

*Академія медичних наук України
Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка
Academy of Medical Sciences of Ukraine
V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism*

ЕНДОКРИНОЛОГІЯ

ENDOKRYNOLOGIA

2007

Том 12, № 2
Volume 12, No. 2

Журнал заснований у 1996 р.

Founded in 1996

Київ
Kyiv

Редакційна комісія:

ТРОНЬКО М.Д. (головний редактор), БЕЗВЕРХА Т.П. (відповідальний секретар), БОЛЬШОВА О.В., ГОРБАНЬ Є.М., ЄФІМОВ А.С. (заступник головного редактора з клінічної ендокринології), КАРАЧЕНЦЕВ Ю.І., 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., РЕЗНІКОВ О.Г., РИБАКОВ С.Й., ТОМАШЕВСЬКИЙ Я.І.

Редакційна рада:

БЄЛІНСЬКИЙ В.П. (Запоріжжя), БОДНАР П.М. (Київ), БОЦЮРКО В.І. (Івано-Франківськ), БЕНДЗИЛОВИЧ Ю.М. (Львів), ВОЙНІЛОВИЧ В.О. (Чернігів), ГОЛОВАЧ А.П. (Полтава), КОМІСАРЕНКО І.В. (Київ), ПАВЛОВСЬКИЙ М.П. (Львів), ПАВЛЮК П.М. (Київ), СЕЛІВАНОВА К.Ф. (Сімферополь), ТУРЧИН І.С. (Київ)

Адреса редакції:

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) 430-36-94
E-mail: endorg@ukrpost.ua

Address of the Editorial Board:

V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism,
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 44 430 36 94
E-mail: endorg@ukrpost.ua

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 № 5223 від 20.06.2001

Здано до набору 10.10.2007. Підп. до друку 9.11.2007. Формат 70 x 108/16.
Офсетний друк. Ум.-друк. арк. 12,95. Наклад 290 прим.

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

ЗМІСТ

Передня стаття

- Сучасний стан та перспективи розвитку фундаментальної і клінічної ендокринології в Україні 174
М.Д. Тронько

Оригінальні дослідження

- Вивчення йодної забезпеченості жінок та дітей центрального регіону України 192
В.І. Кравченко, Л.А. Ткачук, М.В. Власенко, Ф.Г. Прудюс, І.А. Лузанчук, В.М. Михайлець
- Застосування органічної форми йоду (Барба-йод) для лікування та профілактики дифузного ендемічного зоба в регіоні з легким дефіцитом йоду 201
Н.В. Тананакіна, В.Н. Корзун, В.І. Кравченко, Е.К. Духовенко
- Сравнительный анализ результатов первичного хирургического лечения папиллярных карцином щитовидной железы и данных послеоперационной сцинтиграфии с NaI-131 208
С.В. Чернышев, С.В. Гулеватый, Т.К. Сovenko, Е.В. Эпштейн
- Стан системи імунітету хворих на рак щитоподібної залози після лікування радіоїодом 218
Г.А. Замотаєва, Н.М. Степура, Д.С. Сидоренко, Т.Ф. Захарченко, М.М. Гойдаш, Д.О. Джужа, О.Г. Береза
- Експресія MET та EGFR в післячорнобильських пухлинах щитовидної залози 227
Л.Г. Воскобойник
- Вплив іонів йоду на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК у тканині щитоподібної залози хворих на різну тиреоїдну патологію 240
Т.М. Мишуніна, О.В. Калініченко, Л.І. Пількевич
- Рівні адипонектину у хворих на цукровий діабет 2 типу за зіставленням з класичними та новітніми чинниками атерогенезу 252
М.Ю. Горшунська, Ю.І. Караченцев, Н.С. Красова, Е. Йенсен, О.І. Гладких, В.В. Полторак
- Содержание гомоцистеина в плазме крови больных с сердечно-сосудистой патологией и сахарным диабетом 2 типа: возможный синергизм факторов риска 262
Н.Д. Халангот, В.К. Гринь, В.О. Высоцкая, Л.В. Корпачева-Зиных, С.Т. Зубкова, Т.Л. Милехина, В.Д. Король

Влияние энтеросорбента Силикс на течение стеатоза печени у больных сахарным диабетом под контролем эходенситометрии печени <i>Садик А.И. Джарадат</i>	270
Вплив трансплантації клітинних культур на основні показники вуглеводного обміну при експериментальному цукровому діабеті <i>В.М. Єльський, І.І. Зінкович, О.В. Селезньова</i>	276
Корекція за допомогою інуліну гіперглікемії і перекисного окиснення ліпідів у щурів з експериментальним цукровим діабетом 2 типу <i>Ю.В. Цісельський, А.П. Левицький</i>	287
Кортикотропін in vitro збільшує вміст α -ізоформи протеїнкінази с в ядрах адренокортикальних клітин людини <i>О.І. Ковзун</i>	292
Особенности магнитолазерного воздействия на катехоламинергические нейроны среднего мозга (экспериментальное исследование) <i>Е.В. Зубкова, И.Г. Васильева, Н.П. Олексенко, С.Т. Зубкова</i>	299
 <u>Лекція</u>	
Гіпоталамічний синдром пубертатного періоду <i>В.М. Пилипенко, М.Д. Тронько</i>	305
 <u>Рецензії</u>	
Эндокринология. Под ред. Заслуженного деятеля науки и техники Украины, проф. П.М. Боднара. Винница: Нова книга, 2007. 344 с. <i>А.С. Свінціцький</i>	317
<i>К.Ф. Селиванова</i>	318

СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ЕНДОКРИНОЛО- ГІЇ В УКРАЇНІ*

М.Д. Тронько

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

В наш час ендокринологія з переважно клінічної дисципліни про хвороби залоз внутрішньої секреції виросла в нову по суті науку про регуляцію обміну речовин. Потрібно зазначити, що ендокринологи досліджують процеси регуляції за умов норми і патології, що робить ендокринологію фундаментальною медико-біологічною наукою. Очевидно, що вивчення синтезу, обміну і механізму дії гормонів складає важливий напрям сучасних досліджень ендокринологів.

Сучасна ендокринологія має взаємозв'язки з багатьма дисциплінами: біохімією, імунологією, генетикою, молекулярною біологією, що дозволяє докорінно змінити існуючі уявлення про регуляцію функцій залоз та участь гормонів в інтеграції обміну речовин. Встановлено, що механізм дії гормонів різної хімічної будови має ряд спільних універсальних рис, багато процесів реалізації їх внутрішньоклітинних ефектів співпадають. Останнім часом схеми регуляції функції для більшості залоз істотно доповнені, дослідження свідчать про участь чинників найрізноманітнішої природи (модуляторів білкової і небілкової природи, нейротрансмітерів, факторів росту, цитокінів та ін.) у регуляції синтезу та секреції гормонів.

Дослідженнями, виконаними на субклітинно-молекулярному рівні, проаналізовано механізми перенесення та посилення сигналів інсуліну у клітинах. Показана складність та багатоканальність систем перенесення сигналу, наявність в цих системах комплексних трансрегуляторних впливів.

Розшифрування механізмів дії гормонів є пріоритетним напрямком досліджень у багатьох наукових лабораторіях всього світу. Стратегією досліджень останніх років є з'ясування фізіологічної ролі агоністів. Інтенсивні зусилля дослідників зосереджені на вивченні рецептування тропних гормонів та модуляторів функції, а також перенесення та посилення регуляторних сигналів агоністів.

Важливим напрямом досліджень стали життєво важливі залози внутрішньої секреції – наднирники та їх гормони – кортикостероїди. Тривалий час регуляція активності кори надниркових залоз зводилась до її стимуляції кортикотропіном і ангіотензином II. Пріоритетні результати, отримані при дослідженні внутрішньоклітинних шляхів реалізації дії гормонів показали, що іони калію, пролактин, естрогени також відіграють важливу регуляторну роль. Основну роль в реалізації дії цих агоністів мають протеїнкінази різних типів, які здійснюють фосфорилювання білків. Отже, регуляція функції кори надниркових залоз в організмі на сьогодні виглядає значно складнішою, ніж це уявлялося раніше.

* За матеріалами доповіді на VII з'їзді ендокринологів України (м. Київ, 15-18 травня 2007 р.)

В київському Інституті ендокринології та обміну речовин отримані пріоритетні дані про можливість опосередкування ефектів регуляторів аденокортикальної функції іншими протеїнкіназами, крім сАМР-залежної протеїнкінази А. Особливу увагу привернула протеїнкіназа С і протеїнкінази, що активуються мітогенами. Показано, що суттєва роль у швидкій трансдукції регуляторних сигналів в адренкортикоцитах належить кіназі JNK і фактору транскрипції c-jun.

Така поліморфність протеїнкіназних каскадів, їх взаємодія, включення внутрішньоядерних механізмів забезпечують адекватну регуляцію функції адренкортикоцитів. З'ясування місця кожного з агоністів у комплексному механізмі регуляції функції надниркових залоз та простеження поетапної передачі сигналу первинних месенджерів за участю клітинних протеїнкіназ є важливими питаннями молекулярної ендокринології, які можуть пояснити виникнення патологічних трансформацій адренкортикоцитів та патогенез деяких захворювань надниркових залоз.

Ролі програмованої загибелі клітин – апоптозу – у патогенезі різноманітних злоякісних новоутворень ендокринних залоз присвячені дослідження багатьох лабораторій у різних країнах світу. Встановлено, що порушення молекулярної регуляції апоптозу є інтегральним компонентом багатоетапного процесу канцерогенезу. Отримані в останні роки в Інституті ендокринології та обміну речовин результати свідчать про помітну антиапоптичну дію кортикотропіну в адренкортикоцитах, оцінювану за вмістом каспази-3 і фрагментацією ДНК.

Таким чином, отримані факти можуть мати певну роль в розробці нових патогенетичних підходів до корекції трофічних та функціональних процесів в надниркових залозах за умов широкого спектра захворювань. Зараз до кола протипухлинних засобів залучають препарати, здатні діяти на рівні месенджерних систем, зокрема, пов'язаних із шляхом активації протеїнкінази С. Відхилення саме в цій ланці сигнального каскаду є досить частою причиною пухлинних трансформацій клітин, саме вона є мішенню ряду потенційних протипухлинних препаратів. Розвиток в майбутньому цього напрямку дозволить підвищити ефективність застосування таких засобів у лікуванні патології ендокринних залоз.

Фундаментальні дослідження функції пінеальної залози за умов змін впливу чинників зовнішнього середовища та гормональної активності ендокринних залоз проведені у харківському Інституті проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського. Обґрунтовано концепцію, згідно з якою функціональна активність пінеальної залози є інтегральним показником, який залежить від спадковості, віку, чинників довкілля, активності ендокринної системи, а порушення гормонального гомеостазу здатне спотворити біосинтез і секрецію мелатоніну. Ці дослідження забезпечують підґрунтя клінічного застосування епіфізарного поліпептидного препарату епіталаміну. Це ще раз яскраво показує, як фундаментальні дослідження прокладають шлях до впровадження нових методів лікування (зокрема, фармацевтичних препаратів) в прикладну ендокринологію.

Потрібно зазначити, що більшість використовуваних зараз білкових гормонів є біотехнологічними препаратами. В результаті інтенсивної роботи, яка потребувала значних фінансових витрат, розроблені методи і технології отримання білкових гормонів людини. Сьогоднішня клінічна ендокринологія базується на широкому використанні діагностичних наборів, в яких застосовуються моноклональні антитіла, отримані в результаті фундаментальних досліджень.

Одним з важливих напрямів прикладних досліджень є застосування для лікування ендокринопатій сучасних методів біотехнології (зокрема, транс-

плантації ендокринних органів, тканин і клітин, використання стовбурових клітин, генна інженерія).

Проблема відновлення функцій залоз внутрішньої секреції є однією з найбільш актуальних у практичній ендокринології. Застосування природних або синтетичних гормональних препаратів не завжди адекватно і в повному обсязі забезпечує гомеостаз у хворих з різними формами ендокринної патології.

Сучасні дослідження стовбурових клітин розширюють наші знання щодо розвитку цілого організму з однієї клітини та можливості заміни пошкоджених клітин новими вже у дорослому організмі. Дослідження властивостей стовбурових клітин розкриває широкі можливості для використання у перспективі клітинної терапії в лікуванні багатьох важких захворювань. Інтенсивними є спроби багатьох біотехнологічних центрів світу реалізувати проект патогенетичного лікування цукрового діабету (ЦД) шляхом трансплантації трансформованих стовбурових клітин, які продукують інсулін. При послідовному діленні стовбурової клітини кожна нова клітина має дві можливості: далі залишатись стовбуровою, або перетворитись на клітину іншого типу із специфічними функціями.

Для трансформації стовбурових клітин в острівцеві клітини підшлункової залози використовують стовбурові клітини з жирової тканини, які можуть бути трансплантовані в організм хворого. Нещодавно опубліковані в журналі Американської медичної асоціації (*Journal of the American Medical Association*) матеріали показали, що в результаті терапії стовбуровими клітинами 93 % хворих з цукровим діабетом 1 типу були позбавлені інсулінової залежності на деякий термін. Вчені з США та інших країн світу сподіваються, що починаючи лікування стовбуровими клітинами на ранньому етапі хвороби можна досягти повного відновлення імунної системи.

Вивчення властивостей стовбурових клітин, як і багато інших напрямів сучасного наукового пошуку, ставлять нові запитання частіше, ніж дають відповіді на вже поставлені питання. Незважаючи на пріоритетність напрямку цих досліджень потрібно зазначити, що широке застосування стовбурових клітин в лікуванні діабету – це перспектива недалекого майбутнього.

В практичній медицині знайшов використання метод трансплантації тканин і клітин ендокринних залоз при терапії гіпофункціональних станів. Розроблення методичних підходів культивування клітин залоз внутрішньої секреції і оцінка біологічних властивостей цих клітин дали змогу встановити їх здатність продукувати специфічні гормони і адекватно реагувати на тропні гормони гіпофіза. Започатковано лікування хворих з недостатністю ендокринних залоз трансплантацією культивованих клітин цих залоз – острівців підшлункової залози, щитоподібної, паращитоподібних залоз, кори наднирників.

Перші клінічні випробування методу алотрансплантації інкапсульованої тканини паращитоподібної залози були проведені пацієнтам зі стійким післяопераційним гіпопаратиреозом, внаслідок резекції щитоподібної залози, для компенсації симптомів гіпокальціємії. При цьому спостерігалась повна нормалізація рівня паратгормону в крові пацієнтів і рівня загального кальцію. Морфологічні ознаки інкапсульованої тканини залишалися без змін протягом відповідного терміну після трансплантації.

Цю наукову розробку співробітники нашого Інституту здійснюють разом з колегами із Магдебурзького університету (Німеччина).

Отже, використання трансплантації клітин або тканин ендокринних залоз з метою замісної терапії при гіпофункції залоз або ефективної терапії післяопераційних станів є перспективним.

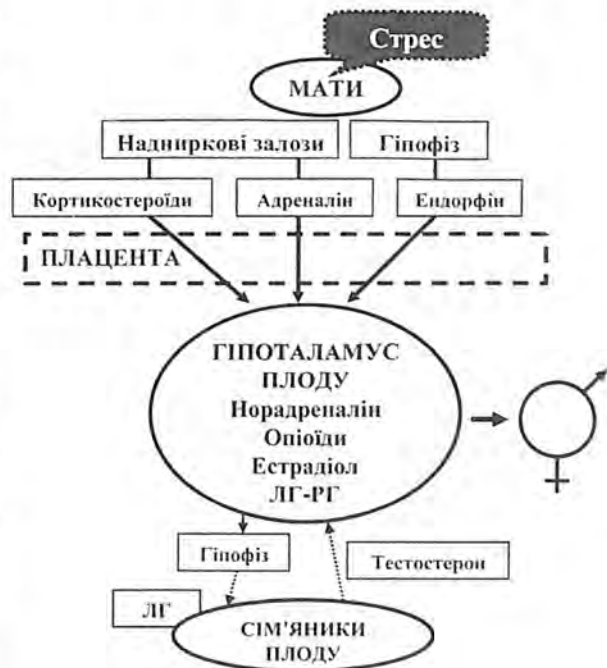
Важливим напрямом в галузі медико-біологічних досліджень є **імуоендокринологія**. На сьогодні в імуоендокринології визначилося декілька найбільш перспективних шляхів досліджень:

- фундаментальні дослідження механізмів гормональної регуляції імуногенезу;
- вивчення ролі імунологічних та імуногенетичних чинників в етіології і патогенезі ендокринних захворювань і їх ускладнень;
- імунологічний моніторинг пацієнтів з ендокринною патологією і пошук інформативних методів імунологічних досліджень для використання в діагностиці та контролі лікування ендокринних захворювань;
- пошук і розробка патогенетично обґрунтованих засобів профілактики аутоімунних хвороб ендокринних органів;
- розробка нових підходів до імунотерапії пацієнтів з ендокринними захворюваннями з метою підвищення ефективності лікування і профілактики ускладнень;
- удосконалення методів імунологічного забезпечення трансплантації клітин ендокринних органів.

Останнім часом увага зосереджена на дослідженні системи імунітету в період, що передує клінічній маніфестації цукрового діабету. Особлива увага приділяється вивченню функції тимуса і його ролі в патогенезі цукрового діабету. Найважливішою функцією тимуса є формування центральної імунологічної толерантності щодо антигенів власного організму.

В досліджах на експериментальних моделях з генетично детермінованим ЦД 1 типу вперше показано, що ще до появи клінічних ознак захворювання виявляються значні порушення функції тимуса і активності клітинних чинників вродженого імунітету.

Одним з актуальних фундаментальних напрямів є ендокринологія репродуктивної системи. Набули визнання експериментальні дослідження з питань етіології та патогенезу вроджених аномалій статевої поведінки та розладів нейроендокринної регуляції репродуктивної системи. Зокрема, вивчено гормональні, нейромедіаторні та нейрохімічні механізми патології розвитку нейроендокринної системи плоду, зумовленої ендо- та екзогенними глюкокортикоїдами, опіоїдами, андрогенами та стресом материнського організму під час вагітності. На підставі отриманих результатів українськими вченими запропоновано нову концептуальну модель гормонально-нейромедіаторного контролю розвитку нейроендокринних систем репродукції та адаптації (мал. 1).



Мал. 1. Фемінізувальна дія пренатального стресу на мозок плоду чоловічої статі.

Виходячи з цієї концепції, доведено принципову можливість антенатальної профілактики цих розладів і обґрунтовано новий напрямок – превентивну нейроендокринологію.

За останні 5 років отримані важливі результати в клінічній ендокринології. Адже вивчення патогенезу ендокринних захворювань та розробка на його основі ранніх методів діагностики та лікування дозволяє своєчасно надати адекватну допомогу цій категорії хворих, попередити ускладнення захворювань.

Однією з актуальних, важливих соціально-економічних проблем клінічної ендокринології є цукровий діабет. Це захворювання належить до пріоритетних в клінічній ендокринології, адже за визначенням ВООЗ, цукровий діабет називають неінфекційною епідемією 21 століття. В економічно розвинутих країнах світу 4-6 % людей хворіють на цукровий діабет. Про глобальність цієї проблеми яскраво свідчить прийняття 20 грудня 2006 року Резолюції Організації Об'єднаних Націй. Ще раз було наголошено, що міжнародна спільнота визнає, що діабет став серйозною загрозою здоров'ю людства.

Яка є ситуація в Україні на сьогоднішній день? В Україні захворюваність на цукровий діабет, як і в інших країнах світу, щорічно зростає. За офіційною статистикою у нас є понад один мільйон хворих на цукровий діабет. Якщо захворюваність у 2000 році складала 131,6 нових випадків на 100 тисяч населення, то на кінець 2006 року цей показник зріс до 228,1 (мал. 2).

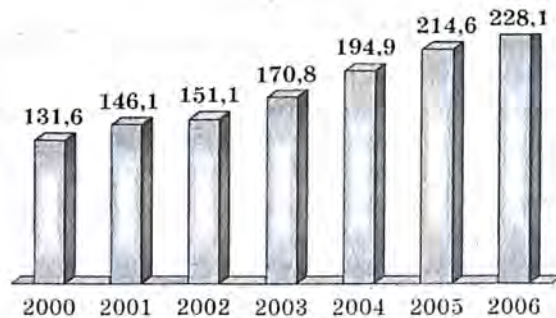
Показники поширеності цукрового діабету в Україні щороку також зростають і у 2006 році становили 2242,6 на 100 тисяч населення проти 1845,8 на 100 тисяч населення в 2000 році.

Але наведені дані не відображають істинної розповсюдженості захворювання. Чітко показано, що поряд з кожним зареєстрованим є 2-3 недіагностованих хворих, причому це стосується в основному хворих на цукровий діабет 2 типу.

В 1999 році Указом Президента України затверджена комплексна програма «Цукровий діабет», яка створила умови для значного поліпшення допомоги хворим на цукровий діабет, своєчасного виявлення хвороби та її ускладнень, поліпшення якості життя хворих. З виконанням цієї програми намітились деякі позитивні зрушення у ставленні до цього важкого захворювання.

В рамках комплексної програми «Цукровий діабет» для проведення аналізу поширеності та захворюваності на цукровий діабет, планування фінансових витрат на забезпечення медикаментами, проведення аналізу якості надання діагностичних та лікувальних послуг в Україні вперше був створений Державний реєстр хворих на цукровий діабет.

Територіальні бази даних – реєстри хворих на цукровий діабет – визнані Європейським товариством дослідників цукрового діабету (EASD) у якості но-



Мал. 2. Динаміка росту захворюваності населення України на цукровий діабет в 2000-2006 рр. (на 100 тис. населення).

вого важливого інструменту вивчення епідеміології, лікування і діагностики захворювання. Загальнонаціональні реєстри цукрового діабету створені у Швеції, Росії, великі регіональні реєстри існують у інших країнах Європи. В цьому відношенні ми тісно співпрацюємо з нашими колегами із Західної Європи.

Створений нами за допомогою ендокринологів всієї країни реєстр включає майже всіх дорослих хворих, які отримують інсулін в Україні (141 868 осіб), та значну кількість осіб, що отримують пероральне лікування. Загальна кількість хворих станом на 30.11.2006 р., яка внесена в реєстр, становила 314 774 особи. Індивідуальна інформація структурована і значною мірою співпадає з переліком, розробленим ВООЗ з метою контролю якості первинної допомоги хворим на цукровий діабет (табл. 1).

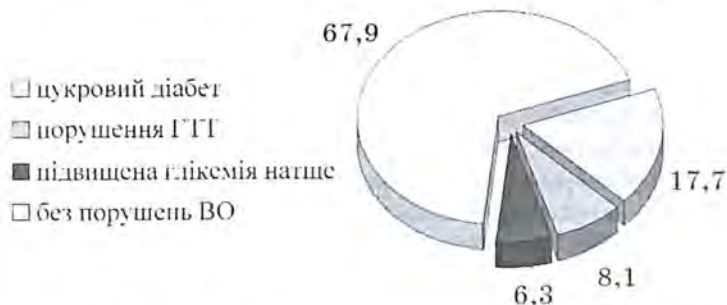
Таблиця 1. Кількісна характеристика головних категорій хворих, занесених до реєстру СИНАДІАБ

Категорії хворих	Кількість хворих	Чоловіки	Жінки
Всі станом на 31 жовтня 2006 р.	314 774		
Лікувалися інсуліном	141 868		
Знаходяться на обліку	123 310	51035	72073
ЦД1 (Е 10)	76 745	35 957	40 788
ЦД2 (Е 11)	43 044	13 796	29 248
Інші уточнені типи ЦД (Е 13)	1 137	421	716
Не уточнений тип ЦД (Е 14)	67	27	40
Тип ЦД не вказаний	2 115	834	1 281

Одним з основних напрямів реалізації програми є раннє виявлення цукрового діабету, що одночасно є елементом первинної профілактики діабетичних ускладнень. Ця робота активізувалась, але дуже мало. Загальна кількість хворих на цукровий діабет збільшилась з 1,8 % в 2001 до 2,0 % у 2006 році. Між тим, в Європі у середньому захворюваність на цукровий діабет складає від 4 % до 6 %.

Проведена в Інституті ендокринології та обміну речовин робота з раннього виявлення цукрового діабету в осіб з чинниками ризику дозволила діагностувати захворювання у 17 % обстежених, а порушення толерантності до глюкози – у 8 %, що свідчить про недостатню роботу з виявлення таких хворих у всіх регіонах України (мал. 3).

Згідно з світовим досвідом, раннє виявлення цукрового діабету, адекватне патогенетичне його лікування – це довготривалі інвестиції, які дозволять отримати економічну вигоду в майбутньому. Основною умовою ефективного лікування хворих на цукровий діабет є безперебійне забезпечення сучасними цукрознижувальними пре-



Мал. 3. Порушення толерантності до вуглеводів в осіб з чинниками ризику

Порушення вуглеводного обміну (ВО) виявлені у 32 % осіб з чинниками ризику цукрового діабету. Порушення вуглеводного обміну і ЦД 2 типу найчастіше виявляються у віковій групі після 55 років, в осіб з артеріальною гіпертензією, в осіб з індексом маси тіла більшим 27 кг/м².

паратими (інсулінами та таблетками), засобами введення інсуліну, а також засобами самоконтролю. Одним із основних досягнень програми «Цукровий діабет» стало вирішення питання базового забезпечення інсуліном хворих на цукровий діабет за рахунок вітчизняного виробника. В Україні налагоджений випуск вітчизняних інсулінів (табл. 2).

Таблиця 2. Виробництво препаратів інсуліну на провідних фармацевтичних підприємствах України

ЗАТ «ІНДАР»:

Препарати інсуліну короткої дії > Монодар > Монодар Р ✓ Хумодар Р ✓ Хумодар Р 100 ❖ Хумодар РР ❖ Хумодар Р 100 Р Препарати інсуліну середньої тривалості дії ✓ Хумодар Б ❖ Хумодар БР ✓ Хумодар Б 100 ❖ Хумодар Б 100 Р > Монодар Б > Монодар-Лонг Препарати інсуліну тривалої дії > Монодар-Ультралонг	Комбіновані препарати інсуліну > Монодар К15 > Монодар К30 > Монодар К50 ✓ Хумодар К15 ✓ Хумодар К25 ❖ Хумодар К25Р ✓ Хумодар К25 100 ❖ Хумодар К25 100 Р ✓ Хумодар К50 Препарати інсуліну в картриджах ✓ Хумодар Р 100 ❖ Хумодар Р 100 Р ✓ Хумодар Б 100 ❖ Хумодар Б 100 Р ✓ Хумодар К25 100
--	--

ВАТ «ФАРМАК»:

❖ Фармасулін Р ❖ Фармасулін Н ❖ Фармасулін 30/70
--

ЗАТ «Фармацевтична фірма «ДАРНИЦЯ»:

❖ Інсуген-Р (Регуляр) ❖ Інсуген НІХ ❖ Інсуген 30/70 (Біфазік)

>свинячий монокомпонентний

✓людський напівсинтетичний

❖людський рекомбінантний

Київські заводи «Індар» та «Фармак» виробляють інсуліни, якість яких відповідає як європейській, так і американській фармакопеям, і на сьогоднішній день ще зареєстровані інсуліни, які випускає завод «Дарниця». Україна має весь спектр високоякісних інсулінів, які повністю відповідають міжнародним стандартам.

Але заради справедливості хотів би наголосити, що на превеликий жаль, спираючись на об'єктивні і суб'єктивні чинники, дотепер не існує тієї системи тендерів, які були б зрозумілими і виробникам, і споживачам. Як приклад, ситуація, яка склалась в цьому році: при наявності інсулінів, наявності коштів і визначеного в повному обсязі бюджетного фінансування хворі вчасно не мають інсуліну. Це недопустимо. В найкоротший час нам необхідно запровадити таку «модель» забезпечення інсуліном хворих на цукровий діабет, яка б неуможливила повторення подібних ситуацій.

Деяко покращилось, але значно відстає від необхідного, безкоштовне забезпечення хворих на цукровий діабет 2 типу цукрознижувальними пероральними засобами. Завдяки розвитку фармакологічної промисловості України, а також співробітництву з закордонними фармакологічними фірмами частково вдається забезпечувати потреби хворих у таблетках. Але постає питання раціональної пероральної терапії хворих на цукровий діабет 2 типу. Відомо, що більше двох третин хворих в Україні отримують глібенкламід. Але за сучасними уявленнями, це препарат, який при тривалому використанні викликає цілу низку побічних явищ, у тому числі вторинну сульфамідорезистентність та має негативний вплив на серцево-судинну систему. На теперіш-

ній час завдяки налагодженню випуску на вітчизняних заводах пероральних цукрознижувальних препаратів, які належать до останніх генерацій препаратів сульфанілсечовини, з'явилася можливість широкого застосування ендокринологами сучасних цукрознижувальних засобів: гліклазиду, гліміпериду та ін. (табл. 3).

Необхідно відзначити, що в Інституті проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського розроблено лікарські форми нового антидіабетичного засобу фенсукциналу у вигляді таблеток та доведено їх ефективність в комплексній терапії цукрового діабету.

Для України, як і для інших країн світу, цукровий діабет є не тільки медичною, але і соціальною проблемою. Це пов'язано із подальшим зростанням захворюваності населення, високою частотою ураження різних органів і систем, частою інвалідністю і підвищенням смертності хворих. Найбільшу загрозу становлять судинні ускладнення цукрового діабету (частота яких досягає 60 %), насамперед, з боку очей та нирок для хворих на цукровий діабет 1 типу, а у хворих старших вікових груп – збільшення частоти судинних катастроф (інфаркти, інсульти, розвиток гангрени ніг з необхідністю ампутації).

На сучасному етапі одним з найважливіших питань клінічної діабетології є навчання хворих на цукровий діабет методам самоконтролю захворювання, що дає можливість підтримувати стан стійкої компенсації, попереджувати розвиток ускладнень. Завдяки програмі, у більшості регіонів України працюють кабінети навчання хворих методам самоконтролю. На 2006 рік нараховується 218 таких кабінетів, що відповідає приблизно 50 % від загальної потреби. Але дотепер не затверджений наказ стосовно положення про кабінети навчання самоконтролю хворих на цукровий діабет. Відтак робота в більшості з них побудована на ентузіазмі лікарів і медсестер без фінансування їх діяльності.

В Інституті ендокринології та обміну речовин з 1994 року працює кабінет навчання хворих самоконтролю. На прикладі роботи одного кабінету показано, що лише курси навчання можуть суттєво впливати на компенсацію ЦД, знижуючи рівні пре- та постпрандіальної глікемії (мал. 4) і глікованого гемоглобіну. У групі хворих, які пройшли курс навчання, відмічено суттєве зниження глікованого гемоглобіну з 10,8 % до 7,2 % через 3 міс і до 6,5 % – через 6 міс після курсу навчання. А як відомо, зниження HbA1c всього на 1 % (дані дослідження UKPDS) дозволяє зменшити ризик ускладнень ЦД на 35 %.

Тобто, ефективність роботи таких кабінетів очевидна. Але слід відмітити, що подальше виконання даного напрямку програми можливе лише за умови нормативного визначення штатних одиниць лікаря та медсестри для роботи в кабінеті з навчання хворих на цукровий діабет самоконтролю, виділення приміщень для нього на усіх рівнях: в обласних, районних, місцевих амбулаторно-поліклінічних закладах України і хоч би мінімального їх оснащення.

Таблиця 3. Виробництво протидіабетичних препаратів на провідних фармацевтичних підприємствах України

БАТ «ФАРМАК»:

- Діаформін (метформін)
- Діаглізид (гліклазид)
- Діаглізид МР (гліклазид)
- Діапірид (гліміперид)
- Діаглітазон (розиглітазон)
- Ізодибут
- Діаліпон (ліпоева кислота)
- Набір для проведення глікозотолерантного тесту

ЗАТ «ІНДАР»:

- Метфодар (метформін)
- Тіоктодар (ліпоева кислота)
- Гліклазид МВ 30-ІНДАР (гліклазид) – готується до випуску



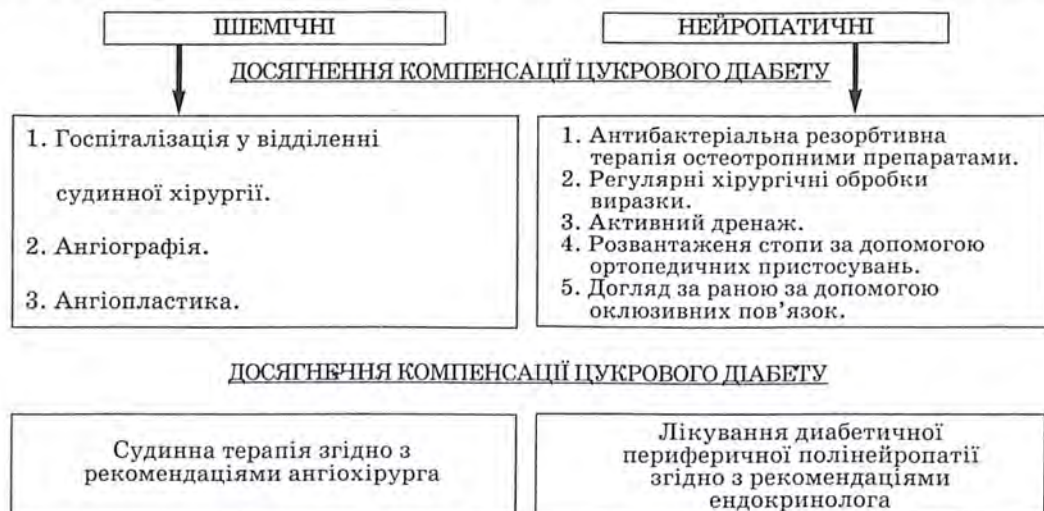
Мал. 4. Вплив навчання на рівень глікемії натще та рівень постпрандіальної глікемії (ммоль/л) у хворих на цукровий діабет.

Ще одна з найважливіших проблем цукрового діабету – діабетична стопа.

В багатьох регіонах України вже більше 10 років працюють профілактичні кабінети діабетичної стопи. Пріоритетним в роботі кабінетів є профілактика виразок та ампутацій нижніх кінцівок. Розроблені положення про кабінети та програми підготовки середнього медичного персоналу, який працюватиме в кабінетах. Але і тут необхідно констатувати, що, на жаль, жодного з цих документів ще й досі не затверджено в Мінздраві. Це дуже ускладнює роботу в областях.

Хворі з трофічними виразками нижніх кінцівок, які потрапляють до ендокринологічних клінік, проходять обстеження та лікування за розробленим алгоритмом (табл. 4). Застосування даної схеми дозволило досягти загоєння

Таблиця 4. Алгоритм лікування виразкових дефектів стоп у кабінеті діабетичної стопи



нейропатичних трофічних виразок майже в 90 % випадків, що співпадає з даними західних клінік.

У результаті реалізації низки заходів з виконання програми відмічена тенденція до зменшення таких грізних його ускладнень, як діабетична ганг-

рена. Число ампутацій нижніх кінцівок з приводу гангрени знизилось з 3823 у 2000 році до 3147 у 2006 році. Згідно з даними ВООЗ, попередження тільки однієї ампутації дає економічний ефект 10 тис. доларів США. Тому тільки раннє виявлення хворих на цукровий діабет, а також діагностика діабетичних ускладнень на початку їх розвитку, проведення адекватної терапії і ранніх профілактичних засобів, безумовно, дадуть великий соціальний і економічний ефект, так як зможуть попередити розвиток судинних і неврологічних ускладнень у одних хворих, і призупинити їх прогресування – у інших.

За прикладом створення кабінетів діабетичної ступні доцільне створення кабінетів профілактики та амбулаторного лікування діабетичної ретинопатії та нефропатії. Для роботи цих кабінетів необхідна фахова підготовка лікарів, яка б могла проводитися в інститутах ендокринології Києва і Харкова, нефрології, Інституті удосконалення лікарів, Центрі мікрохірургії ока. У кабінетах з раннього виявлення діабетичної нефропатії необхідно забезпечити можливість виявляти хворих на стадії мікроальбумінурії.

Одним із позитивних результатів реалізації Програми «Цукровий діабет» є деяке поліпшення лікування хворих на ЦД з хронічною нирковою недостатністю із застосуванням гемодіалізу, а також поширення одного з основних методів лікування діабетичної ретинопатії – лазерної коагуляції. Ці методи потребують подальшого розповсюдження.

За даними ВООЗ, більше ніж 75 % хворих на цукровий діабет 2 типу помирають внаслідок судинних катастроф. Основними проявами ураження серцево-судинної системи у хворих на цукровий діабет 2 типу є ішемічна хвороба серця – страждають 30-50 % хворих, ураження артерій нижніх кінцівок має 9 %, ішемічний інсульт розвивається у 10 %.

Епідеміологічними дослідженнями встановлено, що перебіг ішемічної хвороби серця на тлі цукрового діабету характеризується високою частотою розвитку повторних інфарктів міокарда, більшим ступенем інвалідності внаслідок розвитку ускладнень. Ризик померти від інфаркту міокарда або іншої судинної катастрофи у хворих на цукровий діабет чоловіків в 4-5 разів, а у жінок – в 5-7 разів більший, ніж у пацієнтів без цукрового діабету. Беручи до уваги тенденцію до старіння населення, яка простежується сьогодні в Україні, проблема ішемічної хвороби серця і цукрового діабету набуває ще більшої актуальності. Україна, за даними ВООЗ, є однією з країн з високим рівнем смертності від ішемічної хвороби серця (табл. 5).

Основним патогенетичним чинником розвитку серцево-судинних та інших ускладнень цукрового діабету є гіперглікемія. Тому компенсація захворювання – це основа

Таблиця 5. Цільові значення основних показників у хворих на цукровий діабет (ADA, 2006)

Глікований гемоглобін	< 7 %
Глікемія натще	5,0-7,2 ммоль/л
Постпрандіальна глікемія	<10 ммоль/л
Артеріальний тиск	<130/80 мм.рт.ст.
Холестерин ліпопротеїдів низької щільності	2,6 ммоль/л
Холестерин ліпопротеїдів високої щільності	1,7 ммоль/л
Тригліцериди	1,1 ммоль/л

профілактики діабетичних ускладнень. Але для хворих на цукровий діабет 2 типу, поряд з адекватною цукрознижувальною терапією, необхідно контролювати артеріальний тиск та рівень ліпідів (табл. 6). На останньому конгресі з вивчення цукрового діабету прийнята концепція лікування хворих на цукровий діабет 2 типу, яка передбачає ступінчасту, поступову гіпоглікемізуючу терапію в залежності від рівня глікованого гемоглобіну.

На сьогоднішній день у арсеналі лікаря-ендокринолога є високоефективні, очищені препарати інсулінів, у тому числі вітчизняного виробника. У своєму розвитку створення інсулінів пройшло декілька етапів. За останні роки істотні досягнення в дослідженнях молекулярної структури, біологічної активності і лікувальних властивостей інсуліну призвели до розвитку структурних змін молекули людського інсуліну з впровадженням нових розробок у клінічну практику для поліпшення контролю глікемії. Важливим етапом в історії інсулінотерапії є розробка аналогів інсуліну.

В даний час велика увага приділяється створенню аналогів інсуліну зі структурою молекули, що дозволяє зберегти основні ефекти інсуліну й уникнути деяких характерних його недоліків. Відповідно, розроблені аналоги інсуліну з більш швидким початком і меншою тривалістю дії. Такі інсуліни швидше всмоктуються з місць ін'єкцій, ніж розчинний людський інсулін, досягають швидше високого піка концентрації за коротший час і мають коротший період виведення.

В даний час ведуться розробки нових перспективних препаратів інсуліну – інгаляційний інсулін (створення інсуліно-повітряної суміші для інгаляцій), оральний інсулін (спрей для ротової порожнини), букальний інсулін (у виді крапель для ротової порожнини). Поступово впроваджуються в клінічну практику інсулінові помпи. Інсулінова помпа (insulin pump) або як її ще називають інсуліновий дозатор – це електромеханічний пристрій для підшкірного введення інсуліну в постійному режимі відповідно до потреб хворого.

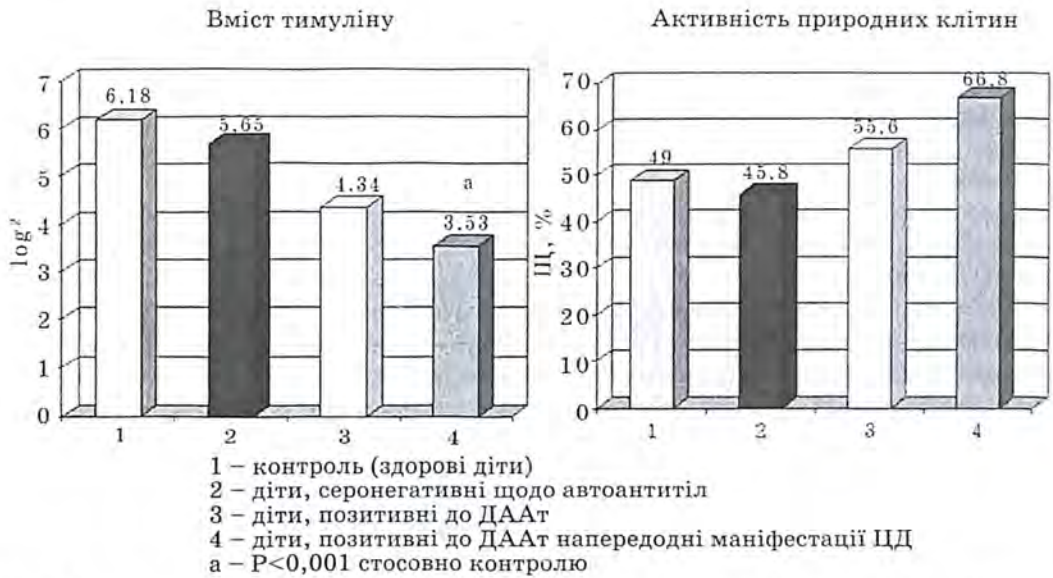
У рамках комплексної програми «Цукровий діабет» створений та функціонує постійно діючий реєстр вагітних, хворих на цукровий діабет, що дозволило вперше з'ясувати дійсний рівень перинатальних втрат за цієї патології в Україні протягом трьох років (2004-2006), встановити їх поточний моніторинг з метою надання якісної спеціалізованої допомоги таким вагітним.

Цукровий діабет займає особливе місце в структурі дитячої ендокринної патології. Діти, хворі на цукровий діабет, складають біля 5 % від загальної кількості хворих з цукровим діабетом і захворюваність на діабет має постійну тенденцію до зростання. На 1.01.2006 р. в Україні було зареєстровано 4642 дитини та 3220 підлітків, хворих на ЦД, що становить 66,4 на 100 тис. населення та 150,5 на 100 тис. населення, відповідно. Від 5 до 10 % вперше виявлених хворих дітей вже мають ускладнення цукрового діабету.

В рамках державної програми «Цукровий діабет» в київському Інституті ендокринології проведені в динаміці дослідження імунітету у дітей групи ризику щодо ЦД. Імунологічне обстеження здійснювали одночасно з визначенням автоантитіл до антигенів β -клітин, інсуліну, тирозинфосфатази-2 (IA-2), декарбоксилази глутамінової кислоти (GAD).

Залучення сучасних методів визначення імунологічного фенотипу і цитологічних досліджень імунокомпетентних клітин у дітей групи ризику, родичі першої лінії яких хворіли на ЦД, дозволило встановити особливості порушень клітинного імунітету, виявити діабетасоційовані антитіла до антигенів бета-клітин острівців Лангерганса та відкрити особливу роль моноцитів в запуску аутоімунного процесу. Радіоімунологічними методами було проведено визначення діабетасоційованих автоантитіл (ДААт) в крові 400 практично здорових дітей з обтяженою спадковістю, родичі першої лінії яких були хворі на ЦД 1 типу.

Встановлено, що у дітей, які ще не мають клінічних ознак ЦД, але в крові яких визначаються високі титри двох або трьох діабетасоційованих автоантитіл (ДААт), спостерігаються істотні порушення в системі імунітету, що наростають в період, який передує клінічній маніфестації діабету (мал. 5).



Мал. 5. Імунологічні показники дітей групи ризику щодо цукрового діабету 1 типу.

Підвищення кількості і секреторної активності моноцитів у дітей з позитивною реакцією на острівцеві антигени узгоджується з даними про секрецію моноцитами головних цитотоксичних цитокінів – інтерлейкіну-1 і фактора некрозу пухлин-альфа, котрі руйнують бета-клітини шляхом утворення вільних радикалів і оксиду азоту. Отримані результати важко переоцінити в плані розшифровки патогенезу цукрового діабету 1 типу. У дітей, які в подальшому захворіли діабетом (протягом року після обстеження), відмічено двократне зниження рівня тимуліну в крові і підвищення на 30-40 % цитотоксичної активності природних клітин-кілерів. Ці клітини можуть проявляти цитотоксичний ефект по відношенню до β-клітин острівців підшлункової залози як безпосередньо, так і опосередковано через продукцію прозапальних медіаторів: вільних радикалів, оксиду азоту і цитокінів, що мають прямий токсичний вплив на β-клітини. Отримані дані мають пріоритетний характер і можуть використовуватися як додаткові маркери майбутнього розвитку цукрового діабету.

Останнім часом відмічається зростання кількості дітей та підлітків, хворих на цукровий діабет 2 типу. Це може бути пов'язане із зростанням кількості дітей та підлітків, що мають надлишкову вагу та ожиріння, і накопиченням патологічних генів в популяції. Виходячи з нашого досвіду, розроблені критерії діагностики цукрового діабету 2 типу у дітей та підлітків.

Патологія росту та статевого розвитку займає одне з провідних місць в структурі дитячої ендокринної патології. Кожний четвертий пацієнт, що звертається до дитячого ендокринолога, скаржиться на патологію росту та/або статевого розвитку. Вперше в Україні створено і продовжує поповнюватися Реєстр хворих на гіпофізарний нанізм, який на сьогодні налічує більш ніж 700 хворих з недостатністю соматотропіну. Це є важливий організаційний крок, оскільки в попередні роки такі хворі зовсім не реєструвалися, і лікарі не мали уявлення скільки таких хворих в Україні. Згідно з даними Реєстру дітей, хворих на гіпофізарний нанізм, поширеність цієї патології складає 0,45 на 10 тис. дитячого населення. На сьогоднішній день на фармацевтичному ринку існує низка

високоякісних препаратів людського гормону росту, і держава протягом двох років закупає ці медикаменти, призначені для хворих на гіпофізарний нанізм віком до 18 років. Це є також дуже важливим кроком в забезпеченні ендокринних хворих, тому що ці ліки мають вкрай велику вартість, і хворі були абсолютно неспроможні придбати їх за свій рахунок. Діти до 18 років, хворі на гіпофізарний нанізм, забезпечені препаратами гормону росту. Оптимізовані схеми лікування з використанням соматотропіну та антигонадотропних препаратів. Показано, що таке лікування сприяє збільшенню дефінітивного росту хворих.

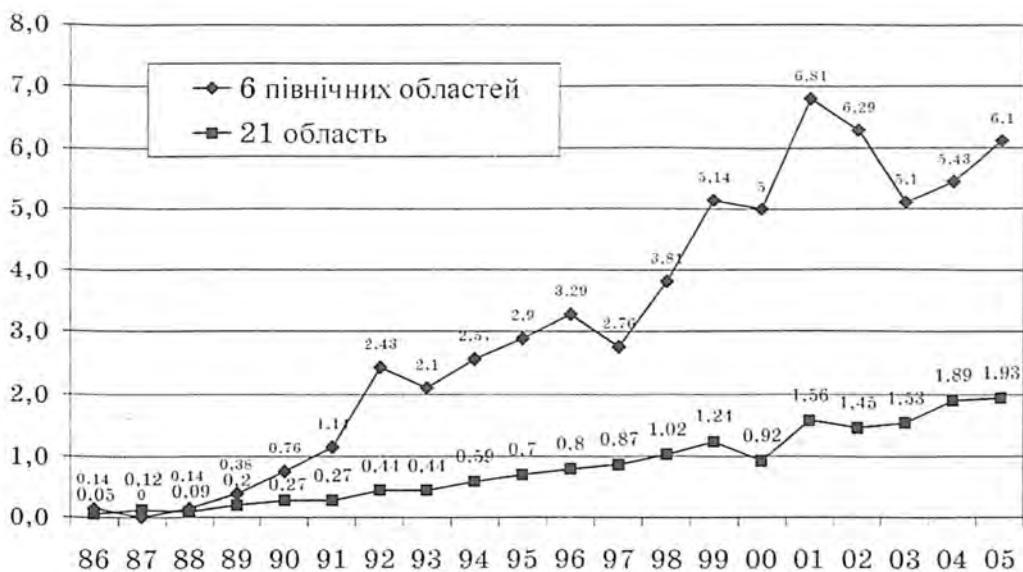
Ще одна дуже важлива проблема, яка може призвести до виникнення цукрового діабету, гіпертонії, серцево-судинної недостатності, патології печінки та підшлункової залози, порушення менструального циклу у дівчат і затримки статевого розвитку у хлопчиків – це ожиріння в дитячому віці. Щорічно в Україні фіксуються у дітей до 14 років біля 60 тисяч нових випадків ожиріння! І цей показник, на жаль, не віддзеркалює реальної ситуації, оскільки ожиріння, особливо на початкових стадіях, офіційно реєструється далеко не завжди. Проблема ожиріння (особливо його профілактики) повинна вирішуватися навіть не стільки за рахунок лікарняної допомоги, скільки за рахунок соціальних організаційних заходів: необхідно сприяти підвищенню фізичної активності дітей та підлітків, підтримувати дитячі спортивні школи та секції, впроваджувати правильне та раціональне харчування дітей в школах, дитячих садках, проводити освітню роботу серед населення тощо.

Існують проблеми з діагностикою та лікуванням (особливо хірургічним) такої патології, як інтерсексуалізм. Все ще зустрічаються випадки невірної реєстрації статі новонародженого, що обумовлює велику кількість як медичних і психологічних, так і соціальних проблем – як у самій дитини, так і у її батьків.

Але особливе місце серед ендокринної патології, у тому числі і в дитячому віці, займає патологія щитоподібної залози (ЩЗ), зокрема рак щитоподібної залози. Вивчення злоякісних пухлин ЩЗ, кількість яких значно зросла після аварії на ЧАЕС, є однією з найважливіших завдань української ендокринології.

З 1992 року в Інституті ендокринології та обміну речовин існує реєстр раку ЩЗ, який містить статистичні дані ендокринологів і онкологів всіх областей України і аналіз історій хвороб всіх хворих, що лікувалися в Інституті. Кількість випадків раку ЩЗ збільшується, переважно за рахунок осіб, яким у 1986 році було від 0 до 14 років. Найбільше зростання захворюваності простежується в найбільш забруднених північних регіонах (мал. 6). На цій території прослідковується дозова залежність додаткової захворюваності раком ЩЗ серед вікових груп 0-4 та 5-18 років на момент аварії на ЧАЕС. Кількість випадків раку ЩЗ значно зростає при дозі радіації 1 Грей і більше для дітей у віці 0-4 роки і меншою мірою – у віці 5-18 років.

В реєстрі, створеному в Інституті, за період 1986-2005 рр. зафіксовано 4065 випадків раку ЩЗ. У всіх вікових групах основним гістологічним типом раку є папілярна карцинома. Найагресивнішими в межах цього типу є пухлини солідного варіанту. Проте визначити єдиний тип структури післячорнобильських раків, за нашими даними, неможливо. Зі збільшенням часу після аварії знижується кількість регіонарних метастазів в лімфовузлі та віддалених метастазів у легені. Має місце збільшення відсотка маленьких за розмірами пухлин серед прооперованих хворих. Це може бути зумовлено як зміною характеристик хвороби, так і інтенсифікацією скринінгу, а також покращенням діагностичних можливостей.



Мал. 6. Захворюваність на рак щитоподібної залози у дітей віком 0-14 років на момент аварії на ЧАЕС по регіонах України (на 100 000 відповідної популяції).

В Інституті ендокринології та обміну речовин створений клінічний протокол діагностики і лікування вузлової патології ЩЗ. Ми переглянули раніше прийняту практику органозберігаючих операцій і повністю перейшли на тотальну тиреоїдектомію при карциномах ЩЗ. Це робить можливим виконання абляції радіоактивним йодом і адекватний моніторинг в подальшому. Така тактика знижує ризик рецидивів у порівнянні з органозберігаючими операціями у 3,2 рази. Ця хірургічна тактика в лікуванні раку ЩЗ отримала міжнародне визнання фахівців.

З 2005 року в Інституті впроваджена методика використання рекомбінантного людського тирогену, який дозволяє уникнути небажаних явищ при відміні супресивної гормональної терапії. На сьогоднішній день тироген використовують і він внесений у Стандарти лікування раку щитоподібної залози в клініках Європи та США.

Значне зростання кількості папілярних карцином щитоподібної залози змусило вчених всього світу звернути увагу на їх ретельний аналіз. Молекулярно-біологічні дослідження післячорнобильських папілярних карцином із коротким латентним періодом розвитку виявили високу частоту RET/PTC-перебудов (із значним превалюванням RET/PTC3), поодинокі BRAF-мутації. Показано, що тип транслокацій у гені Ret тісно пов'язаний з віком оперованих пацієнтів, при цьому для дітей характерними є транслокації PTC3, а для більш дорослих пацієнтів – транслокації PTC1. Подібна залежність молекулярно-біологічних перебудов також прослідковується при вивченні BRAF-мутацій: відсоток випадків з такими мутаціями значно зростає із збільшенням віку оперованих пацієнтів і у переважній більшості випадків пов'язаний з типовою папілярною будовою карциноми.

Ще одним важливим напрямом є дослідження імунної системи при захворюваннях щитоподібної залози. Впродовж багатьох років проводиться імунологічний моніторинг пацієнтів різних вікових груп (зокрема дітей і підлітків) з доброякісними і злоякісними новоутвореннями ЩЗ. За цей час було обстежено близько 1000 хворих, багато з них – в динаміці у процесі комплексного

лікування. Досліджувалися показники різних ланок імунної системи, що характеризують як загальну імунологічну реактивність організму, так і його протипухлинний потенціал. Отримані результати були проаналізовані залежно від віку і статі пацієнтів, поширеності і гістологічного типу пухлини та ряду інших параметрів.

Встановлено, що у хворих на рак ШЗ відбуваються виражені порушення в імунній системі, що виявляється у змінах фенотипічних характеристик і функцій лімфоцитів периферичної крові, зниженні ендокринної функції тимуса, пригніченні клітинних і гуморальних чинників неспецифічного протипухлинного захисту. При доброякісних новоутвореннях зміни імунологічних параметрів не такі численні і глибокі, як у разі тиреоїдних карцином.

Показано, що порушення більшою мірою стосуються факторів неспецифічного імунітету. Більш виражені зміни в імунній системі виявлені у пацієнтів чоловічої статі, при екстратиреоїдних формах раку і наявності метастазів в легені і кістки. Проведена оцінка інформативності окремих імунологічних показників в плані їх кореляції з клінічним станом хворих з метою використання в контролі лікування.

Логічним продовженням і розвитком цього напрямку стало дослідження впливу радіойодтерапії на імунну систему. Якщо раніше радіоактивний йод застосовували переважно як рутинний засіб діагностики, для лікування легневих метастазів, а також у хворих з високим ризиком розвитку рецидиву хвороби, то тепер у багатьох клініках радіойодтерапія є обов'язковим компонентом протоколу лікування тиреоїдного раку.

Встановлено, що у хворих на рак ШЗ через добу після прийому радіойоду в терапевтичних дозах спостерігаються суттєві зміни фенотипічних характеристик лімфоцитів периферичної крові, а саме: знижується вміст Т-лімфоцитів (CD3+), головним чином, за рахунок субпопуляції хелперних клітин (CD4+). Зниження кількості В-лімфоцитів спостерігалось у 70 % хворих, а у деяких пацієнтів вміст цих клітин зменшувався у 2-3 рази.

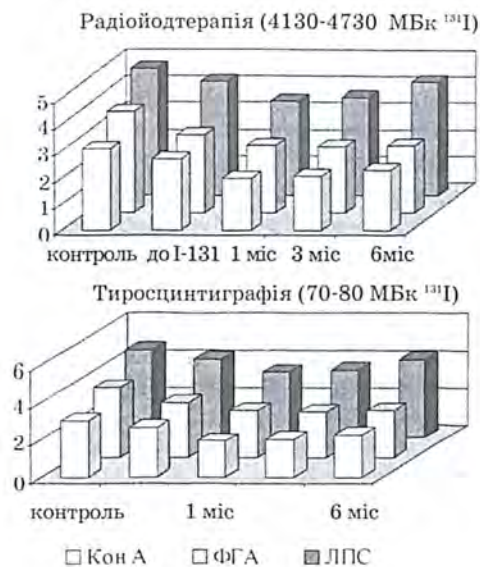
Найбільш виражені порушення в системі імунітету спостерігаються через місяць після введення як діагностичних, так і терапевтичних доз радіойоду, а зміни деяких імунологічних показників зберігаються протягом усього періоду спостереження – 6 міс. Порушення імуногенезу залежать від введеної активності радіойоду, що проявляється в ступені змін імунологічних показників і/або в їх тривалості (мал. 7).

У результаті цих досліджень передбачається отримати пріоритетні дані про радіочутливість лімфоцитів різного фенотипу і оцінити імуногематологічні наслідки радіойодтерапії, їх ступінь і тривалість. Практичним результатом досліджень буде визначення доцільності і розробка показань до застосування методів імунотерапії в комплексному лікуванні хворих на рак ШЗ.

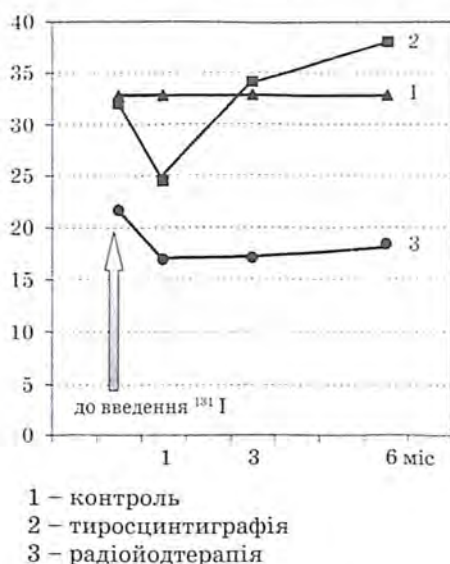
Фармакотерапія раку ШЗ на сьогодні є малоефективною, тому необхідним є пошук нових засобів і підходів до лікування. Серед активних сучасних сполук нашу увагу привернув таксол, дослідження властивостей якого ми провели за участю японських колег з університету Нагасакі.

