинен планувати свої дії стосовно цієї людини і стосунки з нею на засадах загальнолюдської етики і моралі,

проголошеної Клятвою лікаря України, лікарської деонтології, а також Етичного кодексу лікаря України та Міжнародного кодексу лікарської етики.

3.2. Лікар несе відповідальність за якість і гуманність медичної допомоги, яка надається пацієнтам, та будь-яких інших професійних дій щодо втручання в життя та здоров'я людини. У своїй роботі він зобов'язаний дотримуватись Конституції і законів України, діючих нормативних документів стосовно лікарської практики, з урахуванням особливостей захворювання, використовувати методи профілактики, діагностики і лікування, які вважає найбільш ефективними в кожному конкретному випадку, виходячи з інтересів хворого. У разі необхідності лікар зобов'язаний звернутися за допомогою своїх колег.

У ситуаціях надання допомоги хворому, за обставин які не передбачені законодавством, нормативними актами і посадовими інструкціями, лікар зобов'язаний враховувати, насамперед, інтереси хворого, принципи лікарської етики і моралі.

3.3. Дії лікаря повинні бути спрямовані на досягнення максимальної користі для життя і здоров'я пацієнта, його соціального захисту.

Протягом усього лікування під час надання інформації хворому про його стан і рекомендоване лікування лікар повинен брати до уваги персональні особливості пацієнта, стежачи за оцінкою хворим ситуації.

Лікар не повинен:

- без достатніх фахових причин втручатися в приватні справи пацієнта і членів його родини;
- наражати пацієнта на невиправданий ризик, а тим більше використовувати свої знання в негуманних цілях. При виборі будь-якого методу лікування лікар, насамперед, повинен керуватися не тільки принципом «Не нашкодь», але й «Принеси найбільшу користь».

Лікар зобов'язаний приділяти пацієнту достатньо часу і уваги, необхідних для встановлення правильного діагнозу, виконання повного обсягу допомоги, обґрунтування приписів і рекомендацій щодо подальшого лікування, надання їх хворому у детальному і зрозумілому для нього вигляді.

Лікар не має права свідомо перебільшувати чи занижувати оцінку тяжкості захворювання з метою отримання пацієнтом соціального захисту і матеріальної підтримки, що не відповідають реальному стану його здоров'я.

3.4. За винятком випадків невідкладної допомоги, лікар має право відмовитися від лікування хворого, якщо впевнений, що між ним і пацієнтом відсутня необхідна взаємна довіра, коли відчуває себе недостатньо компетентним або не має у своєму розпорядженні необхідних для проведення лікування можливостей та в інших випадках, якщо це не суперечить Клятві лікаря України. У цій ситуації лікар повинен вжити всіх заходів щодо інформування про це хворого та надати йому відповідні рекомендації.

Лікар також не повинен перешкоджати реалізації права пацієнта на отримання консультації іншого лікаря.

3.5. Лікар повинен шанувати право пацієнта на вибір лікаря та його участь у прийнятті рішень про проведення лікувально-профілактичних заходів, крім випадків примусового лікування у встановленому законом порядку. Добровільну згоду пацієнта на обстеження, лікування чи дослідження з його участю лікар повинен одержати при особистій розмові з ним. Ця згода має бути усвідомленою, хворого необхідно обов'язково поінформувати про методи лікування, наслідки їхнього застосування, зокрема про можливі ускладнення, а також інші альтернативні методи лікування. Якщо пацієнт неспроможний усвідомлено висловити свою згоду, то її дає законний представник або постійний опікун пацієнта.

Проведення лікувально-діагностичних заходів без згоди пацієнта дозволено

тільки у випадках загрози його життю та здоров'ю у разі нездатності його адекватно оцінювати ситуацію. Рішення в подібних випадках необхідно приймати колегіально і за участі його близьких.

Під час лікування дитини або хворого, який перебуває під опікою, лікар зобов'язаний надавати повну інформацію його батькам або опікунам, одержати їхню згоду на застосування того чи іншого методу лікування або лікарського засобу.