Культивовані клітини анапластичного і фолікулярного раку ШЗ гинули в присутності низьких концентрацій таксолу. Нормальні клітини ШЗ були значно стійкішими до дії таксолу (мал. 8). Цей надзвичайно важливий факт, який свідчить про вибіркочу дію препарату щодо ракових клітин, пояснюється тим, що таксол діє на мікротрубочки, які беруть участь у поділі клітини, а ракові клітини діляться значно інтенсивніше, ніж нормальні.

Проліферативна активність лімфоцитів



Цитотоксична активність природних клітин-кілерів



Мал. 7. Динаміка змін імунологічних показників у хворих на рак ЩЗ після застосування різних доз йоду-131.

Досліди на мишах, яким були підсажені клітину раку ЩЗ, показали, що таксол сам по собі та, особливо, в комбінації з опроміненням пухлини (доза 5 Грей) призводить до значної редукції пухлини, або до повного її зникнення. Отже, таксол, особливо в комбінації з іонізуючою радіацією, є перспективним препаратом для лікування пухлин ЩЗ (перш за все, анапластичного раку).

Найбільша кількість операцій в ендокринній хірургії – це хірургічне лікування захворювань щитоподібної залози. Дотепер в Україні залишається досить високою оперативна активність при лікуванні захворювань ЩЗ. Вона складає 1,69 операцій на 10 000 населення, що, безумовно, потребує визначення строгих показань і проведення стандартизації протоколів лікування вузлових форм зоба і пухлин ЩЗ.

У роботі ендокринологів України великої уваги надавалось проблемі вивчення тиреоїдної патології, що зумовлена йодною недостатністю. Потрібно зауважити, що проблема в світі і в Україні відома давно, але останнім часом цій проблемі надається особливого значення. Вважається, що ліквідація йододефіцитних захворювань є однією з найбільш актуальних проблем у медицині. Це обумовлено їхньою великою поширеністю й поліморфізмом соматичних і психічних порушень, з одного боку, й простотою боротьби з ними шляхом застосування йодованої солі, з іншої.

Останнім часом показано, що внаслідок дефіциту йоду розвивається ціла низка патологічних змін, які отримали назву йододефіцитних захворювань, серед них: кретинізм, дифузний зоб, вроджений гіпотиреоз, висока перинатальна смертність, вроджені вади розвитку, відставання у фізичному і психічному розвитку, глухонімота, спастичні дисплеїї, висока смертність немовлят, ювенільний гіпотиреоз, анемії, порушення репродуктивної функції (безплідність, невиношування вагітності, передчасні пологи) та ін.

Найгіршим наслідком дефіциту йоду є народження розумово неповноцінних дітей. На думку експертів ВООЗ, недостатність йоду призводить до най-

поширенішої форми розумової відсталості, яку можна попередити раціональною профілактикою.

У 1997-2006 рр., при підтримці ВООЗ, дитячого фонду ООН ЮНІСЕФ та Всесвітнього Центру з ліквідації йодозалежних захворювань США, Інститутом ендокринології були проведені масові дослідження йододефіциту у регіонах, що постраждали від аварії на ЧАЕС, та на всій території країни. Національні дослідження 2002-2003 рр. показали, що відбувається поступове поліпшення йодного забезпечення, але більшість населення страждає від йододефіциту (мал. 9).

Проведені дослідження засвідчили актуальність проблеми для всієї території України. Було показано, що більше 1,5 млн людей в Україні мають захворюю-



Мал. 9. Показники екскреції йоду з сечею (медіана, мкг/л) у дітей різних регіонів України.

вання щитоподібної залози, пов'язані з йодною недостатністю, з них – майже 500 тисяч дітей. Страждає фізичний та інтелектуальний розвиток населення, особливо дітей, виникає патологія вагітності з затримкою внутрішньоутробного розвитку дітей, анеміями у вагітних і новонароджених, токсикозами, передчасними пологами, вадами внутрішньоутробного розвитку та смертністю новонароджених. Згідно з існуючими розрахунками, щорічно 33 068 дітей в Україні народжуються з відставанням у інтелектуальному розвитку. Щороку загальний інтелект нації втрачає 446 418 пунктів IQ. Якщо ситуація не зміниться, то за 10 років жінки з йодним дефіцитом народять 18 000 дітей з важкими ураженнями психіки, 320 000 дітей із зниженим інтелектом, які гірше навчатимуться в школі, а надалі матимуть низьку продуктивність праці. Протягом 10 років проводиться вивчення йододефіциту в регіонах, що постраждали після Чорнобильської аварії. Незважаючи на деякі зміни, проблема залишається невирішеною.

Одним із шляхів для вирішення проблеми йодного дефіциту є розробка відповідної законодавчої та нормативної бази, створення ефективних механізмів її впровадження. Академією медичних наук подано обґрунтування для прийняття в Україні закону «Про попередження станів і захворювань, спричинених йодною недостатністю». Основними статтями закону передбачається постійний моніторинг йодної забезпеченості та захворюваності населення і впровадження масової йодної профілактики шляхом вживання йодованої солі. Проект закону знаходиться на розгляді у Верховній Раді.

На сьогодні розроблені та впроваджуються в життя національні стандарти діагностики та лікування ендокринної патології як для дорослого, так і для дитячого населення. Стандарт (або протокол) діагностики та лікування дає вірні орієнтири лікарю відносно проведення обов'язкових діагностичних і лікувальних заходів в найбільш типових ситуаціях – як в амбулаторних умовах, так і у стаціонарі. Це знижує кількість лікарських помилок та полегшує працю фахівців, хоча практичне впровадження цих стандартів не обходиться без труднощів. До того ж, слід пам'ятати, що наука розвивається, з'являються нові методи діагностики та лікування, тому всі стандарти повинні постійно переглядатися та вдосконалюватися.

Одним із важливих напрямів ендокринології в Україні є плідна наукова співпраця з міжнародною ендокринологічною спільнотою. Це буде сприяти інтеграції у світову науку. Перші значні кроки в цьому напрямі зроблені, але цю роботу нам потрібно значно активізувати (табл. 6).

Таблиця 6. Співробітництво ендокринологів України з міжнародними організаціями та закордонними науковими установами



Отже, підсумовуючи, надалі основні зусилля фахівців-ендокринологів мають бути спрямовані на такі напрями:

- фундаментальні дослідження механізмів дії гормонів;
- молекулярно-генетичні дослідження канцерогенезу у щитоподібній залозі;
- вивчення взаємодії імунної та ендокринної систем, насамперед, при цукровому діабеті та патології щитоподібної залози;
- пошук ранніх методів діагностики, лікування і профілактики ендокринних хвороб;
- впровадження сучасних методів ендоскопічної діагностики та лікування;
- створення та виробництво вітчизняних фармакологічних препаратів для хворих з ендокринною патологією.

Ми з оптимізмом дивимося у майбутнє, але якщо думати про перспективи розвитку, то держава повинна кардинально на краще змінити своє ставлення до науки. Насамперед, йдеться про матеріально-технічне і фінансове забезпечення наукових установ та створення відповідних умов для творчої праці.

ВИВЧЕННЯ ЙОДНОЇ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ ЖІНОК ТА ДІТЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ

В.І. Кравченко¹, Л.А. Ткачук^{1*}, М.В. Власенко², Ф.Г. Прудіус³,
І.А. Лузанчук¹, В. М. Михайлець⁴

¹Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, м. Київ, 04114; ²Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, 21018; ³Вінницький обласний ендокринологічний диспансер, м. Вінниця, 21010;

⁴Полтавська обласна лікарня, м. Полтава, 36000; Україна

Дослідили стан йодної забезпеченості репрезентативних груп жінок і дітей у трьох областях Центрального регіону України – Хмельницькій, Вінницькій та Полтавській. Вивчали екскрецію йоду з сечею і об'єм щитоподібної залози у 30 жінок та 60 дітей в кожному з чотирьох кластерів кожної області, ґрунтуючись на критеріях ВООЗ. Виявлена легка недостатність йоду серед населення регіону, медіана йодурії дорівнювала 76,1 мкг/л. Нормальні показники йодної забезпеченості спостерігалися лише у третини обстежених мешканців. Частота дифузного збільшення щитоподібної залози у обстеженого контингенту населення становила 41 % у дітей та 37,5 % у жінок.

Ключові слова: йододефіцит, екскреція йоду з сечею, медіана, щитоподібна залоза, дифузний зоб, кластери, жінки та діти.

Центральний регіон України не вважався традиційно ендемічним за зобом і тяжким йододефіцитом (ЙД), тому пильної уваги до вивчення цього явища як, наприклад, це було в західних областях, не приділялося. Проте ці території внаслідок свого географічного розташування ніколи і не були йодонасиченими, а частота випадків зоба, за результатами офіційної статистики, мало відрізнялася від аналогічних середніх показників у країні [1]. Крім того, вказані області не мають статусу забруднених внаслідок Чорнобильської аварії, як північна частина країни, і це також послабило увагу медичної спільноти до вивчення стану тиреоїдної системи у населення. Втрачена за останні десятиліття система профілактичних заходів та недостатня увага до поширеності патології щитоподібної залози (ЩЗ) негативно позначилися на показниках захворюваності, насамперед на дифузний нетоксичний зоб, оскільки він не має яскравих клінічних проявів, зате має дискусабельні критерії діагностики, орієнтовані на додаткові ультразвукові методи. З іншого боку, активна пропаганда в засобах масової інформації здорового способу життя, боротьби за здорове покоління сприяла підвищенню рівня обізнаності населення з проблемою йододефіциту і збільшенню обсягу споживання, подекуди неконтрольованого, йодовмісних продуктів та препаратів. На сьогодні практично не йдеться про осередки тяжкої йодної ендемії, як це мало місце на початку минулого сторіччя, і навіть ін-

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

дивідуальні випадки йодурії в межах тяжкої йодної нестачі трапляються спорадично. В більшості країн світу вже давно з'ясували всю небезпечність наслідків йододефіциту для людини, розробили та впровадили заходи подолання цього явища і в даний час проводять моніторинг ситуації та удосконалюють методи профілактики [2]. В Україні також активно вивчається стан йодного забезпечення населення різних територій, орієнтуючись на критерії ВООЗ, та робляться перші кроки щодо налагодження системи моніторингу.

Метою роботи стало епідеміологічне дослідження рівня йодного забезпечення жінок репродуктивного віку та дітей 6-12 років і частоти дифузної збільшення щитоподібної залози у Центральному регіоні України.

Матеріали і методи

Основними нормативними документами, які позначили та регламентували проведення дослідження, стали спільний наказ МОЗ та АМН України «Про затвердження плану-графіку обстежень репрезентативних груп населення в рамках системи біологічного моніторингу на 2004-2005 роки» №219/32 від 27.04.2004 р. і Постанова Кабінету Міністрів України №1418 від 26.09.2002 р. «Про затвердження Державної програми профілактики йодної недостатності у населення на 2002-2005 роки». Центральний регіон представляли три області – Вінницька, Полтавська та Хмельницька. На території кожної області методом рівномірного розподілу обрали по 4 населені пункти (надалі – кластери), куди увійшли і міста, і менші за чисельністю населення селища. В кожному кластері обстежено по 30 жінок репродуктивного віку (17-49 років) та 60 дітей (30 хлопчиків і 30 дівчаток) віком 6-12 років. Загалом у дослідженні взяли участь 1080 осіб з трьох областей (12 кластерів, 90 обстежених в кожному).

У виявленні ступеня йодної забезпеченості ґрунтувалися на таких показниках, як вміст йоду у сечі та частота випадків зоба. Пальпаторне та УЗ-дослідження ЩЗ усім обстеженим було проведене фахівцем районної поліклініки, а зібрані проби сечі доправили до Інституту ендокринології та обміну речовин. Об'єм щитоподібної залози вимірювали за методом Brunp [3]. Визначення вмісту йоду у сечі робили церій-арсенітним методом Sandell-Kolthoff в модифікації Dunn [4], результати дослідження трактували згідно з критеріями ВООЗ: медіанне значення екскреції йоду з сечею (ЕЙС) в межах 0-20 мкг/л свідчило про тяжкий ЙД, від 20 до 49,9 мкг/л – середній ступінь тяжкості та рівень йодурії від 50 до 99,9 мкг/л – про легкий йододефіцит. Показник медіани ЕЙС понад 100 мкг/л вказував на достатнє споживання мікроелемента.

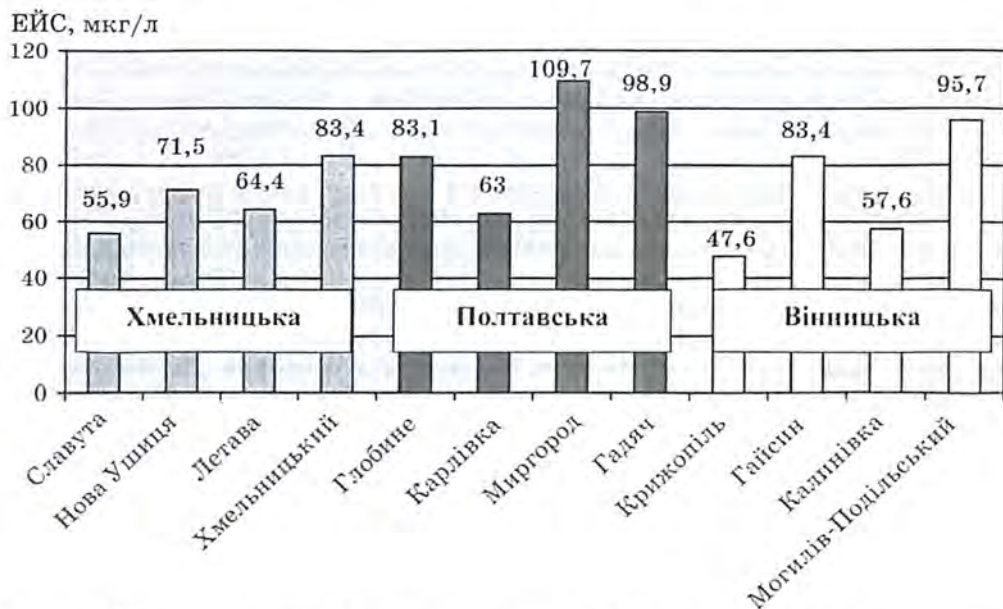
За визначеннями фахівців ВООЗ 1993 р. [5], репрезентативною у вивченні йододефіцитних станів, окрім дорослих, виступає група дітей препубертатного віку, від 6 до 12 років. В нашому дослідженні використовувалися сучасні норми об'єму ЩЗ, запропоновані М.В. Zimmermann та співавторами у 2003 р. [6], які обстежили 3 529 дітей з різних, достатньо забезпечених йодом країн, і на підставі ультрасонографічного дослідження розраховали середні розміри щитоподібної залози для хлопчиків та дівчаток кожної вікової категорії. Для жінок за верхню межу норму вважали об'єм залози 13 см³ [7].

Результати та їх обговорення

Сумарний показник йодного забезпечення населення досліджених областей Центрального регіону становив 76,1 мкг/л, що відповідає легкому його дефіциту. Медіана екскреції йоду з сечею на сьогодні виступає найбільш показовим і точним критерієм йодного забезпечення населення на популяційному рівні. Правильно сформована, епідеміологічно обґрунтована вибірка обстежених груп є репрезентативною для населення всього регіону, тому кластерний

метод вивчення мікронутрієнтної недостатності використовується в усьому світі.

Серед 12 досліджених кластерів Центрального регіону (діаграма) тільки в одному населеному пункті – м. Миргороді Полтавської області – медіана ЕЙС досягала нормальних значень. Населення решти кластерів перебувало в стані йодного дефіциту різного ступеня тяжкості, від помірного до легкого. Найгіршою ситуація виявилася у м. Крижополі (медіана 47,6 мкг/л), м. Славуті (медіана 55,9 мкг/л) та м. Калинівці (57,6 мкг/л). За критеріями ВООЗ, населення Крижополя мало середній ступінь тяжкості йодної нестачі, у жителів Славуті і Калинівки цей показник вказував на легкий дефіцит йоду, проте межував із помірним. Подібна ситуація спостерігалася і у мешканців сіл Летави і Карлівки (медіана 64,4 та 63 мкг/л, відповідно). Децю вищим виявився показник медіани йодурії у жінок та дітей с. Нова Ушиця (71,5 мкг/л), приблизно однаковим було йодне забезпечення жителів м. Хмельницького, с. Глобине і с. Гайсин, та найкращі показники йодної насиченості у мешканців с. Гадяча і м. Могилева-Подільського (98,9 та 95,7 мкг/л) – вони наближалися до нормальних. Загалом ситуація у регіоні склалася вкрай несприятлива, адже тільки один кластер із дванадцяти можна відзначити, як йодозабезпечений, населення більшої частини регіону потребує дотації мікроелемента.



Діаграма. Медіана екскреції йоду з сечею (мкг/л) у населення досліджених кластерів трьох областей Центрального регіону України.

Більш детальний аналіз йодного забезпечення обстежених груп, глибини йодної недостатності та кластерів кожної області представлений у подальших таблицях.

Медіана ЕЙС у жителів Хмельницької області (табл.1) становила 69,26 мкг/л, що характеризує легкий йододефіцит. Проте стосовно референтних меж діапазону легкої йодної нестачі (50-99,9 мкг/л), цей показник наближається до нижньої, що свідчить про велику питому вагу випадків помірного або важкого йододефіциту. Із всієї кількості обстежених мешканців області тільки 29,7 % (107 осіб) споживали достатню кількість мікроелемен-

Таблиця 1. Йодне забезпечення жінок і дітей в досліджених кластерах Хмельницької області

Населений пункт	Група обстежених	Екскреція йоду з сечею, мкг/л (%)				Медіана, мкг/л
		0-19,9	20-49,9	50-99,9	≥100	
м. Славути						
	хлопчики	3,3	43,3	36,7	16,7	57,19
	дівчатка	13,3	36,7	33,3	16,7	50,53
	жінки	10	26,7	20	43,3	87,95
с. Нова Ушиця						
	хлопчики	3,3	23,3	46,6	26,7	71,48
	дівчатка	10	13,3	40	36,7	78,22
	жінки	10	30	26,7	33,3	63,21
с. Летава						
	хлопчики	10	30	46,6	13,3	60,26
	дівчатка	6,7	26,7	46,6	20	65,97
	жінки	20	16,7	43,3	20	60,04
м. Хмельницький						
	хлопчики	10	26,7	33,3	30	61,75
	дівчатка	3,3	16,7	23,3	56,7	158,39
	жінки	3,3	10	43,3	43,3	94,33
	Загалом	31(8,61)	90(25)	132(36,7)	107(29,7)	69,26

та, це менше третини населення. У 36,7 % (132 особи) дефіцит йоду мав характер легкого, ще у чверті жителів виявлений помірний йододефіцит. Неприятливим чинником є те, що у кожному кластері, в кожній дослідженій групі як дорослих, так і дітей спостерігалися випадки надзвичайно низького вмісту йоду у сечі, що свідчить про тяжку його недостатність. Таких осіб було в області 31 (8,6 %), найбільше серед дівчат і жінок Славути і Нової Ушиці (10-13,3 %), хлопчиків Летави і Хмельницького (по 10 %), та ще більше серед жінок Летави – 20 % осіб.

Недостатність йоду в організмі спроможна призвести до цілого ряду розладів і захворювань не тільки з боку щитоподібної залози, але і до екстратиреоїдної патології. Особливо небезпечна йодна нестача в дитячому віці, коли організм формується і стає дуже уразливим до змін біохімічного та гормонального гомеостазу. Йодний дефіцит середньої тяжкості за своїми наслідками мало чим відрізняється від важкого, оскільки здатний так само пригнічувати синтез тиреоїдних гормонів і перешкоджати нормальному розвитку дитини [8]. В нашому дослідженні у Хмельницькій області помірний йодний дефіцит був притаманний значній частині населення. Так, близько третини всього населення Славути мали йодурію в межах 20-49,9 мкг/л, при цьому хлопчиків з такими значеннями ЕЙС була майже половина – 43,3 %. Велике число дітей с. Летави перебувало в такому ж стані, третина хлопчиків та 26,7 % дівчат, і стільки ж хлопчиків Хмельницького (26,7 %). Стосовно питомої ваги результатів вмісту йоду в сечі у діапазоні 50-99,9 мкг/л, розподіл виявився досить однорідним і склав близько третини обстеженого населення у кластерах, і загалом охопив 36,7 % населення області.

Достатня насиченість йодом організму зумовлює нормальну екскрецію йоду з сечею. Показник ЕЙС вище 100 мкг/л спостерігався у 43,3 % жінок міст Славути і Хмельницького та у 56,7 % дівчаток обласного центру. Решта обстеженого населення мала нормальні цифри йодурії у дуже незначному проценті випадків – від 13,3 до 33,3 % у різних кластерах. Середній показник, медіана ЕЙС, у всіх досліджених кластерах області (за винятком дівчат Хмельницького – медіана 158,39 мкг/л) був у діапазоні

легкого йодного дефіциту, у дітей медіана йодурії складала 68,04 мкг/л, у жінок – 70,19 мкг/л.

Ситуація з йодним забезпеченням мешканців Полтавської області виявилася дещо кращою (табл. 2). Медіана йодурії становила 89,87 мкг/л, у дітей області за цим показником йододефіцит відсутній – медіана 102,4 мкг/л, у жінок недостатність йоду була легкою – медіана 69,2 мкг/л.

Таблиця 2. Йодне забезпечення жінок і дітей в кластерах Полтавської області

Населений пункт	Група обстежених	Екскреція йоду з сечею, мкг/л (%)				Медіана, мкг/л
		0-19,9	20-49,9	50-99,9	≥100	
с. Глобине						
хлопчики	-	43,3	26,7	30	61,68	
дівчатка	16,7	16,7	20	46,6	96,47	
жінки	13,3	16,7	30	40	77,56	
с. Карлівка						
хлопчики	-	23,3	23,3	53,3	102,87	
дівчатка	6,7	20	30	43,3	94,99	
жінки	23,3	46,7	30	-	35,37	
м. Миргород						
хлопчики	10	6,7	20	63,3	124,24	
дівчатка	-	16,7	23,3	60	132,3	
жінки	10	26,7	30	33,3	69,98	
с. Гадяч						
хлопчики	-	6,7	26,7	66,7	111,1	
дівчатка	10	30	13,3	46,7	85,89	
жінки	-	6,7	56,7	36,7	89,87	
Загалом		27(7,5)	78(21,7)	100(27,8)	155(43,1)	89,87

Велика частина обстежених жителів споживала достатню кількість йоду з продуктами харчування, що і зумовило високі показники йодурії майже у половині населення (43,1 %). У кластерах м. Миргорода і с. Гадяча серед дітей таких осіб було понад 60 %, половина хлопчиків с. Карлівки та дівчат с. Глобине також мали достатню насиченість організму йодом.

Легка йодна недостатність виявлена у 27,8 % обстежених з приблизно однаковим розподілом по кластерах – 20-30 %, тільки у жінок с. Гадяча легкий йододефіцит був виражений більше (56,7 %). Помірна нестача йоду в організмі спостерігалася у 78 осіб, що склало 21,7 % обстежених. Багато дітей з недостатністю мікроелемента в раціоні виявлено серед хлопчиків с. Глобине і с. Карлівки (43,3 та 23,3 %, відповідно), дівчат с. Гадяча (30 %) та жінок м. Миргорода (26,7 %). Випадки гострого йододефіциту також мали місце в Полтавській області, таких жителів було 27 (7,5 %) з яскравим переважанням жіночого населення. В с. Глобине виявлено 16,7 % дівчат і 13,3 % жінок з гострою нестачею йоду, в с. Карлівка таких дівчат було менше – 6,7 %, але жінок більше – 23,3 %. Ще по 10 % у групі жінок м. Миргорода і дівчат с. Гадяча мали критично низьке споживання йоду.

Те, що в структурі обстеженого населення більш незадовільно забезпечений йодом жіночий контингент, має свій сенс і свої фатальні наслідки. Жінка виступає об'єктом репродукції, від цілісності функціонування її організму залежить потенціал здоров'я нащадків [5]. Оскільки ефект збіднення генофонду накопичується в поколіннях, через декілька десятків років легке відставання IQ у населення ендемічних регіонів може мати глобальні обсяги. Не менш важливим є стан фізичного здоров'я, тривалість та якість життя, адже в Україні, зокрема

останнім часом, проблема зниження демографічних показників набула трагічних розмірів. Виходячи із сказаного, очевидним стає пріоритетність проведення профілактичних заходів саме у жіночої частини ендемічних територій.

Вінницька область – ще один регіон в центральній частині країни, охоплений дослідженням, представлений кластерами с. Крижопіль, с. Гайсин, м. Калинівка та м. Могилів-Подільський. За медіаною вмісту йоду у сечі обстежених мешканців – 78,3 мкг/л – констатовано легкий йододефіцит, як це було і в попередніх областях. Проте у жінок Вінницької області цей показник виявився найнижчим по регіону, він становив 58,3 мкг/л, діти мали медіану йодурії в діапазоні легкої йодної нестачі – 86,5 мкг/л.

В розрізі кластерів ситуація склалася дуже несприятливою в с. Крижополі та м. Калинівці (табл. 3). Так, в Крижополі низька медіана ЕЙС у дівчат (33,3 мкг/л) і у жінок (36,98 мкг/л) свідчила про йодну недостатність середньої тяжкості, це ж стосується жінок Калинівки – медіана 43,6 мкг/л, незначно кращим було йодне забезпечення дівчаток у цьому кластері – медіана 63,12 мкг/л. Решта обстежених груп області мали легку нестачу мікроелемента, винятком стали дівчатка Могилів-Подільського, вони достатньо споживали йоду – медіана 136,7 мкг/л.

Таблиця 3. Йодне забезпечення жінок і дітей в досліджених кластерах Вінницької області

Населений пункт	Група обстежених	Екскреція йоду з сечею, мкг/л (%)				Медіана, мкг/л
		0-19,9	20-49,9	50-99,9	≤100	
с. Крижопіль						
	хлопчики	6,7	13,3	33,3	46,7	90,89
	дівчатка	33,3	30	16,7	20	33,3
	жінки	30	33,3	26,7	10	36,98
с. Гайсин						
	хлопчики	6,7	13,3	36,7	43,3	91,2
	дівчатка	0	33,3	26,7	40	88,5
	жінки	3,3	26,7	43,3	26,7	71,06
м. Калинівка						
	хлопчики	-	37,9	34,5	27,6	75,31
	дівчатка	14,3	25	35,7	25	63,12
	жінки	10	43,3	26,7	20	43,57
м. Могилів-Подільський						
	хлопчики	6,9	13,8	31	48,3	91,08
	дівчатка	-	3,3	30	66,7	136,71
	жінки	-	10,3	65,5	24,1	83,42
	Загалом	33(9,3)	84(23,7)	120(33,8)	118(33,2)	78,31

У Вінницькій області, порівняно з попередніми, виявлено найбільше число осіб з тяжким йододефіцитом, їх було 33 (9,3 %). Переважно це дівчатка і жінки Крижополя (33,3 та 30 %, відповідно), і жіноча частина обстежених м. Калинівки (14,3 % дівчаток та 10 % жінок). Цілком закономірно, що у цих групах питома вага осіб з достатнім споживанням йоду була найнижчою – не більш як 20 % осіб мали йодурію понад 100 мкг/л. Загалом, в жодному з досліджених кластерів процент жінок і дітей без йододефіциту не досягав половини жителів і лише третина мешканців області вживала йод в потрібній кількості. Подібним був розподіл результатів вмісту йоду у сечі в діапазонах легкого (33,8 %) та помірного (23,7 %) йодного дефіциту. В цілому ситуація в області характеризується як негативна, оскільки 66,8 % населення, в тому числі дитячого, потерпає від нестачі йоду в організмі.

Ще одним важливим фрагментом дослідження стало вимірювання розмірів щитоподібної залози за допомогою УЗ-апарата та порівняння отриманих результатів з допустимими нормами для різного віку і статі (стосовно дітей). Таблиця 4 демонструє залежність між частотою випадків збільшення залози та йодним забезпеченням дорослих і дітей за критеріями норми, описаними в методичному розділі.

Як видно, спостерігається чітка кореляція між дифузним збільшенням паренхіми залози внаслідок тривалої стимуляції гіпофіз-тиреоїдної системи і кількістю спожитого йоду. Це яскраво видно на прикладі мешканців с. Крижополя і с. Летава, дітей м. Калинівки та м. Славути, жінок с. Глоби-

Таблиця 4. Середній об'єм ЩЗ та частота її збільшення у населення Центрального регіону

Населений пункт	Група обстежених	Об'єм ЩЗ, см ³ (M±m)	% зоба	Медіана ЕЙС, мкг/л
Вінницька область				
с. Крижопіль	діти	3,94±1,0	60	61,34
	жінки	14,66±5,9	46,7	36,98
с. Гайсин	діти	4,14±1,7	36,7	90,64
	жінки	7,95±3,6	10	71,06
м. Калинівка	діти	5,14±2,4	47,4	71,26
	жінки	12,77±6,3	33,3	43,57
м. Могилів-Подільський	діти	4,23±1,6	35,6	124,81
	жінки	9,36±4,5	13,8	83,42
Хмельницька область				
м. Славути	діти	6,25±3,04	53,3	52,2
	жінки	11,55±6,1	33,3	87,95
с. Нова Ушиця	діти	2,53±1,6	6,7	74,17
	жінки	9,15±4,3	23,3	63,21
с. Летава	діти	4,38±1,7	56,7	65,74
	жінки	16,24±6,5	63,3	60,04
м. Хмельницький	діти	3,85±1,26	31,7	80,59
	жінки	13,44±3,8	53,3	94,33
Полтавська область				
с. Глобине	діти	3,7±1,02	35	84,39
	жінки	19,8±7,06	100	77,56
с. Карлівка	діти	3,5±0,96	11,7	98,15
	жінки	12,3±5,7	36,7	35,37
м. Миргород	діти	4,5±1,7	63,3	127,69
	жінки	10,1±2,7	6,7	69,98
с. Гадяч	діти	4,7±1,3	36,7	107,15
	жінки	10,8±4,1	30	89,87

ного та м. Хмельницького. Певною мірою присутній суб'єктивізм у проведеному дослідженні, особливо в селищах та невеликих містах, де кваліфікація фахівця обмежена можливостями техніки. Так, викликає сумнів виявлений у 100 % жінок с. Глобине дифузний зоб. Проте загальна тенденція до збільшення частоти випадків патології при низькому споживанні йоду яскрава і демонстративна.

Підводячи підсумки проведеної роботи слід зазначити, що 8,4 % жінок і дітей Центрального регіону, а це 91 особа, перебувають у стані важкого йодного дефіциту, тобто є реальна загроза їхньому психо-інтелектуальному розвитку та фізичному здоров'ю. У 252 жителів (23,3 %) нестача йоду

має середній ступінь вираженості, вони також становлять групу високого ризику із захворюваності та недостатньої розумової реалізації. Лише близько третини мешканців регіону (35,2 %) адекватно вдовольняють потребу організму в йоді.

Частота випадків зоба, як більш стабільний у часі показник тиреоїдної гіперстимуляції, показала глибину та тривалість патологічних змін, значення яких не можна недооцінювати. У семи з дванадцяти кластерів – понад 30 % населення (дорослого та дитячого) мали дифузне збільшення ЩЗ, що свідчить, за критеріями ВООЗ, про тяжку йодну ендемію. Це стосується с. Крижопіль і м. Калинівка Вінницької області, м. Славути, с. Летава і самого обласного центра у Хмельницькій області, сіл Глобине і Гадач у Полтавській області. У решті кластерів частота випадків зоба була нерівномірно збільшеною між групою жінок та дітей, проте в жодному випадку за цим критерієм не спостерігалось відсутності йодного дефіциту

Таким чином, на підставі проведеного дослідження можна зазначити тривале недостатнє споживання населенням регіону йоду і, як наслідок цього, на тлі низьких показників вмісту його у сечі виявляється висока частота дифузного збільшення щитоподібної залози. Таке становище диктує необхідність системного застосування профілактичних заходів серед жінок фертильного віку та дітей, моніторинг споживання фізіологічної дози йоду та стану тиреоїдної системи.

Висновки

1. У населення Центрального регіону України спостерігається легка недостатність йоду, медіана екскреції йоду з сечею становить 76,1 мкг/л, при цьому у жінок вона була 67,31 мкг/л, а у дітей – 83,46 мкг/л.

2. Лише близько третини жінок та дітей дослідженого регіону споживає йод в достатній кількості, нормальні показники йодної забезпеченості виявлено у 29,7 % мешканців Хмельницької, 33,2 % жителів Вінницької та у 43,1 % населення Полтавської областей.

3. Частота дифузного збільшення щитоподібної залози у обстеженого контингенту була досить високою: 41 % дітей та 37,5 % жінок мали зоб, і за цим критерієм досліджувані території можна віднести до зони з тяжкою йодною нестачею.

Література

1. Основні показники діяльності ендокринологічної служби України за 2004 рік. Київ, с. 23.
2. WHO, Global Database on Iodine Deficiency «Iodine status worldwide», Geneva, 2004. 48 p.
3. Brunn J., Blocjk U., Ruf J. et al. Volumetrie der Schilddrusenlappen mittels real-time-sonographie // Deutsche Medizinische Wochenschrift. 1981, 106, 1338-1340.
4. 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.
5. WHO, UNISEF, ICCIDD Indicators for assessing iodine deficiency disorders and their control programme // WHO/NUT 1993, 1, 1-33.
6. Zimmermann M.B., Hess S.Y., Benoist B. et al. New reference values for thyroid volume by ultrasound in iodine-sufficient schoolchildren: a WHO/Nutrition for Health and Iodine Deficiency Study Group Report // Am. J. Clin. Nutr. 2004, 79, 231-237.

7. Эпштейн Е. В., Матяшук С.И. Ультразвуковое исследование щитовидной железы: Атлас-руководство. К.: КВЦ, 2004. 382 с.
8. Касаткина Э.П., Шилин Д.Е., Петрова Л.М. и др. Роль йодного обеспечения в неонатальной адаптации тиреоидной системы // Пробл. эндокринологии. 2001, №3, 1-15.
9. Glinoe D., De Nayer P., Delange F. et al. A randomized trial for the treatment of mild iodine deficiency during pregnancy: maternal and neonatal effects // J. Clin. Endocrinol. Metabol. 1995, 80, 258-269.

Изучение йодной обеспеченности женщин и детей центрального региона Украины
 В.И. Кравченко¹, Л.А. Ткачук¹, М.В. Власенко², Ф.Г. Прудюс³, И.А. Лузанчук¹,
 В.М. Михайлец⁴

¹Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, г. Киев, 04114; ²Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, г. Винница, 21018; ³Винницкий областной эндокринологический диспансер, г. Винница, 21010; ⁴Полтавская областная больница, г. Полтава, 36000; Украина

Исследовали состояние йодной обеспеченности репрезентативных групп женщин и детей в трех областях Центрального региона Украины – Хмельницкой, Винницкой и Полтавской. Изучали экскрецию йода с мочой и объем щитовидной железы у 30 женщин и 60 детей в каждом из четырех кластеров каждой области, основываясь на критериях ВОЗ. Выявлена легкая недостаточность йода среди населения региона, медиана йодурии составила 76,1 мкг/л. Нормальные показатели йодной обеспеченности наблюдались только у трети обследованных жителей. Частота диффузного увеличения щитовидной железы у обследованного контингента составила 41 % у детей и 37,5 % у женщин.

Ключевые слова: йододефицит, экскреция йода с мочой, медиана, щитовидная железа, диффузный зоб, кластеры, женщины и дети.

Study of iodine status in women and children from central regions of Ukraine

V.I. Kravchenko¹, L.A. Tkachuk¹, M.V. Vlasenko², F.G. Prudius³, I.A. Luzanchuk¹,
 V.M. Mikhailets⁴

¹V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, Kyiv, 04114; ²N.I. Pyrogov Vinnytsya Medical University, Vinnytsya, 21018; ³Vinnytsya Regional Endocrinology Clinic, Vinnytsya, 21010; ⁴Poltava Regional Hospital, Poltava, 36000; Ukraine

The authors have determined the iodine status of representative groups of women and children in three central regions of Ukraine: Khmelnytsky, Vinnytsya, and Poltava regions. Based on WHO criteria, they have studied urinary iodine excretion and thyroid volume in 30 women and 60 children in each of four clusters of each of the regions. There was evidence of mild iodine deficiency in the population of the above regions – ioduria median was 76.1 µg/L. Normal indices of iodine status were reported only in one third of the study subjects. The incidence of diffuse thyroid enlargement in the population group under study was found to be 41 % for children and 37.5 % for women.

Key words: iodine deficiency, urinary iodine excretion, median, thyroid gland, diffuse goiter, clusters, women and children.

(Надійшла 19.09.2007)

ЗАСТОСУВАННЯ ОРГАНІЧНОЇ ФОРМИ ЙОДУ (БАРБА-ЙОД) ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ТА ПРОФІЛАКТИКИ ДИФУЗНОГО ЕНДЕМІЧНОГО ЗОБА В РЕГІОНІ З ЛЕГКИМ ДЕФІЦИТОМ ЙОДУ

Н.В. Тананакіна^{1*}, В.Н. Корзун², В.І. Кравченко¹, Е.К. Духовенко³

¹Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, м. Київ, 04114; ²Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва АМН України, м. Київ, 02660; ³Обласна клінічна лікарня ім. І.І. Мечникова, м. Дніпропетровськ, 49000; Україна

Проведені дослідження в Дніпропетровській області – регіоні природного легкого йодного дефіциту, із середнім ступенем важкості йодної недостатності в окремих населених пунктах, у 43 жінок з дифузним зобом. Показано, що пероральне щоденне споживання БАД «Барба-йод» у дозі 180 мкг протягом 3 міс призводить до регресу об'єму щитоподібної залози (ЩЗ), нормалізації її розмірів у третини обстежених. Виявлено, що використання препарату «Барба-йод» викликає підвищення медіани йодурії до 179,38 мкг/л, при цьому спостерігалось зниження рівня ТТГ, вірогідне збільшення рівня вільного тироксину в крові та деяке зменшення концентрації антитіл до тиреоглобуліну і тиреопероксидази. Використання жінками в домогосподарствах йодованої солі (40 мг/кг) також спричиняло нормалізацію йодурії до 141,7 мкг/л. Істотних змін об'єму ЩЗ через 3 міс від початку застосування солі не спостерігалось. Зроблено висновок, що БАД «Барба-йод» може успішно застосовуватися для групової йодної профілактики в осіб з дифузним зобом, у той же час використання йодованої солі є ефективним засобом масової профілактики йодного дефіциту для всього населення.

Ключові слова: щитоподібна залоза, зоб, Барба-йод, йодована сіль, йодурія, ультразвукове дослідження, йодна недостатність.

Дефіцит йоду займає одне з перших місць серед мікроелементозів як за поширеністю, так і за причиною виникнення патології у населення планети.

В Україні майже вся територія потерпає від нестачі йоду [1]. Дослідження, проведені нами раніше [2], показали, що населення Дніпропетровської області відчуває нестачу йоду легкого ступеня, але забезпеченість цим мікроелементом у різних населених пунктах дуже неоднорідна і місцями зустрічається навіть середній ступінь важкості йодної недостатності.

У наш час для профілактики і лікування ендемічного зоба використовують в основному неорганічні форми йоду – калію йодид 100 і 200 [3, 4]. В той же час безперечним фактом є те, що ендемічний зоб нерідко є наслідком нестачі багатьох мікроелементів і взаємодії багатьох екзо- і ендогенних чинників [5, 6]. Існують загальні фізіологічні закономірності впливу дисбалансу різних макро- та мікроелементів на розвиток і перебіг ендемічного зоба та ефективність профілактики дефіциту йоду. У ряді досліджень визначено, що надлишок Со і Ні, а також недостатнє надходження в організм Сu, Se, Zn впливає на функцію щитоподібної залози (ЩЗ), і тим самим знижує ефектив-

*Адреса для листування (Correspondence): Обласна клінічна лікарня ім. І.І. Мечникова, Жовтнева площа 14-А, м. Дніпропетровськ, 49000, Україна

ність профілактики йодного дефіциту [4,7,8]. У зв'язку з цим, застосування природних речовин (морські водорості), що містять природний необхідний вміст мікроелементів, заслуговує на особливу увагу.

Морські водорості унікальні за вмістом йоду, багаті на білки, полісахариди (альгінати, пектини, зостерин), вітаміни, макро- і мікроелементи, позитивно впливають на обмін речовин, нормалізують стан тиреоїдної, травної, кровотворної систем організму. В Україні є великі запаси бурої водорості цистозіри (*Cystoseria crassipes*), яка за хімічним складом не відрізняється від ламінарії (Росія), а за вмістом йоду перевершує її [9]. Метою цієї роботи була оцінка ефективності використання харчової домішки «Барба-йод» в лікуванні дифузного ендемічного зоба у населення Дніпропетровської області.

Матеріали та методи

Дослідження проводилося на базі консультативної поліклініки обласної лікарні ім. І.І. Мечникова (м. Дніпропетровськ). В роботі використовувався новий йодний препарат з морської водорості цистозіри – харчова домішка «Барба-йод», розроблений товариством «ЕкоМедПродукт» (м. Київ) з масовою частиною йоду 36 мг/ 100 г. В одній таблетці масою 0,25 г міститься білків 28 %, жирів – 7 %, альгінової кислоти – 22 %, йоду – 90 мкг, селену – 69 мкг. Наявність йоду сприяє нормалізації йодного балансу та функції ЩЗ, альгінової кислоти – виведенню токсичних речовин (солей важких металів, радіонуклідів) з шлунково-кишкового тракту, а комплекс вітамінів, амінокислот і мікроелементів діє в напрямку зниження рівня холестерину, нормалізує процеси перекисного окиснення ліпідів в організмі, позитивно впливає на метаболізм йоду в клітинах ЩЗ і, отже, біосинтез тиреоїдних гормонів. Препарат «Барба-йод» пройшов успішні випробування на тваринах, клінічні випробування, широко застосовувався у дитячого і дорослого населення територій, потерпілих від аварії на ЧАЕС [9, 10].

Для оцінки ефективності препарату «Барба-йод» були відібрані 43 жінки, середній вік яких дорівнював $40,9 \pm 2,2$ роки із збільшенням ЩЗ, підтвердженим вимірюванням об'єму ЩЗ, із зобом I-II ступеня в стані еутиреозу. Дослідження включало огляд, пальпацію ЩЗ, визначення структури, розмірів і об'єму ЩЗ за допомогою ультразвукового дослідження (УЗД) на апараті «Алока-500» з датчиком 7,5 МГц. Об'єм ЩЗ оцінювали за методом J. Brunn et al. [11]. Обстежені були розподілені на три групи. Першу групу (група А) склали 14 жінок (середній вік – $38,2 \pm 3,96$ років), які протягом 3 міс приймали по 2 таблетки «Барба-йод» на добу (180 мкг йоду). Пацієнти другої групи (група В) – 14 жінок (середній вік – $43,8 \pm 3,85$ років), не приймали йодних препаратів, але використовували регулярно для приготування їжі йодовану сіль, що містить йодат калію із розрахунку 40 мг йоду на 1 кг солі. В контрольну групу (група С) увійшли 15 пацієнток (середній вік – $39,8 \pm 4,72$ роки), що не отримували лікування і не використовували в господарстві йодовану сіль.

Ми користувалися нормами об'ємів ЩЗ, запропонованими на території України в 1997 році [12]. Визначення рівня екскреції йоду з сечею (з розрахунком медіани йодурії) проводили церій-арсенітним методом [13] в модифікації J. T. Dunn et al. [14]. Результати оцінювали згідно з рекомендаціями ICCIDD [15]. Функціональний стан ЩЗ визначали за вмістом у крові тироксину вільного (T_4), тиреотропного гормону (ТТГ), а також – наявністю антитіл (АТ) до тиреоглобуліну (ТГ) та АТ до тиреопероксидази (ТПО) у плазмі крові радіоімунологічним методом в лабораторії радіонуклідної діагностики обласної лікарні ім. І. І. Мечникова м. Дніпропетровська, з розрахунком медіан. Відповідно до вимог вказаних методик нормальна концентрація ТТГ становила $0,17-4,05$ мМО/л, T_4 вільний – $10-25$ пмоль/л, титр АТ до ТГ – від 0 до 100 МО/мл і АТ до ТПО – від 0 до 100 МО/л. Статистичну обробку даних робили за допомогою програми Statistica 6.0. Для оцінки вірогідності показників, одержаних у пацієнтів однієї і тієї ж групи, використовували парний t-критерій для зв'язаних вибірок, а також критерій Вілкоксона для парних спостережень [16]. Вірогідність відмінності

між показниками пацієнтів спостережуваних груп оцінювали за допомогою двовибіркового t-критерію.

Результати і їх обговорення

Результати огляду пацієнтів всіх груп показали, що клінічно у всіх обстежених ЩЗ була у стані еутиреозу. За критеріями ВООЗ, на початку дослідження за даними пальпації половина жінок групи А і В мали дифузний зоб І ступеня, інша половина – ІІ ступеня. У жінок групи контролю четверта частина з них мали зоб ІІ ступеня, інші – І ступеня. Через 3 міс прийому «Барба-йод» у пацієток групи А спостерігалася тенденція до зменшення розмірів ЩЗ: у третини з них розміри зоба змінилися з ІІ на І ступінь і ще у третини – розміри ЩЗ повністю нормалізувалися. У пацієток групи В, що вживали сіль, і контрольної групи жінок зміни розмірів ЩЗ були незначними: через 3 міс зоба не виявили тільки у однієї з жінок у кожній із вказаних груп, а у групі контролю (С) відбулося навіть збільшення розмірів зоба (табл. 1).

За даними волюмометрії, середній об'єм ЩЗ в групі А до початку лікування складав $17,06 \pm 1,87 \text{ см}^3$, а через 3 міс він вірогідно зменшився до $13,87 \pm 1,59 \text{ см}^3$ ($P < 0,05$). Ультразвукова структура ЩЗ на початку спостереження в цій групі була неоднорідною майже у половини пацієнтів, зниження ехогенності тиреоїдної тканини виявлене у трьох четвертей обстежених. На тлі прийому препарату «Барба-йод» у більшій половині пацієнтів структура ЩЗ стала однорідною. У групі В змін об'ємів ЩЗ не спостерігали: початковий об'єм складав $12,96 \pm 1,3 \text{ см}^3$, через 3 міс – $12,22 \pm 1,14 \text{ см}^3$. Позитивні зміни ехогенності і ехоструктури ЩЗ визначені у 45 % пацієнтів. В осіб контрольної групи середній об'єм ЩЗ через 3 міс, порівняно з початковими даними, вірогідно збільшився до $14,15 \pm 1,68 \text{ см}^3$ проти $12,52 \pm 1,61 \text{ см}^3$ ($P < 0,05$) і у всіх пацієнтів зберігалися структурні зміни тканини ЩЗ, що цілком відповідало даним, одержаним при пальпації.

Таблиця 1. Частота зоба за даними пальпації у жінок на тлі групової йодної профілактики

Група спостереження	Ступінь зоба					
	до профілактики			через 3 міс		
	0	I	II	0	I	II
А, n=14(Барба-йод)	0	7	7	5	7	2
В, n=14(йодована сіль)	0	8	6	1	9	4
С, n=15 (контрольна)	0	11	4	1	9	5

Одним з найважливіших показників ефективності препарату, що містить йод, є динаміка йодурії. У групі, що приймала «Барба-йод», на початку медіана йодурії дорівнювала $65,72 \text{ мкг/л}$, причому у чверті жінок цей показник знаходився у межах від 20 до 50 мкг/л, що свідчило про нестачу йоду середньої тяжкості. Через 3 міс на тлі щоденного прийому 2 таблеток «Барба-йод» медіана йодурії дорівнювала $179,38 \text{ мкг/л}$ ($P < 0,05$). У всіх пацієток показник екскреції йоду із сечею перевищував 100 мкг/л.

У групі В до початку спостереження медіана йодурії становила $64,48 \text{ мкг/л}$. Через 3 міс вживання йодованої солі екскреція йоду з сечею у пацієток цієї групи теж нормалізувалася і медіана збільшилася до $141,71 \text{ мкг/л}$ ($P < 0,05$); частотний розподіл показників йодурії вирівнявся, кількість пацієнтів з йодною недостатністю знизилася до третини, показників йодурії, що перевищують 300 мкг/л, або нижчих за 20 мкг/л не спостерігалось.

У третій, контрольній групі, показники концентрації йоду у сечі і через 3 міс залишалися зниженими (медіана на початку – $42,43 \text{ мкг/л}$ і через

3 міс – 54,9 мкг/л). Ці дані свідчать про те, що препарат «Барба-йод» у дозі 2 таблетки (180 мкг йоду) на добу призводить до швидкої нормалізації надходження йоду в організм. Постійне вживання з їжею йодованої солі так само сприяє насиченню організму йодом, проте більш повільно і за невеликий проміжок часу не викликає регрес зоба.

Вивчення вмісту гормонів і антитіл у плазмі крові обстежених жінок показало, що результати вибірок даних для всіх груп мали аномальний розподіл, тому для підрахунку вірогідності змін був застосований критерій Вілкоксона. Відповідно враховувалися перцентильні величини даних для кожної вибірки. Дані про 25 та 75 перцентиль наведені в таблиці в дужках під медіанним значенням. Згідно з проведеними дослідженнями враховувалися зміни вказаних показників для кожного хворого і розраховувалася їх вірогідність як для однієї групи обстежених. Статистичний аналіз даних показав, що тільки у жінок, що приймали «Барба-йод», спостерігалася вірогідне ($P < 0,01$) зниження медіани ТТГ і підвищення рівня вільного тироксину в крові ($P < 0,05$). В той же час, обчислені за вказаним методом вибірки в програмі Excel, не виявили вірогідності змін в інших групах, незважаючи на деяку схожість медіанних значень (табл. 2). Можливо, це пов'язане з тим, що медіана вказує на величину в середині послідовно розташованих значень того чи іншого показника. Тому тільки врахування змін показників для кожного хворого надає можливість з'ясувати вірогідність змін в цілому.

Таблиця 2. Зміни вмісту тиреотропіну, вільного тироксину та антитіл у плазмі крові на тлі йодної профілактики

Група спостереження	Показники медіани (перцентиль 25 %; 75 %)			
	T ₄ вільний, пмоль/л	ТТГ, мМО/л	АТТГ, МО/мл	АТТПО, МО/л
А – до профілактики – через 3 міс	14,44 (12,9; 16,2) 5,69* (14,5; 17,1)	1,79 (1,3; 2,5) 1,35** (1,1; 1,8)	23,76 (16,2; 78,2) 14,7* (12,8; 22,9)	8,03 (3,6; 17) 5,04* (2,1; 11,5)
В – до профілактики – через 3 міс	14,44 (12,9; 16,2) 15,04 (13,8; 16,7)	1,8 (1,2; 2,2) 1,31 (0,88; 2,1)	13,5 (6,3; 17,7) 13,9 (5,7; 20,5)	4,4 (1,7; 10,9) 6,3 (3,9; 10,8)
С – до профілактики – через 3 міс	15,91 (13,06; 17,5) 15,92 (14,6; 16,6)	1,5 (1,03; 2,08) 1,72 (1,4; 2,4)	18,31 (12,5; 58,3) 7,8 (5,6; 24,73)	22,25 (10,8; 48,4) 10,32 (5,13; 26,1)

Примітка: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$ – у порівнянні з відповідним показником до початку профілактики.

Проблема впливу йодної профілактики на розвиток і прогресування аутоімунної патології ЩЗ є предметом дискусії давно, і на сьогодні не втрачає свою актуальність як серед вчених, що вивчають патогенез цих захворювань, так і серед лікарів клінічної практики, що займаються лікуванням та профілактикою у хворих на еутиреоїдний зоб. Деякі дослідники висловлюють думку, що терапія зоба препаратами йоду та його профілактика в ряді випадків можуть ініціювати появу АТ до ЩЗ [17, 18]. Інші вчені [19] не виявляють взаємозв'язку між збільшенням рівня титрів АТ до тканини ЩЗ та споживанням фізіологічних доз йоду.

З огляду на значимість цього питання для ефективної й безпечної профілактики ендемічного зоба, ми так само простежили динаміку зміни рівня АТ до ТГ і АТ до ТПО у пацієток, що приймали протягом 3 міс препарат «Барба-йод», і у пацієток, які використовували для готування їжі йодовану

сіль. Вірогідні відмінності між початковими і кінцевими значеннями медіан титрів АТ до ТГ і АТ до ТПО отримані тільки у пацієнток із групи А, тобто у жінок, які постійно приймали препарат протягом 3 міс. У них простежується виразна тенденція до зниження цих показників.

У однієї жінки в цій групі через 3 міс визначали високий титр АТ до ТГ (606,5 МО/мл) і, навпаки, у пацієнтки з початковим високим титром АТ до ТГ (902,25 МО/мл) відбулося зниження цього показника до 25,14 МО/мл. У першому випадку, незважаючи на підвищення титру антитіл до ТГ, відмічалось зменшення об'єму ЩЗ (початковий – 21,53 см³, через 3 міс – 17,7 см³) і нормалізація ехоструктури ЩЗ за даними УЗД. У групі В вірогідних змін (зменшення або зростання титрів АТ до ТГ та АТ до ТПО) не відмічено.

Таким чином, даних, що свідчать про посилення автоімунних процесів у щитоподібній залозі при лікуванні ендемічного зоба «Барба-йод», за час спостереження не виявлено.

Отримані результати показують, що органічна форма йоду «Барба-йод» у дозі 180 мкг йоду сприяє швидкому підвищенню медіани йодурії, зникненню прихованої гіпофункції ЩЗ та істотному зменшенню її розмірів, що, ймовірно, зумовлене додатковою дією селену, який міститься в препараті і діє на метаболізм йоду в ЩЗ. Постійне використання йодованої солі є ефективним засобом профілактики йодного дефіциту. Покращуючи йодне забезпечення організму, застосування йодованої солі не призводить до швидкого регресу ендемічного зоба. Ми також визначили, що «Барба-йод» не підсилює автоімунних процесів у ЩЗ. У зв'язку з цим, для лікування і реабілітації пацієнтів з дифузним нетоксичним зобом може використовуватися органічна форма йоду – «Барба-йод».

Література

1. 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.
2. Тананакіна Н.В., Кравченко В.І., Маляр Е.Ю., Останін А.А. Забезпеченість йодом та стан щитоподібної залози у населення Дніпропетровської області // Ендокринологія. 2006, 11, № 2, 181-186.
3. Тронько М.Д., Кравченко В.І., Паньків В.І. Йододефіцитні захворювання: діагностика, профілактика та лікування: Метод. рекомендації. К., 2003. 28 с.
4. Велданова М.В. Эффективность применения калия йодида при диффузном нетоксическом зобе у детей в различных биогеохимических провинциях России // Клиническая тиреодология. 2003, 1, № 1, 14-17.
5. Авцын А.П., Жаворонков А.Н., Риш М.А. и др. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М.: Медицина, 1991. 496 с.
6. Билтова Н.В., Лисенкова Л.И., Пулякова Л.И. и др. Влияние дисбаланса микроэлементов внешней среды на функциональную активность щитовидной железы детей // Эндокринная система организма и вредные факторы окружающей среды: Тез. IV Всесоюз. конф., 1991, с. 39.
7. Шостко В.М. Содержание Со, Ni, Cu и Zn в крови и щитовидной железе при эндемическом зобе и тиреотоксикозе: Автореф. дис. канд. мед. наук. Минск, 1959. 22 с.
8. Кривошеева С.С., Поздняк А.О., Анчикова Л.И. Связь патологии щитовидной железы с состоянием микроэлементозного гомеостаза // Актуальные проблемы заболеваний щитовидной железы. М., 2000, с. 81.
9. Корзун В.Н., Чумак А.А., Кравченко В.І. Використання морських водоростей в профілактиці тиреоїдної та еритроїдної систем у дітей: Метод. рекомендації. К., 2003. 19 с.
10. Чикалова І.Г., Коваленко О.М. Ефективність застосування препаратів і харчових домішок, що містять йод, для лікування ендемічного зоба у дітей, які зазна-

ли опромінення внаслідок аварії на ЧАЕС // Зб. наук. праць співроб. КМАПО ім. П.Л. Шупика, 2004, вип. 13, книга 2, с. 683.

11. Brunn J., Blocjk U., Ruf J. et al. Volumetrie der Schilddrüsenlappen mittels real-time-sonographie // DMW. 1981, 106, 1338-1340.
12. Матящук С.И., Эпштейн Е.В. Ультразвуковые методы определения объёма щитовидной железы и их оценка // Журн. практич. лікаря. 2000, № 5, 47-50.
13. Sandell E.B., Kolthoff I.M. Microdetermination of iodine by a catalytic method // Microchemica Acta. 1937, N 1, 9-25.
14. 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.
15. WHO, UNISEF, ICCIDD. Assessment of Iodine Disorders and Monitoring their Elimination. Geneva, 2001.
16. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабиц П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: Морион, 2001. 406 с.
17. Zois C., Stavrou I., Kalogera C. et al. High prevalence of autoimmune thyroiditis in schoolchildren after elimination of iodine deficiency in northwestern Greece // Thyroid. 2003, 13, N 5, 485-489.
18. Reinhardt W., Kohl S., Hollmann D. et al. Efficacy and safety of iodine in the postpartum period in an area of mild iodine deficiency // Eur. J. Med. Res. 1998, 8, N 3 (4), 203-210.
19. Фадеев В.В., Мельниченко Г.А. Физиологические дозы йода и носительство антител к тиреоидной пероксидазе: открытое рандомизированное исследование // Пробл. эндокринологии. 2004, 50, № 5, 3-6.