Лікар повинен захищати інтереси дитини чи хворого, який не може самостійно прийняти рішення, якщо очевидно, що інтереси його життя і здоров'я байдужі оточуючим чи недостатньо ними усвідомлюються.

3.6. Лікар повинен поважати честь і гідність пацієнта, його право на невтручання в особисте життя, ставитися до нього доброзичливо, з розумінням сприймати занепокоєння рідних і близьких станом хворого.

Кожен пацієнт має право на зберігання особистої таємниці. Лікар, як й інші особи, які беруть участь у наданні медичної допомоги, зобов'язаний зберігати лікарську таємницю навіть після смерті пацієнта, як і факт звернення за медичною допомогою, за відсутності іншого розпорядження хворого, або якщо це захворювання не загрожує його близьким і суспільству.

Таємниця поширюється на всю інформацію, отриману в процесі лікування хворого (у т.ч. діагноз, методи лікування, прогноз тощо).

Медична інформація про пацієнта може бути розголошена:

- у разі письмової згоди самого пацієнта;
- у випадку мотивованої вимоги органів дізнання, слідства, прокуратури і суду, санепідслужби;
- якщо зберігання таємниці істотно загрожує здоров'ю і життю пацієнта і/або інших осіб (небезпечні інфекційні захворювання);
- у випадку залучення до лікування інших спеціалістів, для яких ця інформація є професійно необхідною.

Особи, які крім лікаря, користуються правом доступу до медичної інформації, зобов'язані зберігати в таємниці всі отримані про пацієнта відомості, і мають бути поінформовані лікарем про відповідальність, пов'язану з її розголошенням.

У процесі наукових досліджень, навчання студентів і підвищення кваліфікації лікарів повинна дотримуватися лікарська таємниця. Демонстрація хворого можлива тільки за згоди його, його батьків або опікунів.

3.7. Пацієнт має право на вичерпну інформацію про стан свого здоров'я, але він може від неї відмовитися або визначити особу, якій можна повідомляти про стан його здоров'я.

Інформація може бути прихована від пацієнта в тих випадках, якщо є вагомі підстави вважати, що вона може завдати йому серйозної шкоди. Проте у разі наполегливої вимоги пацієнта, лікар зобов'язаний надати йому вичерпну інформацію. У випадку несприятливого для хворого прогнозу необхідно поінформувати його делікатно й обережно, залишивши надію на продовження життя, можливий успішний результат.

3.8. У разі допущення лікарем помилки або виникнення в результаті його дій непередбачених ускладнень він зобов'язаний поінформувати про це хворого, старшого колегу або керівника підрозділу, а за їх відсутності адміністрацію установи, в якій він працює, і негайно спрямувати свої дії на виправлення негативних наслідків, не чекаючи вказівок. За необхідності слід залучити інших спеціалістів, чесно поінформувати їх про суть помилки або ускладнення, що виникли.

Лікар повинен ретельно аналізувати допущені помилки та обговорювати їх з колегами і керівництвом з метою попередження подібних випадків в клінічній практиці інших лікарів.

3.9. Практичну діяльність лікар повинен здійснювати тільки під власним прізвиськом, не вказуючи неофіційно наданих титулів, ступенів, звань.

3.10. Лікар має сприяти здійсненню права пацієнта на отримання духовної підтримки з боку представника відповідної релігійної конфесії.

3.11. Лікар зобов'язаний перебувати поряд з вмираючим хворим до останньої миті його життя, забезпечувати відповідні його стану лікувальні заходи і нагляд, підтримувати можливий рівень життя, максимально полегшувати фізичні і психічні страждання хворого і його близьких усіма доступними засобами.

Питання про припинення реанімаційних заходів слід вирішувати за можливості колегіально і у випадку коли стан людини визначається як безповоротна смерть відповідно до критеріїв, визначених Міністерством охорони здоров'я України.

Лікар не має права свідомо прискорювати настання смерті, вдаватися до евтаназії або залучати до її проведення інших осіб.

3.12. Лікар не має права залишати хворих у випадках загальної небезпеки.

3.13 Лікар не може залишати без уваги будь-які прояви жорстокості або приниження людської гідності.

3.14. Лікар не може пропонувати пацієнту методи лікування, лікарські засоби і медичні вироби, не допущені до загального застосування Міністерством охорони здоров'я України у визначеному законодавством порядку. Лікар може поінформувати пацієнта про те, що за кордоном використовуються й інші засоби і методи лікування його захворювання.

3.15. Лікар повинен мати належний зовнішній вигляд, який має позитивно впливати на пацієнта.

Розділ 4. Колегіальність лікарів

4.1. Протягом усього життя лікар зобов'язаний зберігати повагу і почуття подяки до тих, хто навчав його мистецтву лікування.

4.2. Лікар зобов'язаний охороняти честь і шляхетні традиції медичного співтовариства, з повагою і доброзичливістю ставитися до колег.

4.3. Лікар не має права публічно ставити під сумнів чи дискредитувати професійну кваліфікацію іншого лікаря. Фахові зауваження на адресу колеги повинні бути аргументованими, необразливими за формою, висловленими в особистій розмові до того як це питання буде обговорюватися медичним співтовариством або етичним комітетом чи комісією.

4.4. У тяжких клінічних випадках лікарі повинні надавати поради і допомогу своїм колегам у коректній формі. За процес лікування всю відповідальність несе тільки лікуючий лікар, який може врахувати або відмовитися від рекомендацій, керуючись при цьому винятково інтересами хворого. Лікар не повинен створювати умови щодо переходу до нього пацієнтів від інших колег.

4.5. Лікарі-керівники закладів охорони здоров'я та наукових і освітніх установ зобов'язані піклуватися про захист морально-етичних позицій і принципів, особистої гідності, а також достатнє матеріальне забезпечення і соціальний захист, створення належних умов для здійснення фахової діяльності, підвищення фахової кваліфікації підлеглих.

4.6. Лікарі зобов'язані з повагою ставитися до іншого медичного і допоміжного персоналу, постійно забезпечувати підвищення його кваліфікації.

Розділ 5. Наукові дослідження за участю пацієнта

5.1. Лікар може поєднувати дослідження з наданням медичної допомоги лише у випадках, коли дослідження обґрунтоване профілактичною, діагностичною або терапевтичною метою.

5.2. Перед початком біомедичних досліджень, апробації нових лікарських препаратів, лікувально-діагностичних методів та обладнання лікар повинен дістати письмову згоду на їх проведення від відповідної етичної комісії або комітету із затвердженням плану (протоколу) вказаного дослідження, в якому повинні бути чітко визначені його цілі, етичні аспекти, хід та можливі ускладнення.

5.3. Після ознайомлення пацієнта (учасника дослідження) з цілями, методами, потенційною користю і можливим ризиком лікар повинен отримати у встановленому порядку його письмову згоду на участь у дослідженні, яке на будь-якому етапі, за бажанням пацієнта, може бути безперешкодно ним перерване або припинене.

5.4. Що стосується недієздатних пацієнтів, то їх згода на участь у дослідженні повинна бути отримана в письмовій формі від батьків або іншого законного представника (юридично відповідальної особи). Подібні дослідження можуть проводитися тільки в інтересах врятування життя, відновлення чи підтримки здоров'я досліджуваного без нанесення йому шкоди або погіршення стану.

5.5. Наукові дослідження з участю пацієнтів лікарі можуть проводити лише при одночасному дотриманні всіх перерахованих нижче умов:

- якщо вони спрямовані на поліпшення здоров'я пацієнтів, які беруть участь в експерименті;
- якщо вони зроблять істотний внесок у медичну науку і практику;
- якщо результати попередніх досліджень та існуючі дані не свідчать про ризик розвитку ускладнень;
- за умови забезпечення усіх необхідних заходів для безпеки пацієнта.

5.6. Медичні дослідження, пов'язані із залученням пацієнтів, повинні проводитись в умовах, що забезпечують права і безпеку досліджуваних, захищають їх гідність; виконуватись висококваліфікованими лікарями і науковцями під наглядом етичних комісій або комітетів. Дослідження припиняється у випадках виникнення незрозумілих і непередбачених ситуацій, а також у разі появи ознак небезпеки для життя і здоров'я учасника дослідження.