Применение органической формы йода (Барба-йод) для лечения и профилактики диффузного эндемического зоба в регионе легкого дефицита йода

Н.В. Тананакина¹, В.Н. Корзун², В.И. Кравченко¹, Е.К. Духовенко³

¹Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, г. Киев, 04114; ²Институт гигиены и медицинской экологии им.А.Н. Марзеева АМН Украины, г. Киев, 02660; ³Областная клиническая больница им. И.И. Мечникова, г. Днепрпетровск, 49000; Украина

Проведены исследования в Днепрпетровской области – регионе природного лёгкого йодного дефицита, с отдельными населенными пунктами со средней степенью тяжести йодной недостаточности, на 43 женщинах с диффузным зобом. Показано, что пероральное ежедневное потребление БАД «Барба-йод» в дозе 180 мкг в течение 3 мес приводит к регрессу объёма ЩЖ, нормализации её размеров у трети обследованных. Обнаружено, что использование препарата «Барба-йод» вызывает повышение медианы йодурии до 179,38 мкг/л, при этом наблюдалось снижение уровня ТТГ, достоверное увеличение уровня свободного тироксина в крови и некоторое уменьшение концентрации антител к тиреоглобулину и тиреопероксидазе. Использование женщинами в домохозяйствах йодированной соли (40 мг/кг) также приводило к нормализации йодурии до 141,7 мкг/л, существенных изменений объёма щитовидной железы через 3 мес от начала ее применения не наблюдалось. Сделан вывод, что БАД «Барба-йод» может успешно применяться для групповой йодной профилактики у лиц с диффузным зобом, в то же время использование йодированной соли является эффективным средством массовой профилактики йодного дефицита для всего населения.

Ключевые слова: щитовидная железа, зоб, барба-йод, йодированная соль, йодурия, ультразвуковое исследование, йодная недостаточность.

Use of an organic form of iodine («Barba-iod») for treatment and prevention of diffuse endemic goiter in a region of mild iodine deficiency

N.V. Tananakina¹, V.N. Korzun², V.I. Kravchenko¹, E.K. Dukhovenko³

¹*V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, Kyiv, 04114;*

²*O.M. Marzeyev Institute of Hygiene and Medical Ecology of AMS, Kyiv, 02660;*

³*I.I. Mechnikov Regional Clinical Hospital, Dnepropetrovsk, 49000; Ukraine*

The authors have carried out investigations in Dnepropetrovsk region – a region of natural mild iodine deficiency, with a number of settlements with moderate degree of iodine deficiency – on 43 women with diffuse goiter. It has been shown that oral daily consumption of a biological additive «Barba-iod» at a dose of 180 mcg for a period of 3 months led to a regression of thyroid volume, normalization of thyroid size in one third of study subjects. It has been established that use of «Barba-iod» led to an increase in ioduria median up to 179.38 mcg/L, associated with a decrease in TSH level, a reliable increase in blood levels of free thyroxine, and a certain decrease in concentrations of antibodies to thyroglobulin and thyroperoxidase. Use of iodized salt (40 mg/kg) by women in households also led to a normalization of ioduria up to 141.7 mcg/L; no significant changes in thyroid volume in 3 months after beginning of iodized salt consumption have been reported. The authors conclude that the biological additive «Barba-iod» may be effectively used for collective iodine prophylaxis in patients with diffuse goiter; at the same time, use of iodized salt is an effective method of mass prevention of iodine deficiency for the overall population.

Key words: thyroid gland, goiter, Barba-iod, iodized salt, ultrasound investigation, ioduria, iodine deficiency.

(Надійшла 28.09.2007)

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ПЕРВИЧНОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАПИЛЛЯРНЫХ КАРЦИНОМ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ДАННЫХ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЙ СЦИНТИГРАФИИ С NaI-131

С.В. Чернышев*, С.В. Гулеватый, Т.К. Сovenko, Е.В. Эпштейн

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

Проведен сравнительный анализ результатов первичного радикального хирургического лечения пациентов, оперированных в возрасте от 4 до 18 лет по поводу папиллярного рака щитовидной железы, за период 1995-2000 гг., и данных послеоперационной сцинтиграфии с NaI-131. Установлено, что накопление радиофармпрепарата в ложе щитовидной железы встречалось в 166 из 171 случая (97,1 %). Накопление радиофармпрепарата в зонах регионарного метастазирования может быть следствием как агрессивного поведения опухоли щитовидной железы, так и недостаточной интраоперационной оценки распространенности опухолевого процесса и, соответственно, недостаточного объема диссекции. Произведено сравнение различного объема диссекций с результатами послеоперационной сцинтиграфии. Показано, что селективная диссекция, выполняемая по фасциально-футлярной методике, имеет преимущество перед процедурой «veggu picking», и не уступает по адекватности радикальной диссекции шеи, при условии тщательного экспресс-гистологического анализа. Использование этапного экспресс-гистологического исследования первичной опухоли и регионарных лимфатических узлов привело к выраженному снижению выявления регионарных метастазов (в 2,5 раза) при послеоперационной сцинтиграфии с радиоактивным йодом.

Ключевые слова: папиллярная карцинома щитовидной железы, регионарные метастазы, диссекция лимфатических узлов, лечение радиоактивным йодом, сцинтиграфия.

Рост заболеваемости раком щитовидной железы у пациентов молодого возраста после аварии на ЧАЭС объясняет актуальность решения вопросов диагностики, клиники и лечения данной патологии [1-6]. Достоверно установлено преобладание в структуре злокачественных поражений щитовидной железы папиллярной карциномы, при этом доказано, что у пациентов, оперированных в детском и подростковом возрасте, преобладали опухоли солидно-фолликулярного строения, отличающиеся высокими инвазивными свойствами, признаками внутрижелезистого распространения и частого регионарного метастазирования [1-3, 7-9]. Учитывая агрессивное биологическое поведение папиллярных карцином щитовидной железы у детей и подростков, склонность к регионарному метастазированию и к более частым рецидивам метастазов рака, по сравнению с локальными рецидивами [4, 10], вопрос определения объема оперативного вмешательства на регионарных коллекторах лимфооттока остается открытым.

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

Одним из ключевых моментов является необходимость интраоперационной диагностики степени регионарного метастазирования рака щитовидной железы и, связанное с этим, определение объема оперативного вмешательства [8, 11-12]. Сцинтиграфия с NaI-131 в послеоперационном периоде является одним из основных методов в схеме комбинированного лечения папиллярных карцином [13-16]. Используя результаты указанного метода, можно проводить анализ оперативного вмешательства, совершенствуя его в последующем с целью улучшения результатов лечения. Подобный сравнительный анализ и предпринят в настоящей работе.

Материалы и методы

Проведен сравнительный анализ результатов первичного хирургического лечения пациентов, оперированных в возрасте от 4 до 18 лет по поводу папиллярного рака щитовидной железы в хирургическом отделе Института эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины за период 1995-2000 гг., и послеоперационной сцинтиграфии с NaI-131, проведенной в отделении клинической радиологии этого же Института. Оценивались объем оперативного вмешательства по протоколам операций и накопление радиофармпрепарата (NaI-131) в различных сегментах шеи и за грудиной – по стандартным заключениям сцинтиграфии. Минимальная доза вводимого радиофармпрепарата составляла 2200-3700 мБк. Оценка послеоперационного радиоiod-контроля проводилась по данным анализа всех результатов плановых сцинтиграфий за весь период наблюдения за пациентом (от 6 мес до 12 лет). При этом интерпретация данных сцинтиграфии относительно остатка ткани щитовидной железы и предполагаемых метастазов основывалась на результатах дооперационного и послеоперационного обследования пациента, на анализе длительности исчезновения участков накопления NaI-131 (необходимое количество курсов), а также, безусловно, определялась профессионализмом врача-радиолога.

За указанный период по поводу папиллярного рака щитовидной железы прооперировано 203 пациента вышеуказанной возрастной группы. В 18 случаях (8,9 %) операция носила органосохраняющий характер и, соответственно, радиоiod-диагностика в послеоперационном периоде не проводилась. В 185 (91,1 %) случаях выполнено радикальное вмешательство на щитовидной железе (тиреоидэктомия), дополненное, при необходимости, вмешательством на регионарных коллекторах лимфооттока (диссекцией). Сцинтиграфия с NaI-131 в нашем Институте была проведена 171 пациенту, поэтому анализируемая группа ограничена 171 случаем.

Результаты и их обсуждение

В 166 наблюдениях из 171 (97,1 %) выявлено накопление NaI-131 в области ложа щитовидной железы (так называемая остаточная ткань), в 56 (32,7 %) – вдоль трахеи, в 40 (23,4 %) – в передне-верхнем средостении за грудиной, в 62 (36,3 %) – значительно латеральнее трахеи в области яремных коллекторов шеи.

Операции на щитовидной железе были разделены на следующие основные группы (таблица): «тиреоидэктомия», «тиреоидэктомия и срединная диссекция шеи», «тиреоидэктомия и односторонняя радикальная фасциально-футлярная диссекция шеи», «тиреоидэктомия и двусторонняя радикальная фасциально-футлярная диссекция шеи». В группах пациентов, у которых выполнялась фасциально-футлярная диссекция шеи, одновременно проводилась и срединная диссекция.

Кроме того, при тиреоидэктомии основной оперативный прием мог быть дополнен случайным (или намеренным) удалением единичных лимфатических узлов из различных участков шеи. Поскольку данное удаление нель-

зя считать диссекцией и целью удаления не являлось проведение экспресс-гистологического исследования, мы использовали для обозначения данной дополнительной группы принятый в литературе термин «berry picking», или «собираание ягод».

Следует также отметить, что в некоторых случаях выполнения двусторонней диссекции шеи оперативный прием носил ограниченный характер удаления клетчатки с лимфатическими узлами определенной группы яремного коллектора. Поскольку диссекция в такой группе случаев была не радикальной, мы использовали для ее описания принятый в литературе термин «селективная диссекция» (таблица).

Рассмотрим приведенные в таблице 6 групп больных в зависимости от объема операции.

Группа «тиреоидэктомия»

За указанный период выполнено 40 таких операций. По данным окончательного гистологического исследования согласно классификации pTNM установлено следующее: папиллярная карцинома соответствовала категории T₁ в 2 случаях (5,0 %), T₂ – в 20 (50,0 %), T₃ – в 2 (5,0 %), T₄ – в 16 наблюдениях (40,0 %). Признаков регионарного метастазирования выявлено не было (N₀). Метастазы в легкие (M₁) отмечены в 2 случаях (5,0 %). Мы использовали 5-е издание классификации pTNM, поскольку категория T в госпитальном регистре заполнена в соответствии именно с этим изданием. Более того, мы полагаем, что 5-е издание является более приемлемым и детальным для тиреоидной патологии, в то время как для других раков головы и шеи предпочтительней 6-е издание классификации pTNM. Остаточная ткань выявлена в 39 случаях (97,5 %), накопление радиофармпрепарата вдоль трахеи отмечено у 13 пациентов (32,5 %), в передне-верхнем средостении – у 5 (12,5 %), в ярем-

Таблица. Показатели объема оперативного вмешательства и зон накопления NaI-131 при послеоперационной сцинтиграфии

Объем операции	Зона накопления радиофармпрепарата по данным сцинтиграфии			
	Вдоль трахеи	Средостение	Яремный коллектор	
			сторона поражения	противоположная сторона
Тиреоидэктомия, n=40	13	5	6	-
Тиреоидэктомия + «berry picking», n=6	3	2	4	-
Тиреоидэктомия + срединная диссекция, n=29	5	6	7	3
Тиреоидэктомия + односторонняя боковая диссекция, n=15	7	7	2	5
Тиреоидэктомия + двусторонняя боковая диссекция, n=62	25	15	5	15
Тиреоидэктомия + селективная боковая диссекция, n=19	3	5	5	4

ном коллекторе со стороны расположения опухоли в щитовидной железе – в 6 наблюдениях (15,0 %). В яремном коллекторе с противоположной расположению опухоли стороны накопление NaI-131 не выявлено.

Группа «тиреоидэктомия и berry picking»

Тиреоидэктомия была дополнена «berry picking» у 6 пациентов. Согласно pTNM-классификации опухоль щитовидной железы соответствовала категории T₁ в 1 случае из 6, T₂ – в 2 из 6, T₄ – в 3 из 6 наблюдений. Признаки регионарного и отдаленного метастазирования выявлены соответственно: N₁ – в 5 случаях из 6, N₂ – в 1 из 6; отдаленное метастазирование (в легкие) установлено у 2 пациентов.

В 2 случаях осуществлялось «berry picking» пре- и паратрахеальных групп лимфатических узлов (центральный отсек), в 3 случаях – лимфатических узлов яремных коллекторов шеи (боковой отсек) и в 1 случае – лимфатических узлов центрального и бокового отсеков. В обоих случаях выполнения «berry picking» пре- и паратрахеальных групп лимфатических узлов выявлено накопление NaI-131 вдоль трахеи. У 3 пациентов из 4 с проведением «berry picking» лимфатических узлов яремных коллекторов шеи выявлено накопление радиофармпрепарата в яремных коллекторах шеи.

Группа «тиреоидэктомия и срединная диссекция»

Необходимо отметить, что решение о проведении только срединной диссекции шеи принималось на основании дооперационного обследования пациента, интраоперационной картины лимфатических коллекторов шеи, выполнения экспресс-гистологического исследования как увеличенных, так и систематически удаляемых лимфатических узлов из яремных коллекторов лимфооттока.

Данных операций выполнено 29. По результатам окончательного гистологического исследования установлено следующее: опухоль щитовидной железы соответствовала категории T₁ в 1 случае (3,4 %), T₂ – в 13 (44,8 %), T₃ – в 2 (6,9 %), T₄ – в 13 наблюдениях (44,8 %). Признаки регионарного метастазирования N₁ выявлены у 18 пациентов (62,0 %), отдаленное метастазирование (легкие) установлено в 5 наблюдениях (17,2 %).

Накопление радиофармпрепарата в области ложа щитовидной железы отмечено во всех случаях (100 %), вдоль трахеи – в 5 наблюдениях (17,2 %), в передне-верхнем средостении – у 6 пациентов (20,7 %), в яремном коллекторе со стороны расположения опухоли в щитовидной железе – в 7 (24,1 %), в яремном коллекторе с противоположной расположению опухоли стороны – в 3 случаях (10,3 %).

Группа «тиреоидэктомия и односторонняя фасциально-футлярная диссекция»

Решение о проведении модифицированной фасциально-футлярной диссекции шеи с одной стороны принималось ввиду установленного как на дооперационном, так и на интраоперационном этапах метастазирования в лимфатические узлы яремного коллектора со стороны расположения опухоли в щитовидной железе. Во всех случаях выполнялась также срединная диссекция. Удаление отдельных лимфатических узлов яремного коллектора с противоположной стороны производилось для выполнения экспресс-гистологического исследования в 10 случаях.

Указанных операций выполнено 15. По данным окончательного гистологического исследования опухоли щитовидной железы, соответствующие категориям T₁ и T₃, не выявлены, категория T₂ установлена в 3 (20,0 %) наблюдениях, T₄ – в 12 (80,0 %). Признаки регионарного метастазирования выявлены: N₁ – у 14 пациентов (93,3 %), N₂ не обнаружены. Метастазы (M₁) в легкие выявлены в 4 случаях (26,6 %).

Остаточная ткань обнаружена в 14 случаях (93,3 %), накопление радиофармпрепарата вдоль трахеи зафиксировано в 7 случаях (46,6 %), в перед-

не-верхнем средостении – у 7 пациентов (46,6 %), в оперированном яремном коллекторе – в 2 наблюдениях (13,3 %), в яремном коллекторе с противоположной стороны – в 5 случаях (33,3 %).

Группа «тиреоидэктомия и двусторонняя радикальная фасциально-футлярная диссекция»

Радикальные двусторонние диссекции шеи были выполнены в 62 случаях. Согласно pTNM-классификации опухоль щитовидной железы соответствовала категории T₁ в 1 случае из 62 (1,6 %), T₂ – в 12 (19,4 %), T₃ – в 1 (1,6 %), T₄ – в 48 из 62 наблюдений (77,4 %). Признаки регионарного и отдаленного метастазирования выявлены соответственно: N₁ – в 19 случаях (30,6 %), N₂ – в 42 (67,7 %); отдаленное метастазирование (легкие) установлено у 26 пациентов (41,9 %).

При выполнении радикальной диссекции накопление NaI-131 в ложе щитовидной железы выявлено в 59 наблюдениях (95,2 %), вдоль трахеи – в 25 случаях (40,3 %), в передне-верхнем средостении – у 15 пациентов (24,2 %), в яремном коллекторе на стороне расположения опухоли – у 20 пациентов (32,3 %), в яремном коллекторе на противоположной стороне – у 15 (24,2 %).

Группа «тиреоидэктомия и селективная боковая диссекция»

У 19 пациентов боковые диссекции носили селективный характер.

У 4 пациентов были удалены лимфатические узлы ниже-средней группы яремного коллектора со стороны расположения опухоли в щитовидной железе (односторонняя боковая селективная диссекция); в 6 случаях с двух сторон была произведена селективная диссекция лимфоузлов средней или ниже-средней групп яремного коллектора (двусторонняя боковая селективная диссекция); в 9 наблюдениях полноценная боковая диссекция со стороны расположения опухоли в щитовидной железе была дополнена селективной диссекцией средней или ниже-средней групп лимфоузлов с противоположной стороны (односторонняя радикальная фасциально-футлярная диссекция и селективная диссекция контрлатерального яремного коллектора).

По данным окончательного гистологического исследования установлено: опухоли щитовидной железы, соответствующие категориям T₁ и T₃, не выявлены, категория T₂ установлена в 6 (31,6 %) наблюдениях, T₄ – в 13 (68,4 %). Признаки регионарного метастазирования выявлены: N₁ – у 13 пациентов (68,4 %), N₂ – у 5 (26,3 %). Отдаленное метастазирование (легкие) обнаружено в 8 наблюдениях (42,1 %).

При выполнении селективных диссекций остаточная ткань определялась у всех 19 пациентов (100 %), накопление радиофармпрепарата вдоль трахеи – у 3 пациентов (15,8 %), в средостении – у 5 (26,3 %), в яремном коллекторе на стороне расположения опухоли – у 5 пациентов (26,3 %), в яремном коллекторе на противоположной стороне у 4 (21,1 %). Необходимо отметить, что в отдельной объединенной группе одно- и двусторонней селективной диссекции (10 больных) накопление радиофармпрепарата вдоль трахеи отмечено в 1 случае (10,0 %), в средостении – в 3 наблюдениях (30,0 %), в яремном коллекторе на стороне расположения опухоли – в 2 (20,0 %) и на противоположной стороне – в 1 (10,0 %) случаях.

Дальнейший анализ проводился отдельно в каждой группе оперативного вмешательства только по случаям с регистрацией накопления радиофармпрепарата. Учитывая то, что область передне-верхнего средостения не является зоной выполняемого нами оперативного приема и диагностика поражения лимфатических узлов в ней затруднена как до-, так и во время операции, анализировались группы с накоплением NaI-131 вдоль трахеи и в яремных коллекторах шеи.

В группе тиреоидэктомии в 13 случаях накопления радиофармпрепарата вдоль трахеи, на этапе выполнения оперативного вмешательства экспресс-би-

опсия лимфатических узлов центрального отсека не выполнялась, решение о нецелесообразности проведения срединной диссекции принималось на основании отсутствия макроскопически видимых лимфоузлов без учета строения опухоли, ее инвазивных свойств и расположения в доле. При этом, послеоперационный патоморфологический анализ показал, что в 12 из 13 наблюдений (92,3 %) опухоль не имела капсулы, в 8 (61,5 %) – отмечалось экстра tireоидное распространение, в 9 (69,2 %) – солидно-фолликулярное строение опухоли, в 9 случаях (69,2 %) опухоль располагалась или в нижней части доли, или занимала всю долю, что по данным наших предыдущих исследований [12, 17] в большинстве случаев сопровождается поражением лимфатических узлов центрального отсека.

Из 6 случаев накопления радиофармпрепарата в яремном коллекторе шеи, экспресс-гистологическое исследование было выполнено одному пациенту. Диагностировался один лимфатический узел, признаков метастазирования выявлено не было. Экспресс-биопсия носила несистематический характер.

В случаях, связанных с применением методики «berry picking», накопление радиофармпрепарата в яремных коллекторах шеи обнаружено в 75 % наблюдений, что может быть связано с недостаточной интраоперационной оценкой распространенности опухолевого процесса и, как следствие, недостаточным объемом диссекции.

В группе тиреоидэктомии, дополненной срединной диссекцией, накопление радиофармпрепарата вдоль трахеи могло быть связано как с агрессивным характером опухоли щитовидной железы, так и с недостаточным объемом срединной диссекции. Обнаружение его в яремных коллекторах лимфооттока в 6 случаях могло быть связано с тем, что не было проведено экспресс-гистологическое исследование лимфатических узлов яремных коллекторов, в 2 случаях экспресс-гистологическая диагностика не носила систематический характер, а также не учитывалось строение, локализация первичного поражения; в 1 случае – причина не выяснена.

В группе тиреоидэктомии с односторонней фасциально-футлярной диссекцией, как и в вышеописанной группе, накопление NaI-131 вдоль трахеи могло быть связано как с агрессивностью первичной опухоли, так и с недостаточным объемом срединной диссекции. Обнаружение радиофармпрепарата в яремном коллекторе со стороны расположения опухоли в щитовидной железе в 2 случаях однозначно обусловлено недостаточным объемом оперативного вмешательства; наличие его в яремном коллекторе с противоположной стороны в 2 случаях связано с отсутствием гистологической оценки лимфатических узлов во время операции, в 3 – с ее несистематическим характером без учета строения, локализации и инвазивных свойств первичной опухоли.

При выполнении тиреоидэктомии с двусторонней фасциально-футлярной диссекцией, то есть при наиболее радикальном характере оперативного вмешательства, накопление радиофармпрепарата во всех сегментах можно связывать преимущественно с агрессивным характером поведения первичной опухоли. Так, среди таких опухолей преобладали неинкапсулированные новообразования (95,4 %) фолликулярно-солидного строения (80,3 %), с признаками выраженного экстра tireоидного распространения (78,8 %) и многофокусного роста (87,3 %).

Накопление NaI-131 при выполнении селективных диссекций связано с недостаточным объемом оперативного вмешательства на регионарных лимфатических узлах шеи. Вместе с тем, выраженный косметический эффект при подобном оперативном вмешательстве и сравнительно низкие показатели наличия метастазов в лимфоузлы при послеоперационной сцинтиграфии с радиоiodом допускают, по нашему мнению, использование этого метода в хирургической практике, однако при условии интраоперационного гистоло-

гического подтверждения поражения лимфатических узлов не более, чем в 1-2 группах яремных коллекторов, и накоплении большого количества случаев для анализа. Селективная диссекция контрлатерального яремного коллектора, выполняемая как дополнение к односторонней радикальной фасциально-футлярной диссекции, не является менее травматичной и не дает лучшего косметического эффекта по сравнению с радикальной двусторонней фасциально-футлярной диссекцией, а также не улучшает картину послеоперационной сцинтиграфии с радиоiodом. Поэтому, при обоснованной необходимости выполнения односторонней радикальной диссекции и подозрении относительно возможного метастазирования в контрлатеральный коллектор следует отдать предпочтение двусторонней радикальной фасциально-футлярной диссекции шеи.

Оценка отдаленных результатов лечения папиллярных карцином щитовидной железы у указанной группы пациентов выявило следующее: в 165 случаях (96,5 %) полное удаление ткани в зоне оперативного приема достигнуто с помощью лечения NaI-131 в дозе от 2200 до 3700 МБк. Количество курсов от одного до семи. В 6 случаях (3,5 %), ввиду объемного характера поражения, выявленного при проведении первой послеоперационной сцинтиграфии, было выполнено повторное оперативное вмешательство. В 1 из 6 наблюдений была выполнена односторонняя фасциально-футлярная диссекция шеи (дважды). Первичной операцией при этом была тиреоидэктомия и срединная диссекция шеи. В 3 из 6 случаев была проведена двусторонняя радикальная фасциально-футлярная диссекция шеи. Первичной операцией в данных наблюдениях была тиреоидэктомия и двусторонняя фасциально-футлярная диссекция шеи. Двум пациентам была выполнена сочетанная срединная и медиастинальная диссекция шеи. Первичный объем оперативного вмешательства на лимфоузлах шеи здесь в одном случае носил характер «very picking», а в другом была выполнена срединная диссекция шеи. Недостаточный объем первичного оперативного вмешательства в указанных случаях явился результатом несистематического удаления лимфатических узлов шеи, без использования интраоперационного экспресс-гистологического исследования и, вследствие этого, неадекватной оценки объема метастатического поражения.

Таким образом, одной из важных составляющих адекватной радикальности проводимого оперативного вмешательства на лимфатических узлах шеи следует считать, помимо данных УЗИ, ТАПБ, интраоперационной картины, выполнение поэтапного экспресс-гистологического исследования первичной опухоли и лимфатических узлов различных коллекторов. При этом, выбор указанных лимфатических узлов должен носить систематический характер и определяться установленным во время интраоперационного гистологического исследования строением первичной опухоли и ее расположением в щитовидной железе [12, 17].

С 1998 года в Институте эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины такое систематическое поэтапное экспресс-гистологическое исследование удаленных лимфатических узлов проводится всем пациентам вышеуказанной возрастной группы [18]. С 1993 по 1997 годы выполнение экспресс-биопсии лимфатических узлов носило несистемный характер и не учитывало особенности строения первичной опухоли.

При сравнении в целом результатов сцинтиграфии пациентов, оперированных в период 1995-1997 гг., с результатами сцинтиграфии пациентов, оперированных в период 1998-2000 гг., установлено выраженное снижение процента случаев с накоплением радиофармпрепарата во втором периоде – с 87,1 % (54 случая из 62) до 34,9 % (38 случаев из 109), $P < 0,001$, что в значительной мере связано с внедрением метода поэтапной экспресс-гистологиче-

ской диагностики лимфатических узлов шеи с учетом особенностей строения и локализации первичной опухоли.

Выводы

1. При отсутствии признаков поражения лимфатических узлов шеи на дооперационном и интраоперационном этапах достаточным объемом оперативного вмешательства при папиллярном раке щитовидной железы может являться тиреоидэктомия, что, однако, не исключает выявление метастазов в лимфоузлах срединного и бокового отсеков шеи (со стороны первичного поражения) при послеоперационной сцинтиграфии с радиоiodом.

2. Удаление лимфатических узлов шеи по методике «berry picking» не является радикальным, что подтверждается высоким процентом случаев с наличием метастазов в лимфоузлы при послеоперационной сцинтиграфии с радиоiodом.

3. Срединная систематическая диссекция шеи, проведенная при наличии соответствующих показаний, улучшает показатели послеоперационной сцинтиграфии с радиоiodом, а, следовательно, и прогноз послеоперационного лечения пациента.

4. Двусторонняя модифицированная фасциально-футлярная диссекция шеи должна выполняться при интраоперационном гистологическом подтверждении метастатического поражения лимфатических узлов различных групп яремных коллекторов.

5. Селективная диссекция превосходит удаление лимфатических узлов по методу «berry picking» по результатам послеоперационной сцинтиграфии с радиоiodом, не уступая по адекватной радикальности двусторонней или односторонней фасциально-футлярной диссекции, что допускает использование этого метода в хирургической практике, но при условии интраоперационного гистологического подтверждения поражения лимфатических узлов не более, чем в 1-2 группах яремных коллекторов.

6. Внедрение поэтапного экспресс-гистологического исследования удаленных лимфатических узлов с учетом строения первичной опухоли и ее локализации в железе, наряду с макроскопической визуальной оценкой коллекторов шеи, явилось важным методом оценки метастатического поражения лимфатических узлов шеи и оказало существенную помощь в определении необходимого объема диссекции, что привело к выраженному снижению выявления регионарных метастазов (в 2,5 раза) при послеоперационной сцинтиграфии с радиоiodом.

Литература

1. Демидчик Е.П., Цыб А.Ф., Лушников Е.Ф. Рак щитовидной железы у детей. М.: Медицина, 1996. 208 с.
2. Тронько Н.Д., Богданова Т.И. Рак щитовидной железы у детей Украины (последствия Чернобыльской катастрофы). К.: Чернобыльинформ, 1997. 200 с.
3. Tronko N.D., Bogdanova T.I. Thyroid cancer in children and adolescents/ A.Vozianov, V. Bebeshko, D. Bazyka (eds.). Health effects of Chornobyl accident // Kyiv: DIA LTD, 2003, 60-68.
4. Комиссаренко И.В., Рыбаков С.И., Коваленко А.Е., Омельчук А.В. Результаты хирургического лечения радиационно-индуцированного рака щитовидной железы в период после аварии на Чернобыльской АЭС // Хірургія України. 2002, 2, 62-64.
5. Пачес А.И., Пропп Р.М. Рак щитовидной железы. М.: Центр внедрения достижений науки и техники, 1995. 370 с.
6. Романчишен А.Ф. Клинико-патогенетические варианты новообразований щитовидной железы. С-П.: Санкт-Петербург, 1992. 260 с.

7. Tronko M.D., Bogdanova T.I., Komissarenko I.V. et al. Thyroid carcinoma in children and adolescents in Ukraine after the Chernobyl nuclear accident. Statistical data and clinicomorphologic characteristic // *Cancer*. 1999, 86, 149-156.
8. Богданова Т.И., Козырицкий В.Г., Тронько Н.Д. Патология щитовидной железы у детей: Атлас. К.: Чернобыльинтеринформ, 2000. 160 с.
9. Богданова Т.И., Журнаджи Л.Ю. Морфологічна характеристика карцином щитовидної залози дітей і підлітків України, які постраждали внаслідок Чорнобильської катастрофи // *Ендокринологія*. 2006, 11, № 1, 93-108.
10. Коваленко А.Е. Особенности клиники та хірургічного лікування хворих на рак щитовидної залози після аварії на Чорнобильській АЕС: Автореф. дис. докт. мед. наук. К., 2003. 36 с.
11. Kozyrtsky V.G., Bogdanova T.I., Voskoboinik L.G. et al. Analysis of the results on the use of frozen sections and smears – imprints in express diagnosis of tumoral processes in children and adolescents in Ukraine after the Chernobyl accident // *The radiological consequences of the Chernobyl accident (1st Intern. conf., Minsk, Belarus: 18-22.03.1996) // ECSC-EC-EAEC, Brussels-Luxemburg, 1996, 799-802.*
12. Комісаренко І.В., Богданова Т.І., Коваленко А.Є. та ін. Роль етапного експрес-гістологічного дослідження при операціях з приводу раку щитоподібної залози у дітей // *Одеський медичний журнал*. 2001, № 4, 29-30.
13. Процык В.С., Шишкина В.В., Чеботарева Э.Д. Значение сцинтиграфии в оценке исхода хирургического лечения дифференцированного рака щитовидной железы // *Клин. хирургия*. 1997, № 9-10, 29-32.
14. Oliynik V., Epshtein O., Sovenko T. et al. Post-surgical ablation of thyroid residues with radioiodine in Ukrainian children and adolescents affected by post Chernobyl differentiated thyroid cancer // *J. Endocr. Invest*. 2001, 24, 445-447.
15. Эпштейн Е.В., Олейник В.А., Сovenko Т.К., Чуков А.В. Отдаленные результаты радиойодтерапии дифференцированного рака щитовидной железы у детей и подростков Украины, подвергшихся радиационному воздействию // *Международный журнал радиац. медицины*. 2002, № 1-2, 323-324.
16. Эпштейн Е.В., Матящук С.И., Матящук А.С. Рак щитовидной железы: комплексные клинические системы оценки долгосрочного прогноза (обзор литературы и собственных исследований) // *Журн. АМН України*. 2005, 11, № 2, 287- 311.
17. Чернышов С.В., Комиссаренко И.В., Журнаджи Л.Ю., Коваленко А.Е. Объем диссекции лимфатических узлов шеи при папиллярной карциноме щитовидной железы у детей // *Хірургія України*. 2005, 13, 40-42.
18. Комісаренко І.В., Рibaков С.Й., Коваленко А.Є. та ін. Спосіб визначення обсягу лімфаденектомії при захворюванні на рак щитовидної залози. Патент України № 46479 А, 15.05.2002, Бюл. № 5.

Порівняльний аналіз результатів первинного хірургічного лікування папілярних карцином щитоподібної залози і даних післяопераційної сцинтиграфії з NaI-131 С.В. Чернышов, С.В. Гулеватий, Т.К. Сovenko, О.В. Епштейн
Институт ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, м. Київ, 04114, Україна

Проведений порівняльний аналіз результатів первинного радикального хірургічного лікування пацієнтів, оперованих у віці 4-18 років з приводу папілярної карциноми щитоподібної залози протягом 1995-2000 років, і даних післяопераційної сцинтиграфії з NaI-131. Встановлено, що накопичення радіофармпрепарату у місці локалізації щитоподібної залози мало місце в 166 з 171 спостережень (97,1 %). Накопичення радіофармпрепарату в зонах регіонального метастазування могло бути наслідком як агресивної поведінки пухлини, так і недостатньої інтраопераційної оцінки розпов-

сюдженості пухлинного процесу і, відповідно, недостатнім обсягом дисекції. Проведено порівняння різного обсягу дисекції з результатами післяопераційної скінтиграфії. Встановлено, що селективна дисекція, виконана за фасціальньо-футлярною методикою, має перевагу над методикою «berry picking», і не поступається за адекватністю радикальній дисекції шиї, але за умов ретельного експрес-гістологічного аналізу видалених лімфовузлів. Використання етапного експрес-гістологічного дослідження первинної пухлини і регіональних лімфатичних вузлів призвело до вираженого зниження виявлення регіональних метастазів (в 2,5 рази) при післяопераційній скінтиграфії з радіоїодом.

Ключові слова: папілярна карцинома щитоподібної залози, регіональні метастази, дисекція лімфатичних вузлів, скінтиграфія, лікування радіоактивним йодом.

Comparative analysis of the results of primary surgical treatment of papillary thyroid carcinomas with the data of postoperative scintigraphy with NaI-131

S.V. Chernyshev, S.V. Gulevaty, T.K. Sovenko, E.V. Epshtein
V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, Kyiv, 04114, Ukraine

The authors have conducted a comparative analysis of the results of primary radical surgical treatment of patients who were operated on at the age of 4 to 18 years for a papillary thyroid carcinoma for the period 1995-2000, with the data of postoperative scintigraphy with NaI-131. It has been shown that accumulation of radiopharmaceutical preparation in thyroid bed occurred in 166 out of 171 (97.1%) of patients. Accumulation of radiopharmaceutical preparation in areas of regional metastatic spreading may be the result of both aggressive behaviour of thyroid tumour and of an insufficient intraoperative estimation of tumoral process spreading and, consequently, of an insufficient dissection volume. A comparison has been made between different volumes of dissection and the results of postoperative scintigraphy. It has been established that selective dissection performed using the method of modified neck dissection, has advantages over the «berry picking» procedure and was not inferior – as to its adequacy – to a radical dissection of the neck, though under condition of a thorough express-histological analysis of the removed lymph nodes. Use of a stage-by-stage express-histological study of the primary tumour and regional lymph nodes led to a marked decrease in the detection rate of regional metastases (by 2.5 times) when using postoperative radioiodine scintigraphy.

Key words: papillary thyroid carcinoma, regional metastases, lymph node dissection, scintigraphy, radioiodine therapy.

(Надійшла 8.10 2007)

СТАН СИСТЕМИ ІМУНІТЕТУ ХВОРИХ НА РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ПІСЛЯ ЛІКУВАННЯ РАДІОЙОДОМ

Г.А. Замотаєва, Н.М. Степура*, Д.С. Сидоренко, Т.Ф. Захарченко, М.М. Гойдаш, Д.О. Джужа, О.Г. Береза

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

Нині загально визнаними методами лікування диференційованого раку щитоподібної залози є тотальна тиреоїдектомія та ад'ювантна терапія радіоактивним йодом. Інформація щодо побічних наслідків впливу радіоїоду на організм хворого, в тому числі і на систему імунітету, досить обмежена. Мета роботи полягала у вивченні наслідків впливу радіоактивного йоду, застосованого в діагностичних та лікувальних дозах, на стан імунної системи хворих на рак щитоподібної залози. Комплексне імунологічне обстеження проведено напередодні та через 1, 3 та 6 міс після введення радіофармпрепарату у двох групах хворих: у 19 пацієнтів, які отримували діагностичну дозу йоду-131, та у 47 – після радіоїодтерапії. Вивчалися: проліферативний потенціал та інтерлейкін-2-продукуюча активність лімфоцитів периферичної крові, цитотоксичність природних кілерних клітин і нейтрофілів, рівень циркулюючих імунних комплексів.

Отримані результати свідчать про суттєві зміни в імунній системі хворих, які зазнали радіоїодтерапії. Встановлено, що найбільші порушення в системі імунітету спостерігаються через місяць після введення йоду-131, а зміни деяких імунологічних показників зберігаються протягом усього періоду спостереження – 6 міс. Зміни в імунній системі виявляються навіть при введенні невеликих доз радіоїоду, які застосовуються при діагностичній скінтиграфії.

Ключові слова: рак щитоподібної залози, йод-131, радіоїодтерапія, діагностична скінтиграфія, система імунітету.

Починаючи з 1990 року серед населення України спостерігається значне зростання онкопатології щитоподібної залози, головним чином в осіб, які були дітьми та підлітками на час Чорнобильської аварії [1]. В даний час найбільш виправданим у плані позитивного довгострокового прогнозу лікування тиреоїдного раку є повне видалення щитоподібної залози (ЩЗ) – тиреоїдектомія та післяопераційне проведення радіоїодтерапії. Метою післяопераційного введення великих доз йоду-131 є абляція залишкової тканини ЩЗ. Знищення тиреоїдних клітин як малігнізованих, так і нормальних, по-перше, знижує вірогідність рецидиву раку, а по-друге, суттєво підвищує специфічність подальшого контролю за перебігом хвороби [2, 3]. Широке застосування радіоїодтерапії у лікуванні раку ЩЗ, в тому числі в осіб молодого віку, обумовило всебічне і ретельне вивчення наслідків впливу радіоїоду на різні органи і системи організму.

Донедавна існувала думка, що через високу органотропність йоду-131 його радіаційний вплив на організм в цілому незначний. Проте застосуван-

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

ня нових біологічних методів дозиметрії показало, що середні еквівалентні дози опромінення клітин кісткового мозку і периферичної крові при введенні терапевтичних доз ^{131}I складають 0,32-0,54 Гр, що в 2-4 рази перевищує значення, отримані з використанням математичних розрахунків [4], а з кожним наступним курсом радіоїодтерапії відбувається акумуляція поглинутих доз, які за 6-7 ін'єкцій ^{131}I можуть досягати 3-3,5 Гр [5].

Масштабні когортні дослідження, результати яких були опубліковані останніми роками, показали збільшення ризику захворювання на лейкоз та солідні пухлини (рак кісток і м'яких тканин, слинних залоз, прямої кишки і жіночих статевих органів) серед пацієнтів, які пройшли лікування радіоїодом з приводу раку ЩЗ (РЩЗ) [6,7]. Була встановлена лінійна залежність між кількістю випадків раку і сумарною активністю отриманого радіоїоду. Доза-ефект найбільш виражений для лейкемій [8]. При введенні високої кумулятивної активності ^{131}I у хворих з великою кількістю метастазів у кістки спостерігалось гальмування кровотворення [9].

Стан імунної системи належить до чинників, що значною мірою впливають на прогноз захворювання і якість життя хворих на рак. До того ж відомо, що клітини імунної системи є надзвичайно радіочутливими. Питання впливу терапії радіоактивним йодом на стан імунної системи хворих розглядаються в поодиноких публікаціях [10-12]. При цьому наведені результати суперечливі, незручні для зіставлення, отримані на малочисельних групах хворих і обмежені тільки кількісними показниками вмісту лімфоцитів периферичної крові без урахування їхнього функціонального потенціалу.

Зважаючи на вищевикладене, метою нашої роботи було визначення стану імунної системи у хворих на диференційований рак щитоподібної залози після діагностичної сцинтиграфії та радіоїодтерапії.

Об'єкт і методи дослідження

Імунологічні дослідження проведені у двох групах хворих на диференційований рак щитоподібної залози, які проходили діагностичну сцинтиграфію та радіоїодтерапію в Інституті онкології АМН України.

У першу групу увійшли 19 хворих, яким робили діагностичне сканування йодом-131 (застосовані дози – 70-80 МБк). Вік хворих був у межах від 36 до 66 років ($51,6 \pm 2,1$). Серед них 16 із 19 осіб були жінки, решта (3) – чоловіки. У 2 пацієнтів виявлені метастази в лімфовузлі, останні – метастатичного ураження не мали.

Дослідження стану імунної системи після введення терапевтичних активностей (4130-4730 МБк) йоду-131 (друга група) здійснено у 47 хворих, віком від 30 до 72 років ($50,3 \pm 1,3$). З них 37 хворих – жінки, 13 – чоловіки. У третини пацієнтів цієї групи виявлені метастази у лімфовузлі, у кожного п'ятого – в легені.

Імунологічне обстеження проводили в динаміці: до введення радіоїоду і через 1, 3 та 6 міс після. Контролем була група донорів відповідної вікової категорії у кількості 41 особи.

Вивчалися наступні показники стану імунної системи: проліферативний потенціал лімфоцитів периферичної крові, цитотоксична активність природних кілерних клітин (ПКК) і нейтрофілів, інтерлейкін-2-продукуюча активність лімфоцитів та рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК).

Проліферативний потенціал лімфоцитів визначали в реакції бласттрансформації при стимуляції поліклональними мітогенами: фітогемаглютиніном (ФГА) – 10 мкг/мл, конканаваліном А (Кон-А) – 5 мкг/мл і ліпополісахаридом (ЛПС) – 100 мкг/мл [13]. Проліферативну активність клітин оцінювали за включенням ^3H -тимідину, радіоактивність проб визначали за допомогою лічильника Beckman LS-500 TA.

Визначення цитотоксичної активності нейтрофілів та ПКК у периферичній крові проводили за модифікованим методом Круглової [14], який базується на спектрофото-

метричному визначенні кількості гемоглобіну, що вивільнився із зруйнованих ефекторними клітинами клітин-мішеней (мишачі еритроцити) в процесі їх сумісної інкубації.

Індекс цитотоксичності вираховували за формулою:

$$ІЦ = \frac{Ее - Еп}{Ее} \times 100 \% , \text{ де}$$

Ее – оптична щільність контролю еритроцитів,

Еп – оптична щільність досліджуваних проб.

Активність інтерлейкіну-2 визначали за методом De Vos [15]. Активність цитокіну в супернатантах оцінювали за його здатністю посилювати проліферацію тимочитів, стимульованих субоптимальними дозами мітогену – Кон-А. Проліферацію клітин підраховували за включенням ³Н-тимідину. Радіоактивність проб визначали за допомогою лічильника Beckman LS 500 TA. Індекс стимуляції (ІС) дорівнював відношенню кількості імпульсів у пробах з досліджуваними зразками до кількості імпульсів в контрольних пробах.

Циркуючі імунні комплекси (ЦІК) у сироватці крові визначали осадженням поліетиленгліколем з молекулярною масою 6000 (фірми «LOBA CHEMIE») методом, запропонованим Creighton і співав., Digeon і співав. в модифікації Гашкової і співав. [16]. Кількість ЦІК виражали в умовних одиницях, отриманих після спектрофотометричних вимірів при довжині хвилі 450 нм.

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

До початку роботи була отримана згода від обстежуваних та позитивне рішення Комісії з медичної етики Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України.

Результати та їх обговорення

Отримані результати виявили істотні зміни в імунній системі хворих на РЩЗ, які зазнали дії радіоїоду.

Як видно із представлених в табл. 1 даних, у пацієнтів обох груп напередодні введення радіоїоду функціональна активність лімфоцитів периферичної крові була вірогідно меншою у порівнянні з донорами. Проведення тиросцинтиграфії призводило до зменшення інтенсивності реакції бласттрансформації протягом всього терміну дослідження: через 1, 3 та 6 міс. Слід зауважити, що зміни проліферативної відповіді лімфоцитів на Кон-А були більш значущі, і відрізнялися від показників пацієнтів до введення ¹³¹I на 28 %, 24 % та 15 %. При застосуванні ФГА вони були в межах 13 %-16 %. Зі збільшенням терміну спостереження простежується часткове відновлення функціональної активності Т-лімфоцитів.

Пригнічення функціональної активності Т-лімфоцитів виявлено і за введення терапевтичних доз радіоїоду. При стимуляції бласттрансформації фітогемаглютиніном включення мітки в ДНК Т-лімфоцитів після радіоїодотерапії було меншим, ніж до введення йоду-131 на 30 %, 25 % та 11 % через 1, 3 та 6 міс, відповідно. При використанні мітогену Кон-А активність РВТЛ знижувалась відповідно на 26 %, 22 % та 12 %.

Помітні зміни функціональної активності В-лімфоцитів виявлені лише через 1 міс після введення ізотопу (як діагностичних, так і терапевтичних активностей ¹³¹I).

Таким чином, зниження проліферативної відповіді лімфоцитів на Т-клітинні мітогени визначалося впродовж всього терміну спостереження (6 міс), тоді як проліферативна активність В-клітин відновлювалася у більшій частині хворих до 3 міс. Не виявлено залежності даного показника від величини дози радіоїоду.

Таблиця 1. Інтенсивність реакції бласттрансформації лімфоцитів периферичної крові хворих на РЩЗ до та в різні строки після введення діагностичної та терапевтичної дози ^{131}I

Мітогени	Контроль (донори)	Хворі на рак щитоподібної залози			
		До введення ^{131}I	Після введення ^{131}I		
			через 1 міс	через 3 міс	через 6 міс
ФГА	3,78±0,17	Діагностична доза			
		2,95±0,10*	2,55±0,12*,**	2,48±0,12*,**	2,56±0,16*,**
		Терапевтична доза			
		3,23±0,10*	2,25±0,09*,**	2,44±0,12*,**	2,88±0,07*,**
Кон-А	3,08±0,16	Діагностична доза			
		2,69±0,05*	1,95±0,11*,**	2,06±0,12*,**	2,30±0,16*,**
		Терапевтична доза			
		2,80±0,12	2,06±0,10*,**	2,21±0,12*,**	2,47±0,09*,**
ЛПС	4,75±0,04	Діагностична доза			
		4,22±0,15*	3,53±0,24*,**	3,64±0,16*,**	4,23±0,16*
		Терапевтична доза			
		3,68±0,13*	3,02±0,17*,**	3,59±0,17*	3,88±0,13*

Примітка: * – вірогідно у порівнянні з показником донорів, ** – з показником до введення ^{131}I .

Деякі інші закономірності були виявлені при визначенні активності основних клітинних ефektorів вродженого імунітету – ПКК і нейтрофілів. Ці клітини відіграють ключову роль в первинному захисті від чужорідних патогенів, беруть активну участь у протипухлинному імунітеті, виконують регуляторні функції.

Результати дослідження цитотоксичної активності природних клітин-кілерів після діагностичного сканування та радіоїодотерапії представлені на мал. 1. До введення ізотопу у хворих на РЩЗ, які проходили діагностичне сканування, активність природних клітин-кілерів не відрізнялася від норми, тоді як у групі хворих до радіоїодотерапії цитотоксична активність ПКК була знижена в 1,5 рази ($P < 0,01$). Встановлено, що після введення діагностичної дози йоду-131 активність природних кілерів у хворих на рак щитоподібної залози вірогідно ($P < 0,05$) знижена тільки через



Примітка: На мал. 1 і 2: * – вірогідність різниці у порівнянні з нормою, ** – у порівнянні з хворими на РЩЗ до застосування йоду-131; # – у порівнянні з групою «терапевтична доза».

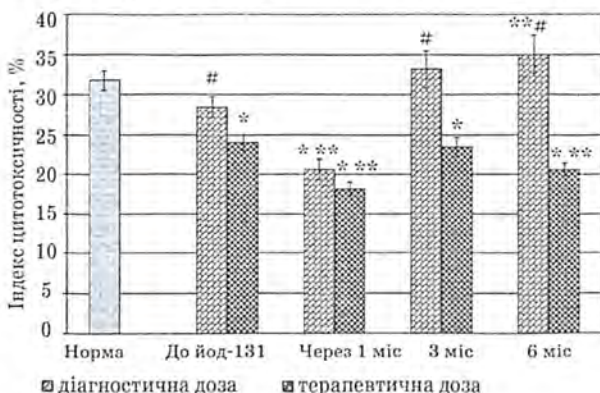
Мал. 1. Цитотоксична активність ПКК у хворих на РЩЗ після застосування йоду-131.

Мал. 1. Цитотоксична активність ПКК у хворих на РЩЗ після проведення скінтиграфії у хворих на РЩЗ відбувалося відновлення активності ПКК ($34,0 \pm 2,5$ % проти $32,1 \pm 1,7$ % в контролі),

а через 6 міс відзначена тенденція до збільшення цього показника ($38,0 \pm 3,0$ % проти $32,1 \pm 1,7$ % в контролі). Після введення лікувальних доз радіоїоду протягом усього періоду обстеження хворих активність ПКК була зниженою у порівнянні з показником до введення радіофармпредпарату.

Таким чином, у хворих на рак щитоподібної залози, яким проведено діагностичне сканування йодом-131, функція клітин-кілерів менше уражається, що проявляється у швидшому (через 3 міс) її відновленні, ніж при застосуванні радіоїодотерапії.

На мал. 2 представлені результати вивчення активності нейтрофілів у хворих на РЩЗ під впливом різних доз йоду-131. Цитотоксична активність нейтрофілів у хворих до проведення діагностичної сканування була дещо знижена відносно показника здорових людей ($28,4 \pm 1,0$ % – хворі, $31,7 \pm 1,2$ % – донори). Вірогідне зниження активності нейтрофілів спостерігалось лише через 1 міс після діагностичного сканування, з подальшим відновленням через 3 та 6 міс. У пацієнтів до проведення радіоїодотерапії активність нейтрофілів знижена в 1,3 рази ($P < 0,01$) при порівнянні з контрольною групою. Введення терапевтичних активностей йоду-131 призводить до подальшого зниження активності нейтрофілів протягом всього періоду обстеження хворих (6 міс).



Мал. 2. Цитотоксична активність нейтрофілів у хворих на РЩЗ після застосування йоду-131.

Отже, вплив радіоїоду на клітинні ефектори природної резистентності крові у хворих на РЩЗ залежить від активності ізотопу, причому цей ефект проявляється не в ступені зниження показників, а в тривалості порушень. Діагностичне сканування хворих на РЩЗ призводить до вірогідного зниження активності природних клітин-кілерів та нейтрофілів протягом місяця, яке через півроку повністю нівелюється, що може свідчити про адаптаційний характер змін в імунній системі таких хворих. Після введення терапевтичної дози радіоїоду знижена активність ПКК та нейтрофілів зберігається 6 міс.

Особливе значення ІЛ-2 при новоутвореннях пов'язане з його роллю в індукції поліклональної активації цитотоксичних Т-лімфоцитів, забезпеченні ранніх стадій диференціювання макрофагів та посиленні їх антитілозалежної цитотоксичності, стимуляції клітин-кілерів і продукції гамма-інтерферону і, тим самим, посиленні протипухлинної активності. Показники визначення впливу діагностичного сканування та радіоїодотерапії на інтерлейкін-2-продукуючу активність лімфоцитів наведені в табл. 2.

Із представлених даних видно, що у хворих на РЩЗ введення як діагностичної, так і терапевтичної дози ^{131}I призводило до вірогідного зниження активності цитокіну. Через 1 міс після введення йоду-131 в діагностичній дозі активність інтерлейкіну-2 знизилася приблизно в 2 рази. Подібна тенденція зміни показника, в цей же період обстеження, виявлена і у хворих, яким проводили радіоїодтерапію. Введення терапевтичної дози ^{131}I знижувало активність медіатору в 2,2 рази.

Визначення активності ІЛ-2 через 3 міс після діагностичного сканування не виявило її суттєвих змін порівняно з показниками пацієнтів, обстежених через 1 міс. У хворих, які отримали терапевтичну дозу, активність медіатору

Таблиця 2. Вплив діагностичної і терапевтичної дози йоду-131 на інтерлейкін-2-продукуючу активність лімфоцитів крові хворих на рак щитоподібної залози (ІС, М±m)

Контроль (донори)	До введення ізоотопу	Після інкорпорації ¹³¹ I		
		через 1 міс	через 3 міс	через 6 міс
4,48±0,18	Діагностична доза			
	2,16±0,03	1,07±0,03	1,14±0,02	1,35±0,04
	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
	Терапевтична доза			
	1,97±0,03	0,89±0,03	1,61±0,04	1,17±0,02
	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	

Примітка: P – вірогідність різниці показників при порівнянні з контролем,

P₁ – при порівнянні з даними до введення ізоотопу,

P₂ – при порівнянні з показником через 1 міс після введення йоду-131.

підвищилася в 1,8 рази.

Через півроку після інкорпорації ізоотопу у пацієнтів, які проходили діагностичне сканування, спостерігалось польне підвищення інтерлейкін-2-продукуючої активності лімфоцитів крові – досліджуваний показник у таких хворих збільшився в 1,2 рази відповідно до двох попередніх строків обстеження (1 та 3 міс).

Навпаки, у пацієнтів, які проходили лікування терапевтичними дозами йоду-131, через 6 міс після опромінення спостерігалось вірогідне зниження інтерлейкін-2-продукуючої активності лімфоцитів периферичної крові відносно показника через 3 міс. Так, через півроку активність медіатора була в 1,4 рази меншою показника хворих, обстежених через 3 міс. При порівнянні отриманих даних активності інтерлейкіну-2 у хворих на РЩЗ напередодні та в ранні строки (1, 3 і 6 міс) після введення терапевтичних активностей йоду-131, ми виявили хвилеподібний характер його змін. Це цілком імовірно, зважаючи на те, що система регуляції продукції і активності інтерлейкіну-2 на всіх етапах пухлинного процесу відбувається за участю різноманітних чинників, які можуть пригнічувати або посилювати як продукцію, так і активність цього цитокіну [17].

Таким чином, через 6 міс після діагностичного сканування та радіоїодотерапії у хворих на РЩЗ спостерігається вірогідне підвищення активності інтерлейкіну-2 при порівнянні з відповідним показником через 1 міс. Разом з тим, активність цитокіну залишалася вірогідно меншою вихідного показника (до введення ізоотопу) та показника здорових людей.

Відомо, що імунні комплекси (ІК) утворюються при безпосередньому з'єднанні антигенів з антитілами. Крім цих двох компонентів, до складу ІК можуть входити молекули, здатні взаємодіяти з певними ділянками зв'язаних з антигеном антитіл. Це, в першу чергу, компоненти системи комплементу та антиглобулінові чинники. Приєднання цих реагентів змінює властивості ІК і суттєво впливає на їх роль в захисних та імунопатологічних реакціях [18].

Результати впливу діагностичного сканування та радіоїодотерапії на кількість циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у хворих на РЩЗ представлені на мал. 3. Як свідчать наведені дані, через місяць після введення діагностичної

дозі ^{131}I рівень ЦІК збільшувався у 1,4 рази, а потім поступово знижувався. Через 3 міс він був лише на 11 % вищим, ніж до введення йоду-131, а через 6 міс – повертався до вихідних значень. Подібні зміни кількості ЦІК у сироватці крові виявлені і у хворих, які приймали ^{131}I у терапевтичних дозах. Через 1 міс рівень імунних комплексів у сироватці крові таких пацієнтів зростає на 40 %. Через 3 міс після радіойодотерапії спостерігається суттєве їх зменшення відносно показника через 1 міс, а через півроку вміст ЦІК був таким, як і до введення ^{131}I .

Порівнюючи кількість ЦІК у хворих на РЩЗ після діагностичного сканування та введення терапевтичної дози йоду-131, суттєвих змін в динаміці утворення імунокомплексів, і тим самим залежності вмісту ЦІК від введеної дози ізотопу, ми не виявили.

Таким чином, отримані результати свідчать про суттєві зміни в імунній системі хворих, які зазнали впливу радіойоду. Встановлено, що найбільші порушення в системі імунітету спостерігаються через місяць після введення як діагностичних, так і терапевтичних активностей йоду-131, а зміни деяких імунологічних показників зберігаються протягом усього періоду спостереження – 6 міс. Виявлена залежність порушень в імунній системі від введеної активності йоду-131, що проявляється в тривалості змін імунологічних показників.

Отже, радіойод спричиняє значущі і довготривалі зміни в системі імунітету хворих на РЩЗ, що є підставою для розробки показань до застосування засобів імуноореабілітації в комплексному лікуванні хворих з тиреоїдною карциною.

Висновки

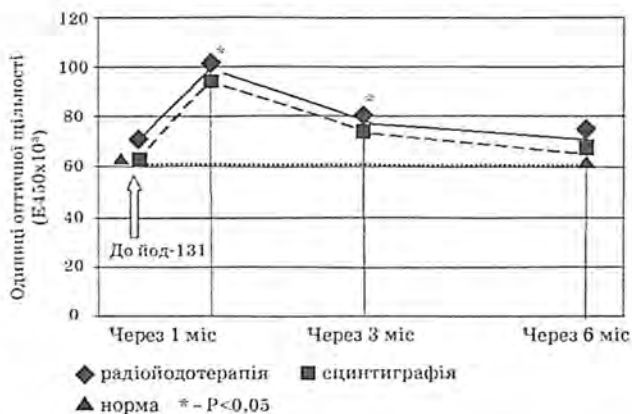
1. Встановлено, що навіть введення малих (70-80 МБк) доз радіойоду, які застосовуються при діагностичній сцинтиграфії, призводить до певних порушень системи імунітету.

2. Введення ^{131}I в діагностичних і терапевтичних дозах спричиняє такі порушення в імунній системі хворих на РЩЗ: зменшується проліферативна відповідь периферичних мононуклеарів крові на поліклональні мітогени, знижується активність ефektorів природної резистентності та інтерлейкіну-2, підвищується кількість циркулюючих імунних комплексів.

3. Найсуттєвіші зміни в системі імунітету спостерігаються через місяць після введення як діагностичних, так і терапевтичних доз йоду-131, а порушення деяких імунологічних показників зберігаються протягом усього періоду спостереження – 6 міс.

4. Порушення імуногенезу залежать від введеної активності радіойоду, що проявляється в тривалості імунологічних змін.

5. Обґрунтована оцінка імунологічних наслідків радіойодотерапії дасть можливість визначити доцільність та розробити показання до застосування засобів імуноореабілітації в комплексному лікуванні хворих на РЩЗ.



Мал. 3. Вміст циркулюючих імунних комплексів у сироватці хворих на РЩЗ після введення йоду-131.

Література

1. Тронько М.Д. Скринінгове обстеження – вірогідний метод оцінки впливу Чорнобильської катастрофи на стан щитовидної залози у дітей і підлітків України // *Ендокринологія*. 2006, 11, № 1, 80-92.
2. Robbins R.J., Schlumberger M.J. The involving role of the ¹³¹I for the treatment of differentiated thyroid carcinoma // *J. Nucl. Med.* 2005, 46, N 1, 28S-37S.
3. 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.
4. 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.
5. M'Kacher R., Schlumberger M., Legal J.D. et.al. Biologic dosimetry in thyroid cancer patients after repeated treatments with iodine-131 // *J. Nucl. Med.* 1998, 39, N 5, 825-929.
6. Rubino C., de Vathaire F., Dottorini M.E. et al. Second primary malignancies in thyroid cancer patients // *Br. J. Cancer.* 2003, 89, 1638-1644.
7. Hall P., Holm L.E., Lundell G. et al. Cancer risk in thyroid cancer patients // *Br. J. Cancer.* 1991, 64, 159-163.
8. De Vathaire F., Schlumberger M., Delisie M. et al. Leukemias and cancers following iodine-131 administration for thyroid cancer // *Br. J. Cancer.* 1997, 75, 734-739.
9. Emrich D., Creutzig H. Benefits and risks of radioactive iodine therapy in differentiated thyroid carcinoma // *Prog. Surg.* 1988, 19, 133-146.
10. Tofani A., Sciuto R., Cioffi R.P. et al. Radioiodine-induced changes in lymphocyte subsets in patients with differentiated thyroid carcinoma // *Eur. J. Nucl. Med.* 1999, 26, N 8, 824-829.
11. Солнцева О.С., Калинина Н.М., Бычкова Н.В. и др. Роль цитокинов в осуществлении апоптических процессов клеток иммунной системы у лиц, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации в малых дозах // *Иммунология*. 2000, № 3, 22-24.
12. Воронцова Т.В., Шаврова Е.Н., Кучинская Э.А. и др. Состояние иммунной системы детей, больных раком щитовидной железы, получающих гормональное лечение и радиоiodотерапию // *Иммунология, аллергология, инфектология*. 2001, № 2, 38-45.
13. Фримель Г. Иммунологические методы. М.: Медицина, 1987. 472 с.
14. Круглова И.Ф. Цитотоксическая активность киллерных клеток при туберкулезе: Автореф. дисс. канд. мед. наук. К., 1992. 19 с.
15. De Vos C., Libert W. Simple rapid method for detection of IL-2 in physiological medium // *J. Immunol. Meth.* 1984, 74, N 2, 374-384.
16. Haskova V., Koslik J., Riha I. et al. Simple method of circulating immune complex detection in human sera by polyethylene glucol precipitation // *Immunitasforsch.* 1978, 154, N 4, 399-406.
17. Бережная Н.М., Горецкий Б.А. Интерлейкин-2 и злокачественные новообразования. К.: Наукова думка, 1992. 173 с.
18. Первигов Ю.В., Эльберт Л.Б. Иммунные комплексы при вирусных инфекциях. М.: Медицина, 1984. 145 с.

Состояние системы иммунитета больных раком щитовидной железы после лечения радиоiodом

Г.А. Замотаева, Н.Н. Степура, Д.С. Сидоренко, Т.Ф. Захарченко, М.М. Гойдаш, Д.А. Джужа, Е.Г. Береза

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

На сегодняшний день основными методами лечения дифференцированного рака щитовидной железы является тотальная тиреоидэктомия и адьювантная терапия радиоактивным йодом. Информация о последствиях влияния радиоiodа на организм больного, в том числе и на иммунную систему, недостаточная. Целью работы было изучение влияния радиоактивного йода, примененного в диагностических и лечебных дозах, на состояние иммунной системы больных раком щитовидной железы. Комплексное иммунологическое обследование проведено до и через 1, 3 и 6 мес после введения радиофармпрепарата у двух групп больных: у 19 пациентов, которые получали диагностическую дозу йода-131, и у 47 – после радиоiodтерапии. Изучали пролиферативный потенциал и интерлейкин-2-продуцирующую активность лимфоцитов периферической крови, цитотоксическую активность природных киллерных клеток и нейтрофилов, а также уровень циркулирующих иммунных комплексов.

Полученные результаты свидетельствуют о существенных изменениях в иммунной системе больных, подвергшихся радиоiodтерапии. Наиболее значимые нарушения в системе иммунитета выявлены через 1 мес после введения йода-131, а изменения некоторых иммунологических показателей сохраняются на протяжении всего периода наблюдения – 6 мес. Изменения в иммунной системе выявляются даже при введении небольших доз радиоiodа, которые применяются при диагностической скинтиграфии.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, йод-131, радиоiodтерапия, диагностическая скинтиграфия, система иммунитета.

Status of immune system in patients with thyroid cancer after radioiodine treatment

G.A. Zamotayeva, N.M. Stepura, D.S. Sidorenko, T.F. Zakharchenko, M.M. Goydash, D.O. Dzhuzha, O.G. Bereza

V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, Kyiv, 04114, Ukraine

Nowadays, total thyroidectomy and adjuvant therapy with radioactive iodine are generally admitted as methods of treatment of differentiated thyroid cancer. There is insufficient evidence of radioiodine side effects on patient's body, including radioiodine impact on the immune system.

The aim of this work was to study the effects of radioactive iodine—used at diagnostic and therapeutic doses – on the immune status of thyroid cancer patients.

The authors have carried out a combined immunological study before administration, and in 1, 3, and 6 months after administration of radioiodine pharmaceutical preparation in two groups of patients: in 19 patients who received a diagnostic dose of iodine-131, and in 47 patients after radioiodine therapy. The following indices were studied: proliferative potential and interleukin-2-producing activity of peripheral blood lymphocytes, cytotoxicity of natural killer cells and neutrophils, and level of circulating immune-complexes.

The results obtained suggest substantial changes in immune system of patients who received radioiodine therapy. The most significant disturbances in immune system were reported in one month after I-131 administration, and changes in certain immunological indicators persisted for the whole follow-up period: 6 months. Changes in immune system were noted even in case of small radioiodine doses that are used for diagnostic scintigraphy.

Key words: thyroid cancer, iodine-131, radioiodine therapy, diagnostic scintigraphy, immune system.

(Надійшла 8.10.2007)

ЕКСПРЕСІЯ MET ТА EGFR В ПІСЛЯЧОРНОБИЛЬСЬКИХ ПУХЛИНАХ ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ

Л.Г. Воскобойник*

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

За допомогою молекулярно-біологічних досліджень встановлено, що післячорнобильські папілярні карциноми (ПК) щитовидної залози (ЩЗ) характеризуються високим відсотком перебудов RET/PTC, асоційованих із підвищенням тирозинкіназної активності. Ген трансмембранного рецептора фактора росту нервів (NTRK1) за умов злоякісної трансформації епітеліальних клітин ЩЗ також здатний до транслокацій, які призводять до формування химерних онкогенів родини TRK з конститутивно активованою тирозинкіназою. Щодо інших рецепторів відомо, що у папілярних карциномах ЩЗ спостерігається надекспресія гена MET (рецептор фактора росту гепатоцитів). Однак дані літератури щодо кількісного рівня експресії MET та інших рецепторів із тирозинкіназною активністю в післячорнобильських пухлинах ЩЗ, на жаль, відсутні. Тому, мета даної роботи полягала у визначенні експресії мРНК генів MET та EGFR за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції (real-time RT-PCR) в 54 післячорнобильських злоякісних і доброякісних пухлинах щитовидної залози (34 папілярні карциноми і 20 фолікулярних аденом). В усіх випадках досліджено і умовно нормальну тканину (НТ) ЩЗ. Експресія мРНК гена гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогенази (GAPDH) використана для нормалізації отриманих даних. Статистичний аналіз проведено за парним t-критерієм та χ^2 -критерієм.

Рівень експресії мРНК гена MET в папілярних карциномах ЩЗ був вірогідно вищим порівняно з відносно незміненою тканиною ($P = 0,0001$). На відміну від MET, рівні експресії мРНК гена EGFR в ПК та їх НТ вірогідно не відрізнялися. В фолікулярних аденомах (ФА) щитовидної залози рівні експресії мРНК як MET, так і EGFR були вірогідно нижчими порівняно із НТ ($P = 0,026$ і $P = 0,003$, відповідно). Крім того, було визначено, що переважна більшість ПК ($96 \pm 4\%$), на відміну від ФА та НТ, характеризувалася вірогідно вищим рівнем експресії мРНК гена MET порівняно з EGFR. Таким чином, встановлено, що післячорнобильські ПК характеризувалися підвищенням експресії гена MET, в той час як в доброякісних пухлинах ЩЗ спостерігалось зниження експресії генів MET і EGFR.

Ключові слова: папілярна карцинома, фолікулярна аденома, мРНК, ген MET, ген EGFR, кількісна полімеразна ланцюгова реакція.

Відомо, що ген MET кодує високоафінний трансмембранний рецептор, який зв'язує фактор росту гепатоцитів (HGF, відомий також як фактор розповсюдження) та характеризується внутрішньоклітинною тирозинкіназною активністю [1]. Формуючи біологічний комплекс із своїм лігандом, MET бере участь у широкому спектрі клітинних функцій, зокрема, проліферації, диференціації та міграції клітин [2-3]. Доведено, що надекспресія білка MET

*Адреса для листування (Correspondence): Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна; e-mail: vslora@mail.ru

знайдена у переважній більшості спонтанних папілярних карцином щитовидної залози [4-8]. Оскільки експресія MET спостерігається рідко або зовсім відсутня в нормальній тканині щитовидної залози (за даними імуногістохімічних досліджень), існує думка, що його надекспресія в папілярних карциномах ЩЗ обумовлює певну участь системи HGF-MET у прогресії зазначених пухлин [6]. Дійсно, найбільш виражена імуногістохімічна реакція з антитілами до MET-білка спостерігається у ділянках багатофокусного росту та у метастазах ПК до лімфовузлів [9-11]. Крім того, досліди *in vitro* продемонстрували, що MET посилює міграцію та інвазивні властивості пухлинних клітин. Деякі автори вважають, що наявність MET-білка пов'язана із гістологічною будовою пухлин, а найбільш помітна його експресія спостерігається за умов висококлітинного варіанту ПК, відомого як найбільш агресивного підтипу ПК [9-12]. З огляду наведених публікацій несподіваними виглядають дані, за якими надекспресія MET обернено корелює із розвитком віддалених метастазів [6]. Авторами доведено, що низький вміст білка MET або його відсутність є ефективним чинником ризику розвитку віддалених метастазів. Таким чином, наведені дані щодо експресії MET в ПК ЩЗ свідчать про його певну роль у патогенезі зазначених пухлин.

Епідермальний фактор росту (EGF) та його рецептор (EGFR) відповідають за широкий спектр ростових ефектів. Вважають, що проліферація клітин в пухлинній тканині асоційована саме із надекспресією EGF та EGFR за умов їх ядерної локалізації [13]. Папілярні карциноми щитовидної залози характеризуються різним ступенем поширеності та інтенсивності реакції із антитілами до EGFR [14]. При цьому імуногістохімічне забарвлення ядер в епітеліоцитах таких пухлин практично відсутнє, в той же час наявність EGFR у цитоплазмі та мембранах тиреоїдних клітин спостерігається у переважній більшості ПК [15-17]. Виявлено тенденцію, що надекспресія білка EGFR асоційована з розвитком метастазів до регіональних лімфатичних вузлів, збільшеним розміром пухлин та властива пізнім стадіям пухлинного процесу. Несподіваним виявилось те, що у нормальній тиреоїдній тканині імуногістохімічна реакція з антитілами до EGFR є помітно слабшою порівняно із пухлинною, однак рівень експресії мРНК гена EGFR у ПК та ФА не відрізняється від відповідної НТ [16-17].

Підвищення рівня експресії мРНК MET та EGFR в злоякісних пухлинах щитовидної залози, за даними літератури, може бути обумовлено активацією генів RAS або RET [18]. Добре відомо, що онкогенна активація гена RET шляхом формування RET/PTC-перебудов відмічається у значній кількості радіоіндукованих папілярних карцином щитовидної залози [19-22]. Однак у сучасній науковій літературі відсутні дані щодо оцінки рівня експресії мРНК рецепторів MET та EGFR саме в таких післячорнобильських пухлинах ЩЗ.

У зв'язку із вищезазначеним, мета нашого дослідження полягала у визначенні кількісного рівня експресії мРНК генів MET та EGFR в групі доброякісних і злоякісних післячорнобильських пухлин щитовидної залози і проведенні порівняльного аналізу отриманих даних із гістологічними особливостями пухлин.

Матеріали та методи

Зразки тканин. Досліджено 108 екстрактів РНК, що були виділені з післячорнобильських пухлин та умовно нормальної тканини щитовидної залози. Морфологічні особливості та адекватність матеріалу досліджено на заморожених зрізах, які готувалися перед екстракцією. Лише зразки, в яких пухлинні ділянки займали понад 80 %, були обрані для подальшої екстракції. Проаналізовано 54 зразки пухлин (34 папілярних карцином та 20 фолікулярних аденом) і 54 зразки відповідної відносно

незміненої тиреоїдної тканини. Патогістологічний діагноз встановлений в лабораторії морфології ендокринної системи Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України і додатково верифікований міжнародною групою експертів-патологів [23]. Середній вік пацієнтів на момент операції (21 ± 5 років для ПК і 23 ± 7 років для ФА) та середній латентний період, тобто час, що минув між Чорнобильською катастрофою і оперативним втручанням, були майже рівними (14 ± 1 років) в обох досліджених групах.

Екстракцію РНК проводили з реагентом TRIzol («Sigma», США) згідно з рекомендаціями виробника. Концентрацію та чистоту РНК визначали на спектрофотометрії «Nanodrop» при довжині хвилі 260 і 280 нм. Якість і цілісність отриманої РНК оцінювали за допомогою біоаналізатора «Aligent» 2100.

Реакцію зворотної транскрипції для отримання кДНК проводили за допомогою ензиму зворотної транскриптази за методом, що описаний раніше [22]. Якість отриманої кДНК тестували за допомогою ланцюгової полімеразної реакції (PCR) з праймерами до гена GAPDH. Отриману кДНК використовували для виявлення перебудов RET/PTC1 та RET/PTC3 за допомогою PCR із наступним Southern blotting. Умови проведення PCR та послідовність праймерів і зондів описані раніше [21]. В якості позитивного контролю використані РНК папілярних карцином із чітко встановленою наявністю відповідних перебудов. Для виключення можливості контамінації продуктами PCR була проведена додаткова реакція з зовнішньою парою праймерів. Лише випадки, що були позитивними за двома парами праймерів (зовнішніх та внутрішніх) були визнані дійсно позитивними.

Для проведення Southern blotting, PCR-продукти розділяли методом електрофорезу на 1,5 % агарозному гелі із наступним переносом на нейлонову мембрану («Amersham Pharmacia Biotech», Швеція) згідно з рекомендаціями виробника. Кожну мембрану гібридували з відповідними зондами [22], мітили антитілами та виявляли наявність онкогенів за допомогою люмінесцентного методу з використанням комерційних наборів «Gene Images 3'-Oligolabelling» та «CDP-Star Detection System» («Amersham Pharmacia Biotech», Швеція).

Наявність точкових мутацій V600E гена BRAF визначали за методом секвенування на приладі «ABI prism 3100 Genetic Analyzer» («Perkin-Elmer», Швеція) [21].

Кількісна real-time PCR. Для визначення кількісного рівня експресії мРНК генів MET, EGFR та GAPDH використані стандартні набори, що містять відповідні праймери та зонди («Applied Biosystems», США). Кількісну real-time PCR проводили в 25 мкл суміші, що містила: 100 нг кДНК, стандартний буфер 1 x TaqMan («Applied Biosystems», США), відповідний стандартний набір праймерів та зонд – NuGAPDH Probe dye VIC, NuEGFR Probe dye FAM і NuMET Probe dye FAM («Applied Biosystems», США). Реакцію виконували за 40 циклами на приладі «ABI PRISM 7700 Sequence Detection System» («Perkin-Elmer», Швеція) за програмою: 50°C протягом 1 хв, 95°C протягом 10 хв, 60°C протягом 1 хв. Кожний зразок кДНК досліджували тричі та визначали середній показник. При проведенні кожної реакції обов'язково використовували негативний контроль. Дані аналізували за допомогою комп'ютерної програми «ABI7700» і рівень експресії Ct визначали як кількість циклів, що необхідні для генерації флуоресцентного сигналу. Для негативного контролю Ct дорівнював 40. Показники експресії гена GAPDH слугували додатковим контролем якості РНК – в усіх зразках, обраних для аналізу, зазначений показник Ct не перевищував 37. Рівень експресії мРНК рецепторів MET і EGFR (нормалізація даних за геном GAPDH) визначали як ΔCt ($\Delta\text{Ct} = \text{Ct ДГ} - \text{Ct GAPDH}$, ДГ – досліджуваний ген) [24-26]. Показник експресії мРНК зазначених генів в зразках пухлини порівняно із відповідною нормальною тканиною підраховували як $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ ($\Delta\Delta\text{Ct} = \Delta\text{Ct П} - \Delta\text{Ct НТ}$, П – в пухлинній тканині, НТ – в умовно нормальній тканині) [24].

Для якісної характеристики методу real-time PCR використовували показники чутливості, специфічності та точності. Чутливість визначали як співвідношення кількості дійсно позитивних випадків до суми дійсно позитивних та хибно негатив-

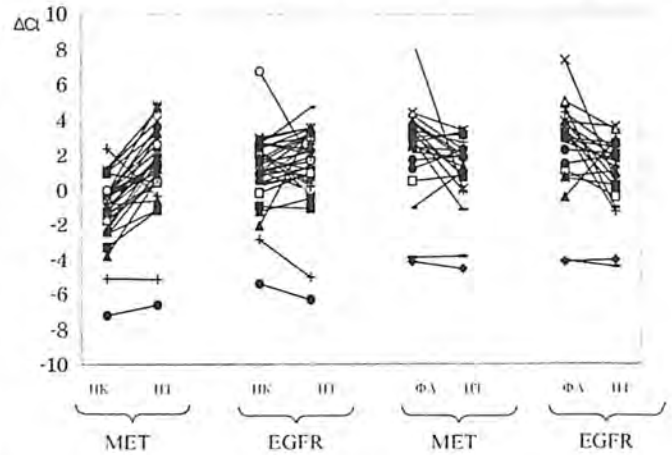
них. Специфічність – співвідношення кількості дійсно негативних випадків до суми дійсно негативних та хибно позитивних. Точність методу обчислювали за формулою – (дійсно позитивні + дійсно негативні випадки) / загальна кількість випадків [27].

Статистичний аналіз отриманих даних проведений за допомогою комп'ютерної програми Ehel за χ^2 -критерієм та парним t-критерієм.

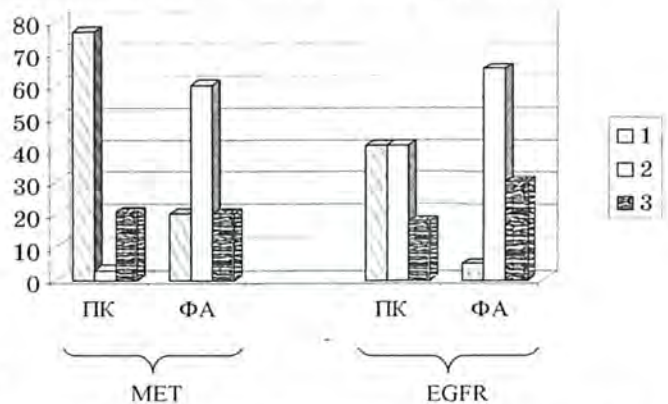
Результати

Проведеними дослідженнями встановлено, що рівень експресії мРНК гена MET в післячорнобильських папілярних карциномах ЩЗ був вірогідно вищим ($P < 0,0001$ за парним t-критерієм) порівняно із відповідною відносно незмінною тканиною (мал. 1). Слід зазначити, що медіана показників кількісної експресії мРНК гена MET була помітно вищою (1,95) на відміну від НТ та ФА (0,13 і 0,32, відповідно). Рівень експресії мРНК гена EGFR в ПК не відрізнявся статистично від показників НТ ($P = 0,2326$ за парним t-критерієм).

В протилежність злоякісним пухлинам, у фолікулярних аденомах ЩЗ рівень експресії мРНК генів MET та EGFR був вірогідно нижчим (мал. 1) порівняно із НТ ($P = 0,0091$ та $P = 0,0035$, відповідно). Медіани для груп ПК, ФА та НТ склали 2,00, 1,05 і 2,16, відповідно. Дійсно, переважна більшість папілярних карцином (76,5 %) характеризувалася надекспресією мРНК гена MET порівняно із відповідною НТ (мал. 2), що статистично вірогідно на відміну від кількості випадків із рівною або нижчою експресією MET ($P < 0,0001$ за χ^2 -критерієм). Для мРНК гена EGFR така спрямованість не була властива.



Мал. 1. Рівень експресії мРНК гена MET в папілярних карциномах вірогідно вищий порівняно з відносно незмінною тканиною ($P < 0,0001$ за парним t-критерієм). В фолікулярних аденомах рівні експресії мРНК MET та EGFR статистично нижчі порівняно із відносно незмінною тканиною ($P = 0,0091$ та $P = 0,0035$, відповідно, за парним t-критерієм).



Мал. 2. Розподіл пухлин за рівнем експресії мРНК генів MET та EGFR в пухлинній тканині.

1 – статистично вищий рівень експресії гена в пухлинній тканині порівняно до відповідної НТ; 2 – статистично нижчий рівень експресії гена в пухлинній тканині порівняно до відповідної НТ; 3 – рівень експресії гена в пухлинній тканині та відповідній НТ статистично не відрізняються.

Відсоток ПК із статистично вищим рівнем експресії мРНК гена EGFR в пухлинній тканині порівняно із відповідною НТ статистично не відрізнявся від кількості випадків із нижчим або рівним показником експресії зазначеного рецептора ($P = 0,1103$ та $P = 0,0662$, відповідно за χ^2 -критерієм). На відміну від злоякісних пухлин, в групі фолікулярних аденом переважали випадки із статистично нижчим рівнем експресії мРНК тирозинкіназних рецепторів MET та EGFR ($P < 0,01$ і $P < 0,05$ порівняно із вищою або рівною експресією, відповідно, за χ^2 -критерієм) (мал. 2).

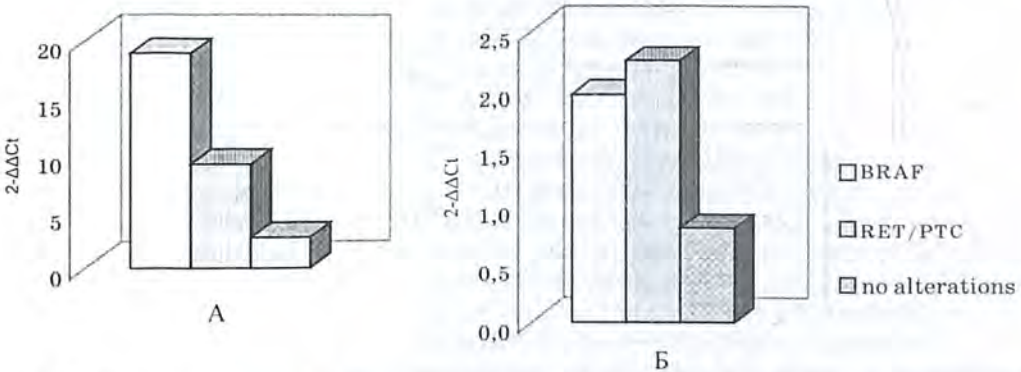
Було проаналізовано, чи залежить рівень експресії зазначених рецепторів від наявності генетичних альтерацій в пухлинах, зокрема, точкових мутацій BRAF^{V600E} та транслокацій RET/PTC.

Перебудови RET/PTC1 та RET/PTC3 виявлено у 12 ПК щитовидної залози із незначним превалюванням RET/PTC3-транскриптів. Одночасна експресія зазначених онкогенів знайдена в одній ПК (табл. 1). Точкові мутації BRAF^{V600E} виявлено в 5 ПК, одночасна наявність RET/PTC3 та BRAF^{V600E} – в одній карциномі.

Таблиця 1. Генетичні альтерації в післячорнобильських папілярних карциномах щитовидної залози

Тип альтерацій	Кількість випадків	%
RET/PTC1	4	11,7
RET/PTC3	6	17,6
Коекспресія RET/PTC1 та RET/PTC3	1	2,9
BRAF ^{V600E}	5	14,7
Збіг BRAF ^{V600E} та RET/PTC3	1	2,9
Всього:	17	50,0

В доброякісних пухлинах ЩЗ та відносно незміненій тканині зазначені генетичні альтерації не спостерігалися. Проведені дослідження встановили, що рівень експресії мРНК генів MET і EGFR був статистично вищим в папілярних карциномах із точковими мутаціями BRAF^{V600E} та перебудовами RET/PTC у порівнянні з пухлинами без генетичних альтерацій, $P < 0,01$ за парним t-критерієм (мал. 3).



Мал. 3. А: Вірогідно вищий рівень експресії мРНК гена MET в папілярних карциномах з точковими мутаціями BRAF та перебудовами RET/PTC порівняно з пухлинами без генетичних альтерацій ($P = 0,0065$ та $P = 0,0011$, відповідно, за t-критерієм). Б: Вірогідно вищий рівень експресії мРНК гена EGFR в папілярних карциномах з точковими мутаціями BRAF та перебудовами RET/PTC порівняно з пухлинами без генетичних альтерацій ($P = 0,0036$ та $P = 0,0067$, відповідно, за t-критерієм). Рівень експресії мРНК генів MET та EGFR, що визначено як $2-\Delta\Delta Ct$ ($\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$ гена у пухлинній тканині – ΔCt гена в НТ).

Порівняльний аналіз експресії мРНК генів MET та EGFR в пухлинах щитовидної залози встановив, що у переважній більшості ПК ($94 \pm 6\%$), на відміну від доброякісних пухлин та відносно незміненої тканини, спостерігався

	Вищий рівень експресії мРНК гена MET порівняно з мРНК гена EGFR	Однаковий рівень експресії мРНК генів MET та EGFR	Вищий рівень експресії мРНК гена EGFR порівняно з мРНК гена MET
ПК (n=34)	32	2	0
ФА (n=20)	8	7	5
НТ (n=54)	7	33	14

чутливість	94 %	25 %
специфічність	60 %	100 %
точність	81 %	72 %

Мал. 4. Порівняльний аналіз рівнів експресії мРНК генів MET та EGFR.

вірогідно вищий рівень експресії гена MET порівняно з EGFR (мал. 4). Зазначений показник характеризувався високою чутливістю (94 %) та точністю (81 %) щодо папілярних карцином, однак специфічність була відносно невеликою (60 %). Вірогідно вищий рівень експресії мРНК гена EGFR у порівнянні з MET був властивий лише доброякісним пухлинам (ФА) та відносно незмінній тканині ЩЗ і не спостерігався в жодному випадку ПК. Така ознака характеризувалася надзвичайно високою специфічністю (100 %), однак чутливість була низькою (25 %). Таким чином, специфічність, чутливість та точність порівняльного аналізу рівнів експресії мРНК рецепторів MET та EGFR (мал. 4) надає підстави щодо можливості використання зазначеного аналізу для диференціальної діагностики між папілярною карциномою та фолікулярною аденомою щитовидної залози.

Встановлено, що не існує кореляції між рівнями експресії мРНК генів MET і EGFR та гістологічною будовою досліджених папілярних карцином (табл. 2). Морфологічні ознаки екстратиреоїдного розповсюдження та багатофокусного росту в протилежну долю ЩЗ також не асоційовані із надекспресією гена MET. Однак слід зауважити, що ПК із надекспресією мРНК гена MET характеризуються високим відсотком випадків із метастазами до лімфовузлів шиї. Крім того, наявність віддалених метастазів у легені спостерігалася виключно в групі пухлин із надекспресією гена MET. Наведені дані не є статистично вірогідними за χ^2 -критерієм, але показово відображають існуючу тенденцію. Слід зауважити, що папілярні карциноми із надекспресією гена EGFR виглядають менш агресивними за біологічною поведінкою, про що свідчить відсутність морфологічних ознак екстратиреоїдного розповсюдження та низький відсоток випадків із наявністю багатофокусного росту в протилежну частку ЩЗ (табл. 2).

В групі фолікулярних аденом щитовидної залози кореляція між патоморфологічними даними (гістологічна будова, наявність оксифільноклітинних змін, розмір пухлин) та рівнем експресії мРНК генів MET і EGFR також не визначена.

Таблиця 2. Порівняння рівня експресії мРНК генів MET і EGFR з патоморфологічними характеристиками папілярних карцином щитовидної залози

Характеристика пухлин	MET		EGFR	
	Надекспресія MET мРНК	Надекспресія MET мРНК відсутня	Надекспресія EGFR мРНК	Надекспресія EGFR мРНК відсутня
Кількість випадків	26	8	14	20
Гістологічна будова ПК				
Папілярна	5 (19,2 %)	0	3 (21,4 %)	2 (10,0 %)
Фолікулярна	5 (19,2 %)	2 (25,0 %)	2 (14,3 %)	5 (25,0 %)
Солідна	4 (15,4 %)	1 (12,5 %)	3 (21,4 %)	2 (10,0 %)
Змішана	12 (46,2 %)	5 (62,5 %)	6 (42,9 %)	11 (55,0 %)
ПФ	5 (19,2 %)	1 (12,5 %)	2 (14,3 %)	4 (20,0 %)
СФ	2 (7,7 %)	2 (25,0 %)	0	4 (20,0 %)
СП	5 (19,2 %)	2 (25,0 %)	4 (28,6 %)	3 (15,0 %)
Екстратиреоїдне розповсюдження	5 (19,2 %)	2 (25,0 %)	0	7 (35,0 %)
Багатофокусний ріст в протилежну частку ЩЗ	6 (23,1 %)	2 (25,0 %)	2 (14,3 %)	6 (30,0 %)
Судинна інвазія	22 (84,6 %)	7 (87,5 %)	12 (85,7 %)	17 (85,0 %)
Метастази до лімфовузлів шиї	17 (65,4 %)	3 (37,5 %)	9 (64,3 %)	11 (55,0 %)
Віддалені метастази	7 (26,9 %)	0	4 (28,6 %)	3 (15,0 %)

Примітка: ПФ – папілярно-фолікулярна, СФ – солідно-фолікулярна, СП – солідно-папілярна. Різниця не є статистично вірогідною за χ^2 -критерієм.

Обговорення результатів досліджень

Імуногістохімічними дослідженнями встановлено, що рівень експресії білка MET в звичайних тироцитах є достатньо низьким або відсутнім [6, 28]. Однак присутність мРНК гена MET завжди виявляється в умовно нормальній тканині ЩЗ за допомогою кількісної та звичайної PCR [1, 3, 29]. Така суперечливість даних, на нашу думку, обумовлена різною чутливістю використаних методів та специфікою (імуногістохімічні реакції дозволяють визначити наявність білка, а PCR – ДНК). За нашими даними, певний рівень експресії мРНК рецептора MET завжди був присутній у зразках відносно незміненої тканини ЩЗ. В доброякісних пухлинах щитовидної залози, зокрема фолікулярних аденомах, рівень експресії мРНК гена MET був вірогідно нижчим порівняно із злоякісними пухлинами та відносно незміненою тканиною щитовидної залози. На жаль, дані щодо кількісного рівня експресії зазначеного гена в доброякісних новоутвореннях ЩЗ в літературі відсутні.

В папілярних карциномах щитовидної залози надекспресія гена MET є розповсюдженим явищем і спостерігається у 70-90 % пухлин [1, 4, 18]. Проведені дослідження встановили, що переважна більшість ПК (76,5 %) характеризується надекспресією гена MET, що повністю співпадає із даними інших авторів. Відомо, що MET бере участь у процесах клітинної проліфера-

ції, міграції та диференціювання [2-3]. Саме тому посилена його експресія за умов папілярного раку передбачає певну роль системи HGF-MET у прогресії зазначених пухлин.

В сучасній науковій літературі є лише поодинокі повідомлення щодо кореляції між рівнем експресії білка MET та біологічною поведінкою пухлин. Крім того, більшість досліджень стосується папілярних карцином дорослих пацієнтів та базується на імуногістохімічних дослідженнях [2, 4, 5]. Встановлено, що надекспресія рецептора MET більш властива пухлинам із морфологічними ознаками екстра- та інтратиреоїдного розповсюдження, судинної інвазії, тобто найбільш агресивними за біологічною поведінкою [2, 9-11, 29-31]. Крім того, доведено, що висококлітинний варіант папілярної карциноми, який є найагресивнішим і характеризується найгіршим прогнозом захворювання, супроводжується надекспресією MET-білка [12]. Вважають, що надзвичайна експресія гена MET є інформативним маркером висококлітинного варіанту ПК з вираженими інвазійними властивостями [12]. На тлі таких переконливих досліджень, що свідчать про вплив зазначеного рецептора на інвазивні властивості пухлин, несподіваними виглядають дані щодо наявності оберненої кореляції між надекспресією MET та ризиком розвитку віддалених метастазів у дорослих пацієнтів з ПК [32]. Однак інша група дослідників продемонструвала протилежну тенденцію. Встановлено, що у дітей та молодих дорослих, хворих на папілярний рак ЩЗ, посилення експресії MET та його ліганда HGF/SF асоційовано із підвищенням ризику розвитку метастазів і рецидивів раку [1, 9-11]. Можливо, що така суперечливість даних обумовлена різними віковими групами пацієнтів і методами досліджень (молекулярно-біологічними та імуногістохімічними), які спрямовані на виявлення різних складових біосинтетичного процесу – РНК і протеїнів. Отже, дані літератури щодо прогностичного значення рівня експресії гена MET в пухлинах щитовидної залози є суперечливими і потребують подальшого дослідження.

В наших дослідженнях не було виявлено чіткої кореляції між гістологічною будовою папілярних карцином і рівнем експресії гена MET. Однак слід зауважити, що серед 34 досліджених ПК 7 мали віддалені метастази до легенів і всі зазначені пухлини характеризувалися надекспресією мРНК гена MET. Крім того, відсоток випадків із метастазами до лімфатичних вузлів був дещо вищим (однак невірогідно) у групі ПК із надекспресією MET-транскриптів. Однак невелика кількість (34 випадки) спостережень не дозволяє поки що зробити остаточний висновок щодо доцільності використання такого показника, як рівень експресії гена MET, в якості прогностичного чинника біологічної поведінки папілярних карцином ЩЗ.

На підставі отриманих результатів та даних літератури стає очевидним, що система MET/HGF бере участь у прогресії злоякісних пухлин ЩЗ. Відомо, що HGF продукується не тироцитами, а фібробластами та іншими стромальними елементами. MET синтезується безпосередньо тироцитами і розташований на їх мембрані. Епітеліальні тироїдні клітини за умов папілярної карциноми ЩЗ мають різну чутливість до HGF-обумовленого росту та морфогенезу [6]. Можливо, що посилення синтезу мРНК гена MET в ПК обумовлено порушенням взаємодії рецептора та його ліганда. Інша можливість щодо обґрунтування активації гена MET в папілярних карциномах ЩЗ полягає у виникненні мутацій або транслокацій зазначеного гена. Деякі дослідники відмічали в значній кількості диференційованих карцином щитовидної залози наявність специфічних альтерацій в 14 екзоні гена MET [7]. Можливо, що з часом наявність специфічних точкових мутацій виявиться і в інших екзонах зазначеного гена.

Вважають, що в патогенезі злоякісних пухлин ЩЗ важлива роль належить не тільки окремим генетичним альтераціям, а їх сукупному ефекту. Експериментами *in vitro* доведено, що онкогенна активація генів RAS та RET

в клітинах папілярної карциноми щитовидної залози індукує експресію MET [1, 33]. Дані щодо кореляції між наявністю генетичних альтерацій в пухлинах ЩЗ та кількісним рівнем експресії гена MET в літературі поки ще відсутні. В наших дослідженнях доведено, що наявність точкових мутацій BRAF^{V600E} та RET/PTC-перебудов асоційована із вірогідним збільшенням рівня експресії мРНК гена MET.

До іншого класу тирозинкіназних рецепторів належить EGFR, що зв'язується із епідермальним фактором росту та індукує широкий спектр біохімічних процесів. Встановлено, що експресія EGFR спостерігається як в злоякісних, так і в доброякісних новоутвореннях щитовидної залози, а також, на відміну від MET, у відносно незміненій тканині ЩЗ [9-11, 34-35]. Біологічні ефекти, що обумовлені формуванням комплексу між протеїном EGFR та його лігандом, зокрема проліферація клітин, надають можливість припустити, що рецептор епідермального фактора росту також може брати участь у розвитку пухлин ЩЗ [13]. Ми виявили, що кількісний рівень експресії мРНК гена EGFR в папілярних карциномах не відрізнявся від показників у відносно незміненій тканині ЩЗ, що підтверджує результати інших авторів [13, 16, 35]. Однак зазначений факт не виключає участь гена EGFR, можливо як додаткового чинника, у прогресії злоякісних пухлин щитовидної залози. Ми відмічали посилення експресії мРНК гена EGFR в папілярних карциномах із точковими мутаціями BRAF^{V600E} або перебудовами RET/PTC, що було властиве, як зазначено вище, і для MET-рецептора. В доброякісних пухлинах ЩЗ ми визначали зниження рівня експресії мРНК гена EGFR порівняно з відносно незміненою тканиною. Аналогічна закономірність властива і для гена MET. Таким чином, спостерігається тенденція щодо комплексної активації або гальмування обох рецепторів за умов пухлинної трансформації.

У нашій роботі не тільки визначені кількісні рівні експресії мРНК генів MET і EGFR, а й проведений їх порівняльний аналіз. Встановлено, що у переважній більшості папілярних карцином (96 %) рівень експресії MET був вірогідно вищим порівняно з EGFR, на відміну від доброякісних пухлин ЩЗ. В протилежність цьому факту, більш виражена експресія мРНК гена EGFR порівняно із MET спостерігалася лише в ФА та НТ ЩЗ. Наведені дані свідчать, що для злоякісної трансформації епітеліальних тиреоїдних клітин необхідним є складний комплекс змін та умов, і що саме взаємодія різних генів призводить до прогресії пухлин.

Висновки

1. Рівень експресії мРНК гена MET в післячорнобильських папілярних карциномах є вірогідно вищим порівняно із доброякісними пухлинами та відносно незміненою тканиною щитовидної залози.

2. Надекспресія мРНК генів MET та EGFR в папілярних карциномах щитовидної залози асоційована із онкогенною активацією генів BRAF і RET, а саме – з наявністю точкових мутацій BRAF^{V600E} або перебудов RET/PTC.

3. Гени MET та EGFR, скоріше за все, не впливають на процеси морфогенезу новоутворень щитовидної залози, на що вказує відсутність залежності між рівнем їх експресії та гістологічною будовою пухлин.

4. Доброякісним пухлинам щитовидної залози властиве вірогідне зниження експресії мРНК генів MET та EGFR порівняно із відносно незміненою тканиною.

5. Переважна більшість папілярних карцином щитовидної залози характеризується вірогідним посиленням експресії мРНК гена MET порівняно із EGFR; фолікулярним аденомам властива протилежна тенденція – посилення експресії мРНК гена EGFR порівняно із MET.

Подяка

Автор висловлює подяку керівнику лабораторії морфології ендокринної системи, д.б.н., проф. Т.І. Богдановій за консультативну допомогу і виконання морфологічних досліджень; с.н.с. цієї ж лабораторії Л.Ю. Зурнаджи – за діагностику досліджених випадків; міжнародній групі експертів-патологів за проектом банку тканин післячорнобильських тиреоїдних пухлин – за додаткову верифікацію діагнозів; співробітникам відділів ендокринології та молекулярної біології університету м. Пізи (Італія) – за можливість проведення досліджень (керівники: професор А. Пінкейра і професор Р. Елізеї) та міжнародну організацію боротьби з раком (UICC) – за надання наукового гранту для виконання роботи.

Література

1. Ramirez R., Hsu D., Patel A. et al. Over-expression of hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) and HGF/SF receptor (cMET) are associated with a high risk of metastasis and recurrence for children and young adults with papillary thyroid carcinoma // *Clin. Endocrinol.* 2000, **53**, 635-644.
2. Inaba M., Sato H., Umemura S. et al. Expression and significance of c-met protein in papillary thyroid carcinoma // *Tokai J. Exp. Clin. Med.* 2002, **27**, N 2, 43-49.
3. Wasenius V.M., Hemmer S., Kettunen E. et al. Hepatocyte growth factor receptor, matrix metalloproteinase-11, tissue inhibitor of metalloproteinase-1, and fibronectin are upregulated in papillary thyroid carcinoma: a cDNA and tissue microarray study // *Clin. Cancer Res.* 2003, **9**, N 1, 68-75.
4. Ruco L.P., Stoppacciaro A., Ballarini F. et al. Met protein and hepatocyte growth factor (HGF) in papillary carcinoma of the thyroid: evidence for a pathogenetic role in tumorigenesis // *J. Pathol.* 2001, **194**, 4-8.
5. Scarpino D., D'Alene F.C., Di Napoli A. et al. Papillary carcinoma of the thyroid: evidence for a role for hepatocyte growth factor (HGF) in promoting tumor angiogenesis // *J. Pathol.* 2003, **199**, N 2, 243-250.
6. Mineo R., Costantino A., Frasca F. et al. Activation of the hepatocyte growth factor (HGF)-Met system in papillary thyroid cancer: biological effects of HGF in thyroid cancer cells depend on Met expression levels // *Endocrinol.* 2004, **145**, N 9, 4355-4365.
7. Wasenius V.-M., Hemmer S., Karjalainen-Lindsberg M.L. et al. MET receptor tyrosine kinase sequence alterations in differentiated thyroid carcinoma // *Am. J. Surg. Pathol.* 2005, **29**, N 4, 544-549.
8. Scarpino S., Di Napoli A., Taraboletti G. et al. Hepatocyte growth factor (HGF) down-regulates thrombospondin 1 (TSP-1) expression in thyroid papillary carcinoma cells // *J. Pathol.* 2005, **205**, N 1, 50-56.
9. Molecular, cellular, biological characterization of children thyroid cancer. E.D. Williams, N.D. Tronko (eds.). Final report ECSC-EC-EAEC, Brussels-Luxemburg, 1996. 105 p.
10. Тронько Н.Д., Богданова Т.И. Рак щитовидной железы у детей Украины (последствия Чернобыльской катастрофы). К.: Чернобыльинформ, 1997. 199 с.
11. Богданова Т.И., Козырицкий В.Г., Тронько Н.Д. Патология щитовидной железы у детей: Атлас. К.: Чернобыльинформ, 2000. 158 с.
12. Nardone H.C., Ziober A.F., LiVolsi V.A. et al. c-Met expression in tall cell variant papillary carcinoma of the thyroid // *Cancer.* 2003, **98**, N 7, 1386-1393.
13. Marti U., Ruchti C., Kampf J. et al. Nuclear localization of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptors in human thyroid tissues // *Thyroid.* 2001, **11**, N 2, 137-145.
14. Chen B.K., Ohtsuki Y., Furihata M. et al. Co-overexpression of p53 and epidermal growth factor receptor in human papillary thyroid carcinomas correlated with lymph node meta-

- stasis, tumor size and clinicopathologic stage // *Int. J. Oncol.* 1999, **15**, N 5, 893-898.
15. Bogdanova T., Yasui W., Takeichi N. et al. Immunohistochemical study of thyroid tumors in Ukrainian children following the Chernobyl accident // In: *Thyroid abnormalities in children, congenital abnormalities and other radiation related information. The first ten years.* N. Takeichi, Y. Satow, R.H. Masterson (eds.). Hiroshima: Nakamoto Sogo Printing Co., Ltd., 1996, 56-58.
 16. Westermarck K., Ludqvist M., Wallin G. et al. EGF-receptors in human normal and pathological thyroid tissue // *Histopathol.* 1996, **28**, N 3, 221-227.
 17. Dohan O., De La Vieja A., Paroder V. et al. The sodium/iodide symporter (NIS): Characterization, regulation, and medical significance // *Endocrinol. Rev.* 2003, **24**, N 1, 48-77.
 18. Puzianowska-Kuznicka M., Pietrzak M. Genetic factors predisposing to the development of papillary thyroid cancer // *Endocrinol Polska.* 2005, **56**, N 3, 339-345.
 19. Santoro M., Thomas G.A., Williams G.H. et al. Gene rearrangements and Chernobyl related thyroid cancer // *Brit. J. Cancer.* 2000, **82**, N 2, 315-322.
 20. Caudill C.M., Zhu Z., Ciampi R. et al. Dose-dependent generation of RET/PTC in human thyroid cells after in vitro exposure to γ -radiation: a model of carcinogenetic chromosomal rearrangement induced by ionizing radiation // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005, **90**, N 4, 2364-2369.
 21. Cristofaro J.D., Vasko V., Savchenko V. et al. RET/PTC1 and RET/PTC3 in thyroid tumors from Chernobyl liquidators: comparison with sporadic tumors from Ukrainian and French patients // *Endocrine-Related Cancer.* 2005, N 12, 173-183.
 22. Воскобойник Л.Г. Онкогенна активація генів RET, BRAF та NTRK1 в доброякісних та злоякісних пухлинах щитовидної залози // *Ендокринологія.* 2007, **12**, N 1, 33-47.
 23. Thomas G.A., Williams E.D., Becker D.V. et al. Thyroid tumor banks // *Science.* 2000, **289**, N 29, 2945-2948.
 24. Livak K.J., Schmittgen Th.D. Analysis of relative expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method // *Methods.* 2001, **25**, 402-408.
 25. Karger S., Berger K., Eszlinger M. et al. Evaluation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ expression in benign and malignant thyroid pathologies // *Thyroid.* 2005, **15**, N 9, 997-1003.
 26. Rhoden K.J., Unger K., Salvatore G. et al. RET/PTC rearrangements in non-neoplastic thyrocytes: follicular cells of Hashimoto's thyroiditis share low level recombination events with a subset of papillary carcinoma // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006, **91**, N 6, 2414-2423.
 27. Matos P.S., Ferreira A.P., Facuri F.O. et al. Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy // *Histopathol.* 2005, **47**, 391-401.
 28. Trovato M., Villary D., Bartolone L. et al. Expression of the hepatocyte growth factor and c-met in normal thyroid, non-neoplastic, and neoplastic nodules // *Thyroid.* 1998, N 8, 125-131.
 29. Kebebew E., Peng M., Reiff E. et al. Diagnostic and prognostic value of angiogenesis-modulating genes in malignant thyroid neoplasms // *Surgery.* 2005, **138**, N 6, 1102-1109.
 30. Di Renzo M.F., Olivero M., Serini G. et al. Overexpression of the c-met/HGF/SF receptor in human thyroid carcinomas derived from the follicular epithelium // *J. Endocrinol. Invest.* 1995, **18**, 134-139.
 31. Scapriano S., Cancellario d'Alene F. et al. Increased expression of Met protein is associated with up-regulation of hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) in tumour cells in papillary carcinoma of the thyroid // *J. Pathol.* 2005, **202**, N 3, 352-358.
 32. Belfiore A., Gangemi P., Costantino A. et al. Low/absent expression of MET/HGF receptor identifies papillary thyroid carcinomas with high risk of distant metastases // *J. Clin. Endocrinol.* 1997, **82**, 2322-2328.

33. Ivan M., Bond J.A., Prat M. et al. Activated ras and ret oncogenes induce over-expression of c-met (hepatocyte growth factor receptor) in human thyroid epithelial cells // *Oncogene*. 1997, 14, 2417-2423.
34. Fluge O., Akslen L.A., Haugen D.R. et al. Expression of heregulins and associations with the ErbB family of tyrosine kinase receptors in papillary thyroid carcinomas // *Int. J. Cancer*. 2000, 87, 763-770.
35. Murakawa T., Tsuda H., Tanimoto T. et al. Expression of KIT, EGFR, HER-2 and tyrosine phosphorylation in undifferentiated carcinoma: implication for a new therapeutic approach // *Pathol. Int.* 2005, 55, 757-765.

Экспрессия MET и EGFR в послечернобыльских опухолях щитовидной железы

Л.Г. Воскобойник

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

С помощью молекулярно-биологических исследований показано, что послечернобыльские папиллярные карциномы (ПК) щитовидной железы (ЩЖ) характеризуются высоким процентом перестроек RET/PTC, ассоциированных с повышенной тирозинкиназной активностью. Ген трансмембранного рецептора нервного фактора роста (NTRK1) при злокачественной трансформации эпителиальных клеток ЩЖ также может подвергаться транслокациям, что приводит к формированию химерных онкогенов семейства TRK с активированной тирозинкиназой. Относительно других рецепторов известно, что в папиллярных карциномах щитовидной железы наблюдается сверхэкспрессия гена MET (рецептор фактора роста гепатоцитов). Однако данные литературы о количественном уровне экспрессии MET и других рецепторов с тирозинкиназной активностью в послечернобыльских опухолях ЩЖ, к сожалению, отсутствуют. Поэтому цель данной работы состояла в определении уровня экспрессии мРНК генов MET и EGFR с помощью количественной полимеразной цепной реакции (real-time RT-PCR) в 54 послечернобыльских доброкачественных и злокачественных опухолях щитовидной железы (34 папиллярные карциномы и 20 фолликулярных аденом). Во всех случаях исследована и относительно неизменная ткань (НТ) ЩЖ. Уровень экспрессии мРНК гена глицеральдегид 3-фосфат дегидрогеназы (GAPDH) использован для нормализации полученных данных. Статистический анализ проведен с помощью парного t-критерия и χ^2 -критерия.

Уровень экспрессии мРНК гена MET в папиллярных карциномах щитовидной железы был достоверно более высоким по сравнению с относительно неизменной тканью ($P = 0,0001$). В отличие от MET, уровни экспрессии мРНК гена EGFR в ПК и соответствующей НТ достоверно не отличались. В фолликулярных аденомах (ФА) щитовидной железы уровни экспрессии мРНК как MET, так и EGFR были достоверно ниже, чем в НТ ($P = 0,026$ и $P = 0,003$, соответственно). Кроме того, было установлено, что преобладающее большинство ПК (96 ± 4 %), в отличие от ФА и НТ, имели достоверно более высокий уровень экспрессии мРНК гена MET по сравнению с EGFR. Таким образом, установлено, что послечернобыльские ПК характеризовались повышенным уровнем экспрессии гена MET; в доброкачественных же опухолях ЩЖ, наоборот, наблюдалось снижение уровня экспрессии генов MET и EGFR.

Ключевые слова: папиллярная карцинома, фолликулярная аденома, мРНК, ген MET, ген EGFR, количественная полимеразная цепная реакция.

Expression of MET and EGFR in post-Chernobyl thyroid tumors

L.G.Voskoboinyk

*V.P.Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS,
Kyiv, 04114, Ukraine*

Oncogenes studies on post-Chernobyl thyroid carcinomas have shown a high prevalence of RET/PTC rearrangements associated with increasing tyrosine kinase activity. The proto-oncogene encoding a transmembrane receptor for the nerve growth factor (NTRK1), also could be rearranged in thyroid tumors forming oncogens TRK family with the activation of tyrosine kinase. Regarding other tyrosine kinase receptors, it is known that MET (receptor for hepatocyte growth factor) is overexpressed in papillary thyroid carcinomas (PTC), but no data have been reported on the expression levels of MET and other tyrosine kinase receptors in post-Chernobyl thyroid tumors. With this purpose, MET and EGFR mRNA expression was studied by quantitative real-time RT-PCR in 54 post-Chernobyl Ukrainian tumors, both benign (20 follicular adenomas) and malignant ones (34 PTC). In all cases the corresponding normal tissue (NT) was also examined. GAPDH mRNA expression level was used for normalization of data obtained. Statistical analysis was performed by paired t-test and χ^2 -test. The levels of MET mRNA expression in PTC were significantly higher than in correspondent NT ($P = 0.0001$). On the contrary, EGFR expression levels were not different in PTC and their NT. Unlike PTC, the expression levels of both MET and EGFR mRNA in follicular adenomas (FA) were significantly lower than in NT ($P = 0.026$ and $P = 0.003$, respectively). It was also demonstrated that the majority of PTC ($96 \pm 4\%$), but not FA and NT, showed expression levels of MET mRNA significantly higher with respect to EGFR. In conclusion, we showed that post-Chernobyl Ukrainian PTC were characterized by MET overexpression, in contrast, both MET and EGFR expression levels were lower in post-Chernobyl Ukrainian FA than in their NT.

Key words: papillary thyroid carcinoma, follicular thyroid adenoma, mRNA, gene MET, gene EGFR, real-time RT-PCR.

(Надійшла 6.06.2007)

ВПЛИВ ІОНІВ ЙОДУ НА МІЖНУКЛЕОСОМНУ ФРАГМЕНТАЦІЮ ДНК У ТКАНИНІ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ХВОРИХ НА РІЗНУ ТИРЕОЇДНУ ПАТОЛОГІЮ

Т.М. Мишуніна*, О.В. Калініченко, Л.І. Пількевич

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

Досліджений *in vitro* вплив йодиду калію (КІ) на інтенсивність міжнуклеосомної фрагментації ДНК у незмінній та патологічно змінній, зокрема пухлинній, тканині щитоподібної залози (ЩЗ). Показано, що інкубація зрізів позавузлової незміненої тканини ЩЗ із КІ у концентрації 10^{-7} М призводила до зниження вмісту олігонуклеосом розміром 200-800 пар основ. У разі внесення КІ до середовища інкубації зрізів патологічно зміненої тканини ЩЗ (тканина із ознаками склеротичних та дистрофічних змін, тканина із ознаками дифузного гіперпластичного процесу, тканина дифузного токсичного зоба, тканина вузлового токсичного зоба, тканина папілярної карциноми) сумарний вміст олігонуклеосом не зменшувався. Дія КІ у тканині із ознаками інвазивного росту папілярної карциноми, тканині із ознаками хронічного тиреоїдиту та тканині еутиреоїдного вузлового зоба була спрямована на збільшення інтенсивності фрагментації ДНК, а характер дії іонів йоду у концентрації 10^{-7} М на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК у тканині фолікулярної карциноми залишився подібним такому у незмінній тканині. КІ у більшій концентрації (10^{-3} М) суттєво не впливав на вміст олігонуклеосом у позавузловій незмінній тканині ЩЗ, у тканині ЩЗ за умов її патології та тканині новоутворень, за винятком позавузлової тканини ЩЗ із ознаками склеротичних та дистрофічних змін, в якій КІ зменшував вміст моно-, ди- та тринуклеосом і підвищував рівень тетрануклеосом.

Ключові слова: патологія щитоподібної залози, фрагментація ДНК, йодид калію, апоптоз.

Роль йоду як у нормальному функціонуванні ЩЗ, так і у виникненні її патології при порушенні надходження, органіфікації та обміну мікроелемента загальноновизнана. Загальноновідомими є також наслідки нестачі йоду у раціоні людини – проблема йододефіцитних захворювань займає сьогодні одне із провідних місць у тиреоїдології. Препарати йоду широко застосовуються для профілактики йододефіцитних станів, а також для лікування вже сформованої патології – еутиреоїдного дифузного та еутиреоїдного вузлового колоїдного зоба. В той же час, хворі на вузлові форми зоба входять до групи ризику щодо розвитку йодоіндукованого тиреотоксикозу.

Вважають, що одним із механізмів впливу йоду на ЩЗ за умов патології є індукція під його дією апоптозу тиреоцитів. Показані участь системи Fas-FasL у процесі інволюції експериментального зоба під впливом йодиду [1], підвищення при введенні надлишку КІ міжнуклеосомної фрагментації ДНК або кількості апоптозних тілець у зразках ЩЗ тварин із зобом [2, 3], а також

*Адреса для листування (Correspondence): e-mail: simona@svitonline.com

ультраструктурні зміни, що свідчать про апоптоз тиреоцитів, при введенні як інтактним тваринам, так і щурам із експериментальним зобом амідарону – антиаритмічного препарату, який містить фармакологічні дози йоду [2, 4]. При цьому зазначають, що ефект йоду найбільше проявляється у тварин із зобом, тобто за умов стимуляції тиреоцитів ТТГ, і припускають, що тиреоцити людини, які стимульовані ТТГ або тиреоїдстимулюючими антитілами, також є більш чутливими до проапоптозної дії йодиду [2]. В той же час, в інших дослідженнях показано, що більшість клітин, які гинуть за механізмом апоптозу під впливом йодиду при експериментальному зобі, належать до пулу нормальних клітин [3]. Підвищення інтенсивності апоптозу тиреоцитів у ЩЗ при введенні йодиду тваринам після дії тиреостатиків призводить до стану, який деякі автори розцінюють як експериментальний тиреоїдит [5]. Слід також вказати на зниження у присутності іонів йоду чутливості клітин папілярної карциноми до проапоптозних стимулів [6]. Цей феномен пояснюють підвищенням активності гемоксигенази – ферменту, який бере участь в обміні гему, та надекспресією p21 – інгібітора циклінзалежних кіназ, функцією яких є затримка клітинного циклу у фазі G1 [7].

Однією із прикінцевих стадій апоптозу є міжнуклеосомна фрагментація ДНК, яка реалізується внаслідок дії ряду ендонуклеаз, активація яких, у свою чергу, відбувається під впливом активованих каспаз. Необхідно зазначити, що в літературі з'явилися свідчення про ресстрацію міжнуклеосомної фрагментації ДНК у клітинах різних типів не тільки при апоптозі, але, інколи, і при некрозі [8]. Вважають, що фрагментація ДНК може вказувати на апоптоз лише у поєднанні із даними про наявність характерних морфологічних змін у клітині або про активацію каспаз. В той же час, результати останніх досліджень вказують на можливість апоптозу, який не залежить від активації цих ферментів [9]. Остаточне вирішення питання про методичну спроможність адекватної біохімічної ресстрації апоптозу та визначення його кількісних характеристик – попереду. Більшість дослідників все ж вважає, що одержання при електрофорезі «драбинки» із фракцій олігонуклеосом є достатньо надійним свідченням апоптозу. При обговоренні отриманих результатів та при формулюванні обережних висновків щодо участі певних механізмів апоптозу у впливі іонів йоду на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК ми враховуємо думки, які наведені вище.

Метою роботи було дослідження *in vitro* впливу іонів йоду на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК у тканині ЩЗ хворих на різну тиреоїдну патологію.

Матеріал та методи

На проведення досліджень був одержаний дозвіл від комісії Інституту з біоетики.