5.7. Лікар-дослідник несе особисту відповідальність у випадку, коли внаслідок його дії (недбалості, неправильно проведеного експерименту тощо) стан здоров'я пацієнта погіршився. Лікар має всебічно сприяти відновленню нормального стану здоров'я пацієнта.

5.8. Усі учасники досліджень повинні бути застрахованими на випадок заподіяння ненавмисної шкоди їх здоров'ю.

5.9. В експериментах на тваринах лікар-дослідник повинен дотримуватись принципів гуманності, намагатися максимально зменшити кількість експериментальних тварин, сприяти розробці методів, які дозволяють їх не використовувати під час дослідів.

Розділ 6. Новітні медичні технології

6.1. Дії лікаря при застосуванні новітніх медичних технологій (трансплантація людських органів і тканин, втручання в геном людини, у репродуктивну функцію тощо) визначаються етико-правовими і законодавчо-нормативними актами України, рекомендаціями та вимогами Всесвітньої організації охорони здоров'я, Біоетичного комітету ЮНЕСКО та Комісії з питань біоетики.

6.2. При відборі хворих, які потребують проведення складних профілактичних, діагностичних і особливо лікувальних заходів (наприклад, трансплантація органів), лікарі, які вимушено встановлюють черговість у наданні допомоги, повинні виходити лише із медичних показань, приймаючи рішення самостійно чи колегіально за участю членів етичного комітету (комісії).

Розділ 7. Інформація

7.1. Лікар зобов'язаний постійно підвищувати свою кваліфікацію, бути поінформованим стосовно найновіших досягнень у сфері професійної діяльності. Він повинен активно протистояти будь-якій недостовірній інформації у наукових виданнях та засобах масової інформації.

7.2. Видання медичного характеру, виступи лікарів на наукових форумах, просвітницька діяльність через засоби масової інформації повинні бути бездоганними в етичному плані, обмежуватися об'єктивною науково-практичною інформацією і не містити елементів несумлінної конкуренції, реклами і самореклами.

7.3. Лікар зобов'язаний невідкладно повідомляти в передбаченому чинним законодавством порядку про всі невідомі, небажані та побічні дії лікарських засобів і виробів медичного призначення, що спостерігались ним під час наукових досліджень і в практичній роботі.

7.4. В інтересах забезпечення життя та здоров'я пацієнтів лікар повинен активно протистояти пропаганді й застосуванню методів діагностики і лікування та засобів, не передбачених чинним законодавством.

7.5. Лікарські довідки необхідно видавати тільки відповідно до чинних законодавчих, нормативно-методичних і інструктивних документів.

7.6. Про результати своїх досліджень після оформлення авторського права на відкриття, винахід тощо лікар повинен повідомити колег, перш за все, в спеціальних виданнях.

7.7. У наукових публікаціях лікарі повинні дотримуватися вимог щодо авторського права. Включення себе чи інших осіб без достатніх на те причин до авторського колективу або умовчання прізвищ осіб, які брали активну участь в дослідженнях, як і плагіат, є грубим порушенням принципів фахової етики. Безпринципне ставлення і байдужість до спотворення наукової істини, приховування членом наукового колективу принципових погіршень наукового дослідження є неприпустимим.

Розділ 8. Повага до професії лікаря

8.1. Принцип поваги до своєї професії повинен бути витриманим у всіх сферах діяльності лікаря: професійній, громадській, публіцистичній тощо. Кожний лікар повинен утримуватися від будь-яких дій чи висловлювань, які підривають повагу до медичної спеціальності. Своєю діяльністю він повинен сприяти збереженню та підвищенню престижності професії, до якої належить, а також дієвості цього Кодексу.

Прийнято та підписано на Всеукраїнському з'їзді лікарських організацій та X з'їзді Всеукраїнського лікарського товариства (ВУЛТ) в м. Євпаторії 27 вересня 2009 року.

ПАВЛЮК ПАВЛО МИХАЙЛОВИЧ (до 75-річчя від дня народження)



15 вересня 2009 року виповнилося 75 років від дня народження та 45 років науково-практичної діяльності доктора медичних наук, заслуженого лікаря України, учасника Великої Вітчизняної війни Павлюка Павла Михайловича.