Досліджено 42 зразки тканин ЩЗ та її новоутворень, отриманих від хворих на вузлову патологію залози (вузловий еутиреоїдний зоб, вузловий токсичний зоб, карцинома чи аденома ЩЗ), а також на дифузний токсичний зоб. Враховуючи клінічний діагноз та патогістологічний висновок, зразки тканин були розділені на декілька груп – позавузлова незмінена (гістологічно) тканина ЩЗ (група порівняння [10]), позавузлова тканина із певними гістологічними порушеннями у будові (ознаки склеротичних та дистрофічних змін, ознаки дифузного гіперпластичного процесу, ознаки інвазивного росту папілярної карциноми), позавузлова тканина із ознаками хронічного тиреоїдиту, тканина вузлового еутиреоїдного аденоматозного колоїдного зоба, тканина вузлового токсичного зоба, тканина дифузного токсичного зоба, тканина папілярної карциноми, тканина фолікулярної карциноми. Вік хворих коливався від 18 до 69 років, серед них переважали жінки (69 %).

Тканину зразків ЩЗ та її новоутворень звільняли від жирової тканини та крововиливів. Зрізи тканини інкубували впродовж 4 год при температурі +37 °С в 1 мл

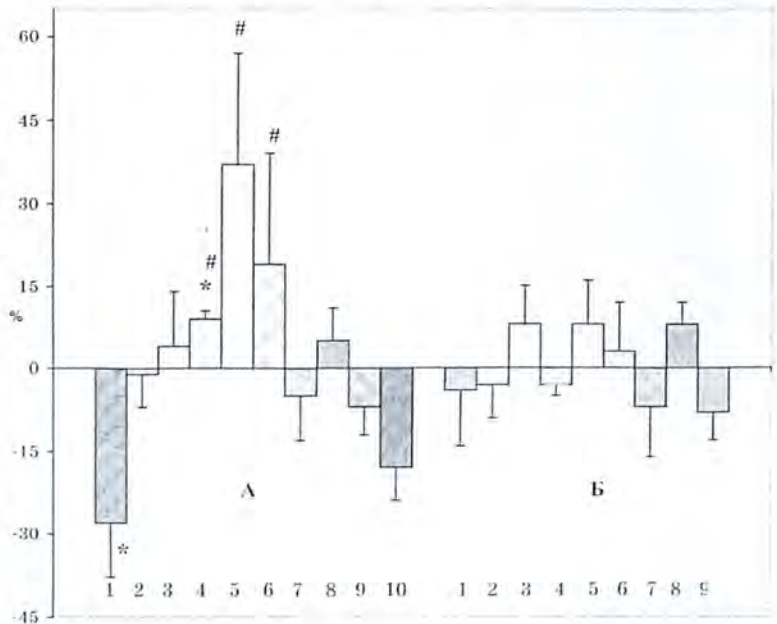
буфера такого складу: 10 мМ Na₂HPO₄, 1 мМ NaH₂PO₄, 130 мМ NaCl, 1,27 мМ MgSO₄, 2 мМ CaCl₂, 20 мМ HEPES (рН 6,0), 2 мг/мл сироваткового альбуміну бика. У проби вносили йодид калію до кінцевої концентрації 10⁻³ М чи 10⁻⁷ М, вважаючи першу фармакологічною, а другу – наближеною до фізіологічних концентрацій. Інтенсивність фрагментації ДНК у пробі, в яку КІ не вносили, розглядали як вихідну.

Виділення ДНК та умови проведення електрофорезу в агарозному гелі описані раніше [11]. Локалізацію фрагментів ДНК на гелі визначали у транслюмінаторі, фореграми з цифрових фотографій сканували, використовуючи програму «Photo Cart Mw», за допомогою якої розраховували відносний вміст фракцій олігонуклеосом, приймаючи за 100 % інтенсивність загальної флуоресценції ДНК у гелі. Ефект йодиду калію оцінювали у відсотках до вихідного рівня (Δ%). Одержані дані опрацьовані статистично із використанням критерію t Стьюдента та непараметричного критерію U Вількоксона-Мана-Уїтні. У таблицях та на малюнку дані представлені як (M±m) Δ%.

Результати та їх обговорення

Показано, що апоптоз інтактних тиреоцитів є дуже швидким та лімітованим процесом, а іони йоду індукують тиреоїдну інволюцію більш за механізмами апоптозу, ніж некрозу [12]. Раніше ми встановили, що інкубація зрізів тканини ЩЗ є чинником, що може стимулювати апоптоз клітин. За умов, які застосовані у цій роботі при виділенні ДНК та проведенні електрофорезу, на електрофореграмах визначаються фрагменти ДНК, що відповідають моно-, ди-, три- та тетра-нуклеосомам [13].

Інкубація зрізів незміненої тканини ЩЗ із йодидом калію у концентрації 10⁻⁷ М призводила до суттєвого зниження сумарного вмісту зазначених олігонуклеосом (мал. А). У разі внесення КІ до середовища інкубації зрізів патологічно зміненої тканини ЩЗ (тканина із ознаками склеротичних та дистрофічних змін, тканина із ознаками дифузного гіперпластичного процесу, тканина із ознаками інвазивного росту папілярної карциноми, тканина із ознаками хронічного тиреоїдиту, тканина дифузного



Малюнок. Зміни вмісту олігонуклеосом у незмінній тканині, патологічно зміненої тканині та тканині новоутворень цитоподібної залози хворих під впливом КІ в концентрації 10⁻⁷ М (А) та 10⁻³ М (Б). 1 – незмінена тканина, 2 – тканина із ознаками склеротичних змін, 3 – тканина із ознаками дифузного гіперпластичного процесу, 4 – тканина із ознаками інвазивного росту папілярної карциноми, 5 – тканина із ознаками хронічного тиреоїдиту, 6 – тканина вузлового еутиреоїдного зоба, 7 – тканина вузлового токсичного зоба, 8 – тканина дифузного токсичного зоба, 9 – тканина папілярної карциноми, 10 – тканина фолікулярної карциноми. * – P<0,05 у порівнянні із базальним рівнем (застосований метод різниці); # – P<0,05 у порівнянні зі змінами у позавузловій незміненої тканині.

токсичного зоба, тканина еутиреоїдного або токсичного вузлового зоба, тканина папілярної карциноми) сумарний вміст олігонуклеосом не зменшувався. Навпаки, дія КІ у тканині із ознаками інвазивного росту папілярної карциноми, тканині із ознаками хронічного тиреоїдиту та тканині еутиреоїдного вузлового зоба викликала збільшення інтенсивності фрагментації ДНК. Різниця цього ефекту в зазначених тканинах у порівнянні із таким у позавузловій незмінній тканині виявилася вірогідно значущою. В той же час, характер дії іонів йоду у концентрації 10^{-7} М на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК у тканині фолікулярної карциноми ЩЗ залишився подібним такому у незмінній тканині – сумарний вміст моно-, ди-, три- та тетра нуклеосом був зменшеним, хоча ці зміни виявилися дещо менш вираженими та менш закономірними ($0,1 > P > 0,05$).

Кількісний аналіз вмісту окремих фракцій олігонуклеосом показав, що КІ у концентрації 10^{-7} М значуще зменшував вміст моно- та динуклеосом у незмінній тканині ЩЗ (табл. 1). Такий же ефект спостерігався і у тканині фолікулярної карциноми. Крім того, зниження вмісту динуклеосом мало місце і у тканині із ознаками склеротичних та дистрофічних змін. Поряд із цим в останній та у тканині із ознаками інвазивного росту папілярної карциноми зареєстровано підвищення вмісту тетра нуклеосом. Ці зміни, а також дія КІ, що викликала збільшення рівня ди- та тринуклеосом у тканині із ознаками хронічного тиреоїдиту, динуклеосом – у тканині еутиреоїдного вузлового зоба, мо нонуклеосом – у тканині із ознаками дифузного гіперпластичного процесу, тканині із ознаками інвазивного росту папілярної карциноми та тканині дифузного токсичного зоба вірогідно відрізнялися від дії іонів йоду у незмінній тканині ЩЗ.

КІ у більшій концентрації (10^{-3} М) суттєво не впливав на сумарний вміст олігонуклеосом як у позавузловій незмінній тканині ЩЗ, так і у тканині щитоподібної залози за умов її патології та тканині новоутворень ЩЗ (мал. Б). В той же час, відмічено зниження вмісту моно-, ди- та тринуклеосом у тканині із ознаками склеротичних та дистрофічних змін, мо нонуклеосом у тканині із ознаками інвазивного росту папілярної карциноми та підвищення рівня тетра нуклеосом у тканині із ознаками склеротичних та дистрофічних змін, а також в тканині із ознаками дифузного гіперпластичного процесу (табл. 2). Крім того, підвищення рівня динуклеосом у тканині із ознаками інвазивного росту папілярної карциноми, ди- та тетра нуклеосом – у тканині із ознаками хронічного тиреоїдиту вірогідно значуще відрізнялося від ефекту КІ у незмінній тканині ЩЗ.

Результати більшості досліджень вказують на підвищення інтенсивності апоптозу тиреоцитів при дії іонів йоду не тільки на моделі експериментального зоба у тварин [2, 3], введенні їм йодомістких препаратів [2, 4], чи при застосуванні високих доз йодиду у дослідях *in vitro* на тиреоцитах людини [14] або свині [12], але і у разі утримання інтактних щурів на дієті із підвищеним вмістом йоду [15]. При цьому у ЩЗ підвищення кількості апоптозних клітин супроводжувалося різким зниженням рівня експресії антиапоптозного білка Bcl-2 та зростанням експресії проапоптозного білка Вах [15]. В той же час, у разі індукції апоптозу внаслідок дії антитіл до рецептора смерті Fas було показано, що висока концентрація йодиду підвищувала його інтенсивність у первинній культурі тиреоцитів людини, в той час як низькі концентрації призводили до гальмування цього процесу [6]. Представлені результати наших досліджень свідчать про гальмування індукованої при інкубації зрізів міжнуклеосомної фрагментації ДНК у незмінній тканині ЩЗ хворих під впливом іонів йоду, при цьому в дії КІ чітко простежується дозозалежність його ефектів із вираженим зменшенням рівня олігонуклеосом лише за застосування меншої (10^{-7} М) концентрації КІ.

Таблиця 1. Вплив КІ у концентрації 10^{-7} М на рівень олігонуклеосом у тканині та новоутвореннях щитоподібної залози хворих

Група зразків тканин	Розмір фрагментованої ДНК, п.о.				
	n	800	600	400	200
Позавузлова незмінена тканина	5	-14,2±11,28	-13,1±9,77	-28,2±7,47 а	-32,1±11,5 а
Тканина із ознаками склеротичних та дистрофічних змін	3	+25,8±5,94 а б	-0,21±7,87	-27,8±3,07 а	-16,5±11,3
Тканина із ознаками дифузного гіперпластичного процесу	3	+6,41±11,9	-2,58±12,1	-1,41±9,74	+140±68,0 б
Тканина із ознаками інвазивного росту злоякісної пухлини	3	+22,6±4,50 а б	-3,11±1,98	+1,73±5,47	+9,85±3,14 б
Тканина із ознаками хронічного тиреоїдиту	4	+84,1±57,9	+27,2±10,9 б	+39,5±21,7 б	-28,4±17,3
Тканина вузлового еутиреоїдного зоба	3	+21,8±27,9	+29,4±31,2	+42,8±25,7 б	-25,9±14,9
Тканина вузлового токсичного зоба	5	-5,88±10,4	+1,11±4,64	+9,87±21,0	-11,3±13,5
Тканина дифузного токсичного зоба	7	+0,80±11,2	-6,83±14,0	-11,6±16,3	+61,7±38,4 б
Тканина папілярної карциноми	6	-1,16±11,5	-0,22±9,16	-22,4±11,3	-6,62±10,4
Тканина фолікулярної карциноми	3	+8,79±5,65	-13,1±11,6	-31,2±2,43 а	-50,7±2,92 а

Примітка. У таблицях: а – $P < 0,05$ у порівнянні із базальним рівнем (застосований метод різниць); б – $P < 0,05$ у порівнянні зі змінами у позавузловій незміненій тканині.

Таблиця 2. Вплив КІ у концентрації 10^{-3} М на рівень олігонуклеосом у тканині та новоутвореннях щитоподібної залози хворих

Група зразків тканин	Розмір фрагментованої ДНК, п.о.				
	n	800	600	400	200
Позавулова незмінена тканина	5	-14,2±12,3	-6,59±10,0	-23,9±11,5	-1,22±22,1
Тканина із ознаками склеротичних та дистрофічних змін	3	+44,5±9,56 а б	-14,8±4,57 а	-24,7±5,21 а	-28,1±6,18 а
Тканина із ознаками дифузного гіперпластичного процесу	3	+18,5±1,90 а б	+6,09±5,90	+3,56±6,94	+220±119
Тканина із ознаками інвазивного росту злоякісної пухлини	3	+6,46±4,50	-9,98±3,16	+10,3±7,13 б	-20,8±2,14 а
Тканина із ознаками хронічного тиреоїдиту	4	+19,4±11,2 б	+8,02±11,9	+13,9±13,6 б	-13,8±12,5
Тканина вузлового еутиреоїдного зоба	3	+8,09±7,24	+15,6±12,0	+0,23±15,8	-22,2±11,4
Тканина вузлового токсичного зоба	5	-0,92±12,0	-2,48±6,64	-29,7±14,69	-12,7±12,8
Тканина дифузного токсичного зоба	7	+6,40±9,31	+5,59±7,40	-9,55±7,99	+75,7±58,6
Тканина папілярної карциноми	6	-7,77±6,94	-10,4±7,00	-19,4±10,7	-2,85±13,6

Суттєвіше серед досліджених фракцій олігонуклеосом у незмінній тканині ЩЗ знижувався вміст ди- та мононуклеосом. Це, зважаючи на думку про те, що більш значна частка низькомолекулярних фрагментів ДНК, зокрема мононуклеосом, утворюється при тривалішій дії ендонуклеаз [16], може свідчити про гальмування активності ферментів, які відповідають за фрагментацію ДНК. Активність останніх контролюється, хоча б частково, діяльністю каспаз, під дією яких внаслідок дерегуляції ферментативних білків шляхом відщеплення (або розщеплення) їх каталітичної та регуляторної субодиниць, або відокремлення інгібіторного компоненту (як у разі нейтральної ендонуклеази CAD), ферменти втрачають або змінюють свої функції [17]. В свою чергу, активність каспаз залежить від цілого ряду білків, що залучені до механізмів апоптозу, зокрема, від інтенсивності вивільнення мітохондріальних проапоптозних чинників.

Вважають, що в реалізації мітохондріального шляху апоптозу при дії молекулярного йоду певну роль може відігравати зниження рівня тіолів та активних сполук кисню. Так, йод виявляв помітну антиоксидантну активність у культурі клітин раку молочної залози людини, при цьому встановлена дозозалежність його впливу на інтенсивність фрагментації ДНК, яку пов'язують із транслокацією апоптозіндукуючих чинників із мітохондрій до ядра. Активації каспаз за цих умов не спостерігали [9]. В той же час, у клітинах позапухлинної тканини молочної залози людини іони йоду індукували вивільнення з мітохондрій білків, які не пов'язані із механізмами апоптозу, а у тканині злоякісної пухлини молочної залози – ряду проапоптозних чинників [18]. Використовуючи лінію іморталізованих тиреоїдних клітин, а також первинну культуру клітин ЩЗ людини, показали, що апоптоз тиреоцитів, який ідентифікували поряд з іншими методами і за міжнуклеосомною фрагментацією ДНК, при дії йодиду не супроводжувався синтезом білків і змінами експресії p53 та анти- чи проапоптозних білків (Bcl-2, Bcl-XL, Вах) [19]. Автори припускають, що суттєвим в цьому випадку є підвищення під дією йодиду рівня активних форм кисню, продуктів переокиснення ліпідів та активація мітохондріального шляху ініціації апоптозу. В той же час, аміодарон підвищував апоптоз тиреоїдних клітин також внаслідок збільшення вивільнення з мітохондрій цитохрому с, при цьому також були відсутні зміни експресії p53, Bcl-2, Bcl-XL, Вах, проте автори вважають таку дію препарату йод-незалежною і не пов'язують її зі зміною рівня вільних радикалів кисню, вміст яких залишався при дії препарату стабільним [20].

Деякі автори вважають, що ефект йодиду на апоптоз тиреоїдного епітелію не є прямим, а може опосередковуватися його йодованими похідними, зокрема, поліненасиченими жирними кислотами – йодолактонами, які до того ж інгібують і проліферацію тиреоцитів [12]. Інші схиляються до думки, що вирішальним у дії йоду на фрагментацію ДНК є його вплив на синтез поліамінів, які, відповідаючи за структуру хроматину та контролюючи активність ендонуклеаз, контролюють і інтенсивність міжнуклеосомної фрагментації ДНК [2]. Отже, питання про можливі механізми, реалізація яких призводить до змін міжнуклеосомної фрагментації ДНК, як одного з показників апоптозу, у незмінній тканині ЩЗ під впливом йодиду залишається нез'ясованим та дискусійним.

У патологічно змінній тканині ЩЗ ефект іонів йоду був різноспрямований: спостерігали або підвищення інтенсивності міжнуклеосомної фрагментації ДНК при внесенні у середовище інкубації зрізів йодиду (тканина вузлового еутиреоїдного зуба, тканина із ознаками хронічного тиреоїдиту, тканина із ознаками інвазивного росту злоякісної пухлини), чи гальмування її (тканина фолікулярної карциноми), чи міжнуклеосомна фрагментація ДНК залишалася на «базальному» рівні (тканина із ознаками склеротичних та дистрофічних змін, тканина із ознаками дифузного гіперпластичного про-

цесу, тканина вузлового чи дифузного токсичного зоба, тканина папілярної карциноми).

Перше у відношенні тканини вузлового еутиреоїдного зоба цілком співпадає із даними літератури про підвищення апоптозної загибелі тиреоцитів при дії надлишку іонів йоду на ЩЗ у разі моделювання експериментального зоба, внаслідок введення тиреостатиків чи нестачі у раціоні йоду, і може бути результатом підвищеної чутливості тиреоцитів до йоду на тлі їх стимуляції ТТГ [2, 3]. Порівняння у електронномікроскопічних дослідженнях кількості загиблих за механізмом апоптозу фолікулярних та ендотеліальних клітин у тканині багатовузлового еутиреоїдного зоба хворих, які отримували чи не отримували терапію препаратами йоду, показало 10-разове збільшення у перших кількості тиреоцитів, тоді як кількість ендотеліальних клітин, що гинули за механізмом апоптозу, підвищувалася лише наполовину. При цьому поряд із збільшенням експресії у тиреоцитах та ендотеліальних клітинах білка Вах, у тиреоцитах не виявляли експресії Bcl-2 [21]. Є думка, що токсичний вплив йоду на клітини ЩЗ при еутиреоїдному зобі пов'язаний із утворенням під його дією високого рівня вільних радикалів кисню, яке залежить від стану антиоксидантної системи, особливо за умови зниження активності антиоксидантних ферментів, що містять селен [22].

Ефект йодиду у позавузловій тканині ЩЗ при інвазії пухлинних клітин залишає відкритим питання про те, які саме клітини можуть гинути у цьому випадку при дії йоду – пухлинні чи нормальні. Ми вже вказували на різну природу чинників, які вивільнюються із мітохондрій під впливом йоду, у пухлинних та непухлинних клітинах тканин молочної залози людини. У цій роботі [18] також показано, що обробка мітохондрій йодидом призводила до підвищення проникності мембран мітохондрій, які були виділені з пухлинної тканини, та зниження такої мембран мітохондрій, які були виділені з позапухлинної тканини. Відрізнявся також характер йодування мітохондріальних білків – цей процес відбувався переважно у нормальних клітинах.

Щодо підвищення під дією йодиду інтенсивності міжнуклеосомної фрагментації ДНК у позавузловій тканині ЩЗ із ознаками хронічного тиреоїдиту, то слід вказати на активацію апоптозу тиреоцитів за умов експериментального тиреоїдиту, який моделюють введенням йодиду тваринам після дії тиреостатиків [5]. Клітини ЩЗ хворих на дифузний токсичний чи вузловий токсичний зоб, а також позавузлової тканини із ознаками склеротичних та дистрофічних змін, чи ознаками дифузного гіперпластичного процесу не реагували суттєво на внесення до середовища інкубації йодиду калію зміною інтенсивності міжнуклеосомної фрагментації ДНК. В цих тканинах зафіксовано модуляції вмісту лише окремих фракцій олігонуклеосом, що не відображалось на сумарному їх рівні. Відсутність значного впливу йодиду на фрагментацію ДНК у зазначених зразках тканини ЩЗ може свідчити про порушення механізмів, що забезпечують реалізацію відповіді клітини на надлишок іонів йоду.

Цікавими, на наш погляд, є дані про збереження (з огляду на ефект у незмінній тканині ЩЗ) характеру впливу йодиду на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК у тканині фолікулярної карциноми. Зміни інтенсивності фрагментації ДНК у тканині папілярної та фолікулярної карцином суттєво різняться між собою: у першій спостерігається значне зниження загального вмісту фрагментованої ДНК та вмісту окремих фракцій олігонуклеосом, тоді як у тканині фолікулярної карциноми має місце певне збільшення інтенсивності фрагментації ДНК [10, 13]. В тканині фолікулярної карциноми спостерігали подібні до незміненої тканини ЩЗ ефекти антиоксидантів – α -токоферолу та мелатоніну, тоді як у тканині папілярної карциноми інтенсив-

ність міжнуклеосомної фрагментації ДНК під впливом цих антиоксидантів не змінювалася [23].

Пояснення факту подібної до такої у незміненій тканині ЩЗ відповіді клітин фолікулярної карциноми на дію іонів йоду та антиоксидантів потребує подальших досліджень, хоча можна висловити припущення про певне збереження реакції внутрішньоклітинних механізмів регуляції та реалізації апоптозу у фолікулярних карциномах і неіснування таких механізмів у папілярних. Зазначене може бути пов'язане із різною природою процесів трансформації епітеліальних клітин ЩЗ у разі формування фолікулярних та папілярних пухлин. Відомо, що фолікулярні карциноми асоціюються із дисгормоногенезом, вони частіше зустрічаються на йододефіцитних територіях та сформовані із чітких фолікулярних структур. В той же час розповсюдженість папілярних карцином ЩЗ вища у регіонах з високим вмістом йоду, важливим чинником у їх розвитку є радіація. Структурно папілярні карциноми можуть різнитися між собою, внаслідок чого виділяють ряд їх гістологічних варіантів, біологічна поведінка яких також неоднакова [24]. Відрізняються фолікулярні та папілярні карциноми і за молекулярно-біологічними характеристиками, зокрема, спектром та частотою поширення мутацій тих чи інших онкогенів, а також змінами експресії чинників, що беруть участь у процесах реалізації апоптозної загибелі тиреоцитів [24, 25]. Крім того, однією з причин відсутності впливу надлишку йодиду на фрагментацію ДНК у тканині папілярної карциноми може бути порушення механізмів накопичення йоду: показано, що метастатичні пухлини у 20-25 % випадків не захоплюють його [26].

Отже, у патологічно зміненій тканині ЩЗ механізми, що регулюють процеси міжнуклеосомної фрагментації ДНК, по-різному реагують на дію *in vitro* іонів йоду в концентрації 10^{-7} М. В той же час, необхідно підкреслити, що більша концентрація йодиду (10^{-3} М) *in vitro* суттєво не впливала на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК ні в незміненій тканині ЩЗ, ні в патологічно зміненій тканині залози, включаючи карциноми. Винятком була позавузлова тканина ЩЗ із ознаками склеротичних та дистрофічних змін, де йодид калію в концентрації 10^{-3} М зменшував вміст моно-, ди- та тринуклеосом і підвищував рівень тетра- та пентануклеосом, тобто ефект цієї концентрації йодиду був подібним, але виразнішим, ніж при концентрації йодиду 10^{-7} М. Щодо різниці в ефектах різних концентрацій йоду у патологічно зміненій тканині ЩЗ, то слід вказати на дані літератури, які свідчать, що інволюція зоба у мишей при дії низьких доз йоду відбувалася переважно внаслідок активації апоптозу, тоді як високі дози не впливали на нього і спричиняли некротичні зміни та запалення [27].

Результати проведених досліджень вказують на необхідність подальшого вивчення особливостей впливу іонів йоду на різні етапи апоптозної загибелі клітин ЩЗ як у незміненій, так і патологічно зміненій тканині хворих на різноманітну тиреоїдну патологію, що дозволить одержати нові дані про механізми впливу іонів йоду на апоптозні процеси та про характер порушень останніх у разі патології ЩЗ. Зважаючи на дані літератури про важливу роль міжнуклеосомної деградації ДНК, навіть якщо не в реалізації апоптозу, то у підтриманні гомеостазу [28], підвищення інтенсивності міжнуклеосомної фрагментації ДНК під дією йоду у патологічно зміненій тканині ЩЗ при деяких формах тиреоїдної патології може мати значення як механізм позбавлення тканини від змінених клітин і одночасно як механізм попередження розвитку при цьому автоімунних процесів.

Література

1. Tamura M., Kimura H., Koji T. et al. Role of apoptosis of thyrocytes in a rat model of goiter. A possible involvement of Fas system // *Endocrinology*. 1998, **139**, N 8, 3646-3653.
2. Burikhanov R., Matsuzaki S. Excess iodine induced apoptosis in the thyroid of goitrogen-pretreated rats in vivo // *Thyroid*. 2000, **10**, N 2, 123-129.
3. Mutaki J., Poma J-F., Many M-C. et al. Cell necrosis and apoptosis are differentially regulated during goiter development and iodine-induced involution // *J. Endocrinol.* 2002, **172**, N 2, 375-386.
4. Pitsiavas V., Smerdely P., Li M., Boyages S. Amiodarone induces a different pattern of ultrastructural change in the thyroid to iodine excess alone in both the BB/W rat and the Wistar rat // *Eur. J. Endocrinol.* 1997, **137**, N 1, 89-98.
5. Boechat L., Vilella C., Zollner R. Effect of iodine on Fas, Fas-ligand and Bcl-w mRNA expression in NOD mice pretreated with methimazole // *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2002, **35**, N 3, 289-295.
6. Feldkamp J., Pascher E., Perniok A., Scherbaum W. Fas-mediated apoptosis is inhibited by TSH and iodine in moderate concentration in primary human thyrocytes in vitro // *Horm. Metab. Res.* 1999, **31**, N 2, 355-358.
7. Chen G., Liu Z., Vlantis A. et al. Heme oxygenase-1 protects against apoptosis induced by tumor necrosis factor-alpha and cycloheximide in papillary thyroid carcinoma cells // *J. Cell Biochem.* 2004, **92**, N 6, 1246-1256.
8. Kok Y., Swe M., Sit K. Necrosis has olderly DNA fragmentation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002, **294**, N 5, 934-939.
9. Shrivastava A., Tiwari M., Sinha R. et al. Molecular iodine induces caspase-independent apoptosis in human breast carcinoma cells involving the mitochondria-mediated pathway // *J. Biol. Chem.* 2006, **281**, N 28, 19762-19771.
10. Пількевич Л.І., Калініченко О.В., Мишуніна Т.М. та ін. Високомолекулярна та фрагментована ДНК у тканині щитоподібної залози хворих на різну тиреоїдну патологію // *Журнал АМН України*. 2007, **13**, № 2, 000-000.
11. Мишуніна Т.М., Калініченко О.В. Пількевич Л.І., Тронько М.Д. Фрагментація ДНК у щитоподібній залозі щурів у динаміці формування йододефіцитного зоба // *Ендокринологія*. 2006, **11**, № 1, 42-47.
12. Langer R., Buzzler C., Bechtner G., Gartner R. Influence of iodide and iodolactones on thyroid apoptosis. Evidence that apoptosis induced by iodide is mediated by iodolactones in intact porcine thyroid follicles // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 2003, **111**, N 6, 325-329.
13. Калініченко О.В., Мишуніна Т.М., Пількевич Л.І. та ін. Міжнуклеосомна та внутрішньонуклеосомна фрагментація ДНК у щитоподібній залозі хворих на різну тиреоїдну патологію // *Ендокринологія*. 2007, **12**, № 1, 48-57.
14. Lehman P., Ranr P., Hallfeldt K. et al. Dose-related influence of sodium selenite on apoptosis in human thyroid follicles in vitro induced by iodine, EGF, TGF-beta, and H2O2 // *Biol. Trace Elem. Res.* 2006, **112**, N 2, 119-130.
15. Yang C., Yin G., Cui L. et al. Effects of excessive iodine on apoptosis and expression of bcl-2, bax genes in the cells of brain and thyroid gland in guinea pigs // *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 2000, **34**, N 2, 95-97.
16. Збарский И.Б. Организация клеточного ядра. М.: Медицина, 1988. 368 с.
17. Фильченков О.О., Стойка Р.С. Апоптоз і рак: від теорії до практики. Тернопіль: Укрмедкнига, 2006. 524 с.
18. Upadhyaya G., Singha R., Sharmab R. et al. Differential action of iodine on mitochondria from human tumoral and extra-tumoral tissue in inducing the release of apoptogenic proteins // *Mitochondrion*. 2002, **2**, N 3, 199-210.

19. Vitale M., Di Matola T., D'Ascoli F. et al. Iodine excess induces apoptosis in thyroid cells through a h53-independent mechanism involving oxidative stress // *Endocrinology*. 2000, **141**, N 2, 598-605.
20. Di Matola T., D'Ascoli F., Fenzi G. et al. Amiodarone induced cytochrome c release and apoptosis through an iodine-independent mechanism // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000, **85**, N 11, 4323-4330.
21. El May M., Zekri S., Boubaker S. et al. Chronic iodine overload and apoptosis in cold nodules from endemic multinodular goiters // *Arch. Inst. Pasteur Tunis*. 2005, **82**, N 1-4, 69-74.
22. Smyth P. Role of iodine in antioxidant defence in thyroid and breast disease // *Iodine Study Unit, Department of Medicine and Therapeutics, and Conway Biofactors*. 2003, **19**, N 3-4, 121-130.
23. Калініченко О.В., Пількевич Л.І., Зурнаджи Л.Ю. та ін. Міжнуклеосомна фрагментація ДНК у карциномах щитоподібної залози // *Ендокринологія*. 2007, **12**, додаток, с. 92.
24. Тронько Н.Д., Богданова Т.И. Современные представления о канцерогенезе щитовидной железы // *Журнал АМН України*. 1999, **5**, № 3, 503-515.
25. Мишуніна Т.М., Тронько М.Д. Основні молекулярні механізми апоптозу та їх порушення при канцерогенезі щитоподібної залози // *Журнал АМН України*. 2006, **12**, № 4, 611-633.
26. Smyth P., Dwyer R. The sodium iodide symporter and thyroid disease // *Clin. Endocrinol.* 2002, **56**, N 2, 427-429.
27. Mahmoud I., Colin I., Many M., Deneff J. Direct toxic effect of iodide in excess on iodine-deficient thyroid glands: epithelial necrosis and inflammation associated with lipofuscin accumulation // *Exp. Mol. Pathol.* 1986, **44**, N 3, 259-271.
28. Хаитов Р.М., Манько В.М., Ярилин А.А. Внутриклеточные сигнальные пути, активирующие или ингибирующие функции клеток иммунной системы. 4. Внутриклеточные сигнальные пути при апоптозе // *Успехи соврем. биол.* 2006, **126**, № 1, 3-9.

Влияние ионов йода на межнуклеосомную фрагментацию ДНК в ткани щитовидной железы больных с разной тиреоидной паталогией

Т.М. Мишуніна, Е.В. Калініченко, Л.І. Пількевич

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

Исследовано *in vitro* влияние йодида калия (KI) на интенсивность межнуклеосомной фрагментации ДНК в неизменной и патологически измененной, в т.ч. опухолевой, ткани щитовидной железы (ЩЖ). Показано, что инкубация срезов внеузловой неизменной ткани ЩЖ с KI в концентрации 10^{-7} M приводила к снижению содержания олигонуклеосом размером 200-800 пар оснований. При внесении KI в среду инкубации срезов патологически измененной ткани ЩЖ (ткань с признаками склеротических и дистрофических изменений, ткань с признаками диффузного гиперпластического процесса, ткань диффузного токсического зоба, ткань узлового токсического зоба, ткань папиллярной карциномы) суммарное содержание олигонуклеосом не уменьшалось. Действие KI в ткани с признаками инвазивного роста папиллярной карциномы, ткани с признаками хронического тиреоидита и ткани эутиреоидного узлового зоба было направлено на увеличение интенсивности фрагментации ДНК, а характер действия ионов йода на межнуклеосомную фрагментацию ДНК в ткани фолликулярной карциномы оставался подобным таковому в неизменной ткани. KI в большей концентрации (10^{-3} M) существенно не влиял на содержание олигонуклеосом во внеузловой неизменной ткани ЩЖ, в ткани ЩЖ при ее патологии и ткани новообразований,

за исключением внеузловой ткани с признаками склеротических и дистрофических изменений, в которой йодид калия уменьшал содержание моно-, ди- и тринуклеосом и повышал уровень тетрануклеосом.

Ключевые слова: патология щитовидной железы, фрагментация ДНК, йодид калия, апоптоз.

Impact of iodine ions on internucleosomal DNA fragmentation thyroid tissue of patients with various thyroid pathology

Т.М. Mishunina, О.В. Kalinichenko, L.I. Pilkevych
V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, Kyiv, 04114, Ukraine

The authors have studied in vitro the impact of potassium iodide on the intensity of internucleosome fragmentation of DNA in unchanged thyroid tissue, pathologically modified thyroid tissue, and in tissue from thyroid tumour. It has been shown that incubation of slices of unchanged extranodular thyroid tissue with potassium iodide at a concentration of 10^{-7} led to a decrease in oligonucleosome content at a length of 200 to 800 pairs of bases. When adding KI to incubation medium of slices of pathologically modified thyroid tissue (tissue with signs of sclerotic and dystrophic changes, tissue with signs of diffuse hyperplastic process, tissue from diffuse toxic goiter, tissue from nodular toxic goiter, tissue from papillary carcinoma), total content of oligonucleosomes remained unchanged. KI effect in tissue with signs of invasive growth of papillary carcinoma, tissue with signs of chronic thyroiditis, and tissue of euthyroid goiter was orientated towards increasing the intensity of DNA fragmentation, and the character of iodine ion effect on internucleosome fragmentation of DNA in follicular carcinoma tissue remained similar to the effect in unchanged tissue. KI at a highest concentration (10^{-3} M) had no notable effect on oligonucleosome content in extranodular unchanged thyroid tissue, pathological thyroid tissue, and neoplastic tissue, except for extranodular tissue with signs of sclerotic and dystrophic changes, in which potassium iodide led to a decrease in mono-, di- and trinucleosome content, as well as an increase in tetranucleosome level.

Key words: thyroid pathology, DNA fragmentation, potassium iodide, apoptosis.

(Надійшла 22.06.2007)

РІВНІ АДІПОНЕКТИНУ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ ЗА ЗІСТАВЛЕННЯМ З КЛАСИЧНИМИ ТА НОВІТНИМИ ЧИННИКАМИ АТЕРОГЕНЕЗУ

М.Ю. Горшунська¹, Ю.І. Караченцев^{1,2}, Н.С. Красова^{2*}, Е. Йенсен³,
О.І. Гладких², В.В. Полторак²

¹Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, 61176; ²Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського, м. Харків, 61002, Україна; ³Національний інститут охорони здоров'я та довілля, 3720 ВА Білтховен, Нідерланди

Обстежено 31 хворого на цукровий діабет 2 типу, суб- та декомпенсованого за глікемією та ліпідним профілем, з надлишковою масою тіла або ожирінням, середнього віку. Метаболічний синдром був діагностований за критеріями NCEP ATR III. Визначено достеменно зниження рівнів циркулюючого адипонектину із втратою його відмінностей за статтю пацієнтів. Верифікована значуща, різна за напрямком, кореляція адипонектину з численними класичними чинниками атерогенезу, що доводить суттєвий антиатерогенний вплив цього адипоцитокіну на кардіометаболічний ризик. Відсутність значущої від'ємної асоціації адипонектинемії з інсулінорезистентністю, діагностованою за глікемією натще, базальними рівнями інсуліну і НОМА-індексом, за наявності кореляції відповідного напрямку з іншими метаболічними параметрами інсулінорезистентного стану (тригліцериди, феритин) та асоціації адипонектин/лептин з НОМА-індексом, засвідчує мультифакторний генез інсулінорезистентності і можливий модулюючий вплив гіперглікемії і ліпотоксичності на характер зв'язку адипонектину та чутливості до інсуліну.

Ключові слова: адипонектин, цукровий діабет 2 типу, метаболічний синдром, маркери атерогенезу.

Незважаючи на те, що впродовж тривалого часу ожиріння розглядається в якості головного чинника ризику цукрового діабету 2 типу (ЦД2), впливає на важкість його маніфестації та розвиток діабетичних судинних ускладнень, тільки недавно стало зрозуміло, що жирова тканина на додаток до її відомої ролі в якості резервуара енергії, модулює енергетичний метаболізм через секрецію циркулюючих адипоцитокінів. Серед нещодавно ідентифікованих адипоцитокінів адипонектин, вочевидь, найважливіший в регуляції чутливості до інсуліну. Йому притаманні множинні властивості, такі як антидіабетичні, антиатерогенні та протизапальні [1, 2]. Низькі рівні адипонектину в плазмі документовані у людей з ожирінням, ЦД2 або хворобою коронарних судин [3-6].

Разом з тим, дотепер не визначено характер регуляторних зв'язків адипонектину та резистентності до інсуліну за умов недостатнього глікемічного контролю у хворих на ЦД2, маніфестованого на тлі метаболічного синдрому. Актуальність такого визначення обґрунтовується відсутністю задовільного глікемічного контролю у переважній кількості хворих на ЦД2 (80 % – в Росії,

* Адреса для листування (Correspondence): Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського, вул. Артема, 10, м. Харків, 61002, Україна; E-mail: nkrasova@mail.ru

більш ніж 80 % – в Україні). За даними британських дослідників, тільки 1 із 7 хворих на ЦД2 досягав цільових рівнів HbA1c ($\leq 7\%$) [7].

Метою дослідження, що подається, було визначення рівнів адипонектину у хворих на ЦД2, некомпенсованих за глікемією, та характеру асоціації цього адипоцитокіну як з класичними, так і з новітніми чинниками кардіоваскулярного ризику, за включенням і інсулінорезистентності.

Матеріали та методи

Обстежено 31 пацієнта (ж/ч: 21/10), хворого на ЦД2, переважно суб- та декомпенсованого за показниками глікемічного контролю (глікемія натще, фруктозамін) та ліпідного профілю (гіпертригліцеридемія, знижений рівень холестерину ліпопротеїнів високої щільності – ХС ЛПВЩ, підвищений рівень неестерифікованих жирних кислот – НЕЖК), з надлишковою масою тіла або ожирінням, середнього віку (табл. 1). У 30 хворих спостерігалися мікроангіопатії (у 28 – полінейропатія, у 19 – ретинопатія, у 6 – енцефалопатія, у 1 – кардіоміопатія та у 1 – нефропатія). У 18 пацієнтів діагностовано ішемічну хворобу серця (ІХС), сполучену з есенціальною гіпертонією у 14 випадках, у 11 хворих – ізольовану есенціальну гіпертонію, у 2 хворих були відсутні як ІХС, так і гіпертонія. Із дослідження були виключені пацієнти з гострими кардіоваскулярними подіями, доказами гострих або хронічних запальних чи інфекційних хвороб, хворі на ЦД2 за наявності ниркової недостатності, як і ті, хто отримував тіазолідинові антидіабетичні препарати (синтетичні ліганди PPAR- γ рецепторів, як відомо, збільшують експресію та концентрацію циркулюючого адипонектину) [8, 9].

У обстеженої групи хворих верифікована наявність метаболічного синдрому за критеріями NСЕР АТР ІІІ [10].

Зразки крові для біохімічних та гормональних досліджень були взяті повторно протягом 6-місячного періоду спостереження (n=66). В якості контролю обстежено 8 здорових осіб відповідного віку.

Рівні тригліцеридів, загального холестерину (ХС), ХС ЛПВЩ, аполіпопротеїнів А (АпоА) та В (АпоВ), фруктозаміну, загального заліза сироватки (Fe), гаптоглобіну, високочутливого С-реактивного білка (СРБ) визначені у сироватці крові на клінічному автоаналізаторі Hitachi 912 з використанням наборів «Roche Diagnostics» (Базель, Швейцарія). Вміст ХС ЛПВЩ розраховано за формулою Friedewald. Феритин та трансферин сироватки визначали за допомогою імуноаналізатора (Access «Beckman»), залізо-відновлюючу активність плазми (Fe-АП) – методом Benzie and Strain. Активність параоксонази оцінено спектрофотометрично з використанням параоксону в якості субстрату при довжині хвилі 405 нм. Концентрацію гідропероксидів у сироватці крові визначали як реактивні метаболіти кисню в реакції з N,N-диметилфенілєндіаміном. Рівень маломолекулярного діальдегіду (МДА) у плазмі досліджували за допомогою високоефективної рідинної хроматографії. Вільні тіолові групи білків (B-SH) оцінювали за формуванням комплексу з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою колориметрично при довжині хвилі 405 нм. Антирадикальний захист характеризували за здатністю сироватки крові нейтралізувати окиснювальну дію гіпохлориду, вплив якого подібний до відповіді нейтрофілів на інфекцію.

Активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, супероксиддисмутази та кількість загального глутатіону в еритроцитах визначали за допомогою комерційних наборів Randox та Ransod («Randox Laboratories Ltd», Велика Британія). Розраховували відношення окиснений глутатіон/відновлений глутатіон (GSSG/GSH) в еритроцитах. Рівні адипонектину, лептину, інтерлейкіну-10 (ІЛ-10), фактора некрозу пухлин альфа (ФНП- α) та розчинних адгезивних молекул (sICAM-1) визначали з використанням відповідних імуноферментних наборів («R&D Systems Europe Ltd.», Велика Британія; «BioVendor Lab. Med. Inc.», Чеська Республіка). Для характеристики вмісту імунореактивного інсуліну (ІРІ) у сироватці крові використано стандартні набори «рио-ІНС-ІІІ-125І» (Беларусь, метод радіоімунологічного аналізу «in vitro»). Індекс

інсулінорезистентності (ІР), що ґрунтується на одночасному визначенні індивідуальних рівнів ІРІ та глюкози у сироватці крові натще, розраховували за допомогою алгоритму НОМА (Homeostasis Model Assessment) [11]. Статистичний аналіз проведено за програмним комплексом SPSS, версія 13. Нормальність розподілу перемінних оцінювали за допомогою тесту Колмогорова-Смірнова. Порівняння між групами проведено за допомогою непарного t-тесту. Для верифікації зв'язку між рівнями біохімічних або гормональних показників використано рангову кореляцію Спірмана.

Результати та їх обговорення

Базова характеристика обстежуваних хворих подана у таблиці. Рівень адипонектину у обстежених був вірогідно знижений ($P < 0,01$) у порівнянні до контрольної групи. Доречно також відзначити верифіковану нами втрату

Таблиця. Клініко-біохімічна характеристика обстежених

Показники	Хворі на ЦД2	Контрольна група
Вік (роки)	55,61±1,69	53,28±2,25
Тривалість діабету (роки)	7,82±1,16	-
Індекс маси тіла (кг/м ²)	31,76±0,93 P<0,05	25,84±0,9
Обвід стегон/обвід талії	0,92±0,02 P<0,05	0,79±0,05
Систолічний тиск (мм рт. ст.)	133,30±3,11 P<0,05	108,75±1,92
Діастолічний тиск (мм рт. ст.)	78,83±1,69	75,12±1,43
Глікемія натще (ммоль/л)	11,54±0,43 P<0,001	5,04±0,19
ІРІ (мкОд/мл)	16,96±1,12 P<0,001	8,02±1,78
НОМА-ІР	8,89±0,76 P<0,001	1,77±0,41
Фруктозамін (мкмоль/л)	373,97±9,09 P<0,05	321,91±20,50
Тригліцериди (ммоль/л)	2,25±0,20 P<0,002	1,23±0,26
НЕЖК (ммоль/л)	0,56±0,03 P<0,05	0,34±0,07
ХС ЛПВЩ (ммоль/л)	1,16±0,04 P<0,01	1,54±0,17
Феритин (мкг/л)	151,75±20,32 P<0,001	32,47±12,71
Трансферин (г/л)	2,89±0,05	2,92±0,14
Загальний глутатіон (мкмоль/ммоль Нв)	58,14±1,84 P<0,001	79,29±6,13
Адипонектин (мг/л)	9,97±0,54 P<0,01	15,06±3,55

Примітка: P – вірогідність розбіжностей відносно контрольної групи.

відмінності вмісту адипонектину щодо статі пацієнтів (зазвичай, у жінок він вищий) за наявності ЦД2 (жінки: $10,26 \pm 0,63$ мг/л, чоловіки: $9,45 \pm 1,01$ мг/мл, $P > 0,05$), що співпадає з результатами іншого дослідження [12].

Визначена за Спірманом кореляція між адипонектином та метаболічними маркерами атерогенезу, показниками запалення та судинної дисфункції підтвердила попередні знахідки щодо позитивної асоціації адипонектину з ХС ЛПВЩ ($r = 0,543$, $P < 0,001$) та негативної – з тригліцеридами ($r = -0,391$, $P = 0,001$).

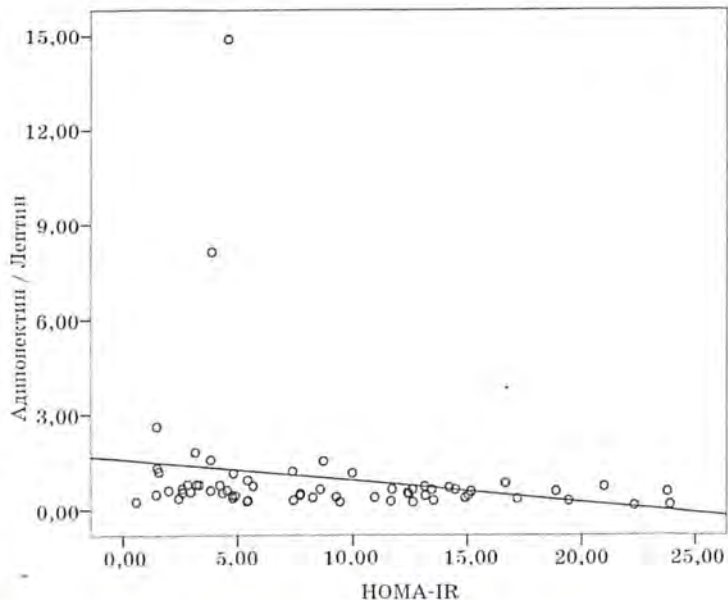
Окрім того, ми вперше верифікували позитивну кореляцію адипонектину з антиатерогенним ApoA ($r = 0,414$, $P = 0,001$) та зворотну – з антиоксидантними ферментами параоксоназою ($r = -0,308$, $P = 0,013$) і глутатіонпероксидазою ($r = -0,397$, $P = 0,001$). Слід зазначити, що нині обмежена кількість даних щодо асоціації інсулінорезистентності, адипоцитокінів та ліпідної пероксидації *in vivo* [13]. Так, в осіб з гіперхолестеринемією, класифікованих на групи за тертілями індексів НОМА-IP, верифікована від'ємна кореляція ступеня інсулінорезистентності з циркулюючими рівнями адипонектину та відсутність асоціації останнього з сечовою екскрецією 8-епі-простагландину F(2 α), як показником виразності оксидативного стресу, зумовленого ліпідною пероксидацією. Відсутність достеменного зв'язку адипонектину з ліпідною пероксидацією (МДА, гідропероксиди) та іншими показниками оксидативного стану (супероксиддисмутаза, глутатіонредуктаза, антирадикальний захист, Fe-АП, GSSG/GSH) доведена нами у обстежених пацієнтів. Разом з тим, як було зазначено вище, відмічена наявність від'ємної кореляції з глутатіонпероксидазою еритроцитів та параоксоназою, а також пряма – з вмістом загального глутатіону в еритроцитах ($r = 0,314$, $P = 0,011$). Наявність корелятивних зв'язків між адипонектином та глутатіон-залежними компонентами антиоксидантної системи еритроцитів, як і зворотну кореляцію з загальним залізом ($r = -0,303$, $P = 0,015$), можна пояснити, базуючись на останніх даних щодо ролі адипонектину у регуляції гемопоезу [14]. Відомо, що експресія еритропоетину гальмується в залежності від концентрації пероксиду водню [15], рівень якого і контролюють, в першу чергу, глутатіонпероксидаза та її субстрат. Враховуючи відсутність анемії у обстежених хворих за умов зниженого рівня адипонектину, підвищення пероксидази можна вважати компенсаторним. Відзначений зворотний зв'язок між адипонектином та параоксоназою за умов виразного прямого зв'язку першого з вмістом антиатерогенних ApoA та ХС ЛПВЩ, можливо, залежить від того, що використаний метод визначення активності ферменту фіксує не тільки його зв'язану з ЛПВЩ форму, а і вільний розчинений фермент [16].

Разом з тим, ми не знайшли зв'язку адипонектину з параметрами глікемічного контролю (глюкоза натще, фруктозамін), чутливості до інсуліну (інсулін натще, індекс НОМА-IP, НЕЖК), холестеринемією (загальний холестерин, ХС ЛПНЩ, ApoB), класичними показниками запального стану (СРБ, ФНП- α , протизапальний ІЛ-10) та ендотеліальної дисфункції (sICAM-1). Відсутність асоціації адипонектину з sICAM-1 у обстежених пацієнтів з ЦД2 узгоджується з повідомленням про відсутність зв'язку адипонектину з реактивністю мікро- та макросудин (ендотелій-залежне та ендотелій-незалежне розширення) як у хворих на ЦД2, так і в осіб з високим ризиком розвитку діабету [17]. Більш того, навіть за умов доведеного *in vivo* антиатерогенного ефекту терапії глобулярним адипонектином ApoB-дефіцитних мишей (гіперліпідемія і судинні порушення подібні атеросклеротичним змінам у людини) потенційний механізм реалізації цього сприятливого впливу був пов'язаний із зменшеною експресією скевенджер-рецепторів класу А та ФНП- α ендотеліальними клітинами та макрофагами за відсутності суттєвих змін в експресії останніми sICAM-1, холестеринемії, глікемії та інсулінемії [18, 19].

Наші результати щодо відсутності взаємозв'язку адипонектину з рівнями глюкози натще співпадають з результатами інших авторів, одержаних при дослідженні нормальних і опасистих осіб [20], хворих на ЦД2 та осіб з високим ризиком розвитку діабету [17].

Особливу увагу привертає той факт, що за умов достеменного зниження рівнів адипонектину в циркуляції у обстежених нами хворих на ЦД2 з верифікованою за показниками НОМА інсулінорезистентністю визначена тільки тенденція до негативної кореляції між цими параметрами ($r=-0,223$, $P=0,076$). Можливо, що це може бути пов'язано з обмеженою кількістю вимірювань і не виключено, що при збільшенні числа обстежених осіб ця тенденція могла б досягати статистичної значущості. В той же час ми визначили пряму кореляцію вмісту адипонектину в циркуляції з іншим адипоцитокіном лептином ($r=0,281$, $P=0,015$). Це узгоджується з недавнім повідомленням про те, що лептин є незалежним предиктором експресії гена адипонектину в адипоцитах людей з широким коливанням індексу маси тіла (від 22,1 до 53,3 кг/м²) [21]. Разом з тим, за цих умов ми не спостерігали вірогідного зв'язку між визначеною за НОМА-алгоритмом інсулінорезистентністю та лептином ($r=0,242$, $P=0,054$), рівень якого був значуще підвищеним у обстежених пацієнтів ($P<0,01$), і якому надається більш значна роль у збільшенні жирової маси [22] та розвитку інсулінорезистентності, що реалізується за межами збільшеної жирової маси тіла [23, 24]. Відомо, що лептин може також гальмувати стимульоване інсуліном поглинання глюкози в культурі клітин скелетних м'язів щурів [25]. В той же час необхідно відмітити, що ми верифікували виразний зворотний кореляційний зв'язок між індексом НОМА-ІР та співвідношенням адипонектин/лептин ($r=-0,359$, $P=0,004$, мал.). Доречно наголосити, що за даними японських вчених останньому показнику притаманна більша інформативність порівняно до НОМА-ІР відносно характеристики інсулінорезистентності в осіб за відсутності гіперглікемії [26].

Наші дані відносно відсутності значущої кореляції адипонектину з інсулінорезистентністю, визначеною за інсулінемією натще та індексом НОМА-ІР, не співпадають з деякими повідомленнями щодо значущої негативної кореляції між рівнями адипонектину та показниками резистентності до інсуліну у здорових осіб з надмірною масою тіла або ожирінням, інтолерантністю до глюкози та у хворих на ЦД2 [12, 26-28]. Разом з тим, про відсутність зв'язку між інсулінорезистентністю та адипонектином за умов зменшення його рівня у циркуляції гладких «кавказоїдів» повідомили



Мал. Асоціація між індексом НОМА-ІР та відношенням адипонектин/лептин у хворих на ЦД2.

J.V. Silha та співавт. [20]. Варто зауважити, що викликане 6-місячним фізичним тренуванням підвищення чутливості до інсуліну у здорових осіб із збереженою масою тіла не супроводжувалось змінами рівнів адипонектину [29]. Більш того, у препубертатних дітей, народжених з великою або малою для гестаційного віку вагою, порівняно з дітьми контрольної групи, були верифіковані вищі рівні адипонектину за наявності більшої інсулінорезистентності, визначеної за НОМА-алгоритмом [30, 31].

Доведена також можливість зміни нормального зворотного зв'язку між рівнями інсуліну та адипонектину в циркуляції, який частково віддзеркалює позитивні ефекти адипонектину, за умов тяжкого ступеня інсулінорезистентності, пов'язаної з генетичним дефектом рецепторів до інсуліну [32]. Так, у пацієнтів із екстремальною резистентністю до інсуліну (В-тип, зумовлений антитілами до інсулінових рецепторів) верифіковано вражаюче підвищення загального адипонектину у плазмі порівняно зі здоровими особами.

Обмежена роль адипонектину у підвищенні дії інсуліну за нашими даними співпадає з нещодавно проведеними дослідженнями на адипонектин-дефіцитних мутантних мишах, у яких відсутність адипонектину сама по собі не призводила до розвитку ані інсулінорезистентності, ані інтолерантності до глюкози навіть на тлі 7-місячної жирової дієти [33, 34], або спостерігалось тільки помірне посилення викликані дієтою інсулінорезистентності та інтолерантності до глюкози, але не ЦД2 [34, 35]. Разом з тим, наші результати не виключають участі адипонектину у формуванні інсулінорезистентності. На нашу думку, вони наголошують мультифакторний генез цього стану у обстежених хворих на ЦД2 на тлі метаболічного синдрому. Так, ми засвідчили зворотну кореляцію адипонектину з таким маркером інсулінорезистентності, як феритин ($r=-0,270$, $P=0,031$), а також наявність зворотної кореляції НОМА-IP та індексу адипонектин/лептин.

Не виключено також, що відсутність прямої кореляції між адипонектином та індексом чутливості до інсуліну за НОМА-алгоритмом підтримує гіпотезу про втрату нормальних регуляторних ендокринних петель за наявності виразних патологічних станів [36]. Зокрема, повідомлено про збереження такого зв'язку у пацієнтів з ожирінням, не обтяженим іншими патологічними станами (індекс маси тіла [ІМТ] $<32,9\pm 3,3$ кг/м²), та його відсутність у хворих з надмірним ожирінням, котрі підлягали операції «gastric bypass» (ІМТ – $49,3\pm 7,4$ кг/м²) [36]. Разом з тим, не виключаються самостійні модифікуючі впливи діабету (в першу чергу, глюколіпотоксичності) та/або метаболічного синдрому на чутливість до інсуліну, що може маскувати незалежну дію адипонектину на формування інсулінорезистентності. Зокрема, це положення ілюструє визначена нами відсутність статевих розбіжностей в рівнях адипонектину у обстежених пацієнтів. Цікаво, що зв'язок між поліморфізмом гена адипонектину у людини, а саме, асоціація між +276 G>T SNP (поліморфізмом одиничних нуклеотидів) та резистентністю до інсуліну ($P<0,001$) спостерігався тільки у худих осіб (ІМТ $<26,2$ кг/м²) у порівнянні з особами більш високої ваги (ІМТ $\geq 26,2$ кг/м²), у котрих зв'язок був відсутній [37]. Більше того, доведено, що розвиток пов'язаної з ожирінням інсулінорезистентності у малих дітей за умов довгострокового спостереження не реалізувався через зміни рівнів циркулюючого адипонектину, що на думку авторів може пояснюватися переважаючими ефектами нині ще неідентифікованих чинників [38]. Доречно зауважити, що визначений у гризунів прямий стимулюючий вплив інсуліну на експресію гена адипонектину (ApM1) [39] маловірогідний у людини, оскільки рівні адипонектину в плазмі не змінюються постпрандіально [40].

Таким чином, отримані результати обґрунтовують доцільність проведення подальшого дослідження з метою визначення генетичної та метаболічної

складової гіпоадипонектинемії у хворих на цукровий діабет 2 типу за умов різного ступеня глікемічної компенсації.

Висновки

1. У хворих на цукровий діабет 2 типу на тлі метаболічного синдрому за переважанням глікемічної суб- та декомпенсації визначено достеменно зниження рівнів циркулюючого адипонектину із втратою його статевих відмінностей за статтю пацієнтів.

2. Верифікована значуща, різна за напрямком кореляція адипонектину з численними класичними чинниками атерогенезу доводить суттєвий антиатерогенний вплив цього адипоцитокіну на кардіометаболічний ризик.

3. Відсутність значущої від'ємної асоціації адипонектинемії з інсулінорезистентністю, діагностованою за глікемією натще, базальними рівнями інсуліну та НОМА-IP-алгоритмом, за наявності кореляції відповідного напрямку з іншими метаболічними параметрами інсулінорезистентного стану (тригліцериди, феритин) та асоціації індексу адипонектин/лептин з НОМА-IP індексом засвідчує мультифакторний генез інсулінорезистентності, як і можливий модулюючий вплив гіперглікемії та сполученої з нею ліпотоксичності на фізіологічний прямий характер зв'язку адипонектину з чутливістю до інсуліну.

4. Одержані результати обґрунтовують доцільність проведення подальшого дослідження з метою ідентифікації генетичної та метаболічної складової гіпоадипонектинемії у хворих на цукровий діабет 2 типу за умов глікемічної компенсації.