Павлюк П. М. народився на Чернігівщині, у відомому селі Крути, був 5 дитиною у сім'ї. У дитячому віці став свідком смерті брата та сестри і вже тоді твердо вирішив стати лікарем. Але так вийшло, що після закінчення школи він пішов до лав Радянської Армії і тільки після служби вступив до Київського медичного інституту ім. О. О. Богомольця, який закінчив у 1963 році. Одночасно з навчанням в медінституті він 3 роки працював у клініці славнозвісного хірурга М. М. Амосова, де здобув перші неоцінні знання з медицини, які, як він сам

вважає, відіграли велику роль у становленні його як лікаря. В Інституті ендокринології та обміну речовин Павло Михайлович працює з 1965 року. За цей час він опублікував 183 наукові праці, захистив кандидатську, а потім і докторську дисертацію. Дисертація на звання кандидата медичних наук була присвячена вивченню функції кори надниркових залоз при різних функціональних станах щитоподібної залози. Результати наукових досліджень з вивчення глікозного гомеостазу при гіперфункції щитоподібної залози та вивчення механізмів розвитку порушень толерантності до глюкози у хворих на тиреотоксикоз увійшли до докторської дисертації. Павлюк П. М. понад 6 років очолював створене ним відділення реабілітації хворих на ендокринопатії.

На формування наукового світогляду молодого вченого великий вплив мали його учителі – перш за все, професори Н. В. Ромашкан та Г. М. Поволоцька, академіки В. П. Комісаренко та А. С. Єфімов, професор В. М. Славнов.

Сьогодні Павлюк П. М. займається проблемами діагностики та лікування захворювань щитоподібної залози, гіпофіза, підшлункової, надниркових та статевих залоз, його можна сміливо назвати земським лікарем, він надає практичну допомогу хворим з ендокринопатіями України та м. Києва. Протягом 25 років є консультантом республіканського госпіталю МВС України та госпіталю УВС м. Києва, за що був нагороджений двома відзнаками «За сприяння органам внутрішніх справ України» і «За розвиток науки, техніки та освіти». З 1976 по 1979 р. працював консультантом-ендокринологом Центрального військового госпіталю в Демократичній республіці Афганістан, нагороджений Почесною грамотою Президента республіки Афганістан та медаллю «Ветерану Інтернаціоналісту». У 1996 році виконував обов'язки головного ендокринолога м. Києва.

Загальний стаж роботи Павлюка П. М. – 56 років, він засновник династії лікарів: донька Черняк Лариса Павлівна – лікар-гінеколог, онук Черняк Павло Сергійович – студент VI курсу Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця.

Павлюк П. М. з 1980 по 1990 р. очолював профспілкову організацію Інституту. За досягнення в наданні практичної допомоги хворим м. Києва Павлюк П. М. у 1999 р. відзначений Подякою голови Київської міської державної адміністрації, у 2004 р. – Почесною грамотою голови Київської міської державної адміністрації, у 2007 р. – Знаком пошани. Як учасник Великої Вітчизняної війни був нагороджений медаллю «60 років Перемоги у Великій Вітчизняній війні».

Павлюку П. М. притаманні працювистість, витриманість, організаторські здібності, обов'язковість, чуйність та доброзичливість. Постійно працює над підвищенням свого професійного рівня, користується повагою співробітників Інституту та хворих.

Наукова спільнота України, редколегія журналу та всі, без винятку, співробітники Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України щиро вітають Павла Михайловича з ювілеєм та зичать йому міцного здоров'я, усіляких гараздів, достатку, миру та злагоди, весни в душі, блакитного і мирного неба, здійснення мрій і сподівань, шанування і поваги серед колег, друзів, хворих і близьких та подальших творчих успіхів.

РЕЗНІКОВ ОЛЕКСАНДР ГРИГОРОВИЧ (до 70-річчя від дня народження)



У листопаді 2009 року виповнилося 70 років від дня народження і 45 років наукової діяльності члена-кореспондента НАН і АМН України, заслуженого діяча науки і техніки України, лауреата Державної премії УРСР, доктора медичних наук, професора Олександра Григоровича Резнікова.

Після закінчення у 1962 р. Одеського медичного інституту ім. М. І. Пирогова О. Г. Резніков працював завідувачем сільської лікарської дільниці і головним лікарем Сухо-Єланецької лікарні в Миколаївській області. У 1965 р. О. Г. Резніков захистив кандидатську дисертацію за спеціальністю «патологічна фізіологія», виконаної під керівництвом члена-кореспондента АМН СРСР М. Н. Зайка.

З 1965 р. вся наукова діяльність О. Г. Резнікова пов'язана з Інститутом ендокринології та обміну речовин. О. Г. Резніков, як науковець, виріс у школі академіка В. П. Комісаренка і став одним із найперспективніших його учнів і продовжувачів. Свою наукову діяльність О. Г. Резніков розпочав молодшим науковим співробітником лабораторії патологічної фізіології, потім – старшим науковим співробітником тієї ж лабораторії (1967-1973 рр.). У 1973-1991 рр. О. Г. Резніков – завідувач організованої ним лабораторії нейро-гормональної регуляції розмноження, а з 1991 р. і по теперешній час – завідувач відділу ендокринології репродукції та адаптації ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України».

О. Г. Резніков є одним із фундаторів Інституту, він зробив вагомий внесок у формування і розвиток перспективних наукових напрямів Інституту. Під керівництвом академіка В. П. Комісаренка він брав безпосередню участь у створенні, дослідженні механізмів дії та впровадженні препарату хлоридану і його аналогів – засобів лікування раку кори надниркових залоз і хвороби Іценка-Кушинга. Результати цих досліджень лягли у підгрунття його докторської дисертації, успішно захищеної в 1974 р., і стали основою першої в світі монографії про інгібітори функції кори надниркових залоз, виданої у співавторстві з академіком В. П. Комісаренком (1972 р.).

Наукова спадщина О. Г. Резнікова багата і різноманітна. Основні напрями його наукової діяльності стосуються загальних проблем фізіології та патофізіології ендокринної системи, нейроендокринології, патогенезу ендокринних та гормонзалежних захворювань, ендокринної фармакології.

Він є одним із засновників нової галузі патофізіології – функціональної нейротератології. З ім'ям О. Г. Резнікова пов'язаний новий науковий напрямок в медицині – превентивна нейроендокринологія. Він є автором теоретичної концепції гормон-нейромедіаторного імпринтингу мозку в нормі та за умов патології, основні положення якої було покладено в основу рекомендацій щодо профілактики вроджених аномалій статевої поведінки та ендокринного безпліддя.

О. Г. Резніков зробив вагомий внесок у вирішення проблеми діагностики та лікування ендокринних і онкологічних захворювань. Він вперше в СРСР ініціював створення, дослідження та впровадження у медичну практику антиандрогенів для лікування раку простати, гірсутизму, синдрому полікістозних

яечників, діагностики гіпогонадізму. Експериментально обґрунтував і втілює в онкоурологічну практику новий метод фармакотерапії раку простати – низькодозову естроген-антиандрогенну терапію. В останні роки О. Г. Резніков активно працює у галузі клітинної біології. Він вперше у світі отримав дані щодо протипухлинної дії рекомбінантного білка ЕМАР-II на трансплантовану тканину раку простати людини, що відкриває шлях до розробки принципово нового методу лікування раку простати.

О. Г. Резніков є почесним членом Міжнародного товариства нейроендокринологів, членом міжнародних наукових співтовариств фізіологів і патофізіологів. Під його керівництвом виконувалися пріоритетні науково-дослідні проекти у рамках низки міжнародних наукових програм ВООЗ і фінансувалися за підтримкою грантів Міжнародного наукового фонду Дж. Сороса. На запрошення університетів США і Канади, він працював у них професором, зміцнюючи авторитет України у світі.