Література

1. Matsuzawa Y., Funahashi T., Kihara S., Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004, **24**, 29-33.
2. Havel P.J. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism // *Diabetes.* 2004, **53**, Suppl. 1, S143-S151.
3. Ouchi N., Kihara S., Arita Y. et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocytes-derived plasma protein adiponectin // *Circulation.* 1999, **100**, 2473-2476.
4. Arita Y., Kihara S., Ouchi N. et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999, **257**, 79-83.
5. Hotta K., Funahashi T., Arita Y. et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000, **20**, 1595-1599.
6. Kumada M., Kihara S., Sumitsuji S. et al. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003, **23**, 85-89.
7. Harris M.I., Eastman R.C., Cowie C.C. et al. Racial and ethnic differences in glycemic control of adults with type 2 diabetes // *Diabetes Care.* 1999, **22**, 403-408.
8. Maeda N., Shimomura I., Kishida K. et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30 // *Nat. Med.* 2002, **8**, 731-737.
9. Yang W.S., Jeng C.Y., Wu T.J. et al. Synthetic peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, rosiglitazone, increases plasma levels of adiponectin in type 2 diabetic patients // *Diabetes Care.* 2002, **25**, 376-380.
10. Adult Treatment Panel III. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults // *JAMA.* 2001, **285**, 2486-2497.

11. Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man // *Diabetologia*. 1985, **28**, 412-419.
12. Putz D.M., Goldner W.S., Bar R.S. et al. Adiponectin and C-reactive protein in obesity, type 2 diabetes, and monodrug therapy // *Metabolism*. 2004, **53**, 1454-14561.
13. Shin M.J., Lee J.H., Jang Y. et al. Insulin resistance, adipokines, and oxidative stress in nondiabetic, hypercholesterolemic patients: leptin as an 8-epi-prostaglandin F2alpha determinant // *Metabolism*. 2006, **55**, 918-922.
14. Dimascio L., Voermans C., Uqoezwa M. et al. Identification of adiponectin as a novel hemopoietic stem cell growth factor // *J. Immunol*. 2007, **178**, 3511-3520.
15. Canbolat O., Fandrey J., Jelkmann W. Effects of modulators of the production and degradation of hydrogen peroxide on erythropoietin synthesis // *Respir. Physiol*. 1998, **114**, 175-183.
16. Gaidukov L., Tawfik D.S. The development of human sera tests for HDL-bound serum paraoxonase PON-1 and its lipo-lactonase activity // *J. Lipid Res*. 2007, **48**, 1637-1646.
17. Shetty G.K., Economides P.A., Horton E.S. et al. Circulating adiponectin and resistin levels in relation to metabolic factors, inflammatory markers, and vascular reactivity in diabetic patients and subjects at risk for diabetes // *Diabetes Care*. 2004, **27**, 2450-2457.
18. Okamoto Y., Kihara S., Ouchi N. et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice // *Circulation*. 2002, **106**, 2767-2770.
19. Yamauchi T., Kamon J., Waki H. et al. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis // *J. Biol. Chem*. 2003, **278**, 2461-2468.
20. Silha J.V., Krsek M., Skrha J.V. et al. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance // *Eur. J. Endocrinol*. 2003, **149**, 331-335.
21. Zamboni M., Di Francesco V., Garbin U. et al. Adiponectin gene expression and NF-kappaB transcriptional activity in elderly overweight and obese women: inter-relationships with fat distribution, hs-CRP, leptin and insulin resistance // *Int. J. Obes. (Lond)*. 2007, **31**, N 7, 1104-1109.
22. Cnop M., Landchild M.J., Vidal J. et al. The concurrent accumulation of intra-abdominal and subcutaneous fat explains the association between insulin resistance and plasma leptin concentrations: distinct metabolic effects of two fat compartments // *Diabetes*. 2002, **51**, 1005-1015.
23. Fischer S., Hanefeld M., Haffner S.M. et al. Insulin-resistant patients with type 2 diabetes mellitus have higher serum leptin levels independently of body fat mass // *Acta Diabetol*. 2002, **39**, 105-110.
24. Appleton D.J., Rand J.S., Sunvold G.D. Plasma leptin concentrations are independently associated with insulin sensitivity in lean and overweight cats // *J. Feline Med. Surg*. 2002, **4**, 83-93.
25. Sweeney G., Keen J., Somwar R. et al. High leptin levels acutely inhibit insulin-stimulated glucose uptake without affecting glucose transporter 4 translocation in 16 rat skeletal muscle cells // *Endocrinology*. 2001, **142**, 4806-4812.
26. Inoue M., Yano M., Yamakado M. et al. Relationship between the adiponectin-leptin ratio and parameters of insulin resistance in subjects without hyperglycemia // *Metabolism*. 2006, **55**, 1248-1254.
27. Weyer C., Funahashi T., Tanaka S. et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2001, **86**, 1930-1935.
28. Fernández-Real J.M., López-Bermejo A., Casamitjana R., Ricart W. Novel interactions of adiponectin with the endocrine system and inflammatory parameters // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2003, **88**, 2714-2718.

29. Hulver M.W., Zheng D., Tanner C.J. et al. Adiponectin is not altered with exercise training despite enhanced insulin action // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2002, **283**, E861-E865.
30. Giapros V., Evagelidou E., Challa A. et al. Serum adiponectin and leptin levels and insulin resistance in children born large for gestational age are affected by the degree of overweight // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 2007, **66**, 353-359.
31. Evagelidou E.N., Giapros V.I., Challa A.S. et al. Serum adiponectin levels, insulin resistance, and lipid profile in children born small for gestational age are affected by the severity of growth retardation at birth // *Eur. J. Endocrinol.* 2007, **156**, 271-277.
32. Semple R.K., Halberg N.H., Burling K. et al. Paradoxical elevation of high-molecular weight adiponectin in acquired extreme insulin resistance due to insulin receptor antibodies // *Diabetes.* 2007, **56**, 1712-1717.
33. Ma K., Cabrero A., Saha P.K. et al. Increased beta-oxidation but no insulin resistance or glucose intolerance in mice lacking adiponectin // *J. Biol. Chem.* 2002, **277**, 34658-34661.
34. Maeda N., Takahashi M., Funahashi T. et al. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein // *Diabetes.* 2001, **50**, 2094-2099.
35. Kubota N., Terauchi Y., Yamauchi T. et al. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation // *J. Biol. Chem.* 2002, **277**, 25863-25866.
36. Vendrell J., Broch M., Vilarrasa N. et al. Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity // *Obes. Res.* 2004, **12**, 962-971.
37. Filippi E., Sentinelli F., Trischitta V. et al. Association of the human adiponectin gene and insulin resistance // *Eur. J. Hum. Genet.* 2004, **12**, 199-205.
38. Jeffery A.N., Murphy M.J., Metcalf B.S. et al. Adiponectin does not mediate obesity-related insulin resistance in young children: a longitudinal study // *Diabetologia.* 2006, **49**, 417-418.
39. Hu E., Liang P., Spiegelman B.M. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity // *J. Biol. Chem.* 1996, **271**, 10697-10703.
40. Yang W.S., Lee W.J., Funahashi T. et al. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, **86**, 3815-3819.

Уровни адипонектина больных сахарным диабетом 2 типа в сопоставлении с классическими и новейшими факторами атерогенеза

М.Ю. Горшунская¹, Ю.И. Караченцев^{1,2}, Н.С. Красова², Э. Йенсен³, А.И. Гладких², В.В. Полтораки²

¹Харьковская медицинская академия последипломного образования, г. Харьков, 61176; ²Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского, г. Харьков, 61002, Украина; ³Национальный институт охраны здоровья и окружающей среды, 3720 ВА, Билтховен, Нидерланды

Обследован 31 больной сахарным диабетом 2 типа, суб- и декомпенсированный по показателям гликемии и липидного профиля, с избыточной массой тела или ожирением, среднего возраста. Метаболический синдром был диагностирован по критериям NCEP АТР III. У обследованных обнаружено снижение уровней циркулирующего адипонектина с потерей его различий в зависимости от пола пациентов. Верифицирована значимая, различная по направлению, корреляция адипонектина с многочисленными классическими факторами атерогенеза, что доказывает существенное

антиатерогенное влияние этого адипоцитокина на кардиометаболический риск. Отсутствие значимой отрицательной ассоциации адипонектинемии с инсулинорезистентностью, диагностированной по гликемии натощак, базальным уровням инсулина и HOMA-индексу, при наличии корреляции соответствующего направления с другими метаболическими параметрами инсулинорезистентного состояния (триглицериды, ферритин) и ассоциации адипонектин/лептин с HOMA-индексом, подтверждает мультифакторный генез инсулинорезистентности и возможный модулирующий эффект гипергликемии и липотоксичности на характер связи адипонектина и чувствительности к инсулину.

Ключевые слова: адипонектин, сахарный диабет 2 типа, метаболический синдром, маркеры атерогенеза.

Adiponectin levels in type 2 diabetes patients compared with classical and novel atherogenic factors

M. Gorshunskaya¹, Y. Karachentsev^{1,2}, N. Krasova², E. Jansen³, A. Gladkih², V. Poltorak²

¹*Kharkiv Postgraduate Medical Academy, Kharkiv, 61176;*

²*Institute of Endocrine Pathology Problems, Kharkiv 61002, Ukraine;*

³*National Institute for Public Health and the Environment, 3720 BA, Bilthoven, Netherlands*

31 middle-age patients with T2DM, dysglycemia, dyslipidemia, and overweight or obesity were examined. Metabolic syndrome was diagnosed using the NCEP ATP III criteria. Decreased levels of circulatory adiponectin without gender differences were found. A strong correlation between adiponectin and classical atherogenic risk factors was revealed. It proves the atherogenic influence of this adipocytokine on the cardiometabolic risk. The absence of a strong negative correlation between adiponectin and insulin resistance which was diagnosed according to fasting glycemia, basal insulin, and HOMA-index, in the presence of a correlation with others metabolic parameters of insulin resistance state (triglycerides, ferritin) and association between adiponectin/leptin and HOMA-index, confirms the multifactor genesis of insulin resistance and possible modulating effect of hyperglycemia and lipotoxicity on the causative link between adiponectin and insulin sensitivity.

Key words: adiponectin, type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome, atherogenic markers.

(Надійшла 16.07.2007)

СОДЕРЖАНИЕ ГОМОЦИСТЕИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИЕЙ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА: ВОЗМОЖНЫЙ СИНЕРГИЗМ ФАКТОРОВ РИСКА

Н.Д. Халангот^{1*}, В.К. Гринь², В.О. Высоцкая²,

Л.В. Корпачева-Зинич¹, С.Т. Зубкова¹, Т.Л. Милехина¹, В.Д. Король¹

¹Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, г. Киев, 04114; ²Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака АМН Украины, г. Донецк, 83045; Украина

Механизм связи между увеличением частоты сердечно-сосудистой патологии (ССП) и содержанием гомоцистеина (ГЦ) в крови больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) неизвестен. В исследовании типа случай-контроль у 44 мужчин и 40 женщин, разделенных на группы в зависимости от наличия СД2 и/или ССП, определяли содержание ГЦ (ИФА, «Axis Shield») в сопоставлении с индексом массы тела (ИМТ), уровнями креатинина и фибриногена в крови. Группу 1 (n = 23) составили больные с ССП, группу 2 (n = 37) – больные СД2 и ССП, группу 3 (n = 24) – больные СД2 без ССП. Уровень ГЦ в плазме крови ($M \pm m$) больных группы 1 был существенно выше ($P < 0,001$), чем в группах 2 и 3: $24,58 \pm 1,69$, $16,87 \pm 1,09$, $18,77 \pm 1,53$ мкмоль/л, соответственно. Обнаружена слабая отрицательная линейная корреляционная связь между уровнем ГЦ и ИМТ в группе 2 ($r = -0,375$, $P = 0,022$), уровнем ГЦ и фибриногена в группе 1 ($r = -0,433$, $P = 0,044$), и положительная корреляционная связь между ГЦ и креатинином ($r = 0,568$, $P = 0,006$), ГЦ и фибриногеном ($r = 0,563$, $P = 0,010$) в группе 3. Предполагается, что причиной увеличения частоты ССП у больных СД2 скорее всего может быть увеличение повреждающего действия ГЦ под влиянием хронической гипергликемии, а не накопление ГЦ.

Ключевые слова: сахарный диабет, гомоцистеин, сердечно-сосудистая патология, индекс массы тела, фибриноген, креатинин.

Увеличение частоты сердечно-сосудистой патологии у больных сахарным диабетом не может быть полностью объяснено «классическими» факторами риска (гиперхолестеринемия, артериальная гипертензия, ожирение) [1]. В последние годы внимание исследователей обращено к изучению вклада «неклассических» или «новых» факторов риска ССП при сахарном диабете. К ним относится и гомологичная цистеину аминокислота гомоцистеин. В 1969 г. К.S. McCully представил описание патологоанатомического случая новорожденного с явными проявлениями атеросклероза и очень высокой концентрацией ГЦ в крови [2]. В последующем было показано, что ГЦ действительно увеличивает риск ССП [3, 4], особенно у больных сахарным диабетом 2 типа [5]. Частота ССП в разных географических популяциях больных СД2 может сильно варьировать [1], возможно и за счет различий в уровнях ГЦ, которые, в свою очередь, могут определяться генетическими (например, мутации гена, кодирую-

*Адреса для листування (Correspondence): Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України, вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна; тел. 8 044 4310242; E-mail: nikhalangot@ukr.net

щего фермент метилентетрагидрофолат-редуктазу – МТНFR), или средовыми факторами (уровни метионина, фолиевой кислоты и/или витамина В₁₂ в пище) [3]. Поэтому изучение связи между содержанием ГЦ и ССП в разных географических популяциях больных СД2 представляет интерес. Результаты и трактовка двух исследований уровня ГЦ у больных СД2, проведенных в Украине [6, 7], в значительной мере противоречивы, что не позволяет считать изучение вопроса исчерпанным. Кроме того, биологические механизмы возможной взаимосвязи ГЦ и СД2 остаются неясными [5]. Теоретически здесь возможны два варианта патогенеза ускорения ССП, первый из которых включает увеличение атеротромбоза путем усиления общего цитотоксического эффекта глюкозы или увеличения индуцированного глюкозой оксидативного стресса в клетках эндотелия под влиянием высоких концентраций ГЦ [5], а второй – простое накопление ГЦ у больных СД2, приводящее к росту у них ССП.

Эпидемиологическое исследование типа случай-контроль может способствовать разрешению этого вопроса в пользу большей вероятности первого или второго вариантов патогенеза, что и определило цель и дизайн данного исследования, направленного на изучение возможной связи ГЦ и ССП у больных СД2 – жителей Украины.

Материалы и методы

Исследование основано на анализе клинических и лабораторных данных 84 больных с ССП, СД2 и их сочетанием. Стратификация на 3 основные группы проведена по признаку наличия или отсутствия анамнеза и/или клинических признаков ССП и СД2: группу 1 составили 23 пациента кардиологического отделения Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака АМН Украины (ИНВХ), у которых были признаки ИБС, подтвержденные при коронарографии, без СД2; группу 2 составили 11 пациентов ИНВХ, больных СД2 с коронарографически подтвержденной ИБС и 19 пациентов клиники Института эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины (ИЭОВ) с СД2 и наличием в анамнезе инфаркта миокарда и/или инсульта, а также 7 пациентов клиники ИЭОВ, имевших СД2 и симптомы, и признаки периферического облитерирующего атеросклероза, подтвержденного при доплерометрии (лодыжечно-плечевой индекс меньше 0,9). Группу 3 составили 24 пациента клиники ИЭОВ с СД2 без наличия в анамнезе инсульта или инфаркта миокарда, не имеющие признаков периферического облитерирующего атеросклероза. У всех больных натошак были получены образцы плазмы крови (антикоагулянт –ЭДТА), которые сохранялись (от 1 мес до 1,5 лет) при низкой температуре (-20 °С) до момента иммуноферментного (Axis Shield, UK) определения ГЦ. Другие биохимические параметры определяли в плазме или крови при помощи стандартных методик на биохимических анализаторах: BioSystems BTS-330 (холестерин общий и ЛПВП, триглицериды); Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics, BA-88 (креатинин); Muller geratebau GmbH, SuperGL (глюкоза); HbA1c определяли при помощи ионообменной хроматографии-спектрофотометрии (наборы BioSystems), а фибриноген – весовым методом. Клинические и антропометрические характеристики пациентов (рост, масса тела, окружность талии и бедер, артериальное давление), а также данные анамнеза выяснялись при личной беседе и обследовании, изучении данных историй болезни, включающих результаты коронарографии, ЭКГ, доплерометрии, КТ или МРТ головного мозга, заключений невропатолога о наличии неврологического дефицита. Коронарную болезнь сердца у всех больных коронарографически подтвержденной считали при обнаружении окклюзии и/или стеноза (более 75 %) хотя бы одной из крупных коронарных артерий, либо стеноза ствола левой коронарной артерии более 50 %. Такое подтверждение получено у большинства (32 из 34) больных, которым проводилась коронарография. Только у 2 больных с клиникой стенокардии и изменениями ЭКГ не было выявлено поражения крупных коронарных сосудов при коронарографии, у них диагностирован

синдром Х. Все пациенты дали письменное информированное согласие на проведение исследования. Протокол исследования одобрен комитетом по биоэтике ИЭОВ.

Статистическую обработку результатов исследования проводили при помощи пакета программ MedStat с использованием параметрических и непараметрических критериев и построением линейных регрессионных моделей [8].

Результаты и их обсуждение

Анализ клинико-антропометрических данных (таблица), свидетельствует, что средний возраст обследованных пациентов, отнесенных к каждой из

Таблица. Клинические и лабораторные характеристики обследованных групп больных

Изучаемые показатели	Группа 1 ССП без СД2 (n=23)	Группа 2 СД2 + ССП (n=37)	Группа 3 СД2 без ССП =24)	P
<i>Клинические данные</i>				
Возраст (годы), n=84	58,96 (2,23)	61,49 (1,37)	62,92 (1,75)	0,325†
Продолжительность СД (годы), n=61	-	9,11 (1,03)	8,83 (1,37)	0,87‡
Мужчины/женщины	19/4	16/21	9/15	0,003 χ
Индекс массы тела (кг/м ²), n=84	27,94 (0,88)	32,04 (0,77)	31,62 (1,42)	0,013†
Отношение окружности тали к окружности бедер, n=81	0,95 (0,01) ‡	1,00 (0,01) ‡	0,97 (0,02)	0,085† 0,01‡
<i>Лабораторные данные (плазма крови)</i>				
Глюкоза натощак (ммоль/л), n =71	5,01 (0,13)	9,21 (0,73)	9,50 (0,85)	< 0,001†
НвА1с (%), n=77	3,99 (0,13)	7,94 (0,36)	7,53 (0,29)	< 0,001†
Креатинин (ммоль/л), n=70	0,08 (0,005)	0,08 (0,005)	0,09 (0,003)	0,244†
Фибриноген (мг/л), n=63	3968 (178,8)	4307 (254,9)	4036 (296,1)	0,586†
Общий холестерин (ммоль/л)	4,54 (0,26) n=23	5,73 (0,27) n=22	5,16 (0,22) n=21	0,005†
Холестерин ЛПНП (ммоль/л)	3,67(0,26) n=23	4,27 (0,26) n=26	4,06 (0,20) n=19	0,22†
Триглицериды (ммоль/л)	1,39 (0,13) n=21	1,61 (0,11) n=15	1,59 (0,16) n=19	0,47†
Гомоцистеин у мужчин, (мкмоль/л), n=44	23,85 (1,61) ‡	18,83 (1,87) ‡	18,79 (2,34)	0,083† 0,049‡
Гомоцистеин у женщин, (мкмоль/л), n=40	28,05 (6,42)w	15,38 (1,22)w	18,75 (2,06)	0,011† 0,014w
Гомоцистеин у всех (мкмоль/л), n=84	24,58 (1,69) ‡	16,87 (1,09) ‡	18,77 (1,53)	< 0,001† < 0,001 ‡

Примечание: данные являются средними величинами (\pm их стандартные ошибки) или отношениями; † – множественные сравнения для 3-х групп, дисперсионный анализ; ‡ – сравнение средних для 2-х групп, критерий Стьюдента; χ – множественные сравнения для 3-х групп, критерий χ^2 ; w – сравнение центральных тенденций двух независимых выборок, W-критерий Вилкоксона.

3-х групп, не отличался, также как и известная продолжительность СД2 для больных 2 и 3 групп. Мужчины существенно преобладали в 1-й группе. избыточное отложение жировой ткани, оцененное по индексу массы тела, было выше среди пациентов с СД2 (2-я и 3-я группы). Отношение окружность талии/окружность бедер самым большим было у больных с СД2 и ССП (группа 2). Средние уровни гликемии натощак и HbA1c в крови у больных СД2 не соответствовали показателям хорошего контроля СД и не отличались между группами 2 и 3. Уровни креатинина, триглицеридов, холестерина ЛПНП и фибриногена в 3-х группах не различались, общий холестерин у больных СД (группы 2 и 3) был выше, чем у больных ССП без СД (группа 1). Дисперсионный анализ зафиксировал тенденцию к различиям при множественном сравнении уровней ГЦ среди мужчин в 3-х группах, а сравнение уровней ГЦ между 1 и 2 группами выявило статистически значимое различие. У женщин 1 и 2 групп различие уровней ГЦ достоверно при использовании методов непараметрической статистики, а множественные сравнения уровня ГЦ у женщин 3-х групп выявили различие при использовании дисперсионного анализа. Высокая степень достоверности отличий уровней ГЦ между 3-мя группами зафиксирована при объединенном анализе данных у женщин и мужчин (множественные сравнения) и при сравнении уровней ГЦ между 1 и 2 группами (парный критерий Стьюдента).

Некоторые клинические и лабораторные данные использованы для проверки возможности построения линейных корреляционных моделей. Такую модель удалось построить для индекса массы тела и ГЦ в группе 2, при этом обнаружена слабая отрицательная корреляционная связь: $ИМТ = -0,285 \times ГЦ$ (мкмоль/л) + 36,91 (рис. 1). Коэффициент линейной корреляции $r = -0,375$, число степеней свободы $k = 35$, $P = 0,022$. Между уровнями креатинина и ГЦ в группе 3 обнаружена положительная связь: $ГЦ = 293,6 \times Креатинин$ (ммоль/л) - 7,146; $r = 0,568$, $k = 20$, $P = 0,006$. Неожиданными явились результаты, свидетельствующие о наличии слабой отрицательной корреляционной связи между уровнями фибриногена и ГЦ в группе 1 ($r = -0,433$, $k=20$, $P=0,044$; рис. 2 А), отсутствии связи в группе 2 ($r=0$, $P=0,769$) и положительной связи в группе 3 ($r = 0,563$, $k=18$; $P = 0,010$; рис.2 Б).

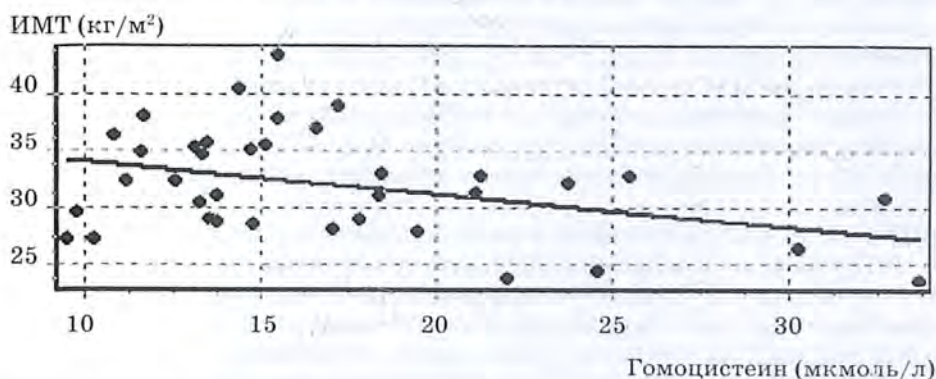


Рис. 1. Линейная зависимость между уровнем гомоцистеина в плазме крови и индексом массы тела у пациентов с сахарным диабетом, имеющих признаки или анамнез сердечно-сосудистой патологии (группа 2).

Существенной особенностью нашего исследования является возможность сравнения уровней ГЦ у пациентов с ССП в зависимости от наличия или отсутствия СД2, а также у больных СД2 в зависимости от наличия или отсутствия ССП. У значительной части пациентов наличие ССП было подтверж-

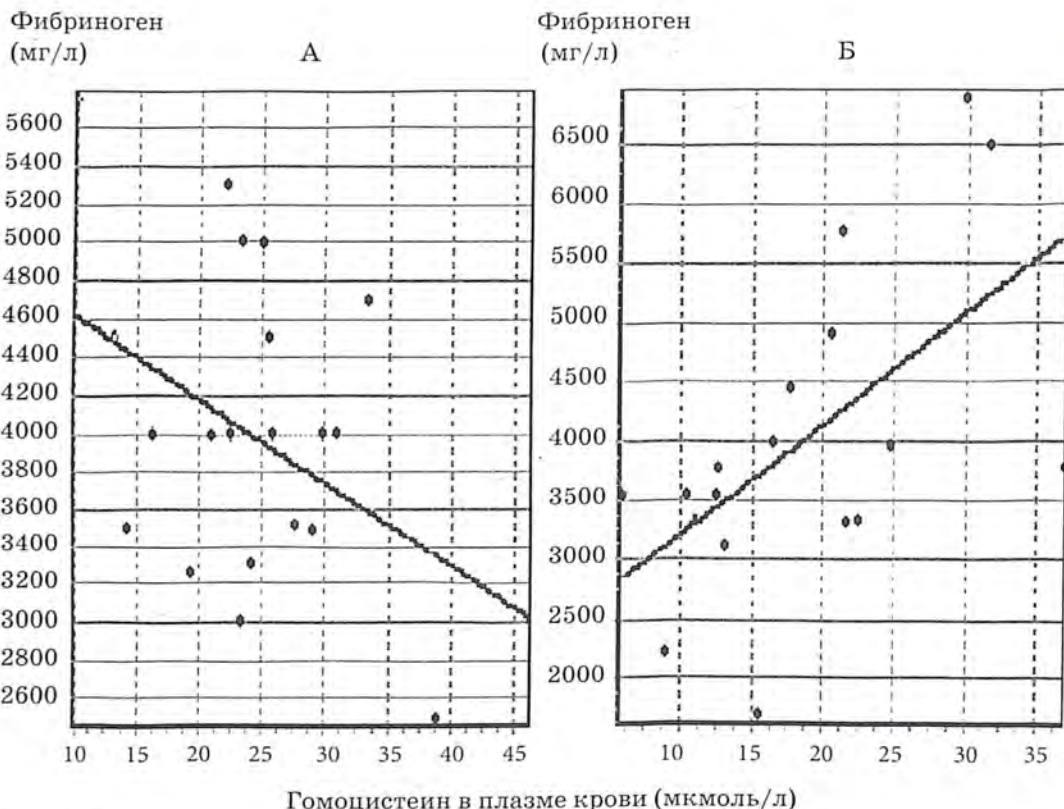


Рис. 2. Линейная зависимость между уровнем гомоцистеина и фибриногена у пациентов с сердечно-сосудистой патологией без сахарного диабета (А) и у больных с сахарным диабетом без сердечно-сосудистой патологии (Б).

дено при помощи коронарографии, в остальных случаях диагноз ССП устанавливался на основании наличия в анамнезе инфаркта миокарда, инсульта или признаков периферического облитерирующего атеросклероза сосудов. Наиболее интересными из полученных результатов представляются данные о том, что содержание ГЦ у больных ССП и СД2 меньше, чем у больных только с ССП. Группа D. Girelli et al. из университета Вероны опубликовала результаты проспективного исследования пациентов (n=350), у которых при коронарографии подтверждена ишемическая болезнь сердца [9]. У всех пациентов определили содержание ГЦ, проведено генотипирование для определения МТНFR 677С→Т-полиморфизма. Всем больным проведено хирургическое лечение ССП – аортокоронарное шунтирование, а через 58 мес оценена смертность. Оказалось, что у пациентов с исходно высоким содержанием ГЦ (90 перцентиль или выше, n=35) доля умерших составила 20 %, а у пациентов с ГЦ ниже 90 перцентилей (n=315) – только 8,3 % (P=0,024). В этих группах обнаружено различие по генотипам МТНFR 677С→Т-полиморфизма (P<0,001) и по наличию СД2: в группе с высоким уровнем ГЦ больных СД2 не оказалось, а в группе с ГЦ < 90 перцентилей было 17,3 % больных СД2 (P=0,009). Следовательно, среди больных с подтвержденной при коронарографии ССП (n=350), стратифицированных по признаку высокого и менее высокого уровней ГЦ, все больные с сахарным диабетом (n=34) попали в группу с менее высоким ГЦ. Мы рассматриваем эти данные, как согласующиеся с нашим выводом о том, что у пациентов, имеющих одновременно СД2 и ССП, содержание ГЦ оказывается ниже, чем у пациентов, имеющих только ССП. Наиболее веро-

ятым объяснением этого феномена может быть предположение о том, что у больных сахарным диабетом ГЦ может оказывать атерогенное действие в меньших концентрациях, чем это происходит без наличия СД2. Таким образом, наши данные подтверждают вероятность скорее первого варианта патогенеза ускорения ССП под влиянием ГЦ у больных СД2, при котором гипергликемия усиливает его повреждающее действие. При этом ССП может появляться при меньших уровнях ГЦ, а попытки зафиксировать «накопление» ГЦ в плазме крови больных СД2 [6, 7] будут безуспешны.

Ранее проведенные в Украине исследования, как и наше, можно отнести к исследованиям типа «случай-контроль». Общей характеристикой этих двух работ, выполненных в одном и том же учреждении, является небольшая контрольная группа, которую составили 10 [6] и 8 [7] здоровых лиц «соответствующего возраста», пол которых не был указан. В работе Н.А. Кравчун [6] показано, что уровень ГЦ у больных СД2 при наличии инсулинорезистентности (повышение индекса НОМА) существенно выше, чем без таковой. М.Ю. Горшунская и соавт. [7] считают, что нормальный уровень ГЦ, выявленный у больных СД2 с инсулинорезистентностью (установленной по повышению НОМА и другим признакам), доказывает «мизерный» вклад чувствительности к инсулину в метаболизм ГЦ и делают вывод об ограниченной информативности ГЦ в качестве фактора риска атерогенеза у больных СД2. Следует заметить, что собственно риск атеросклероза (ССП) этими авторами никак не изучался, то есть, частота ССП в зависимости от исходного уровня ГЦ не оценивалась. Отсутствие корреляции между содержанием ГЦ и большинством из избыточно широкого спектра биологически активных веществ, скорее подтверждает независимость ГЦ от других факторов, чем указывает на «мизерность» его значения как фактора риска.

В нашей работе обнаружено несколько линейных зависимостей между уровнем ГЦ и некоторыми клинико-лабораторными показателями. Обнаружение этих зависимостей не во всех группах (ГЦ – ИМТ только в группе 2, ГЦ – креатинин только в группе 3; ГЦ – фибриноген только в группах 1 и 3), а также иногда их противоположная направленность в группах (ГЦ – фибриноген), косвенно подтверждает адекватность стратификации групп. О возможности положительной связи между креатинином, фибриногеном и ГЦ было известно ранее [3, 4, 6, 7], тогда как выявленная нами отрицательная связь между ГЦ и ИМТ (группа 2) и фибриногеном (группа 1) является новым феноменом, характерным для указанных категорий больных. В контексте наших данных об отрицательной связи ИМТ и ГЦ уместно привести результаты эпидемиологических исследований в США, свидетельствующие об увеличении риска смерти у пациентов с диабетом и ИМТ меньше 26 кг/м² по сравнению с ИМТ 26-30 кг/м² [10].

В нашем исследовании среди пациентов ССП и СД2 (группы 2 и 3) преобладали женщины, а среди пациентов с ССП без СД2 (группа 1) – мужчины. Это стихийно сложившееся распределение может быть отражением преобладания женщин в популяции больных СД2 Украины [11], а также уменьшения антиатерогенного воздействия, связанного с женским полом при сахарном диабете [1]. Однако основной выявленный нами феномен (меньший уровень ГЦ у больных с СД и ССП по сравнению с ССП без СД) продолжает фиксироваться и при сравнении ГЦ только у мужчин или только у женщин. К ограничениям нашего исследования можно отнести его дизайн, не включавший оценку риска ССП (динамическое наблюдение и учет случаев ССП и исходов). В будущем предполагается продолжить изучение значения ГЦ для больных СД в ходе проспективного исследования. Подтверждение нашего предположения о синергическом влиянии СД2 и ГЦ на развитие ССП неизбежно поставит вопрос о необходимости изучения профилактического эффекта лечения,

направленного на снижение ГЦ у больных СД2 с повышенным уровнем этого фактора. Поскольку анализ регистра больных сахарным диабетом в Украине [12] выявил региональную дифференциацию по наличию и степени связи между распространенностью ССП и некоторых классических факторов риска атеросклероза у больных СД2, что косвенно указывает на значимость вклада других факторов, актуальным будет сопоставление уровня ГЦ и/или частоты ответственных за его накопление генетических мутаций в различных территориальных популяциях больных СД2.

Литература

1. Hu G., Qiao Q., Tuomilehto J. Metabolic syndrome, diabetes and coronary heart disease (Chapter 21) // In: M. Marmot, P. Elliott (eds.). *Coronary Heart Disease Epidemiology*, 2-nd ed., Oxford University Press, 2005, 311-330.
2. McCully K.S. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis // *Am. J. Pathol.* 1969, 56, N 1, 111-128.
3. Eikelboom J.W., Lonn E., Genest J. Jr. et al. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence // *Ann. Intern. Med.* 1999, 131, N 5, 363-375.
4. Welch G.N., Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis // *N. Engl. J. Med.* 1998, 338, N 15, 1042-1050.
5. Becker A., Kostense P.J., Bos G. et al. Hyperhomocysteinemia is associated with coronary events in type 2 diabetes // *J. Intern. Med.* 2003, 253, N 3, 293-300.
6. Кравчун Н.О. Вміст гомоцистеїну у сироватці крові хворих на цукровий діабет 2 типу і його взаємозв'язок із клініко-метаболічними показниками // *Ендокринологія*. 2006, 11, №1, 29-35.
7. Горшунська М.Ю., Караченцев Ю.І., Красова Н.С. та ін. Мінорне значення гомоцистеїнемії в якості чинника ризику атерогенезу у інсулінорезистентних хворих на цукровий діабет 2 типу за відсутності ниркової недостатності // *Ендокринологія*. 2006, 11, № 2, 154-163.
8. Лях Ю.Е., Гурьянов В.Г. Анализ результатов медико-биологических исследований и клинических испытаний в специализированном статистическом пакете MEDSTAT // *Вестник гигиены и эпидемиологии*. 2004, 8, № 1, 155-167.
9. Girelli D., Martinelli N., Olivieri O. et al. Hyperhomocysteinemia and mortality after coronary artery bypass grafting // (2006) *PLoS ONE* 1(1): e83. doi:10.1371/journal.pone.0000083
10. McEwen L.N., Kim C., Karter A.J. et al. Risk factors for mortality among patients with diabetes: the Translating Research Into Action for Diabetes (TRIAD) Study // *Diabetes Care*. 2007, 30, 1736-1741.
11. 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.
12. Кравченко В.М., Халангот М.Д., Кульчинська Я.Б. Створення постійно діючого державного реєстру «Система нагляду хворих на цукровий діабет (СИНАДІАБ) в Україні»: проблеми та перспективи // *Ендокринологія*. 2005, 10, № 1, 69-75.

Вміст гомоцистеїну у плазмі крові хворих на серцево-судинну патологію та цукровий діабет 2 типу: можливий синергізм факторів ризику

М.Д. Халангот¹, В.К. Гринь², В.О. Висоцька², Л.В. Корпачова-Зінич¹, С.Т. Зубкова¹, Т.Л. Мильохіна¹, В.Д. Король¹

¹Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, м. Київ, 04114; ²Інститут невідкладної та відновлювальної хірургії ім. В.К. Гусака АМН України, м. Донецьк, 83045; Україна

Механізм зв'язку між підвищенням частоти серцево-судинної патології (ССП) та вмістом гомоцистеїну (ГЦ) у крові хворих на цукровий діабет 2 типу (ЦД2) невідомий. У дослідженні типу випадок-контроль у 44 чоловіків та 40 жінок, розподілених на групи залежно від наявності ЦД2 та/або ССП, визначали вміст ГЦ (ІФА, «Axis Shield») у зіставленні з індексом маси тіла (ІМТ), рівнями креатиніну та фібриногену у крові. Групу 1 (n = 23) становили хворі на ССП, групу 2 (n = 37) – хворі на ЦД2 та ССП, групу 3 (n = 24) – хворі на ЦД2 без ССП. Вміст ГЦ у плазмі крові (M±m) хворих групи 1 був суттєво вищим (P<0,001), ніж у групах 2 або 3 : 24,58±1,69, 16,87±1,09, 18,77±1,53 мкмоль/л, відповідно. Встановлено слабкий негативний лінійний кореляційний зв'язок між ГЦ та ІМТ у групі 2 (r = - 0,375, P = 0,022), між ГЦ і фібриногеном у групі 1 (r = -0,433, P = 0,044), та позитивний кореляційний зв'язок між ГЦ і креатиніном (r = 0,568, P = 0,006), ГЦ і фібриногеном (r = 0,563, P = 0,010) у групі 3. Припускається, що причиною підвищення частоти ССП у хворих на ЦД2 очевидніше за все є посилення шкідливої дії ГЦ під впливом хронічної гіперглікемії, ніж накопичення ГЦ в крові.

Ключові слова: цукровий діабет, гомоцистеїн, серцево-судинна патологія, індекс маси тіла, фібриноген, креатинін.

Plasma homocysteine levels in the blood of patients with cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus: Possible risk factor's synergism

N.D. Khalangot¹, V.K. Gryn², V.O. Vysotskaja², L.V. Korpacheva-Zynych¹, S.T. Zubkova¹, T.L. Milekhina¹, V.D. Korol²

¹V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, Kyiv, 04114; ²V.K. Gusak Institute of Urgent and Reconstructive Surgery of AMS, Donetsk, 83145; Ukraine

The increase in cardiovascular disease (CVD) frequency is connected to an increase in homocysteine (Hcy) levels in the blood of type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients for an unknown reason. In a case-control type study that included 44 men and 40 women, divided into groups according to the presence of T2DM and/or CVD, Hcy levels were determined (ELISA, «Axis Shield») and compared to the body mass index (BMI), as well as to the blood creatinine and fibrinogen levels. Group 1 (n=23) consisted of patients with CVD, group 2 (n=37) – T2DM patients with CVD, group 3 (n=24) – T2DM patients without CVD. The levels of Hcy in group 1 were significantly higher (P < 0,001) than in groups 2 and 3: 24,58 (1,69); 16,87 (1,09); 18,77 (1,53) μmol·l⁻¹ means (SE) respectively. A slight negative linear relationship between the level of Hcy and BMI in group 2 (r = - 0,375, P = 0,022), and the level of Hcy and fibrinogen in group 1 (r = -0,433, P = 0,044), as well as a positive linear relation between Hcy and creatinine (r = 0,568, P = 0,006), and Hcy and fibrinogen (r = 0,563, P = 0,010) in group 3 were discovered. The reason for CVD increase is most likely the increase of damaging effect of Hcy, influenced by chronic hyperglycemia, rather than Hcy accumulation in the blood of T2DM patients.

Key words: diabetes mellitus, homocysteine, cardiovascular disease, body mass index, fibrinogen, creatinine.

(Надійшла 28.09.2007)

ВЛИЯНИЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТА СИЛИКС НА ТЕЧЕНИЕ СТЕАТОЗА ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ПОД КОНТРОЛЕМ ЭХОДЕНСИТОМЕТРИИ ПЕЧЕНИ

Садик А.И. Джарадат

*Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца,
г. Киев, 01601, Украина*

В статье приведены результаты влияния энтеросорбента Силикс на течение стеатоза печени у больных сахарным диабетом (СД). Под нашим наблюдением находилось 113 больных со стеатозом печени на фоне сахарного диабета (36 больных СД 1 типа, 46 больных СД 2 типа – на инсулинотерапии, 31 больной СД 2 типа – на сахароснижающих препаратах) и 25 пациентов контрольной группы. Всем больным до и после курса лечения проводилась эходенситометрия печени. Установлено, что на фоне десятидневного курса энтеросорбции Силиксом снизился индекс затухания ультразвуковых колебаний, уменьшились признаки жировой дистрофии печени, улучшились её эхоструктура и функция. Никаких побочных эффектов при применении препарата Силикс не выявлено.

Ключевые слова: энтеросорбент, Силикс, стеатоз, эходенситометрия.

Сахарный диабет сопровождается поражением печени, которое проявляется изменением функции гепатоцитов, печеночного кровообращения и структуры органа [1, 2]. Несмотря на факториальный характер этих поражений и разнообразие структурных нарушений (стеатоз, стеатогепатит, фиброз, цирроз), все они трактуются как «диабетическая гепатопатия» (ДГП). Распространенность ДГП у больных составляет 24-88 % [3, 4], а выраженным морфологическим её проявлением является стеатоз печени.

Клиническая диагностика стеатоза печени является трудной в связи с неспецифичностью и скудностью клинических проявлений заболевания. Иногда симптоматика ДГП зачастую обусловлена наличием сопутствующих заболеваний органов пищеварения – хронического гастрита, холецистита, колита и др. [5, 6].

Наиболее достоверным методом диагностики данного заболевания является пункционная биопсия печени. Однако её применение в качестве скрининг-метода невозможно в связи с инвазивностью и наличием осложнений [7].

Доступным способом диагностики стеатоза печени является ультразвуковое исследование [8]. Эхография является неинвазивным методом, что позволяет применять его в качестве скрининга стеатоза печени, и наблюдать в динамике за морфологическими изменениями структуры печени при лечении, хотя этот метод не всегда позволяет достоверно диагностировать наличие и тяжесть патологического процесса. Использование эходенситометрии печени [9] в двух зонах помогает решить эту проблему.

Традиционная медикаментозная терапия печени при сахарном диабете включает холеретики и гепатопротекторы – аллохол, хофитол, эссенциале, гептрал и другие. Однако их эффективность не всегда достаточная, поэтому поиск препаратов, обладающих влиянием на состояние гепатобилиарной

системы, на углеводный и жировой обмен, у больных сахарным диабетом является актуальным.

Исходя из вышеизложенного, мы обратились к энтеросорбентам, которые адсорбируют из кишечного содержимого и из крови токсические вещества, оказывают гипогликемизирующий и гиполипидемический эффект. Наиболее перспективным в этом отношении является Силикс – энтеросорбент, разработанный в Институте химии поверхности НАН Украины.

Целью нашего исследования была оценка влияния энтеросорбента Силикс на течение основного заболевания и стеатоза печени у больных сахарным диабетом под контролем эходенситометрии печени.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на базе Киевского городского центра эндокринологии и обмена веществ при Киевской городской центральной клинической больнице. Под нашим наблюдением находилось 113 больных сахарным диабетом, которые принимали энтеросорбент Силикс на фоне сахароснижающей терапии. Контрольную группу составили 25 больных, которые принимали традиционную терапию без энтеросорбента. Все больные подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Основная группа пациентов была разделена на три подгруппы. В первую подгруппу вошли 36 (31,85 %) больных сахарным диабетом 1 типа, со средним возрастом $43,17 \pm 2,54$ года, у которых длительность течения диабета составляла $13,81 \pm 1,95$ лет, индекс массы тела (ИМТ) – $24,76 \pm 0,74$ кг/м². Вторую подгруппу составили 46 (40,7 %) больных сахарным диабетом 2 типа, получавших инсулинотерапию, средний возраст которых составил $57,87 \pm 1,15$ лет, а длительность течения диабета – $13,87 \pm 1,3$ лет, с ИМТ – $30,16 \pm 0,72$ кг/м². Третья подгруппа состояла из 31 (27,43 %) больного сахарным диабетом 2 типа, получавших пероральные сахароснижающие средства; средний возраст их составил $61,29 \pm 1,23$ лет, а длительность течения диабета – $10,06 \pm 1,19$ лет; ИМТ у них равнялся $31,68 \pm 1,28$ кг/м².

До и после десятидневного курса энтеросорбции с помощью препарата Силикс проводилась эходенситометрия печени на аппарате «Аloka 1700» (Япония).

Ультразвуковое исследование печени на основании диффузного повышения эхогенности паренхимы, плохой дифференциации её сосудов, ослабления ультразвукового сигнала в глубоко расположенных отделах органа, увеличения её размеров дало возможность диагностировать жировую дистрофию печени. С помощью эходенситометрии печени (ЭДМ) в двух зонах мы рассчитывали параметры гистограммы, которые дали возможность определить степень выраженности стеатоза печени.

Эходенситометрия проводилась после 12-часового голодания с использованием датчика 3,5 МГц. Сначала визуализировалась правая доля печени в положении продольного сканирования с расположением датчика в сагитальной плоскости по среднеключичной линии, с выведением его в срез правой почки. На линии, что параллельна длинной оси почки, выбирались две «зоны интереса». Из них первая располагалась непосредственно у передней поверхности печени (зона А), а другая – у места перехода диафрагмальной поверхности печени в висцеральную (зона В). В каждой зоне строились кривые распределения пикселей по шкале серого цвета от 0-64. Информация, полученная при исследовании, содержит три основных параметра: Т – общее количество пикселей в зоне интереса; L – значение наиболее часто встречающихся пикселей в зоне интереса; М – количество наиболее часто встречающихся пикселей в зоне интереса. Пик кривой соответствует величине L. На основании вышеперечисленных параметров рассчитывались коэффициенты плотности (Кплот) в каждой зоне, как отношение произведения значения наиболее часто встречающихся пикселей в исследуемой зоне «L» и количества наиболее часто встречающихся пикселей в исследуемой зоне «М» к общему количеству пикселей в исследуемой зоне. $Кплот = (L \times M) / T$.

Индекс затухания (Изат) ультразвуковой волны вычислялся по формуле: $\text{Изат} = (1 - \text{КплотВ}/\text{КплотА}) \cdot 100 \%$. При этом интегральным показателем в диагностике стеатоза печени может служить индекс затухания ультразвуковой волны, который при стеатозе печени увеличен в 1,5 раза относительно нормы ($N=42,76 \pm 5,97$).

Больные контрольной и основной группы сопоставлялись по возрасту, полу, характеру течения заболевания (стеатоз печени и сахарный диабет). Эходенситометрия печени проводилась до и после десятидневного курса традиционной гепатопротекторной терапии.

Пациенты основной группы получали препарат Силикс, который представляет собой рыхлый порошок белого цвета, состоящий из высокодисперсного кремнезема, который в воде образует суспензию. Благодаря большой площади поверхности ($200-400 \text{ м}^2/\text{г}$) и особенностям строения, Силикс обладает высокими адсорбционными свойствами по отношению к белкам, экзо-, эндотоксинам, микроорганизмам. Препарат назначался по 1 столовой ложке (2 г) на 100 мл воды 3 раза в день между основными приемами пищи в течение 10 дней. Пациенты контрольной группы принимали холеретики и гепатопротекторы (аллохол, хофитол, дарсил, эссенциале).

Результаты исследования и их обсуждение

Все пациенты основной и контрольной групп при поступлении в стационар находились в состоянии декомпенсации (уровень гликемии натощак в основной группе составил $13,35 \pm 0,56$ ммоль/л, в группе контроля – $12,29 \pm 0,82$ ммоль/л). После проведенного курса энтеросорбции в основной группе уровень гликемии существенно снизился до $8,47 \pm 0,15$ ммоль/л, а в контрольной группе снижение было недостоверным – до $11,15 \pm 0,36$ ммоль/л.

Данные эходенситометрии печени изучались до и после лечения, в основной и контрольной группах, и сравнивались по среднегрупповым показателям ($M \pm m$). Анализ эходенситометрических показателей печени у больных основной и контрольной групп доказал достоверное увеличение индекса затухания ультразвуковой волны, что подтверждает диагноз стеатоза печени. Результаты расчета параметров LA, MA, LB, MB, КплотА и КплотВ приведены в табл. 1, 2 и 3.

Как видно из вышеприведенных данных, у больных сахарным диабетом во всех трех подгруппах показатели LA, КплотА и КплотВ в основной и контрольной группах больных до лечения были достоверно выше здоровых ($P < 0,05$). После курса лечения Силиксом наблюдалось достоверное снижение показателей LA и КплотА ($P < 0,01$) в первой подгруппе больных сахарным диабетом 1 типа и контрольной группе. КплотВ существенно изменился только в основной группе. Показатель MA не отличался в основной и контрольной группе больных, но был ниже, чем у здоровых. В результате лечения он заметно увеличился только в контрольной группе ($P < 0,01$). Индекс затухания ультразвуковых колебаний у больных сахарным диабетом по сравнению со здоровыми был значительно выше ($P < 0,05$). Десятидневный приём энтеросорбента Силикс отчетливо снизил уровень Изат ($P < 0,01$) в основной группе, а в группе контроля изменения были недостоверны ($P > 0,05$) (табл. 1).

У больных сахарным диабетом 2 типа, получавших инсулинотерапию, после десятидневного курса лечения Силиксом достоверно снизились показатели LA, LB, КплотА, КплотВ ($P < 0,01$), а в контрольной группе – только показатели LA, КплотА ($P < 0,01$). Уровни MA, MB увеличились незначительно ($P > 0,05$). Индекс затухания ультразвуковых колебаний при поступлении больных в стационар был значительно повышен. После курса энтеросорбции Силиксом он отчетливо снизился ($P < 0,01$). На фоне традиционной гепатотропной терапии достоверного изменения индекса затухания не наблюдалось (табл. 2).

Таблица 1. Динамика эхонситометрических показателей печени под влиянием Силикса у больных сахарным диабетом 1 типа

Показатели ЭДМ	Основная группа (n=36)			Контрольная группа (n=25)			Здоровые (n=32)
	До лечения	После	P	До лечения	После	P ₁	
L _A	27,00±0,73	13,74±0,64	<0,01	24,12±0,67	18,72±0,83	<0,01	11,89±2,96
M _A	40,37±1,44	41,74±1,53	>0,05	42,48±1,10	46,40±0,81	<0,01	53,33±5,63
K _{плотA}	3,10±0,16	1,56±0,06	<0,01	2,85±0,06	2,44±0,12	<0,01	0,90±0,19
L _B	13,31±0,76	10,37±0,54	<0,01	12,00±0,58	11,68±0,84	>0,05	12,22±3,18
M _B	26,66±0,91	26,54±0,64	>0,05	27,16±0,54	27,76±0,58	>0,05	31,78±3,12
K _{плотB}	0,96±0,06	0,75±0,03	<0,01	0,91±0,05	0,88±0,06	>0,05	0,55±0,10
I _{зат}	68,97±1,51	50,46±1,42	<0,01	67,92±1,61	63,35±1,86	>0,05	42,76±5,97

Примечание. Во всех таблицах: P – достоверность различия показателей до и после лечения в основной группе больных; P₁ – в контрольной группе больных; L_A – значение наиболее часто встречающихся пикселей в зоне «А»; M_A – количество наиболее часто встречающихся пикселей в зоне «А»; K_{плотA} – коэффициент плотности ткани в зоне «А»; L_B – значение наиболее часто встречающихся пикселей в зоне «В»; M_B – количество наиболее часто встречающихся пикселей в зоне «В»; K_{плотB} – коэффициент плотности ткани в зоне «В»; I_{зат} – индекс затухания ультразвуковых колебаний.

Таблица 2. Динамика эхонситометрических показателей под влиянием Силикса у больных сахарным диабетом 2 типа, получавших инсулинотерапию

Показатели ЭДМ	Основная группа (n=46)			Контрольная группа (n=25)			Здоровые (n=32)
	До лечения	После	P	До лечения	После	P ₁	
L _A	26,34±0,85	13,32±0,62	<0,01	24,12±0,67	18,72±0,83	<0,01	11,89±2,96
M _A	43,94±1,09	46,15±1,05	>0,05	42,48±1,10	46,40±0,81	<0,01	53,33±5,63
K _{плотA}	3,30±0,16	1,67±0,05	<0,01	2,85±0,06	2,44±0,12	<0,01	0,90±0,19
L _B	11,89±0,64	9,21±0,23	<0,01	12,00±0,58	11,68±0,84	>0,05	12,22±3,18
M _B	29,70±2,14	29,17±0,34	>0,05	27,16±0,54	27,76±0,58	>0,05	31,78±3,12
K _{плотB}	0,90±0,04	0,75±0,02	<0,01	0,91±0,05	0,88±0,06	>0,05	0,55±0,10
I _{зат}	72,45±0,84	53,98±1,33	<0,01	67,92±1,61	63,35±1,86	>0,05	42,76±5,97

У больных сахарным диабетом 2 типа, получавших пероральные сахароснижающие препараты, показатели L_A и K_{плотA} в результате лечения достоверно снизились в основной и контрольной группах (P < 0,01). Показатель M_A заметно снизился лишь в контрольной группе. Все остальные параметры (L_B, M_B, K_{плотB}) в двух группах существенно не изменились. Индекс затухания до лечения в этой подгруппе был наиболее высоким, а после десятидневного курса энтеросорбции он значительно снизился (P < 0,01) (табл. 3). В контрольной группе существенного снижения индекса затухания ультразвуковых колебаний после десятидневного курса традиционной гепатотропной терапии не наблюдалось (P > 0,05).

Показатель индекса затухания до лечения был наиболее низким у больных сахарным диабетом 1 типа, которые с самого начала заболевания находились на инсулинотерапии. Наиболее высокий уровень этого показателя зафиксирован у больных сахарным диабетом 2 типа, которые получали пероральные

Таблица 3. Динамика эходенситометрических показателей под влиянием Силикса у больных сахарным диабетом 2 типа, получавших пероральные сахароснижающие препараты

Показатели ЭДМ	Основная группа (n=31)			Контрольная группа (n=25)			Здоровые (n=32)
	До лечения	После	P	До лечения	После	P ₁	
L _A	25,97±0,93	14,26±0,64	<0,01	24,12±0,67	18,72±0,83	<0,01	11,89±2,96
M _A	41,94±1,42	44,55±1,59	>0,05	42,48±1,10	46,40±0,81	<0,01	53,33±5,63
K _{плотA}	3,13±0,19	1,73±0,07	<0,01	2,85±0,06	2,44±0,12	<0,01	0,90±0,19
L _B	10,23±0,80	9,42±0,24	>0,05	12,00±0,58	11,68±0,84	>0,05	12,22±3,18
M _B	28,55±1,29	27,68±0,51	>0,05	27,16±0,54	27,76±0,58	>0,05	31,78±3,12
K _{плотB}	0,80±0,07	0,73±0,02	>0,05	0,91±0,05	0,88±0,06	>0,05	0,55±0,10
I _{зат}	75,78±1,29	56,30±1,73	<0,01	67,92±1,61	63,35±1,86	>0,05	42,76±5,97

сахароснижающие препараты и никогда не лечились инсулином. Это может свидетельствовать о более выраженных изменениях в печени у больных сахарным диабетом, которые получали пероральные сахароснижающие препараты.

Выводы

1. До лечения Силиксом наиболее низкий уровень индекса затухания ультразвуковой волны наблюдался у больных сахарным диабетом 1 типа, которые постоянно находились на инсулинотерапии. Наиболее высокий его уровень зафиксирован у больных сахарным диабетом 2 типа, получавших пероральные сахароснижающие препараты, что свидетельствует о наличии у них выраженных признаков жировой дистрофии печени.

2. Энтеросорбент Силикс обладает гепатопротекторным действием и является наиболее безопасным и эффективным методом лечения и предупреждения прогрессирования стеатоза печени у больных сахарным диабетом по сравнению с традиционной терапией гепатопротекторами.

Литература

1. Keith G., Tolman M.D. Narrative review: Hepatobiliary disease in type 2 diabetes mellitus // American College of Physician. 2004, 141, N 12, 946-959.
2. Медведь В.И. Грицай И.М. Диабетическая гепатопатия // Сучасна гастроентерологія. 2004, 15, № 1, 95-99.
3. Пасиешвили Л.М., Бобро Л.Н. Варианты поражения гепатобилиарной системы у больных сахарным диабетом // Врачебная практика. 2002, № 1, 36-38.
4. Крылов А.А. К проблеме сочетаемости заболеваний // Клиническая медицина. 2000, № 1, 56-58.
5. Подымова С.Д. Болезни печени. М.: Медицина, 1994. 554 с.
6. Шерлюк Ш. Заболевания печени и желчных путей. Пер. с англ. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. 859 с.
7. Бацков С.С. Болезни печени в практике врача-терапевта амбулаторно-поликлинического звена. СПб, 1999. 120 с.
8. Митьков В.В. Допплерография в диагностике заболеваний печени, желчных путей, поджелудочной железы и их сосудов. М.: Издат. дом Видар, 2000, 23-129.
9. Патент Российской Федерации «Способ диагностики диффузного жирового гепатоза» // 20.03.2000, (19) RU (11) 2204327 (13) C2 (51) 7 A 61 B 8/00.

Вплив ентеросорбенту Силікс на перебіг стеатозу печінки у хворих на цукровий діабет під контролем еходенситометрії печінки

Садік А.І. Джарадат

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

У статті наведені результати впливу ентеросорбенту Силікс на перебіг стеатозу печінки у хворих на цукровий діабет (ЦД). Під спостереженням знаходилось 113 хворих зі стеатозом печінки на тлі цукрового діабету (36 хворих на ЦД 1 типу, 46 хворих на ЦД 2 типу – на інсулінотерапії, 31 хворий на цукровий діабет 2 типу, що отримували цукрознижувальні препарати) та 25 пацієнтів контрольної групи. Всім хворим до та після лікування проводилась еходенситометрія печінки. Встановлено, що на тлі десятиденного курсу ентеросорбції Силіксом знизився індекс затухання ультразвукових коливань, зменшились ознаки жирової дистрофії печінки, покращились її ехоструктура та функція. Ніяких побічних ефектів при застосуванні препарату Силікс не виявлено.

Ключові слова: ентеросорбент, Силікс, стеатоз, еходенситометрія.