Свою багаторічну роботу О. Г. Резніков узагальнив більш як у 475 публікаціях вітчизняних та закордонних видань. Він є автором або співавтором 23 монографій, трьох підручників з патофізіології та ендокринології, 15 авторських свідоцтв і патентів, кількох лікарських засобів (хлодитан, ніфтолід, флутафарм). Наукові праці О. Г. Резнікова широко цитуються зарубіжними авторами.

Під керівництвом О. Г. Резнікова підготовлено 5 докторів та 23 кандидати наук, створена власна наукова школа.

Наукові здобутки О. Г. Резнікова відзначено Державною премією України, премією ім. О. О. Богомольця НАН України, премією з теоретичної медицини АМН України, медаллю ім. В. В. Підвисоцького НАН України, медаллю ім. В. Я. Данилевського, Почесними грамотами Президії НАН України, Президії АМН України, Міністерства охорони здоров'я України.

О. Г. Резніков проводить активну громадську і науково-організаційну роботу. Протягом тривалого часу він очолює Проблемну комісію АМН і МОЗ України «Патологічна фізіологія та імунологія», працював заступником голови експертної ради ВАК. Він є членом бюро Відділення біохімії, фізіології та молекулярної біології НАНУ, заступником голови Наукової ради з теоретичної та профілактичної медицини АМН України, віце-президентом Наукового товариства патофізіологів України, головою його Київського відділення, членом Науково-громадської ради ВАК, заступником голови Комітету з біоетики Президії НАН України, одним із засновників і співголов семінару НАН України і АМН України «Молекулярна медицина», членом двох спецрад із захисту докторських дисертацій, консультантом Державного фармакологічного центру МОЗ, членом президії Асоціації ендокринологів України, редколегій кількох провідних наукових журналів.

О. Г. Резніков – талановитий вчений з широким діапазоном наукових інтересів, який поєднує в собі глибокі знання та інтелект, досвід і високу кваліфікацію науковця. О. Г. Резніков – доброзичлива, інтелігентна, надзвичайна працездатна, цілеспрямована людина. Як авторитетний керівник і вчитель, він відрізняється принциповістю, демократичністю, мудрістю і тактом.

Колектив інституту та редколегія журналу «Ендокринологія» щиро вітають шановного Олександра Григоровича Резнікова з ювілеєм і бажають йому доброго здоров'я, наснаги і нових творчих звершень!

ШАНОВНІ КОЛЕГИ!

Асоціація ендокринологів України
інформує Вас про проведення

I Конгресу Асоціації ендокринологів України

22-23 квітня 2010 року на базі ДУ «Інститут ендокринології
та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України», м. Київ

Конгрес присвячений проблемам клінічної діабетології на сучасному етапі. Програму буде складено з урахуванням інтересів наукової та медичної громадськості України. Основні напрями Конгресу:

1. Епідеміологія та патогенез цукрового діабету і його ускладнень
2. Цукровий діабет і серцево-судинна система
3. Діабетична нефропатія
4. Діабетична полінейропатія
5. Діабетична ретинопатія
6. Артропатія та остеопороз у хворих на цукровий діабет
7. Діабет і вагітність
8. Самоконтроль та навчання хворих на цукровий діабет

Наукова програма Конгресу буде включати пленарні доповіді, наукові симпозиуми.

Матеріали Конгресу будуть опубліковані у журналі
«Ендокринологія/Endokrynologia».

Вимоги до публікації: коротке повідомлення до 2 сторінок тексту українською мовою, надруковане на папері формату А-4 через 1,5 інтервали, 14 кегль, шрифт «Times New Roman»; електронна версія подається на дискеті або по E-mail: iem_admi@bigmir.net

Тези надсилати до 15 січня 2010 р. на адресу оргкомітету:

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка АМН України»,
вул. Вишгородська, 69, 04114, м. Київ, Чорноброву А. Д.

Контактний телефон для додаткової інформації:

(044) 431-02-61, науково-організаційний відділ
(044) 430-36-94, приймальня директора

Учасникам Конгресу буде вислано додатково лист МОЗ України.

Місце проведення конгресу: конференц-зал ДУ «Інститут ендокринології
та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України»
(м. Київ, вул. Вишгородська, 69).

Оргкомітет