The role of adsorbent Silicks in the treatment of diabetic steatosis under control of echodensitometry of the liver

Sadeq A.I. Jaradat

O.O.Bogomolets National Medical University, Kyiv, 01601, Ukraine

The results presented in the article show that adsorbent Silicks is an efficient and good tolerable drug used for the treatment of diabetic steatosis. We examined 113 diabetic patients with hepatic steatosis which make the mean group (36 patients with diabetes mellitus type 1, 46 patients with diabetes mellitus type 2 (insulinotherapy), 31 patients with diabetes mellitus type 2 (antidiabetic drugs), and 25 patients formed a control group. Liver's echodensitometry was performed all patients before and after 10-days of therapy by Silicks. It has been determined that on the background of receiving the medicine index of intensity were reduced, which leads to disappearance of signs of steatosis, improvement of liver's echostructure and function. There is no side effects during the course of treatment.

Key words: adsorbent, Silicks, steatosis, echodensitometry.

(Надійшла 19.02.2007; надійшла в остаточній формі 6.09.2007)

ВПЛИВ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КЛІТИННИХ КУЛЬТУР НА ОСНОВНІ ПОКАЗНИКИ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

В.М. Єльський, І.І. Зінкович, О.В. Селезньова

*Донецький державний медичний університет ім. М. Горького,
м. Донецьк, 83003, Україна*

Методи трансплантації клітинних культур розглядаються як перспективні у лікуванні цукрового діабету. Багато авторів показали їх ефективність у експерименті і клініці, однак механізми їхньої дії ще не є повністю розкритими. Метою дослідження було встановлення впливу трансплантації клітинних культур – ксеногенних ендокринних клітин підшлункової залози (ПШЗ) і алогенних стовбурових гемопоетичних клітин – на основні показники вуглеводного обміну у щурів з експериментальним алоксановим діабетом та аналіз взаємозв'язку цих показників із даними морфологічного і морфометричного дослідження тканини ПШЗ. Показано, що дворазова трансплантація культури клітин підшлункової залози призводить до зниження рівня глюкози в 1,6 рази і підвищення рівня інсуліну в 11 разів у порівнянні з тваринами, яким не робили трансплантації. Трансплантація культури стовбурових клітин призводить до зменшення глікемії в 1,7 рази і підвищення рівня інсуліну в 16 разів. Ґрунтуючись на отриманих даних і узагальнюючи вивчені джерела літератури, автори навели свої припущення щодо механізму позитивного впливу трансплантаційних методів лікування на перебіг експериментального цукрового діабету.

Ключові слова: цукровий діабет, трансплантація, культура острівцевих клітин підшлункової залози, гемопоетичні стовбурові клітини, інсулін, глюкоза, морфометрія.

Цукровий діабет є захворюванням, що вражає всі органи й системи організму. В основі патогенезу цукрового діабету 1 типу лежить недостатня продукція інсуліну в ендокринній частині підшлункової залози.

Протягом декількох останніх років з'явилося чимало експериментальних та клінічних досліджень, у яких показано, що трансплантація клітинних культур, що містять бета-клітини, є новим ефективним методом зниження тяжкості перебігу цукрового діабету [1-3]. Проте дані методи мають той же недолік, що й інші трансплантаційні методи – імунну деструкцію трансплантату. Також показана ефективність трансплантації стовбурових клітин [4, 5]. Однак багато дослідників відзначають, що ефект від трансплантації клітинних культур триває набагато довше, ніж зберігається життєздатність трансплантата. Ця знахідка наводить на думку, що трансплантація клітинних культур не тільки зменшує дефіцит β -клітин, а й призводить до структурно-функціональних змін у підшлунковій залозі реципієнта, що частково поліпшує клінічний перебіг захворювання.

Метою даного дослідження було встановлення впливу трансплантації клітинних культур (ксеногенних ендокринних клітин підшлункової залози

* Адреса для листування (Correspondence): Донецький державний медичний університет ім. М. Горького, просп. Ілліча, 16, м. Донецьк, 83000, Україна

і алогенних стовбурових гемопоетичних клітин) на основні показники вуглеводного обміну у щурів з експериментальним алоксановим діабетом та аналіз взаємозв'язку цих показників із даними морфологічного і морфометричного дослідження тканини підшлункової залози.

Матеріали і методи

Експеримент проводили на 85 лабораторних білих щурах-самцях. Середня вага тварин перед початком експерименту становила $235,4 \pm 24,5$ г, вік – 12-14 міс. Контрольну групу склали 10 тварин, які утримувалися за тих же умов, що й тварини експериментальних груп.

Цукровий діабет моделювали на 75 тваринах (всі відносні величини розраховували від цієї кількості тварин) шляхом внутрішньочеревного введення водного розчину алоксану в дозі 200 мг/кг. Розчин тетрагідрату алоксану («Fluka», Німеччина) готували безпосередньо перед введенням шляхом розчинення його у стерильній дистильованій воді. Стерильності розчину домагалися шляхом фільтрації його через мембрану Millex-GV з фільтром 0,22 мкм («Millipore», Франція).

Після введення алоксану 3 (4,0 %) тварини загинуло в строки від 3 до 4 доби. На 30 добу після розвитку у щурів цукрового діабету для подальшого експерименту було відібрано 65 щурів із середньою тяжкістю цукрового діабету (з рівнем глюкози крові натще від 8 до 16 ммоль/л). З них 3 тварини виведені з експерименту для одержання даних про зміни у структурі підшлункової залози (ПШЗ) перед трансплантацією (контроль моделі). Тварини були поділені на 4 експериментальні групи. Тваринам 1 групи (14 щурів) трансплантацію клітинних культур не проводили, на 30 добу експерименту їм внутрішньочеревно вводили 1 мл стерильного фізіологічного розчину. Тваринам 2 групи (24 щури) на 30 добу вводили внутрішньочеревно культуру острівцевих клітин ПШЗ. На 38 добу експерименту 12 тваринам цієї групи повторно ввели аналогічну культуру (група 2Б); тварини, що залишилися, склали групу 2А. Тваринам 3 групи (12 щурів) на 30 добу експерименту вводили внутрішньочеревно зруйновану шляхом дворазового циклу заморожування-розморожування культуру острівцевих клітин ПШЗ. Тваринам 4 групи (12 щурів) на 30 добу одноразово внутрішньочеревно вводили культуру гемопоетичних стовбурових клітин. Для отримання проміжних морфометричних результатів на 45 добу експерименту по 3 тварини з кожної групи виводили з експерименту. Всі інші тварини були виведені з експерименту на 70 добу. В усі терміни тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під загальною анестезією кетаміном в дозі 75 мг/кг. При постановці експерименту ми керувалися «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухваленими Першим національним конгресом з біоетики 20 вересня 2001 р., Київ, Україна.

Культури алогенних гемопоетичних стовбурових клітин і ксеногенних кролячих ендокринних клітин підшлункової залози були отримані у Лабораторії клітинного та тканинного культивування Інституту невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака АМН України (завідувач лабораторії – д.м.н., доц. А.Г. Попандопуло). Лабораторія створена у спеціально збудованому приміщенні і відповідає найвибагливішим стандартам щодо стерильності і чистоти повітря. Стисло процес отримання клітинних культур описаний далі.

Для приготування культури алогенних гемопоетичних стовбурових клітин плоди щурів 14 днів гестації отримували у вагітних самок шляхом гистеректомії під загальною анестезією у стерильних умовах. Вилучену матку поміщали у розчин консерванту з антибіотиками – середовище Ігла (Інститут поліомієліту і вірусних енцефалітів, Росія) з пеніциліном і стрептоміцином – та терміново передавали до Лабораторії клітинного і тканинного культивування. Приготування клітинних суспензій здійснювалося згідно з загальноприйнятою технологією, яка включала наступні етапи: вилучення ембріонів, вилучення з них ембріональної печінки, механічну дезагрегацію та фільтрацію через декілька фільтрів з мінімальним розміром пор у 0,45 мкм, лізис

еритроцитів за допомогою лізуючого буферу BD PharmLyse («BD Biosciences Pharmingen», США).

Суспензію гомогенізованої ембріональної печінки висівали у пластикові культуральні флакони («Nunc», Данія), що містили поживне ростове середовище Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Nutrient Mixture F-12 Ham (DMEM/F12) («Sigma», США) із 10 % ембріональною телячою сироваткою («Биолот», Росія), через 1 год культивування при 37 °С надосадову рідину із клітинами, що не прикріпилися до культурального флакону, зливали. Таким чином, клітинна суспензія очищувалася від субстрат-залежних клітин, які прикріпилися на дні культурального флакону, тобто, від епітеліальних, стромальних і мезенхімальних стовбурових клітин та інших негемопоетичних клітин. Гемопоетична популяція клітин ембріональної печінки залишалася у надосадовій рідині через свої неадгезивні (субстрат-незалежні) властивості. Отриману суспензію гемопоетичних клітин розділяли на порції об'ємом 0,3 мл і терміново вводили щурам-реципієнтам.

Тестування вмісту стовбурових клітин у клітинній суспензії робили в одній із порцій (0,3 мл). Для виявлення гемопоетичних стовбурових клітин використовували імунотипсування клітин на проточному цитометрі FACSCalibur («Becton Dickinson», США) з визначенням загальної кількості ядровмісних клітин на одиницю об'єму та відносної кількості клітин із фенотипом CD90(Thy-1.1)+/CD3-/CD45RC-, тобто клітин, які несуть маркер стовбурових і ранніх прогеніторних клітин і які не мають маркерів диференціювання Т- та В-клітин. За свідченням багатьох авторів [6-8], саме ця популяція клітин щурів містить велику кількість стовбурових гемопоетичних клітин. Для імунофарбування клітин перед цитометрією використовували моноклональні антитіла до антигену CD90(Thy-1.1) (клон ОХ-7, флуоресцентна мітка – ізотіоціанат флуоресцину (FITC)), антигену CD3 (клон G4.18, флуоресцентна мітка – фікоеритрин (PE)), антигену CD45RC (клон ОХ-22, флуоресцентна мітка PE). Усі антитіла фірми «BD Pharmingen», США. Встановлено, що клітинна суспензія ембріональної печінки містила 61 млн клітин з ядром на 1 мл та 0,27 % CD90+/CD3-/CD45RC-клітин, тобто в одній трансплантаційній порції містилося біля 50 тис. CD90+/CD3-/CD45RC-клітин.

Культуру острівцевих клітин новонародженого кроля отримували за наступною схемою. У стерильній операційній новонародженому кролю під внутрішньовенним кетамін-ксилазіновим наркозом робили лапаротомію, мобілізували підшлункову залозу, проколювали її головну протоку інсуліновим шприцом і вводили 0,25 % розчин трипсину. Після цього залозу негайно вилучали із організму тварини і поміщали у стерильний розчин середовища Ігла із антибіотиками, з тим терміново передавали для подальшої обробки у Лабораторію клітинного та тканинного культивування.

У лабораторії попередньо трипсинізовану підшлункову залозу механічно розділяли на фрагменти розміром 1 мм³ і піддавали тепловій трипсинізації при температурі 37 °С упродовж 5 хв у 0,25 % розчині трипсину («Sigma», США). Дію трипсину зупиняли додаванням 5 % бичачої сироватки («Биолот», Росія). Ферментативно дезагреговану клітинну суспензію центрифугували при 800 об./хв протягом 6 хв. Після видалення супернатанту у клітинний осад додавали поживне середовище Ігла. Життєздатність клітин перевіряли у камері Горяєва після попереднього додавання трипанового синього. Одномоментно проводили підрахунок життєздатних клітин. Концентрація життєздатних клітин в 1 мл суспензії становила 2,5 млн. Далі первинну суспензію розводили та розділяли на порції по 0,3 мл, кожна з яких містила 50 тис. клітин. Культуру терміново вводили щурам-реципієнтам.

Для визначення відносного вмісту інсулін-позитивних клітин 100 мкл клітинної суспензії наносили на 2 предметних скельця за допомогою центрифуги MPW-350R («Rose Scientific», США) із циторотором у режимі 500 об./хв протягом 10 хв при охолодженні до 4 °С. Отриманий таким методом мазок висушували при кімнатній температурі протягом 3 год, фіксували клітини протягом 1 хв у суміші ацетону-метанолу (1:1). Імуноцитохімічне фарбування виконували за допомогою поліклональних антитіл до інсуліну і глюкагону («ДАКО», Данія) із візуалізацією антитіл за допомогою

стрептавідин-біотинного методу (набір LSAB2 для щурів, «DAKO», Данія), в якому DAB використовується у якості хромогену. Після фотографування на мікроскопі Olympus AX70 у програмі AnalySIS 3.1 виконували підрахунок відносної кількості інсулін- і глюкагон-позитивних клітин. Встановлено, що культура острівцевих клітин підшлункової залози містила 73,7 % бета-клітин, 20,6 % – альфа-клітин і 5,7 % – інших клітин.

Визначення рівня глюкози в крові у щурів, яких вивели з експерименту, здійснювали за допомогою глюкозо-оксидазно-пероксидазного методу (набір фірми PLIVA-Lachema, Чеська Республіка) на напівавтоматичному аналізаторі Eppendorf EPAC 6140 (Німеччина). Прижиттєве визначення глюкози в капілярній крові проводили за допомогою тест-смужок із набору Reflotron-Glucose з подальшим вимірюванням результатів на напівавтоматичному біохімічному експрес-аналізаторі Reflotron Plus («Roche Diagnostics», Швейцарія). Рівень інсуліну визначали імуоферментним методом за допомогою набору Rat Insulin ELISA (фірма «DRG», Німеччина) із застосуванням планшетного рідеру Multiskan Ascent (фірма «Thermo LabSystems», США).

Методика виконання морфологічних досліджень і визначення морфометричних даних була детально викладена у попередніх статтях [9]. На препаратах, пофарбованих гематоксиліном і еозином, визначали питомий об'єм острівцевої тканини, а на препаратах, пофарбованих за імуногістохімічними методиками із використанням поліклональних антитіл до інсуліну і глюкагону, визначали кількість інсулін- і глюкагон-позитивних клітин в острівцях, вираховували їх співвідношення і питому кількість на одиницю площі.

Статистичну обробку проводили за допомогою програми статистичного аналізу Primer of Biostatistics 4.03 (США). Усі дані представлені у статті як середні значення \pm середньоквадратичне відхилення ($M \pm \sigma$). Розбіжності між групами розраховували із використанням непараметричного критерію Крускала-Уолліса. Кореляційний аналіз виконували із застосуванням коефіцієнта рангової кореляції Спірмена.

Результати та їх обговорення

Введення алоксану призводить до масової загибелі бета-клітин підшлункової залози. Алоксан і продукт його відновлення діалурова кислота вступають у редокс-цикл із утворенням супероксид-радикалів. Ці радикали піддаються дисмутації в перекис водню, потім за реакцією Фентона утворюються високореактивні гідроксил-радикали. Дія активних сполук кисню з одночасним збільшенням внутрішньоклітинної концентрації кальцію обумовлює швидку загибель бета-клітин через некроз або активацію механізму апоптозу клітин. У перші 2-4 год після введення алоксан блокує вивільнення інсуліну з клітин, що призводить до підвищення рівня глюкози в крові. Після цього починається друга фаза алоксанового токсикозу – з бета-клітин, що гинуть, вивільняється велика кількість інсуліну, що спричиняє важку гіпоглікемію. Цей період триває 16-24 год. При дослідженні рівня глюкози через 24 год після введення алоксану ми спостерігали різке зниження її концентрації – в 2,7 рази ($P < 0,001$) (табл.1). Оскільки інсулін руйнується в крові досить швидко, то вже через 30 год розвивається виражена інсулінова недостатність, що призводить до підвищення рівня глюкози. Так, на 3 добу рівень глюкози крові був у 2,7 рази вищим, ніж до експерименту, на 7 добу – вищим у 2,8 рази, на 14 і 30 добу – у 2,9 рази. Середні рівні глюкози на 7, 14 і 30 добу відрізняються між собою невірогідно ($P > 0,05$).

Оскільки, за даними літератури, загальнотоксична дія алоксану триває не більше 30 діб, то трансплантацію клітинних культур виконували після цього строку. На 30 добу експерименту (перед трансплантацією) відзначалась вкрай низька концентрація інсуліну в крові – $0,02 \pm 0,01$ мкг/л (в 51,5 рази нижча, ніж у тварин контрольної групи, $P < 0,05$) і висока концентрація

Таблиця 1. Рівень глюкози в крові тварин із алоксановим діабетом до трансплантації (M±σ)

Показники	До початку експерименту	Алоксановий діабет				
		24 год	3 доба	7 доба	14 доба	30 доба
Кількість тварин	75	75	75	72	72	72
Рівень глюкози, ммоль/л	4,34±0,56	1,59±0,56	10,94±6,12	11,99±2,71	12,73±2,86	12,52±3,02

Примітка: всі показники вірогідно відрізняються від норми (P<0,001).

глюкози – 13,94 ммоль/л (в 3,2 рази вища у порівнянні з контролем, P<0,05). Причиною цих змін було різке зменшення питомого об'єму острівцевої тканини (у 9,3 рази, P<0,05) і середньої кількості інсулін-позитивних клітин на 1 мм² (у 20 разів, P<0,05).

У тварин, що не одержували ніякого лікування (1 група), спостерігали поступове зниження рівня глікемії (табл. 2), і на 70 добу експерименту рівень глюкози був в 1,4 рази нижчим (P<0,05), ніж на 30 добу експерименту, але в 2,2 рази вищим (P<0,001), ніж в контрольній групі. Рівень інсуліну був у 26 разів нижчим (P<0,001), чим у інтактних тварин, але в 2,0 рази вищим, ніж на 30 добу експерименту, хоча різниця між останніми показниками була не-

Таблиця 2. Показники рівня глюкози крові у тварин різних експериментальних груп після трансплантації (M±σ)

Група тканин	Рівень глюкози крові (ммоль/л) після трансплантації					
	31 доба	34 доба	39 доба	45 доба	57 доба	70 доба
Контрольна (інтактні тварини)	4,48±0,62	4,63±0,49	4,58±0,78	4,38±0,63	4,44±0,67	4,31±0,48
1 група	12,46±1,57	12,27±1,64	11,80±1,52	11,16±1,04	10,07±1,57	9,68±1,23
2А група	8,38±1,53	9,18±1,05	9,26±0,79	7,93±1,12	7,47±1,14	6,65±0,61
2Б група			6,99±1,68	7,40±1,19	6,87±0,75	6,14±1,11
3 група	9,22±1,74	11,24±2,08	9,87±1,09	8,60±1,65	7,66±1,31	7,68±1,78
4 група	12,48±1,69	12,06±1,28	10,92±1,03	9,78±1,13	7,44±1,02	5,82±0,80

суттєвою (P>0,05). Таким чином, у тварин, що не одержували лікування, відзначалось деяке підвищення синтезу інсуліну, що призводило до зниження рівня глікемії. Збільшення синтезу інсуліну корелювало зі збільшенням (в 1,9 рази, P<0,05) кількості клітин, що синтезують інсулін (ІСК) в острівцях ПШЗ на одиницю площі (табл. 3).

У тварин 2А групи, яким зробили одноразову трансплантацію культури клітин ПШЗ, через добу після введення спостерігали різке падіння глікемії в 1,5 рази (P<0,001), потім до 39 доби рівень глікемії дещо підвищувався, а у подальшому – знижувався; на 70 добу експерименту рівень глікемії був в 1,9 рази (P<0,001) нижчим, ніж до трансплантації. При порівнянні отриманих даних із 1 групою тварин (див. табл. 3) встановлено, що рівень глюкози був в 1,5 рази нижчим (P<0,001), а рівень інсуліну – в 6 разів вищим (P<0,001). Ще більш виразними були зміни в тварин групи 2Б, яким зробили дворазову трансплантацію культури клітин ПШЗ. У тварин цієї групи після повторного введення культури через добу спостерігали падіння рівня глюкози в 1,5 рази (P<0,001) у порівнянні з даними на 34 добу. Потім рівень глікемії трохи зростав до 45 доби і в подальшому знижувався. На 70 добу він був в 2,0 рази (P<0,001) нижчим, ніж до трансплантації (див. табл. 1, 2). При порівнянні із 1 групою тварин рівень глюкози знизився в 1,6 рази (P<0,001), а рівень інсу-

Таблиця 3. Показники обміну вуглеводів і основні морфометричні показники ПШЗ у тварин різних експериментальних груп на 70 добу експерименту ($M \pm \sigma$)

Група тварин	Кількість тварин	Глюкоза, ммоль/л	Інсулін, мкг/л	Питомий об'єм острівцевої тканини	Середня кількість інсулін-позитивних клітин на 1 мм ²
Контрольна (інтактні тварини)	10	4,31±0,48	1,03±0,25	0,93±0,10	69,03±8,50
1 група	9	9,68±1,23	0,04±0,02	6,41±0,66	0,11±0,02
2А група	8	6,65±0,61 [#]	0,24±0,08 ^{##}	11,06±2,55 ^{##}	0,28±0,05 ^{##}
2Б група	9	6,14±1,11 [#]	0,43±0,09 ^{##}	26,02±2,29 ^{##}	0,36±0,03 ^{##}
3 група	8	7,68±1,78 [#]	0,14±0,05 ^{##}	7,50±1,25 [#]	0,17±0,03 ^{##}
4 група	9	5,82±0,80 [#]	0,63±0,14 ^{##&}	39,90±7,79 ^{##&&}	0,55±0,10 ^{##&&}

Примітки:

1. Відмінності всіх показників в усіх експериментальних групах із відповідними показниками інтактних тварин вірогідні ($P < 0,001$).
2. Вірогідність відмінностей показників із 1 групою тварин: # – $P < 0,05$, ## – $P < 0,001$.
3. Вірогідність відмінностей показників між групами 2Б і 4: & – $P < 0,01$, && – $P < 0,001$.

ліну підвищився в 11 разів ($P < 0,001$). Дані зміни пов'язані зі збільшенням кількості ІСК у ПШЗ в 1,7 ($P < 0,001$) і 4,1 ($P < 0,001$) рази в групах 2А і 2Б, відповідно, у порівнянні із тваринами 1 групи.

Після виконання одноклонової трансплантації зруйнованої культури клітин ПШЗ через добу рівень глікемії знизився в 1,4 рази ($P < 0,001$) у порівнянні з 1 групою, однак ще через 3 доби рівень глюкози підвищився й був нижче показників 1 групи всього в 1,1 рази ($P > 0,05$). У наступні терміни спостерігали зниження глікемії, причому відмінності від 1 групи були вірогідними; до 70 доби спостерігали зниження рівня глікемії в 1,3 рази ($P < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою тварин. При цьому рівень інсуліну підвищувався в 3 рази ($P < 0,001$) у порівнянні з 1 групою (див. табл. 3). Наведені дані свідчать про те, що навіть одноразове введення зруйнованої культури острівцевих клітин ПШЗ призводить до збільшення рівня інсуліну в крові й прискорення регенерації бета-клітин у ПШЗ. Підтвердженням цього факту є збільшення питомого об'єму острівцевої тканини в 1,5 рази ($P < 0,001$) і кількості ІСК на одиницю площі залози в 1,2 рази ($P < 0,05$) у порівнянні з 1 групою.

Трансплантація культури стовбурових клітин (4 група) призвела до поступового зниження рівня глікемії (див. табл. 3), на 70 добу рівень глюкози був найменшим серед всіх груп при найбільшому зростанні рівня інсуліну в крові. Так, рівень глюкози зменшився в 1,7 рази ($P < 0,001$), у порівнянні з 1 групою, а рівень інсуліну підвищився у 16 ($P < 0,001$) разів. Таке помітне поліпшення показників глюкози й інсуліну пов'язане зі значним прискоренням регенерації клітин підшлункової залози, що проявилось збільшенням питомого об'єму острівцевої тканини в 5 разів ($P < 0,001$) і кількості ІСК на одиницю площі залози – в 6 разів ($P < 0,001$) у порівнянні з 1 групою. При зіставленні із 2Б групою виявилось, що відмінності рівня глюкози були невірогідними ($P > 0,05$), але рівень інсуліну був значно вищим – в 1,5 рази ($P < 0,01$), до того ж і морфометричні показники були у 1,5 рази вищими ($P < 0,001$).

Аналіз результатів експерименту показав, що всі використані трансплантаційні методи лікування призводять до зниження глікемії й підвищення рівня інсуліну.

Ми вирішили проаналізувати зв'язок показників вуглеводного обміну з основним морфометричним показником стану ПШЗ – середньою кількістю ІСК на одиницю площі. Результати аналізу наведені в табл. 4. Встановлено, що коефіцієнт рангової кореляції Спірмена між рівнями інсуліну й глюкози у всіх групах був високим, статистично вірогідним і мав негативний знак. Ці дані підтверджують адекватність алоксанової моделі діабету, як моделі інсулін-залежного діабету. В усіх експериментальних групах підтверджена зворотна залежність рівня глюкози крові від рівня інсуліну. У той же час відзначено, що в інтактних тварин як рівень інсуліну, так і рівень глюкози крові не мали статистично значимого зв'язку із середньою кількістю ІСК на одиницю площі ПШЗ, тоді як у всіх експериментальних групах був чіткий зв'язок між зазначеними параметрами.

Таблиця 4. Результати кореляційного аналізу показників обміну вуглеводів і морфометричних показників ПШЗ у тварин різних експериментальних груп

Група тварин	Коефіцієнт кореляції Спірмена між:		
	рівнями глюкози та інсуліну	рівнем інсуліну та середньою кількістю острівцевих клітин ПШЗ, що синтезують інсулін	рівнем глюкози та середньою кількістю острівцевих клітин ПШЗ, що синтезують інсулін
Контрольна (інтактні тварини)	-0,852 P=0,003	0,585 P=0,073	-0,479 P=0,154
1 група	-0,725 P=0,027	0,733 P=0,027	-0,988 P=0,001
2А група	-0,881 P=0,007	0,899 P=0,004	-0,857 P=0,010
2Б група	-0,721 P=0,032	0,754 P=0,023	-0,954 P=0,001
3 група	-0,714 P=0,048	0,833 P=0,014	-0,881 P=0,007
4 група	-0,833 P=0,008	0,750 P=0,023	-0,717 P=0,032

Аналізуючи отримані дані, ми дійшли висновку, що за умов алоксанового діабету практично лінійний зв'язок між рівнем інсуліну й середньою кількістю ІСК на одиницю площі ПШЗ обумовлений тим, що всі наявні ІСК синтезують інсулін з максимально можливою швидкістю, тобто клітини працюють «на повну потужність». Показано, що бета-клітини за умов гіперглікемії можуть підсилювати секрецію інсуліну в 4-6 разів [10]. У нормі ж кількість бета-клітин є надлишковою, вони синтезують і викидають інсулін «у міру потреби» без перевантаження синтетичного апарату. У літературі є низка робіт, які показують, що підвищене навантаження на бета-клітини ПШЗ (постійна гіперглікемія на рівні 14 ммоль/л) призводить спочатку до підвищення синтезу інсуліну, а потім – до прогресивного його зниження, зменшення середньої тривалості життя цих клітин і прискорення їх загибелі шляхом апоптозу [11].

Грунтуючись на отриманих нами даних і узагальнюючи вивчені джерела літератури, ми висловлюємо наступні припущення щодо патогенетичного механізму позитивного впливу трансплантаційних методів лікування на перебіг експериментального цукрового діабету.

Отже, у результаті токсичного впливу алоксану відбувається швидка субтотальна загибель бета-клітин ПШЗ. Бета-клітини, що вижили, потрапляють у вкрай несприятливі умови гіперглікемії, токсичного впливу продуктів жирового обміну й перекисного окиснювання ліпідів [12]. Вірогідність того, що функці-

онально навантажені бета-клітини, що потерпають від впливу багатьох токсичних чинників, увійдуть в цикл ділення, є дуже низькою. Підтвердженням тому є дані нашого експерименту: у тварин, яким не робили трансплантації, кількість ІСК у період з 30 по 70 добу експерименту збільшилася всього в 1,9 рази, а рівень інсуліну крові – в 2 рази; відповідні показники були в 11 і 26 разів меншими, ніж у нормі. При трансплантації культури клітин ПШЗ протягом деякого періоду забезпечується зниження рівня глікемії й токсинемії, що зменшує навантаження на бета-клітини і сприяє підвищенню проліферативної активності збережених острівцевих клітин. Чим більше часу функціонує трансплантат, тим довше зберігаються сприятливі умови для регенерації клітин острівців ПШЗ. Тому в нашому експерименті спостерігалось зростання ефективності трансплантації в наступному порядку: трансплантація зруйнованої культури клітин, одноразова трансплантація культури клітин ПШЗ, дворазова трансплантація культури клітин ПШЗ. Крім того, що імплант частково виконує функції ушкодженого органа, він виділяє біологічно активні речовини, що можуть стимулювати репараційні процеси в ушкодженому органі. Відомо, що в екстрактах тканин є тканинносPECIFICІВНІ видонеспецифічні пептиди, роль яких реалізується в регуляції клітинного циклу, вони можуть сприяти репаративним процесам у відповідному органі [12, 13].

Механізм впливу трансплантації стовбурових клітин нам уявляється зовсім іншим. Стовбурові клітини мають підвищену здатність до міграції, легко проникають через бар'єри організму, у крові завжди можна виявити циркулюючі стовбурові клітини [5]. Вони мають здатність до специфічного хоумінгу в місця ушкодження тканин, де вони можуть переходити зі стану спокою до стану активної проліферації, а потім диференціюватися у функціонально активні клітини ушкодженої тканини [9, 14]. Клітини, що утворюються з алогенних стовбурових клітин, іноді утворюють з клітинами реципієнта химерні поліплоїдні клітини, які уникають руйнівній дії аутоімунітету [5]. Можливість диференціювання стовбурових клітин у бета-клітини ПШЗ на даний момент ще залишається предметом дискусії. Показано, що за допомогою спрямованого диференціювання культур стовбурових клітин можна одержати ІСК, однак вони дещо відрізняються від бета-клітин ПШЗ, зокрема, вони не реагують адекватно на рівень глікемії [14]. Але недоведеність диференціювання стовбурових клітин у бета-клітини ПШЗ *in vitro* не виключає таку можливість *in vivo* [15, 16], оскільки культуральні методи на сьогоднішній день не є досконалими через неможливість відтворення міжклітинної взаємодії із клітинами мікрооточення.

Крім того, стовбурові клітини впливають на регенерацію інших тканин шляхом викиду безлічі стимулюючих чинників (цитокінів, факторів росту, інтегринів, молекул адгезії й т. і.), які локально пригнічують імунну систему, інгібують апоптоз і колагеноутворення (формування рубця), прискорюють васкуляризацію, ділення і диференціювання клітин [4, 5, 17]. Даний вплив називають трофічним ефектом стовбурових клітин.

Підтримка нормальної кількості бета-клітин в острівцях відбувається за рахунок ділення вже наявних бета-клітин [18]. Клітини ендокринної частини підшлункової залози мають малу регенераторну здатність. Знижена потенційна здатність до ділення пов'язана з тим, що в бета-клітинах теломіри хромосом з кожним діленням коротшають значно більше, ніж в інших клітинах [19]. Наприклад, фібробласти здатні ділитися до 60 разів, після чого вони переходять у стан «доживання», у той час як бета-клітини переходять у цей стан уже після 15 ділень. Проте перехід у даний стан спостерігається ще при досить великій довжині теломерів, тому клітина може ще кілька разів поділитися під дією сильних мітогенних чинників [20]. Такі чинники експресують стовбурові клітини.

Камбіальні протокові клітини також розглядаються як можливі джерела регенерації острівцевої тканини, оскільки вони мають обмежену здатність формувати острівцеподібні структури, що містять ІСК [21, 22]. Даний процес є основним морфогенетичним механізмом формування острівців в ембріональному періоді [23], однак у постнатальному житті він значно інгібований. У дослідженні культур протокових клітин авторам вдалося одержати острівцеподібні клітини, що синтезували інсулін [24]. Стовбурові клітини експресують мітогенні чинники, що стимулюють розмноження камбіальних клітин у багатьох тканинах [5], а М. Lipsett і D. Finegood [21] показали, що за умов гіперглікемії спостерігається прискорення проліферації клітин протоків, які здатні формувати локальні випинання протокових клітин («бруньки»), що потім можуть відшнуровуватися від протоки, а клітини здобувають здатність синтезувати інсулін.

Позитивний ефект трансплантації стовбурових клітин у нашому експерименті обумовлений трофічним ефектом стовбурових клітин, а також, можливо, диференціюванням трансплантованих клітин у такі, що синтезують інсулін.

Висновки

1. Трансплантації культур клітин підшлункової залози і стовбурових гемопоетичних клітин тваринам з алоксановим діабетом призводять до вірогідного зменшення рівня глікемії та підвищення рівня інсуліну у крові.

2. Дворазова трансплантація культури клітин підшлункової залози спричиняє зниження рівня глюкози в 1,6 рази і підвищення рівня інсуліну в 11 разів у порівнянні з тваринами, яким трансплантації не робили. Трансплантація культури стовбурових клітин призводить до зменшення глікемії у 1,7 разів і підвищення рівня інсуліну в 16 разів. При порівнянні ефективності цих методів встановлено, що на 70 добу експерименту при невірогідно меншому рівні глюкози крові рівень інсуліну був вірогідно вищим у 1,5 рази після трансплантації стовбурових клітин.

3. Трансплантація клітинних культур обумовляє регенерацію острівцевої тканини підшлункової залози, що відображається збільшенням питомого об'єму острівцевої тканини і середньої кількості інсулін-позитивних клітин на 1 мм². Причому трансплантація стовбурових клітин має найбільший вплив на зазначені показники: питомий об'єм острівцевої тканини збільшується у 5 разів, а середня кількість інсулін-позитивних клітин на 1 мм² – в 6 разів у порівнянні з тваринами, яким трансплантацію не робили.

Література

1. Алиев М.А., Исмагилов Р.З., Рысбеков М.М. и др. Трансплантация культур островковых клеток поджелудочной железы больным сахарным диабетом // Трансплантология. 2000, 1, № 1, 147-151.
2. Ковальська І.О. Цукровий діабет та трансплантація // Трансплантологія. 2000, 1, № 1, 140-142.
3. Baertschiger R.M., Morel P., Berney T. Islets of Langerhans or pancreas transplantation in the treatment of type 1 diabetes // Rev. Med. Suisse. 2006, 31, N 2, 1462-1466.
4. Bhatia R., Hare J.M. Mesenchymal stem cells: future source for reparative medicine // Congest. Heart Fail. 2005, 11, 87-91.
5. Caplan A.I., Dennis J.E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators // J. Cell Biochem. 2006, 98, 1076-1084.
6. Castagnola C., Visser J., Boersma W., van Bekkum D.W. Purification of rat pluripo-

- tent hemopoietic stem cells // *Stem Cells*. 1982, 1, N 4-5, 250-260.
7. McCarthy K.F., Hale M.L., Fehnel P.L. Purification and analysis of rat hematopoietic stem cells by flow cytometry // *Cytometry*. 1987, 8, N 3, 296-305.
 8. Zhan Y., Wang Y., Wei L. et al. Differentiation of hematopoietic stem cells into hepatocytes in liver fibrosis in rats // *Transplant. Proc.* 2006, 38, 3082-3085.
 9. Сльський В.М., Селезньова О.В., Зінкович І.І. Вплив трансплантації клітинних культур на стан острівкового апарата пацієнтів з експериментальним цукровим діабетом // *Патологія*. 2006, 3, № 2, 43-49.
 10. Topp B.G., MacArthur M.D., Finegood D.T. Metabolic adaptations to chronic glucose infusion in rats // *Diabetologia*. 2004, 47, 1602-1610.
 11. Federici M., Hribal M. Perego L. High glucose causes apoptosis in cultured human pancreatic islets of Langerhans. A potential role for regulation of specific bcl family genes toward an apoptotic cell death program // *Diabetes*. 2001, 50, 1290-1301.
 12. Гальченко С.Є., Белочкіна І.В., Мамонтова А.В. та ін. Вплив препаратів із ксеногенної підшлункової залози на рівень глікемії і вільнорадикальні процеси у щурів з експериментальним цукровим діабетом // *Медична хімія*. 2004, 6, № 4, 63-67.
 13. Дроздович І.І., Турчин І.С., Ларін О.С. Деякі аспекти дії ксенотрансплантата // *Трансплантологія*. 2003, 4, № 1, 81-83.
 14. Graf Th. Differentiation plasticity of hematopoietic cells // *Blood*. 2002, 99, N 9, 3089-3101.
 15. León-Quinto T., Jones J., Skoudy A. In vitro directed differentiation of mouse embryonic stem cells into insulin-producing cells // *Diabetologia*. 2004, 47, 1442-1451.
 16. Sipione S., Eshpeter A., Lyon J.G. et al. Insulin expressing cells from differentiated embryonic stem cells are not beta cells // *Diabetologia*. 2004, 47, 499-508.
 17. Moriscot C., de Fraipont F., Richard M.J. et al. Human bone marrow mesenchymal stem cells can express insulin and key transcription factors of the endocrine pancreas developmental pathway upon genetic and/or microenvironmental manipulation in vitro // *Stem Cells*. 2005, 23, N 4, 594-603.
 18. Dor Y., Brown J., Martinez O.I., Melton D.A. Adult pancreatic b-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation // *Nature*. 2004, 429, 41-46.
 19. Halvorsen T.L., Beattie G.M., Lopez A.D. et al. Accelerated telomere shortening and senescence in human pancreatic islet cells stimulated to divide in vitro // *J. Endocrinol.* 2000, 166, N 1, 103-109.
 20. Chatziantoniou V.D. Telomerase: biological function and potential role in cancer management // *Pathol. Oncol. Res.* 2001, 7, N 3, 161-170.
 21. Lipsett M., Finegood D. Beta-cell neogenesis during prolonged hyperglycemia in rats // *Diabetes*. 2002, 51, 1834-1841.
 22. Rooman I., Heremans Y., Heimberg H., Bouwens L. Modulation of rat pancreatic acinoductal transdifferentiation and expression of PDX-1 in vitro // *Diabetologia*. 2000, 43, 907-914.
 23. Bouwens L., de Blay E. Islet morphogenesis and stem cell markers in rat pancreas // *J. Histochem. Cytochem.* 1996, 44, N 9, 947-951.
 24. Bonner-Weir S., Taneja M., Weir G.C. et al. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000, 97, 7999-8004.

Влияние трансплантации клеточных культур на основные показатели углеводного обмена при экспериментальном сахарном диабете

В.Н. Ельский, И.И. Зинкович, Е.В. Селезнева

*Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького,
г. Донецк, 83003, Украина*

Методы трансплантации клеточных культур являются перспективными методами лечения сахарного диабета. Многими авторами показана их эффективность в эксперименте и клинике, однако механизм действия еще не полностью раскрыт. Целью данного исследования было изучение влияния трансплантации клеточных культур – ксеногенных эндокринных поджелудочной железы (ПЖЖ) и аллогенных стволовых гемопоэтических – на основные показатели углеводного обмена у крыс с аллоксановым диабетом и анализ взаимосвязи этих показателей с данными морфологического и морфометрического исследования ткани ПЖЖ. Показано, что двукратная трансплантация культуры клеток ПЖЖ приводит к снижению уровня глюкозы в 1,6 раза и повышению уровня инсулина в 11 раз по сравнению с животными, которым трансплантацию не выполняли. Трансплантация культуры стволовых клеток приводит к снижению гликемии в 1,7 раза и повышению уровня инсулина в 16 раз. Основываясь на полученных данных и обобщая изученные литературные данные, авторы высказывают возможные механизмы влияния использованных трансплантационных методов на течение сахарного диабета.

Ключевые слова: сахарный диабет, трансплантация, культура островковых клеток поджелудочной железы, гемопоэтические стволовые клетки, инсулин, глюкоза, морфометрия.

Influence of cell cultures transplantation on basic indices of carbohydrate metabolism in experimental diabetes mellitus

V.M. Yelskiy, I.I. Zinkovych, O.V. Seleznyova

M. Gorky Donetsk State Medical University, Donetsk, 83003, Ukraine

Methods of cell cultures transplantation are the most perspective methods of diabetes mellitus treatment. Numerous authors showed their efficacy in experimental and clinical trials, but the mechanisms of their action are not clear. The aim of a given research was to reveal the influence of cell culture transplantation (xenogenic endocrine cells of pancreas and allogenic hematopoietic stem cells) on basic indices of carbohydrate metabolism in rats with alloxan diabetes mellitus and to analyze the relations of these indices with morphological and morphometrical indices of pancreas. It was shown that double transplantation of pancreatic endocrine cell culture leads to a 1,6-fold decrease in glucose level and 11-fold rise in insulin level compared with out-of-transplantation animals. Transplantation of stem cell culture leads to a 1,7-fold decrease in glycemia and 16-fold rise in insulin level. Based on the data obtained and reviewed literature, the authors expressed their own point of view concerning possible mechanisms of positive influence of transplantation on the course of diabetes mellitus.

Key words: diabetes mellitus, transplantation, pancreatic islet cells, stem cells, insulin, glucose, morphometry.

(Надійшла 23.05.2007; надійшла в остаточній формі 4.09.2007)

КОРЕКЦІЯ ЗА ДОПОМОГОЮ ІНУЛІНУ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ І ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ

Ю.В. Цісельський*, А.П. Левицький¹

Обласна клінічна лікарня, м. Одеса, 65025; ¹Інститут стоматології
АМН України, м. Одеса, 65026; Україна

У щурів відтворювали протаміновий цукровий діабет 2 типу за методом Ульянова і Тарасова. Встановлено, що при цьому розвивається тривала гіперглікемія, активується перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), яке визначалось за вмістом малонового діальдегіду у сироватці крові і в печінці, а також пригнічувалась активність фізіологічної антиоксидантної системи (ФАС), що оцінювалась за активністю каталази. Введення з кормом інуліну з цикорію в дозі 800 мг/кг нормалізувало глікемію, однак не завжди впливало на ПОЛ і ФАС.

Ключові слова: експериментальний цукровий діабет 2 типу, інулін, глікемія, перекисне окиснення ліпідів, каталаза.

Серед людей найбільш поширеною формою цукрового діабету (ЦД) є інсулінорезистентна (ЦД 2 типу), що охоплює майже 90 % усіх хворих з цією патологією [1, 2]. Однак в експерименті, як правило, відтворюють інсулінозалежну форму (ЦД 1 типу) за допомогою алоксану [3, 4] або стрептозотоцину [5].

Метою нашої роботи стало відтворення ЦД 2 типу за допомогою антидоту гепарину протаміну, що призводить до тривалої гіперглікемії, інсулінорезистентності і зниження толерантності до глюкози [6], тобто ініціює розвиток ЦД 2 типу (ЦД2).

В той же час відомо, що в патогенезі ЦД і, особливо його ускладнень, значну роль відіграє активація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та пригнічення фізіологічних антиоксидантних систем (ФАС) [7, 8]. Не виключено, що і в патогенезі експериментального ЦД 2 типу (ЦД2) відбуваються суттєві зміни в системах ПОЛ і ФАС.

Можна вважати також доведеним, що певну роль у розвитку діабету відіграє стан дисбіозу (дисбактеріозу) [9, 10]. В наших роботах показано лікувально-профілактичну дію регулятора мікробіоценозу пребіотика інуліну як при експериментальному ЦД 1 типу [11], так і в клініці у хворих на ЦД з діабетичною ретинопатією [12].

Усе вищевказане обумовило план даного дослідження, що передбачало відтворення ЦД2 за допомогою протаміну [6], визначення глікемії, стану ПОЛ (за вмістом малонового діальдегіду, МДА) і ФАС (за активністю каталази), а також корекцію виявлених змін за допомогою інуліну.

*Адреса для листування (Correspondence): Обласна клінічна лікарня, вул. Акад. Заболотного, 26, м. Одеса, 65026, Україна

Матеріали і методи

Досліди проведено на 36 щурах-самцях лінії Вістар стадного розведення (8 міс, жива маса – 390 ± 15 г). У 24 щурів викликали ЦД2 протаміновим методом Ульянова і Тарасова [6] шляхом внутрішньом'язового введення протамін-сульфату в дозі 15 мг/кг двічі на день протягом 2 тиж, 12 щурів залишалися інтактними (здорові). Відразу ж після цього 12 щурам з ЦД щоденно з кормом вводили інулін з коріння цикорію в дозі 800 мг/кг (препарат інуліну ТУ У 15.8-13903778-93-2003, гігієнічний висновок МОЗ України №5.03.02-06/4606 від 15.04.2003, виробництва НВА «Одеська біотехнологія»). Через 2 тиж прийому інуліну тваринами з ЦД половину з них ($n=6$) і половину інтактних щурів ($n=6$) виключали з досліджу. Через 4 тиж прийому інуліну виводили з досліджу іншу половину хворих на ЦД ($n=6$) та інтактних ($n=6$) тварин.

Евтаназію щурів здійснювали під тіопенталовим наркозом. Отримували сироватку крові і печінку. У сироватці визначали вміст глюкози [13], концентрацію МДА [14] та активність каталази [15]. В гомогенаті печінки визначали вміст МДА і активність каталази. За співвідношенням показників каталази і МДА визначали антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) [16].

Результати та їх обговорення

Результати визначення рівня глікемії у щурів з ЦД2 та вплив на цей показник вживання інуліну представлено у табл. 1. Як видно з цих даних, при відтворенні ЦД 2 типу гіперглікемія у дослідних щурів була виразною і через 2 тиж після припинення введення протаміну, а через 4 тиж – зменшувалася.

Таблиця 1. Вплив інуліну на концентрацію глюкози у сироватці крові щурів з ЦД 2 типу

Група тварин	Концентрація глюкози, ммоль/л	P	P ₁
Здорові, n=12	$5,64 \pm 0,32$		
ЦД2, 2 тиж, n=6	$8,77 \pm 0,83$	$< 0,05$	
ЦД2, 2 тиж + інулін, n=6	$5,59 \pm 0,36$	$> 0,8$	$< 0,05$
ЦД2, 4 тиж, n=6	$6,71 \pm 0,74$	$> 0,1$	
ЦД2, 4 тиж + інулін, n=6	$4,82 \pm 0,38$	$> 0,1$	$< 0,05$

Примітка. В усіх таблицях і малюнках: P – вірогідність різниці у порівнянні із інтактними щурами; P₁ – вірогідність різниці між тваринами з ЦД2, що не лікувалися, і тими, що отримували інулін.

Вживання щурами інуліну вже через 2 тиж повністю нормалізувало рівень глюкози у крові. Цей показник залишався нормальним і через 4 тиж прийому інуліну. Механізм гіпоглікемічної дії інуліну можна пояснити його здатністю стимулювати інкрецію інсуліну, гальмувати всмоктування глюкози в тонкій кишці, усувати явища дисбактеріозу у товстій кишці, а також антистресовою дією [17].

Результати дослідження концентрації МДА і активності каталази у сироватці крові та в печінці щурів з ЦД2 представлено у табл. 2 і 3. Як випливає з цих даних, діабет викликає активацію ПОЛ, про що свідчить суттєве підвищення вмісту МДА у сироватці крові (2 тиж) і в печінці (2 і 4 тиж). Вживання інуліну не призводить до зниження рівня ПОЛ у печінці, а у сироватці крові – вірогідно зменшує вміст МДА лише у перший термін спостереження. Ці дані наводять на думку, що в механізмі лікувальної дії інуліну вплив його на процеси ПОЛ не є визначальним. Позитивну роль у підтриманні балансу антиоксидантно-прооксидантної системи, до деякої міри, відіграє здатність інуліну індукувати ФАС, про що свідчить підвищення активності каталази у сироватці крові і печінці, однак лише у перший термін спостереження

(2 тиж). Можливо, що головним напрямком впливу інуліну є його гіпоглікемічна дія [17].

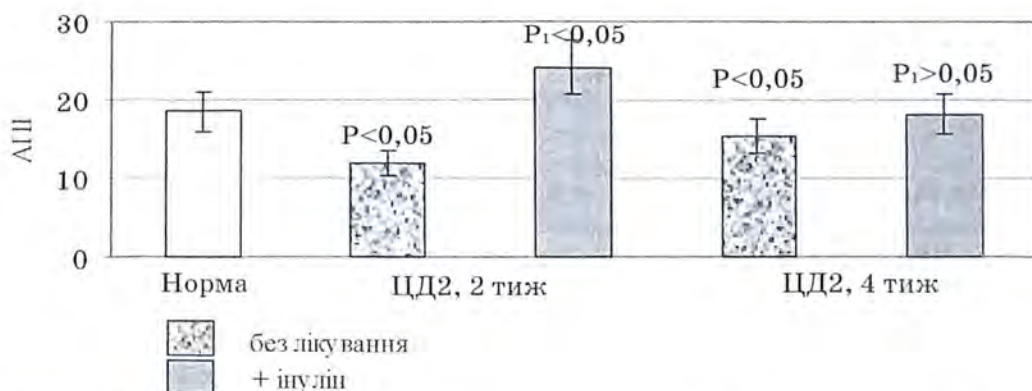
Таблиця 2. Вплив інуліну на концентрацію МДА і активність каталази у сироватці крові щурів з ЦД 2 типу

Група тварин	Вміст МДА, мкмоль/л	Активність каталази, мккат/л
Здорові	1,68±0,16	0,32±0,01
ЦД2, 2 тиж	2,20±0,10 P<0,05	0,27±0,01 P<0,05
ЦД2, 2 тиж + інулін	1,73±0,08 P>0,5 P ₁ <0,02	0,41±0,02 P<0,01 P ₁ <0,001
ЦД2, 4 тиж	1,87±0,16 P>0,4	0,29±0,01 P<0,05
ЦД2, 4 тиж + інулін	1,81±0,21 P>0,3 P ₁ >0,7	0,32±0,02 P ₁ >0,2

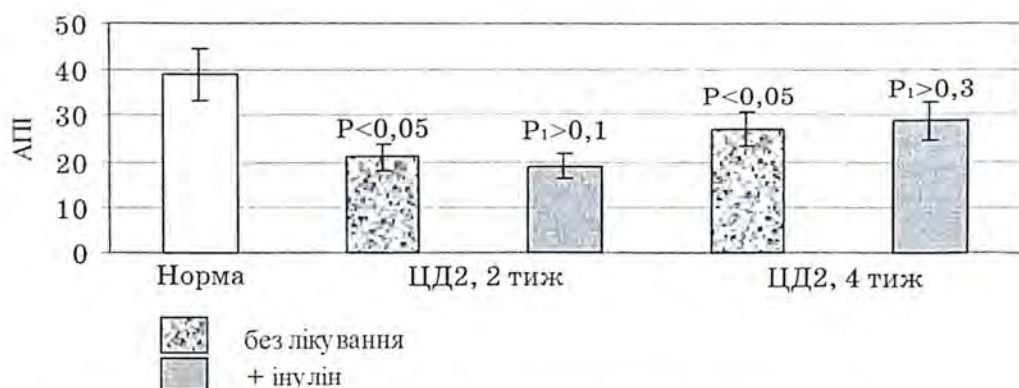
Таблиця 3. Вплив інуліну на концентрацію МДА і активність каталази у печінці щурів з ЦД 2 типу

Група тварин	Вміст МДА, мкмоль/г	Активність каталази, мккат/г
Здорові	12,25±0,91	4,74±0,08
ЦД2, 2 тиж	19,73±1,66 P<0,01	4,09±0,09 P<0,01
ЦД2, 2 тиж + інулін	24,18±1,14 P<0,001 P ₁ >0,05	4,40±0,08 P<0,05 P ₁ <0,05
ЦД2, 4 тиж	16,52±1,14 P<0,05	4,40±0,09 P<0,05
ЦД2, 4 тиж + інулін	16,14±1,11 P<0,05 P ₁ >0,8	4,69±0,13 P>0,6 P ₁ >0,05

Результати визначення антиоксидантно-прооксидантного індексу наведено на мал. 1 і 2. Суттєве підвищення цього показника під впливом інуліну відмічалось лише у сироватці крові у першій термін спостереження, а у печінці його значення зменшувалися. Прийом інуліну помітно не змінював вихідні



Мал. 1. Вплив інуліну на антиоксидантно-прооксидантний індекс сироватки крові щурів з ЦД 2 типу.



Мал. 2. Вплив інуліну на антиоксидантно-прооксидантний індекс печінки щурів з ЦД 2 типу.

дані у цих тварин. Такі факти дають підставу припустити, що інулін впливає на перебіг діабету не шляхом корекції процесів ПОЛ і стану ФАС, а через регуляцію глікемії.

Висновки

1. При моделюванні ЦД 2 типу за допомогою протаміну спостерігається тривала гіперглікемія, активація ПОЛ і пригнічення ФАС.

2. Пероральне введення інуліну нормалізує глікемію, однак його вплив на стан ПОЛ і ФАС є незначним.

Література

1. Тронько Н.Д. Современные проблемы диабетологии // Журн. АМН України. 2000, 6, № 3, 460-470.
2. Зиммет П. Быстрый рост распространенности сахарного диабета II типа и угроза эпидемии этого заболевания в будущем // Укр. мед. часопис. 2002, № 3 (29), с. 5.
3. Титок Т.Г., Евсеенко А.А., Аджамиян Ф., Кордюм В.А. Модели сахарного диабета, их выбор и использование в экспериментальных исследованиях // Биополимеры и клетка. 1999, 15, № 2, 103-108.
4. Кіхтяк О.П., Скрипник Н.В. Можливості відтворення цукрового діабету в експерименті // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2004, № 2, 118-120.
5. McAnuff M.A., Omoruyi F.O., Morrison E.Y., Asemota H.N. Hepatic function enzymes and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats fed bitter yam (*Dioscorea polygonoides*) steroidal sapogenin extract // Diabetol. Croat. 2003, 32, N 1, 17-23.
6. Ульянов А.М., Тарасов Ю.А. Инсулярная система животных при хроническом дефиците гепарина // Вопр. мед. хим. 2000, 46, № 2, 149-154.
7. Приступок О.М. Оксидантний стрес за наявності цукрового діабету // Укр. мед. часопис. 2002, № 3 (29), 23-25.
8. Балаболкин М.И. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений сахарного диабета и применение витаминов и микроэлементов для их лечения и профилактики // Новости науки и техники: Реф. сб. Серия «Медицина», вып. «Клин. эндокринология». 2006, № 6, 1-7.
9. Шендеров Б.А. Микрофлора человека и животных и ее функции // В кн.: Медицинская микробная экология и функциональное питание, т. 1-3. М.: Грантъ, 1998. 416 с.

10. Ткаченко Е.И. Питание, эндоэкология человека, здоровье, болезни. Современный взгляд на проблему их взаимосвязей // Терап. арх. 2004, 76, № 2, 67-71.
11. Левицький А.П., Цісельський Ю.В. Вплив харчового інуліну на біохімічні показники сироватки крові щурів з алоксановим діабетом // Експерим. та клінічна фізіологія і біохімія. 2006, № 2, 38-41.
12. Цісельський Ю.В., Левицький А.П. Вплив інуліну на стан зору і деякі біохімічні показники крові хворих на діабетичну ретинопатію // Досягнення біології та медицини. 2006, № 1(7), 58-61.
13. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике. 3-е изд. Одесса: Экология, 2005. 616 с.
14. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977, 66-68.
15. Гирин С.В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах // Лабор. диагностика. 1999, № 4, 45-46.
16. Левицький А.П., Почтар В.М., Макаренко О.А., Гридіна Л.І. Антиоксидантно-прооксидантний індекс сироватки крові щурів з експериментальним стоматитом і його корекція зубними еліксирами // Одеський мед. журн. 2006, № 1, 22-25.
17. Левицький А.П. Инулин – пицца для бактерий, лекарство для людей. Одесса: Изд-во КГОГТ, 2003. 28 с.

Коррекция с помощью инулина гипергликемии и перекисного окисления липидов у крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа

Ю.В. Цісельський, А.П. Левицький¹

Областная клиническая больница, г. Одесса, 65025;

'Институт стоматологии АМН Украины, г. Одесса, 65026; Украина

У крыс воспроизводили протаминавый сахарный диабет 2 типа по методу Ульянова и Тарасова. Установили, что при этом развивается длительная гипергликемия, активируется перекисное окисление липидов (ПОЛ), определяемое по уровню малонового диальдегида в сыворотке крови и в печени, а также угнетение физиологической антиоксидантной системы (ФАС), оцениваемое по снижению активности каталазы. Введение с кормом инулина из цикория в дозе 800 мг/кг нормализовало гликемию, однако не всегда влияло на ПОЛ и ФАС.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет 2 типа, инулин, гликемия, перекисное окисление липидов, каталаза.

Correction of hyperglycemia and lipid peroxide oxidation using inulin in rats with type 2 experimental diabetes

Yu.V. Tsysel'skij, A.P. Levitskij¹

Regional Clinical Hospital, Odesa, 65026; 'Institute of Stomatology of AMS,

Odesa, 65026; Ukraine

Protamine type 2 diabetes in rats was induced by the method of Ulyanov and Tarasov. Stable hyperglycemia was shown to develop, lipid peroxide oxidation (LPO) to be activated, determined according to the level of malonic dialdehyde in blood serum and liver, as well as inhibition of physiologic antioxidant system (PAS), estimated by the reduction of catalase activity. The introduction of chicory inulin with food at a dose of 800 mg/kg normalized glycemia, but did not always influence LPO and PAS.

Key words: type 2 experimental diabetes, inulin, glycemia, lipid peroxide oxidation, catalase.

(Надійшла 27.07.2007)

КОРТИКОТРОПІН IN VITRO ЗБІЛЬШУЄ ВМІСТ α -ІЗОФОРМИ ПРОТЕЇНКІНАЗИ С В ЯДРАХ АДРЕНОКОРТИКАЛЬНИХ КЛІТИН ЛЮДИНИ

О.І. Ковзун*

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

Досліджували участь протеїнкінази С в опосередкуванні регуляторних сигналів АКТГ в адренкортикоцитах людини. Показана транслокація α -ізоформи протеїнкінази С до ядерної фракції після передінкубації тканини кори надниркових залоз з різними концентраціями кортикотропіну. Підвищення концентрації АКТГ в інкубаційному середовищі не змінює розподіл α -ізоформи протеїнкінази С між цитозолем і мікосомальною субклітинною фракцією. Обговорюється гіпотеза про взаємодію різних месенджерних шляхів в трансдукції сигналу кортикотропіну в корі надниркових залоз і значення ядерної протеїнкінази С в цих процесах.

Ключові слова: адренкортикоцити людини, АКТГ, протеїнкіназа С.

Адренкортикотропний гормон (АКТГ) гіпофіза є головним компонентом системи гормональної регуляції стероїдогенезу в корі надниркових залоз. Звичайно АКТГ розглядають як швидкодіючий активатор секреції гормонів в адренкортикоцитах, і тільки тривале його введення призводить до збільшення маси надниркових залоз. Внутрішньоклітинні месенджерні механізми переносу сигналу, які забезпечують гіпертрофію надниркових залоз за умов стресу та під впливом АКТГ, досліджені дуже фрагментарно. В цьому плані перспективним є аналіз ролі протеїнкінази С (ПКС) в цих процесах. Показано, що АКТГ здатний викликати в адренкортикоцитах активацію і транслокацію ферменту до мікосом і ядер [1, 2], хоча основна роль у перенесенні і ампліфікації регуляторного сигналу кортикотропіну належить цАМФ-залежній протеїнкіназі А (ПКА). Зв'язуючись з меланокортиновими рецепторами типу MC2R, АКТГ активує $G_{\alpha s}$ -білок \rightarrow аденилатциклазу \rightarrow утворення цАМФ \rightarrow протеїнкіназу А [узагальнено в оглядах 3, 4].

Дослідження експресії генів в клітинах лінії адренокарциноми мишей Y1 показало, що під впливом АКТГ змінюється рівень 1275 транскриптів, 46 % з яких беруть участь у біосинтезі стероїдів та їх метаболізмі [5]. Внесок ПКА і ПКС в реалізацію геномної дії кортикотропіну було проаналізовано як в нативних Y1-клітинах, так і на ПКА-дефектних мутантних клітинах. Виявилось, що ПКА-залежна сигнальна система забезпечує 56 % реалізації ефектів АКТГ, а ПКС-залежна – тільки 6 % [5]. ПКС, на відміну від ПКА, не бере участі в регуляції інтерналізації рецепторів MC2R-типу [6].

Спробу аналізу експресії та локалізації Ca^{2+} -фосфоліпідзалежних ізоферментів ПКС було зроблено у нормальній та патологічній тканині надниркових залоз людини з використанням моноклональних антитіл [7]. Застосування методу імуноблотингу дозволило виявити домінування α -ізоформи ПКС у

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

корі надниркових залоз, мозковій речовині, адренкортикальних аденомах та феохромоцитоммах [7, 8]. У більшості пухлинних клітин надниркових залоз людини α -ізоформа ПКС транслокується з цитозоллю до мікросомальної субклітинної фракції [9]. Подібна транслокація спостерігається в клітинах надниркових залоз різних видів тварин і за умов впливу кортикотропіну [1, 2]. Внаслідок дії АКТГ *in vitro* у мікросомальній фракції адренкортикоцитів людини вірогідно збільшується активність ПКА та загальна активність ПКС на тлі збільшення продукції 11-оксикортикостероїдів тканиною надниркових залоз [10].

Метою роботи було визначення впливу АКТГ на розподіл α -ізоформи ПКС та можливість транслокації з цитозольної до мікросомальної і ядерної фракцій клітин кори надниркових залоз людини.

Матеріали та методи

Роботу проведено на постопераційних тканинах надниркових залоз 8 хворих, прооперованих у клініці Інституту. Всі тканини виявилися пухлинами різних типів. З ділянок візуально незміненої тканини кори надниркових залоз (умовно нормальна тканина) отримували зрізи вагою 200-300 мг, які вносили в 1 мл середовища 199 (Державний завод медичних препаратів, Україна), до якого додавали 10 мМ НЕРЕС (рН 7,4) («Calbiochem», США) та 2 мг/мл сироваткового альбуміну бика («Serva», Німеччина). З метою звільнення рецепторів АКТГ від ендogenous кортикотропіну застосовувалась попередня інкубація тривалістю 15 хв. АКТГ («Sigma», США) вносили до інкубаційного середовища із розрахунку 0,2 та 2 Од на 100 мг тканини. Проби інкубували 1 год при 37 °С та постійному струшуванні. Інкубацію припиняли, переміщуючи проби у лід. Зрізи гомогенізували та отримували цитозольну, мікросомальну і ядерну субклітинні фракції, як описано раніше [8]. Осадки мікросом та ядер суспендували у невеликій кількості середовища, що містило 100 мМ трис-НСІ та 0,25 М сахарози (рН 7,4), і розтирали у скляному гомогенізаторі. Фракції зберігали до використання при -60 °С.

Білки мікросомальної, цитозольної та ядерної фракції кип'ятили у буфері, що містив 100 мМ трис-НСІ, 4 % додецилсульфату натрію, 0,2 % бромфенолового синього, 20 % гліцерину, 2 % 2-меркаптоетанолу (рН 6,8). На 9 % поліакриламідний гель наносили по 40 мкг білка на кожний трек. Після завершення електрофорезу білки переносили напівсухим способом на нітроцелюлозні мембрани Hybond C («Amersham Life Science», Велика Британія). Мембрани блокували 5 % розчином знежиреного сухого молока у буфері, що містив 20 мМ трис-НСІ, 137 мМ хлориду натрію, 0,1 % твін 20 (рН 7,6) та інкубували з первинними антитілами до ПКСа протягом 1 год при 4 °С. Для імунодетекції α -ізоформи протеїнкінази С методом вестерн-блотингу використовували моноклональні антитіла («Sigma», США). Після триразової промивки буфером мембрани інкубували з вторинними антитілами, сполученими з пероксидазою («Sigma», США), протягом 1 год при кімнатній температурі і знову тричі промивали. Комплекси білків з антитілами візуалізували за допомогою реагенту ECL на плівці Hyperfilm ECL («Amersham Life Science», Велика Британія). Денситометричний аналіз результатів імуноблотингу здійснювали з використанням пакету програми «PhotoCaptMw». Статистичну обробку одержаних даних проводили за t-критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення

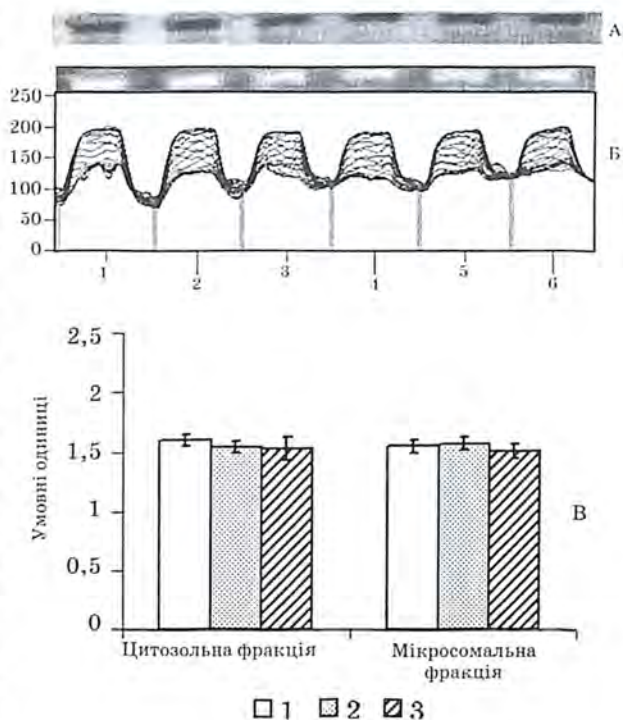
В попередніх роботах ми продемонстрували збільшення активності ПКС в мікросомальній фракції клітин кори надниркових залоз людини за умов стимуляції тканини АКТГ [10]. Оскільки активація ПКС супроводжується її транслокацією до мембранної фракції адренкортикоцитів, логічно було очікувати збільшення вмісту α -ізоформи ПКС в мікросомах клітин кори надниркових залоз під впливом кортикотропіну.

За допомогою методу імуноблотингу ми вивчали розподілення ізоформи ПКСа в субклітинних фракціях з умовно нормальної тканини надниркових залоз людини після інкубації зрізів у середовищі з різним вмістом АКТГ. З підвищенням концентрації кортикотропіну кількість ферменту не змінювалася в мікросомах і цитозольній фракції адренокортикоцитів (мал. 1). Раніше ми показали, що активність ПКС у субклітинних фракціях умовно нормальної тканини людини становить 51,0 % у цитозолі, 33,5 % – у мікросомальній фракції та 15,5 % – у ядрах [8]. Відомо, що при тривалій стимуляції кори надниркових залоз кортикотропіном *in vivo* збільшується відсоток активності ПКС, що локалізована в ядерній фракції. Це відбувається завдяки транслокації ферменту з цитоплазми до ядер за рахунок підвищення їх спорідненості до ПКС [2]. Тому ми провели дослідження впливу АКТГ на розподіл ПКСа в ядерній фракції адренокортикоцитів.

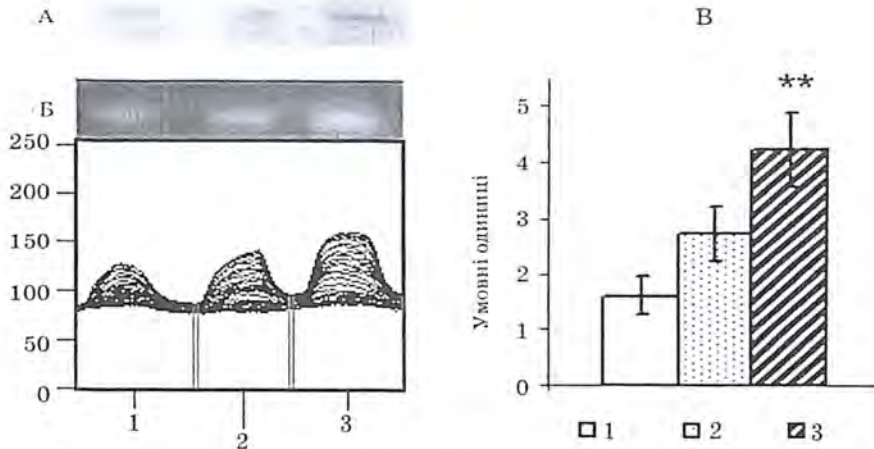
Як впливає з мал. 2, максимальна кількість ПКС спостерігається при максимальній дослідженій концентрації АКТГ (2 Од/100 мг тканини), підвищуючись у 2,7 рази у порівнянні з контролем. Кортикотропін *in vitro* у концентрації 0,2 Од/100 мг тканини не справляє вірогідного впливу на вміст ПКС в ядерній фракції – збільшення сягає тільки 60 %. Під впливом АКТГ вміст ПКС в мембранах клітин клубочкової зони кори надниркових залоз щурів не змінювався, однак істотно зростав у ядрах [11].

За даними літератури, загальна активність протеїнкінази С у корі надниркових залоз визначається в базальних умовах здебільшого у цитозольній фракції. У клітинах клубочкової зони кори надниркових залоз щурів співвідношення ПКС у цитозольній та мікросомальній фракціях становило 70:30 [12], а розподіл між цитозолем, мікросомами та ядрами характеризувався співвідношенням 70:23:7 [2].

За умов короткого терміну дії АКТГ *in vivo* (30 хв), вміст ПКС у цитозольній фракції клубочкової зони кори надниркових залоз щурів суттєво знижувався з 70 % до 43 % поряд зі збільшенням вмісту ПКС у мембранній фракції з 30 % до 48 % [2]. Стимуляція клітин клубочкової зони кори наднирко-



Мал. 1. Вплив АКТГ на розподілення α -ізоформи ПКС між цитозолем та мембранною фракцією адренокортикоцитів людини. А – вестерн-блотинг, Б – сканограма плівки, отримана у програмі «PhotoCaptMw» з кількісною оцінкою інтенсивності смуг. 1, 3, 5 – цитозольна фракція, 2, 4, 6 – мікросомальна фракція. 1, 2 – контроль, 3, 4 – АКТГ 0,2 Од/100 мг тканини, 5, 6 – АКТГ 2 Од/100 мг тканини. За віссю ординат відкладено оптичну густину смуг в умовних одиницях. В – усереднені результати трьох дослідів. 1 – контроль, 2 – АКТГ 0,2 Од/100 мг тканини, 3 – АКТГ 2 Од/100 мг тканини, $n = 3$.



Мал. 2. Рівень α -ізоформи ПКС в ядерній фракції адренокортикоцитів при різних концентраціях АКТГ.

А – вестерн-блотинг. Б – сканограма плівки. В – узагальнені результати п'яти дослідів. Позначення – як на мал. 1. * – вірогідний вплив АКТГ, $P < 0,05$.

вих залоз α -меланоцитстимулюючим гормоном, який може виступати попередником у синтезі кортикотропіну, також істотно змінювала внутрішньоклітинний розподіл ПКС: вміст ферменту зростав як в ядрах, так і в мембранній фракції [11]. Є повідомлення щодо збільшення відношення активності ПКС у мембранах до загальної активності ПКС у надниркових залозах щурів з 35 до 57 % вже через 15 хв після дії АКТГ [13]. За нашими даними, отриманими раніше, активність ПКС становить 43 % у цитозольній фракції і 57 % – у мембранній за умов одногодинного впливу АКТГ *in vitro* у концентрації 2 Од/100 мг тканини [10]. На жаль, активність ферменту в ядерній фракції в цих умовах не досліджувалась.

Визначення активності Ca^{2+} -залежної ПКС проводили в тканинах надниркових залоз людини [14]. Різниця в протеїнкіназній активності не було знайдено між зразками нормальної, гіперплазованої та пухлинної адренокортикальних тканин. В усіх досліджуваних зразках було ідентифіковано ПКСа, локалізовану в цитозолі, транслокація ферменту до мембранної фракції не спостерігалась. В пухлинах медулярного походження – феохромоцитомах та нейробластомах – ПКС виявлялась здебільшого в мембранній фракції [14]. Встановлено, що основною ізоформою ПКС в цитозольній, мікросомальній та ядерній фракціях кори надниркових залоз людини є Ca^{2+} -фосфоліпідзалежна α -ізоформа [9]. Розподіл ПКСа визначається походженням тканини: в умовно нормальній тканині фермент рівномірно розподіляється між цитозольною та мікросомальною фракціями, а у пухлинах ПКСа транслокується з цитозолу до мікросомальної фракції. Рівень ПКСа в ядерній фракції не залежить від типу тканини [8]. При інкубації клітин феохромоцитоми щурів PC12 з форболовим ефіром PMA (форбол-12-мірістат-13-ацетат) – потужним специфічним активатором ПКС, що імітує за механізмом впливу діацилгліцерол, спостерігали значну активацію ПКСа, ПКС ϵ та ПКС ξ здебільшого в ядерній фракції клітин [15].

Активність ПКС суттєво зростала у разі інкубації ізольованих ядер адренокортикальних клітин свиней з пролактином [16]. АКТГ в таких умовах не мав подібного впливу, навпаки, спостерігалась деяка тенденція до зниження активності ПКС [16]. При інкубації ізольованих ядер відсутня можливість транслокації і активація ПКС здійснюється принципово іншим чином. Здатність пролактину впливати безпосередньо на ядра з включенням такого по-

тужного сигналу, як активація ПКС і фосфорилування її внутрішньоклітинних субстратів, може пояснювати проліферативний ефект гормону на кору надниркових залоз.

Слід зазначити, що для опосередкування стероїдогенного ефекту АКТГ (експресія різних типів цитохромів P450 і продукція кортикостероїдів) взагалі достатньо цАМФ-залежної месенджерної системи, але відтворення ростової, а особливо мітогенної дії, забезпечує паралельна активація сигнального каскаду цАМФ/протеїнкіназа А і шляхів, залежних від протеїнкінази С і MAP-кіназного (ERK1/2) сигнального каскаду [3, 17]. Припускається, що транслокація ПКС до ядер під впливом АКТГ забезпечує якісь аспекти функціонування клітин надниркових залоз, не пов'язані із стероїдогенезом [11]. Цілком ймовірно, що таким чином опосередковуються трофічні та проліферативні ефекти агоніста.

Деякі типи протеїнкіназ, серед яких ПКС, залучені до регуляції кортикотропіном ядерних транскрипційних факторів, зокрема c-jun і c-fos [18]. Продукти протоонкогенів c-jun та c-fos, білки jun і fos, утворюючи гомодимерні та гетеродимерні комплекси, входять до складу фактора транскрипції AP-1, який є надзвичайно важливим елементом трансдукції і ампліфікації сигналу кортикотропіну в ядрі [18]. За нашими даними, АКТГ *in vivo* спричиняє дворазове збільшення рівня c-jun через 1 год після введення. Рівень фактора транскрипції c-fos зростає в 1,7 рази через 6 год після ін'єкції кортикотропіну [19].

Отримані результати і дані інших дослідників дозволяють зробити висновок, що тканини кори надниркових залоз людини характеризуються чіткою транслокацією Ca²⁺-фосфоліпідзалежної α -ізоформи протеїнкінази С в ядерну фракцію адренкортикоцитів під впливом АКТГ. Отже, суттєва роль у трансдукції сигналу кортикотропіну в адренкортикальних клітинах людини належить не тільки мембранозв'язаній формі ПКС, але і ядерній ПКС. Перенесення сигналу АКТГ в клітинах кори надниркових залоз організовано за типом мережі, в якій домінують два шляхи – стероїдогенний і ростовий, і саме на цьому рівні відбувається взаємодія чисельних модуляторів функціональної і ростової активності адренкортикоцитів.

Література

1. Cozza E.N., del Carmen Vila M., Acevedo-Duncan M. et al. ACTH increases de novo synthesis of diacylglycerol and translocates protein kinase C in primary cultures of calf adrenal glomerulosa cells // *J. Steroid Biochem.* 1990, **35**, N 2, 343-351.
2. Lehoux J.G., Grondin F., Pacuraru J.P., Yachaoui Y. The protein kinase C content is increased in nuclear fraction of rat adrenal zona glomerulosa following long-term ACTH administration // *Mol. Cell. Endocrinol.* 1991, **78**, 97-106.
3. Gallo-Payet N., Payet M.D. Mechanism of action of ACTH: beyond cAMP // *Microsc. Res. Tech.* 2003, **61**, N 3, 275-287.
4. Микоша А.С., Тронько Н.Д. Участие протеинкиназных и фосфатазных реакций в переносе сигналов агонистов в клетках коры надпочечных желез // *Успехи соврем. биологии.* 2004, **124**, № 4, 362-370.
5. Schimmer B.P., Cordova M., Cheng H. et al. Global profiles of gene expression induced by ACTH in Y1 mouse adrenal cells // *Endocrinology.* 2006, **147**, N 5, 2357-2367.
6. Kilianova Z., Basora N., Kilian P. et al. Human MC2R expression and functionality. Effect of PKA and PKC on desensitization and internalization // *Endocrinology.* 2006, **147**, N 5, 2325-2337.
7. Shigematsu K., Katamine S., Nakatani A. et al. Immunohistochemical evidence for protein kinase C in primary human adrenal tumors // *Acta Histochem. Cytochem.* 1992, **25**, N 4, 511-522.

8. Tronko N.D., Kovzun O.I., Kovalenko A.E., Mikosha A.S. Subcellular distribution of protein kinase C isoforms in human conditionally normal and tumor adrenal tissues // *Эндокринологія*. 2004, 9, № 1, 9-15.
9. Микоша А.С., Тронько Н.Д., Старенький Д.В., Рыбаков С.И. Изоформы протеинкиназы С и их распределение в коре и опухолях надпочечных желез человека // *Бюлл. эксп. биол. мед.* 2001, 132, № 9, 268-271.
10. Ковзун О.І., Тронько М.Д., Микоша О.С. АКТГ активує *in vitro* протеїнкінази А та С в корі надниркових залоз людини // *Укр. біохім. журн.* 2005, 77, № 6, 97-100.
11. Karas S., Purbrick A., Hinson J.P. Role of tyrosine kinase and protein kinase C in the steroidogenic actions of angiotensin II, α -melanocyte-stimulating hormone and corticotropin in the rat adrenal cortex // *Biochem. J.* 1995, 305, 433-438.
12. Nakano S., Carvallo P., Rocco S., Aguilera G. Role of protein kinase C on the steroidogenic effect of angiotensin II in the rat adrenal glomerulosa cell // *Endocrinology*. 1990, 126, N 1, 125-133.
13. Farese R.V., Fanjul L.F., de Ruiz Galarreta C.M. et al. ACTH increases diacylglycerol content and subcellular redistribution of protein kinase C in the rat adrenal *in vivo* // *Life Sci.* 1987, 41, 2631-2637.
14. Latronico A.C., Mendonca B.B., Bianco A.C. et al. Calcium-dependent protein kinase-C activity in human adrenocortical neoplasms, hyperplastic adrenals, and normal adrenocortical tissue // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994, 79, N 3, 736-739.
15. Gardner A.M., Olah M.E. Distinct protein kinase C isoforms mediate regulation of vascular endothelial growth factor expression by A_{2A} adenosine receptor activation and phorbol esters in pheochromocytoma PC12 cells // *J. Biol. Chem.* 2003, 278, N 17, 15421-15428.
16. Саутин Ю.Ю., Тронько Н.Д., Микоша А.С. Активация протеинкиназы С в изолированных ядрах коры надпочечников свиней пролактином // *Докл. АН Украины*. 1992, 323, № 3, 585-587.
17. Mattos G.E., Lotfi C.F. Differences between the growth regulatory pathways in primary rat adrenal cells and mouse tumor cell line // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2005, 245, N 1-2, 31-42.
18. Lotfi C.F., Armelin H.A. cfos and cjun antisense oligonucleotides block mitogenesis triggered by fibroblast growth factor-2 and ACTH in mouse Y1 adrenocortical cells // *J. Endocrinol.* 2001, 168, N 3, 381-389.
19. Ковзун О.І., Микоша О.С. Сигнальні системи, що регулюють процеси мітозу і апоптозу в адренокортикоцитах // *Матер. VII з'їзду Асоціації ендокринологів України*. *Ендокринологія*. 2007, 12, додаток, с. 111.

Кортикотропин *in vitro* увеличивает содержание α -изоформы протеинкиназы С в ядрах адренокортикальных клеток человека

Е.И. Ковзун

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

Исследовали участие протеинкиназы С в опосредовании регуляторных сигналов АКТГ в адренокортикоцитах человека. Методом вестерн-блоттинга показана транслокация α -изоформы протеинкиназы С в ядерную фракцию после прединкубации ткани коры надпочечников с разными концентрациями кортикотропина. Увеличение концентрации АКТГ в инкубационной среде не меняет распределение α -изоформы протеинкиназы С между цитозолем и микросомальной субклеточной фракцией. Обсуждается гипотеза о взаимодействии разных мессенджерных путей в трансдукции сигнала кортикотропина в коре надпочечников и значение ядерной протеинкиназы С в этих процессах.

Ключевые слова: адренокортикоциты человека, АКТГ, протеинкиназа С.

Corticotropin activates in vitro α -isoform content of protein kinase C in the nucleus of human adrenocortical cells

O.I. Kovzun

V.P.Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, Kyiv, 04114, Ukraine

The messenger mechanisms mediating ACTH regulatory signals in human adrenocortico- cytes were studied. Using western blotting method we showed translocation of α -isoform of protein kinase C to nuclear fraction after adrenal tissue preincubation in medium with in- creased corticotropin content. Increased concentration of ACTH in incubation medium did not change distribution of PKC α from cytosol to membranes subcellular fraction. The hy- pothesis on crosstalk between messenger mechanisms for ACTH signal transduction in adre- nal cotrex as well as the role of nuclear protein kinase C in these processes are discussed.

Key words: human adrenocorticocytes, ACTH, protein kinase C.

(Надійшла 25.05.2007)

ОСОБЕННОСТИ МАГНИТОЛАЗЕРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА КАТЕХОЛАМИНЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ СРЕДНЕГО МОЗГА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

*Е.В. Зубкова**, *И.Г. Васильева*, *Н.П. Олексенко*, *С.Т. Зубкова¹*

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины, г. Киев, 04050; ¹Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, г. Киев, 04114; Украина

Влияние магнитолазерного излучения на катехоламинергические нейроны среднего мозга изучалось на культуре ткани головного мозга новорожденных крыс. После 5 суток культивирования проводили 10 ежедневных сеансов магнитолазерного воздействия с помощью аппарата «КМИЛТА», используя инфракрасное излучение ($\lambda = 0,89$ мкм, Р имп. = 7-8 Вт, энергетическая доза одного сеанса – 1,04 Дж/см²). Установлено, что магнитолазерное излучение стимулирует продукцию катехоламинов и перемещение их гранул в отростки клеток, способствуя, таким образом, не только морфологической, но и функциональной регенерации нейромедиаторных проводящих путей среднего мозга.

Ключевые слова: магнитолазерное излучение, катехоламины, средний мозг, культура клеток.

Для большинства неврологических заболеваний (неврозов, сосудистой недостаточности, черепно-мозговой травмы и др.) характерны морфофункциональные изменения с нарушением нейромедиаторного обмена [1]. При этом морфофункциональные изменения в одной системе ведут к нарушениям в других «родственных» системах. Например, болезнь Паркинсона сопровождается системной дегенерацией не только дофаминергических, но и норадренергических нейронов среднего и промежуточного мозга, а также нарушением функции серотонин- и ГАМК-ергических структур [2]. Любая заместительная терапия ведет к подавлению продукции собственных эндогенных субстанций.

Оптимальным подходом к лечению нейродегенеративных заболеваний является использование методов активации естественных резервов организма, способных компенсировать неврологический дефицит, вызванный деструкцией определенного звена гомеостаза. Так, в случае болезни Паркинсона рекомендовано как можно более позднее начало применения леводопы с предпочтением на всех стадиях заболевания агонистов дофаминовых рецепторов [3] и использованием методов физиотерапии, способных стимулировать образование эндогенного дофамина [4]. При этом дегенерация и гибель дофаминергических нейронов среднего мозга начинается задолго (примерно за 5-6 лет) до клинической манифестации заболевания. Критическое снижение концентрации дофамина в полосатом теле доходит до 80 % [5].

*Адреса для листування (Correspondence): Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова АМН України, вул. Мануйльського, 32, м. Київ, 04050, Україна

Учитывая вышеизложенное, актуальной остается необходимость разработки методов адекватной и своевременной коррекции нарушенного нейромедиаторного обмена.

Для оценки влияния различных терапевтических комплексов на синтез нейромедиаторов, накопление и транспорт дофамина, норадреналина, серотонина, ацетилхолина и других соединений, обладающих медиаторной активностью, в качестве тестовой системы достаточно информативной является культура нервных клеток [6-8]. Такие исследования значимы при определении влияния физических факторов (в том числе и магнитолазерного излучения – МЛИ) на состояние нейромедиаторной системы.

Особенно информативны данные, полученные на культуре клеток, касающиеся степени стимуляции регенерирующей активности. В сочетании с гистохимическими и молекулярно-генетическими методами они позволяют оценить не только морфологическую, но и функциональную регенерацию клеток. Степень восстановления синтеза и транспорта дофамина и норадреналина является важнейшей характеристикой возможного лечебного воздействия МЛИ, получить которую можно на культуре нервных клеток, способных синтезировать эти вещества.

Такие исследования стали возможны благодаря многочисленным экспериментам по динамике синтеза нейромедиаторов в культуре нервных клеток. Установлено, что синтез катехоламинов в тканевых и реагрегированных культурах начинается с первых дней культивирования, уровень их становится выявляемым на 7-е сутки после установления межклеточных контактов и достигает максимума на 3-й неделе культивирования [8].

Показано, что синтез и распад катехоламинов в культуре осуществляется с помощью тех же ключевых ферментов, что и в условиях *in vivo* – тирозингидроксилазы и моноаминоксидазы [9]. В последние годы эти данные были подтверждены исследованиями по экспрессии соответствующих генов. Так, в частности, дофаминергическая дифференцировка клеток в органотипической культуре сопровождается экспрессией специфических для нее факторов транскрипции – продуктов генов *Nurr 1*, *Ptx 3*, *Lmx 1b* [7].

Таким образом, органотипическая культура нейронов среднего мозга является полноценной моделью для исследования влияния тех или иных факторов на синтез нейромедиатора. В отличие от эксперимента, проводимого на организме в целом, где результат является суммарной реакцией различных структур мозга, исследования в культуре позволяют вычлнить отдельные этапы этой реакции, что дает ценную информацию для детального изучения ее механизмов.

Целью нашего исследования явилось изучение влияния магнитолазерного излучения на состояние синтеза и транспорта нейромедиатора дофамина в культуре среднего мозга.

Материалы и методы

Культивирование нервных клеток. Исходным материалом для культуры клеток служил мозг новорожденных крыс. Использование тканевой культуры позволило максимально сократить количество животных в эксперименте. Всего было использовано 8 крыс линии Wistar, которые были умерщвлены методом цервикальной дислокации. Такой способ умерщвления, приводя к мгновенной смерти животного, позволяет сохранить морфологическую целостность большинства структур мозга, что важно для последующей работы с ними в культуре. На проведение данного эксперимента получено разрешение Комитета по биоэтике.

После вскрытия черепа и отделения мозговых оболочек ткань промывали стерильным физиологическим раствором, выделяли участки среднего мозга, содержащие зону черной субстанции, их делили на несколько частей.

Культивирование проводили в виде эксплантатов в 16 чашках Петри (8 – опытная группа, 8 – контроль) на стеклах, покрытых полиэтиленамином [8]. Питательная смесь состояла из среды Игла (Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов, Россия), раствора Хэнкса (Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов, Россия) с добавлением сыворотки крупного рогатого скота (Конотопмясо, Украина) в инкубаторе при 37 °С и 5 % CO₂.

Через 5 суток культивирования проводили 10 ежедневных сеансов магнитолазерного воздействия с помощью аппарата «КМИЛТА», используя инфракрасное излучение ($\lambda = 0,89$ мкм, Р имп. = 7-8 Вт, частота 500 Гц, магнитная индукция – 100 мТ, экспозиция – 30 с). Энергетическая доза за сеанс составляла 1,04 Дж/см², что соответствует диапазону доз (0,3-4,0 Дж/см²), обладающих биостимулирующим эффектом [9]. Чтобы максимально приблизить исследования *in vitro* к клинической практике, действие МЛИ исследовали при прохождении через плоскую кость.

По окончании срока культивирования по 2 образца из каждой группы эксплантатов готовили для микроскопического исследования, а остальные нервные клетки гомогенизировали в 500 мкл физиологического раствора, отобрав по 100 мкл на определение белка [10]. Оставшийся объем использовали для проведения реакции с параформальдегидом.

Гистофлуоресцентное выявление катехоламинов. Для проведения реакции использовали 2 % раствор глиоксиловой кислоты (Janssen Chemica, Бельгия) и 1 % раствор параформальдегида (Janssen Chemica, Бельгия), изготовленный на солевом растворе такого состава: NaCl – 8 г, NaH₂PO₄ – 0,5 г, KCl – 0,2 г, NaHCO₃ – 1 г, MgCl₂ – 5 г, глюкоза – 2 г, сахароза – 6,6 г, дистиллированная H₂O – до 1 л (РН 6,6-6,8). В нем фиксировали интактную культуру (для микроскопии) и добавляли к гомогенату культурального материала (1:1) для проведения количественной реакции.

Образцы фиксировали в данном буфере 5-7 мин при температуре 2 °С. Флуоресцирующий продукт (3,4-дигидроизохинолин) появляется в результате реакции параформальдегида с внутриклеточными катехоламинами, а фиксирующий раствор с высоким содержанием солей и сахаров способствует проникновению реагента внутрь клетки. Препараты высушивали в теплом воздухе 20-25 мин. После этого их выдерживали при температуре 80 °С на протяжении 5 мин для возбуждения флуоресценции [11].

Препараты исследовали с помощью флуоресцентного микроскопа, флуоресценцию гомогенатов – флуориметра «КВАНТ». Максимум спектра возбуждения дофамин составляет 410 нм, максимум спектра флуоресценции – 480 нм.

Результаты и их обсуждение

В среднем мозге млекопитающих тела нейронов, содержащие катехоламины, в частности дофамин, размещены в компактной зоне среднего мозга (группа клеток А9), а также краниальной части интерпендукулярного ядра [12]. Окончания дофаминергических нейронов, расположенных в среднем мозге, сосредоточены преимущественно в неостриатуме и формируют нигростриатный восходящий дофаминергический путь.

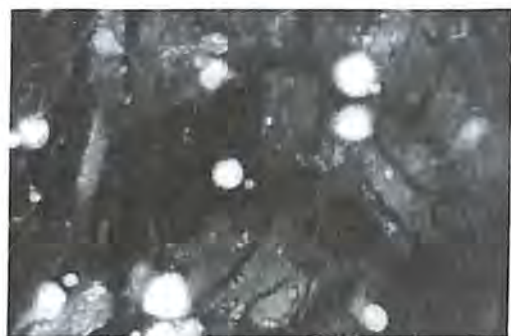
В опубликованных ранее работах нами было показано с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии, что нейроны среднего мозга способны синтезировать дофамин в условиях культивирования [13].

Суммарная интенсивность флуоресцентной реакции в опытных образцах превышала этот показатель в контрольных в 1,2 раза (рис. 1). Из-за большого разброса значений, который вызван неравномерностью локального распределения катехоламинергических нейронов в органотипической культуре, эта разница не является статистически достоверной. Однако тенденция к повышению их содержания в эксплантатах среднего мозга после воздействия МЛИ несомненно присутствует.

Поскольку культивированные ткани в виде эксплантатов предполагает разрыв сформированных клеточными отростками связей, то полученные данные позволяют говорить о том, что МЛИ в описанных условиях способствует более активной регенерации аксонов и дендритов катехоламинергических, в том числе и дофаминергических, нейронов.

Кроме того, полученные данные по повышению интенсивности суммарной флюоресценции не могут быть результатом перераспределения нейромедиатора между структурами мозга: активацию синтеза катехоламинов можно отнести непосредственно к нейронам среднего мозга.

Исследование культуры, предварительно окрашенной по методу Фалька-Хилларпа [14, 15], позволяющее визуализировать катехоламины внутри клеток с помощью светового флюоресцентного микроскопа, подтвердило приведенные выше данные об активизации синтеза дофамина под влиянием МЛИ. Если в контрольных образцах мы наблюдали флюоресцирующие гранулы в основном в околоядерной зоне и по периферии цитоплазмы, то на опытных препаратах гранулы располагались как в теле клеток, так и в отростках, а также и в их расширенных окончаниях (рис. 2, Б). В то же время, аксоны нейронов в контроле остаются практически неокрашенными (рис. 2, А).



А



Б

Рис. 2. Зона роста эксплантатов среднего мозга новорожденных крыс. 14-е сутки культивирования. 40x10. Гистофлюоресцентное окрашивание по Фальку-Хилларпу. А – контроль, Б – воздействие магнитолазерного излучения.

Полученные данные свидетельствуют о том, что под влиянием МЛИ происходит не просто накопление катехоламинов в клетках, а и их транспорт по аксонам и, как следствие, участие в установлении межклеточных контактов.

Результаты проведенного нами экспериментального исследования согласуются с данными литературы о положительном влиянии лазерного излу-

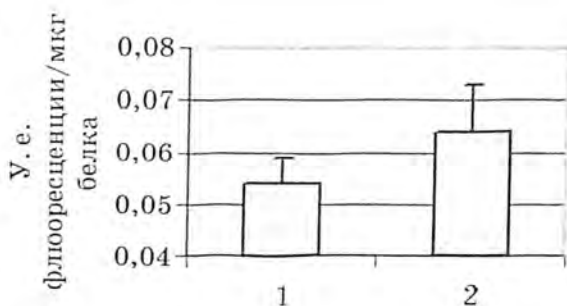


Рис. 1. Интенсивность суммарной флюоресценции катехоламинов в культуре клеток среднего мозга новорожденных крыс. 14-е сутки культивирования. Реакция с параформальдегидом и глиоксиловой кислотой. 1 – контроль, 2 – воздействие магнитолазерного излучения.

чения на активность регенерации нервных клеток, в частности, на скорость формирования новых аксонов и реиннервации, а также на выживание нейронов после аксонотомии [14, 15].

Данные, полученные нами на культуре нейронов среднего мозга, позволяют сделать следующие выводы:

1. Под влиянием многократного (№ 10), курсового, магнитолазерного воздействия в биостимулирующей дозировке на культуру нервных клеток зоны среднего мозга происходят морфологические и функциональные сдвиги, заключающиеся в восстановлении отростков нейронов и транспорте дофамина, что указывает на более полноценную под влиянием указанного физического фактора регенерацию нервных клеток.

2. Органотипическая культура нервных клеток участков среднего мозга может быть использована в качестве тестовой системы для оценки влияния лазерного излучения, как представителя лечебного физического фактора, на медиаторный обмен и регенеративные процессы в нервной ткани.

Литература

1. Цымбалюк В.И., Лапоногов О.А. Экстрапирамидные гиперкинезы как отдаленные последствия закрытой черепно-мозговой травмы // Проблемы отдаленных последствий закрытой черепно-мозговой травмы в условиях научно-технического прогресса: Тез. докл. обл. научно-практ. конф. Харьков, 1989, 115-117.
2. Крыжановский Г.Н., Карабань И.Н., Магаева С.В. и др. Болезнь Паркинсона. М.: Медицина, 2002. 335 с.
3. Гехт А.Б., Белоусов Ю.Б., Чикина Е.С. и др. Фармакоэкономическая оценка применения агониста дофаминовых рецепторов (мирапекса) у пациентов с болезнью Паркинсона // Журн. неврологии и психиатрии. 2004, 104, № 10, 26-33.
4. Буренок Ю.А., Гаркавенко В.В., Березецкая Н.М. и др. Эффективность магнитолазерной терапии у пациентов с болезнью Паркинсона: результаты клинико-электроэнцефалографического исследования // Укр. мед. часопис. 2004, 43, № 5, 54-60.
5. Чехонин В. П., Баклаушев В.П., Дмитриева Т.Г. Моделирование болезни Паркинсона и объективизация дисфункции nigrostriарной системы // Журн. неврологии и психиатрии. 2004, № 1, 59-68.
6. Gloveli T., Schmitz D., Heinemann D. Prolonged inhibitory potentials in layer III projection cells of the rat medial entorhinal cortex induced by synaptic stimulation in vitro // Neuroscience. 1997, 80, N 1, 119-131.
7. Zeng X., Cai J., Chen J. et al. Dopaminergic differentiation of human embryonic stem cells // Stem Cells. 2004, 22, N 6, 925-940.
8. Божкова В.П., Брежестовский Л.А., Буравлев В.М. и др. Руководство по культивированию нервной ткани. М.: Наука, 1988. 318 с.
9. Илларионов В.Е. Техника и методики процедур лазерной терапии: Справочник. М., 1994. 178 с.
10. Биохимические методы исследования в клинике / Под ред. А.Г. Покровского. М.: Медицина, 1969. 652 с.
11. Луппа Х. Основы гистохимии. М.: Мир, 1980, 252-266.
12. Сергиенко Н.Г., Грищенко В.И., Логинова Г.А. Биогенные амины и возбудимость головного мозга. К.: Наукова думка, 1992. 148 с.
13. Цымбалюк В.И., Васильева И.Г., Чопик Н.Г. и др. Влияние экстракта из эмбриональной нервной ткани на содержание дофамина и норадреналина в эксплантах среднего и продолговатого мозга новорожденных крыс // Нейрофизиология. 1998, 30, № 2, 98-103.

14. Rochkind S., Shahar A., Amon M., Nevo Z. Transplantation of the embryonal spinal cord nerve cells cultured on biodegradable microcarriers followed by low power laser irradiation for the treatment of traumatic paraplegia in rats // *Neurol. Res.* 2002, **24**, N 4, 355-360.
15. Snyder S.K., Byrnes K.R., Borke R.S. et al. Quantitation of calcitonin gene-related peptide mRNA and neuronal cell death in facial motor nuclei following axotomy and 633 nm low power laser treatment // *Laser Surg. Med.* 2002, **31**, N 3, 216-222.

Особливості магнітолазерної дії на катехоламінергічні нейрони середнього мозку (експериментальне дослідження)

О.В. Зубкова, І. Г. Васильєва, Н.П. Олексенко, С.Т. Зубкова¹

Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова АМН України, м. Київ, 04050;

¹Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, м. Київ, 04114; Україна

Вплив магнітолазерного випромінювання на катехоламінергічні нейрони середнього мозку досліджувався на культурі тканин головного мозку новонароджених щурів. Після 5 діб культивування проводили 10 щоденних сеансів магнітолазерного впливу з допомогою апарату «КМІЛТА», використовуючи інфрачервоне випромінювання (енергетична доза – 1,04 Дж/см²). Встановлено, що магнітолазерне випромінювання стимулює продукцію дофаміну та переміщення катехоламінергічних гранул у відростки клітин. Таким чином, магнітолазерне випромінювання сприяє не тільки морфологічній, а і функціональній регенерації катехоламінергічних нейронів середнього мозку.

Ключові слова: магнітолазерне випромінювання, катехоламіни, середній мозок, культура клітин.

Peculiarities of magnitolaser radiation effect on the midbrain catecholaminergic neurons in culture

O.V. Zubkova, I.G. Vasylyeva, N.P. Oleksenko, S.T. Zubkova¹

A.P. Romodanov Institute of Neurosurgery of AMS, Kyiv, 04050; ¹V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, Kyiv, 04114; Ukraine

The influence of magnitolaser radiation on the midbrain catecholaminergic neurons was tested on a tissue culture derived from newborn rat brain. After 5 days of culturing, 10 consecutive daily runs of magnitolaser infrared irradiation have been carried out using the device «KMILTA» (energy dose: 1.04 J/cm²). It has been established that magnitolaser radiation stimulated dopamine production and moving of catecholaminergic granules into the cell processes.

Thus, catecholaminergic magnitolaser radiation promotes not only morphological regeneration of midbrain catecholaminergic neurons, but also functional regeneration of these neurons.

Key words: magnitolaser radiation, catecholamines, midbrain, cell culture.

(Надійшла 5.06.2007; надійшла в остаточній формі 8.10.2007)

ГІПОТАЛАМІЧНИЙ СИНДРОМ ПУБЕРТАТНОГО ПЕРІОДУ

В.М. Пилипенко, М.Д. Тронько

*Національна медична академія післядипломної освіти
ім. П.Л. Шупика, м. Київ, 04112, Україна*

Гіпоталамічний синдром пубертатного періоду (ГСПП) – за шифром МКХ.10 – Е33.0, у літературі зустрічається під назвами: «пубертатно-юнацький базофілізм», «диспітуїтаризм пубертатно-юнацького періоду», «дієнцефальний синдром пубертатного періоду», «синдром пубертатного базофілізму», «пубертатно-юнацький диспітуїтаризм». Це захворювання підліткового віку, що зумовлене дисфункцією гіпоталамуса і призводить до гормонально-метаболічних порушень в організмі. Перш за все, порушується фізіологічний «зворотний зв'язок» між центральними та периферичними ендокринними залозами і, як наслідок, концентрація периферичних гормонів, особливо гормонів надниркових залоз, не співпадає зі ступенем активації тропних гормонів гіпофіза.

Поширеність ГСПП серед підлітків досягає 1 %, що дозволяє віднести ГСПП до найбільш значимих форм ендокринно-обмінної патології підліткового віку. А якщо зауважити, що ГСПП супроводжується дисфункцією майже усіх ендокринних залоз, змінами рецепторної чутливості тканин до гормонів, порушеннями ліпідного, вуглеводного та білкового обміну, і при прогресуванні призводить до формування гіпертонічної хвороби, атеросклерозу, цукрового діабету 2 типу, погіршення статевого здоров'я та проблем репродукції, що, в свою чергу, впливає на якість життя підлітка, а в подальшому дорослої людини, на його працездатність та соціальну адаптованість, то зрозуміло, що своєчасна діагностика і раціональне лікування ГСПП – не тільки важлива медична, але і соціальна проблема.

Етіопатогенез

Безпосередню причину появи ГСПП з'ясувати, як правило, не вдається. Факторами ризику виникнення ГСПП являються:

- Патологічний перебіг вагітності у матері хворого (фетоплацентарна недостатність, токсикози чи гестози I та II половини вагітності).
- Ускладнений перебіг вагітності (гострі та загострення хронічних хвороб матері під час вагітності, отруєння, інтоксикації тощо).
- Патологічні чи ускладнені пологи (передчасні пологи, слабкість пологової діяльності, Кесарів розтин, обвиття пуповиною тощо).
- Родові травми (асфіксія, черепно-мозкові травми).
- Нейроінфекції.
- Хронічний тонзиліт.
- Неендокринні автоімунні захворювання.
- Черепно-мозкові травми.
- Рецидивуючі тяжкі бронхіти.
- Хронічний стрес, ендогенні депресії.

Також можна виділити спадкові фактори ризику розвитку ГСПП, особливо ті, що мають автосомно-домінантний тип спадкової передачі: гіпертонічна

хвороба, ожиріння, цукровий діабет 2 типу, автоімунні ендокринні синдроми і хвороби. Ризик виникнення ГСПП значно зростає, якщо наявні три і більше факторів ризику одночасно.

Період маніфестації ГСПП у ранньому пубертаті зумовлений активацією тропних функцій гіпофіза, в першу чергу, адренотропної, гонадотропної, соматотропної, тиреотропної, що викликає пубертатний «стрибок» росту і проявляється змінами функціонування наднирників, гонад, щитоподібної залози. У більшості випадків ГСПП порушуються фізіологічні зворотні зв'язки і секреція гормонів, особливо надниркових залоз, не співпадає зі ступенем активації тропних гормонів гіпофіза. Так, наприклад, підвищена концентрація кортизолу сироватки крові виявляється лише у третини хворих, тоді як концентрація надниркових андрогенів у декілька разів перевищує вікові показники протягом усього пубертату. У переважній більшості хворих відмічаються значно підвищені показники концентрації альдостерону крові, навіть без наявності артеріальної гіпертензії (АГ).

Підвищення секреції гонадотропнів, причому фолікулостимулювальний гормон (ФСГ) майже вдвічі перевищує концентрацію лютеїнізувального гормону (ЛГ), призводить до стимуляції гонад і, як наслідок, значного підвищення рівня загального та вільного тестостерону у хлопців 10-14-річного віку і прогестерону у дівчат аналогічного віку. Показники естрадіолу залишаються в межах вікових нормативів протягом усього періоду пубертації. У віці 15-17 років у хлопців рівень тестостерону знижується на тлі помірно підвищених ЛГ і ФСГ і не відповідає стадії статевого розвитку. У дівчат залишаються помірно підвищеними ЛГ та ФСГ і прогестерон, а естрадіол може знизитись до нижньої межі вікових нормативів.

При ГСПП спостерігається також активація гіпофізарно-тиреоїдної системи, яка супроводжується помірним підвищенням тиреотропного гормону (ТТГ), що в подальшому призводить до стимуляції щитоподібної залози, яка збільшується в об'ємі з одночасним збільшенням секреції тиреоїдних гормонів, переважно – трийодтироніну (T_3).

На тлі пубертатного ростового стрибка часто відмічаються і прояви ГСПП паралельно з підвищенням секреції гормону росту, який з часом знижується до вікових нормативних показників. Секреція пролактину залишається нормальною протягом усього періоду пубертації.

Маніфестація ГСПП відмічається на тлі активації симпато-адреналової системи (САС), підвищення секреції серотоніну та зниження рівня мелатоніну. З прогресуванням патології резерви САС зменшуються, однак секреція серотоніну залишається підвищеною. Показники рівня мелатоніну більш тісно пов'язані з клінічними проявами ГСПП, і при рецидивуючому несприятливому перебігу патології залишаються низькими і в постпубертаті.

Велику роль у патогенезі ГСПП відіграє гормон жирової тканини лептин, що відповідає за посилення відчуття насиченості. Концентрація лептину у крові хворих на ГСПП в багато разів перевищує фізіологічні показники, особливо за абдомінального типу ожиріння. На цьому тлі формується лептинорезистентність.

На тлі вищезазначених гормональних порушень виникає інсулінорезистентність, що призводить до підвищення секреції імунореактивного інсуліну і С-пептиду. Рівень гіперінсулінемії та інсулінорезистентності безпосередньо залежить від ступеня ожиріння і значно зростає при абдомінальному його типі.

До основних метаболічних порушень при ГСПП відносяться, насамперед, порушення ліпідного обміну. Найбільш характерними для хворих на ГСПП є IV тип дисліпопротеїдемії (ДЛП) (за класифікацією Fredrickson): підвищення концентрації тригліцеридів (ТГ), підвищення рівня холестерину (ХС) ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ), нормальний рівень загаль-

ного холестерину (ЗХС), підвищення рівня ЛПДНЩ та низької щільності (ЛПНЩ).

Рідше виникає II-A тип ДЛП, коли підвищуються ЛПНЩ з помірним збільшенням ЗХС і збереженні нормальних показників ТГ. За даними О.І.Плехової, О.О. Хижняк та співавторів, у кожного п'ятого хворого спостерігається гіпоальфаліпопротеїнемія, тобто ізольоване зниження ХС ліпопротеїдів високої щільності, що являється самостійним чинником ризику розвитку атеросклерозу.

На тлі інсулінорезистентності та гіперінсулінемії при ГСПП виникають порушення вуглеводного обміну. Майже у третини хворих відмічається «плоска» (гіперінсулінічна) глікемічна крива, а також часто діагностується порушення толерантності до вуглеводів, особливо за типового клінічного варіанту ГСПП, і саме у цих хворих показники індексу інсулінорезистентності НОМА-IR (homeostasis model assessment) досягають максимальних значень, хоча і при інших варіантах захворювання значно перевищують нормативні.

У хворих на ГСПП виникають також і характерні порушення обміну білків сполучної тканини. Активність еластази підвищується при маніфестації патології навіть за відсутності смуг розтягнення. Високий рівень активності еластази спостерігається за умов активності процесу, а при ремісії – нормалізується, що можна використовувати як ранній додатковий критерій диференційної діагностики, особливо при стертому клінічному варіанті ГСПП. Активність колагенази підвищується майже у 2,5 рази, але за умови наявності смуг розтягнення на шкірі, і може бути критерієм вираженості активності процесу та прогнозу перебігу патології.

Клінічні прояви

ГСПП поліморфний і залежить від специфіки та вираженості гормональних порушень. Маніфестація захворювання частіше співпадає з початком статевого дозрівання у віці 12-14 років, рідше – у 15-17 років, а іноді і пізніше (17-19 років). Однією з особливостей синдрому є прискорення росту у 11-12 років, тобто в пре- і на початку пубертату хворі, особливо юнаки, випереджають однолітків за показниками росту, а пубертатний ростовий стрибок відмічається в більш ранньому віці.

Хворі на ГСПП мають багато скарг: погане самопочуття, підвищена втомлюваність, дратівливість, плаксивість, депресія, підвищений апетит, іноді – невгамовний, спрага, надмірна маса тіла, підвищений артеріальний тиск (АТ), кардіалгії, запаморочення, болі у кінцівках, головний біль, нудота, іноді – носові кровотечі, порушення менструального циклу у дівчат і, в ряді випадків, затримка статевого розвитку (СР) у хлопців та інші. Але майже кожен пацієнт, хворий на ГСПП, скаржиться на головний біль різної інтенсивності та частоти, який може супроводжуватися нудотою, й іноді – запамороченням. Головний біль, як правило, локалізується у потиличних і скроневих ділянках та, зрідка, в лобних ділянках голови. Часто головний біль супроводжується підвищенням АТ. Однак є певна когорта підлітків з наявністю ознак ГСПП, які не висувають ніяких скарг і самостійно не звертаються до лікаря.

Основною клінічною ознакою у переважної більшості хворих є ожиріння різного ступеня, частіше II-III, але ГСПП може бути наявним і без підвищеної маси тіла. Ожиріння діагностують при збільшенні маси тіла за рахунок жирової тканини на 10 % і більше від максимального показника для даного зросту, віку і статі :

- Ожиріння I ступеня – перевищення маси тіла на 10-25 % .
- Ожиріння II ступеня – перевищення маси тіла на 26-49 % .
- Ожиріння III ступеня – перевищення маси тіла на 50-99 % .
- Ожиріння IV ступеня – перевищення маси тіла на 100 % і більше.

При закритих епіфізарних зонах росту для визначення ступеня ожиріння використовують індекс маси тіла (ІМТ, $\text{кг}/\text{м}^2$). ІМТ більший за 30 $\text{кг}/\text{м}^2$ свідчить про наявність ожиріння. Чим вищий ступінь ожиріння, тим частіше виникають метаболічні порушення і тим більший ризик розвитку ускладнень.

Для оцінки типу ожиріння використовується індекс пропорційності – це співвідношення: обвід талії/обвід стегон. Якщо цей індекс перевищує 0,9, то діагностують абдомінальний тип ожиріння. Цей тип переважає у 15-17-річних хворих і відмічається майже у 74 % пацієнтів з ожирінням. Однак на початку пубертаті цей тип ожиріння відмічається удвічі рідше.

При ГСПП дуже часто порушується трофіка шкіри: колір мармурово-ціанотичний, шкіра холодна на дотик, особливо в ділянках сідниць та стегон. Відмічаються ділянки гіперпігментації та гіперкератозу (коліна, лікті, шия), гіпергідроз стоп і долоней. У переважній більшості хворих (але не обов'язково) маніфестація захворювання супроводжується появою смуг розтягнення, переважно рожевого чи блідо-рожевого, рідше – багряно-рожевого або багряно-ціанотичного, кольору, що розташовані здебільшого на спині, сідницях, внутрішніх поверхнях стегон і плечей, животі. Іноді смуги розтягнення локалізуються на шкірі задньої поверхні гомілок, під колінами та у пахвинній ділянці. При стійкій ремісії захворювання стрії стають блідими.

При ГСПП виявляється підвищення АТ, рівень якого залежить від віку хворого та ступеня метаболічних порушень. Підвищений АТ частіше відмічається у підлітків 14-17 років, а у хворих 10-13-річного віку – дуже рідко, причому частіше у хлопців, ніж у дівчат.

З боку нервової системи діагностується лікворно-гіпертензивний синдром. Доволі частим ускладненням ГСПП є ангіопатія сітківки.

Зважаючи на патогенез захворювання, ГСПП часто супроводжується порушенням толерантності до вуглеводів і ознаками, характерними для метаболічного синдрому Х дорослих. Крім того, майже у половини хворих спостерігається дифузний нетоксичний зоб переважно I ступеня, без структурних і функціональних змін щитоподібної залози.

Статевий розвиток у хворих на ГСПП проходить по-різному: у дівчат і половини хлопців відмічається раннє статеве дозрівання і прискорені темпи перебігу пубертату – приблизно з 9-10 років у дівчат і з 9-11 років у хлопців. Прискорені темпи перебігу пубертату реєструються як при ранніх, так і при звичайних термінах початку СР. Приблизно з 15-16 років відмічається гальмування процесів статевого розвитку і з'являються ознаки порушення репродуктивної системи, переважно у дівчат.

Юнацька істинна гінекомастія відмічається тільки у 10 % хлопців. В 2,5 рази частіше має місце несправжня гінекомастія на тлі ожиріння, яка призводить до гіпердіагностики патології.

У переважній більшості хворих на ГСПП біологічний (кістковий) вік випереджає хронологічний приблизно на 2-3 роки, що виявляється при маніфестації патології.

Перебіг захворювання може бути сприятливим та несприятливим (рецидивуючим, прогресуючим), з появою додаткових клінічних симптомів та збільшенням ступеня їх проявів і тяжкості на тлі глибоких гормонально-метаболічних порушень.

Зважаючи на значну варіабельність клінічних проявів, виділяють чотири клінічні варіанти ГСПП (за даними О.І. Плехової, О.О. Хижняк та співавторів):

1-й – *типовий варіант* – характерні максимальні прояви усіх клінічних ознак ГСПП: ожиріння III-IV ступеня, підвищений апетит, головний біль, транзиторна АГ, лікворно-гіпертензивний синдром, ангіопатія сітківки, багряні та багряно-ціанотичні стрії, порушення толерантності до вуглеводів,

ранне з прискореними темпами статеве дозрівання, часто дифузний нетоксичний зоб та справжня гінекомастія.

2-й – з *провідним симптомом ожиріння* – ожиріння переважно II-III ступеня, нормальне або уповільнене статеве дозрівання, нормальний АТ, підвищення апетиту і спраги, поодинокі тонкі рожеві чи білясті стрії або їх відсутність. Ці пацієнти потребують необхідних додаткових обстежень з метою виключення аліментарно-конституційного ожиріння.

3-й – з *провідним симптомом артеріальної гіпертензії* – стійка АГ, прискорене або нормальне статеве дозрівання, помірне ожиріння I-II ступеня або надлишкова маса тіла (іноді – нормальна маса тіла), головний біль, часто лікворно-гіпертензивний синдром, ангіопатія сітківки, тонкі рожеві або білясті смуги розтягнення. Пацієнти з такою формою синдрому потребують необхідних додаткових обстежень з метою виключення первинної АГ.

4-й – *стерта форма* – ожиріння I ступеня, частий головний біль, «змішані» стрії на шкірі, дифузний нетоксичний зоб II ступеня, нормальні або уповільнені темпи статевого розвитку, справжня гінекомастія, нормальний АТ або транзиторна АГ.

Діагностика

Діагностика ГСПП ґрунтується на даних анамнезу, клінічних проявах захворювання, даних обстеження суміжних спеціалістів (невролога, окуліста, кардіолога та інших), загальних клінічних та спеціальних біохімічних (з проведенням стандартного глюкозотолерантного тесту) і гормональних досліджень, а також обов'язково проводиться визначення біологічного («кісткового») віку за рентгенограмами кистей рук у прямій проекції. При необхідності чи за рекомендаціями невролога – виконується реоенцефалограма, ЕХО-енцефалограма, комп'ютерна томографія (КТ) або магнітно-резонансна томографія (МРТ) головного мозку.

Біохімічне обстеження передбачає визначення концентрації електролітів, глюкози, глікованого гемоглобіну, сечовини, креатиніну, ЗХС та усього спектру ліпідів.

Гормональне обстеження включає визначення у крові концентрації кортизолу, С-пептиду, імунореактивного інсуліну, лептину, тиреотропіну (ТТГ), соматотропного гормону (СТГ), інсуліноподібного фактора росту-1, мелатоніну, серотоніну, вільного трийодтироніну і тироксину, а у добовій сечі – екскреції сумарних 17-кетостероїдів (17-КС), 17(чи 11)-оксикортикостероїдів (17-ОКС, 11-ОКС), катехоламінів (КА). За наявності порушень статевого розвитку необхідно визначити рівень гонадотропінів, загального і вільного тестостерону (у хлопців), естрадіолу, прогестерону, пролактину (у дівчат) та естрадіолу, пролактину – у хлопців з істинною гінекомастією.

Пацієнтам з ГСПП показане ультрасонографічне обстеження щитоподібної залози, а при клінічних показаннях – УЗД серця та коронарних судин, нирок, печінки, підшлункової залози.

За умов необхідності проведення диференційного діагнозу зі спадковими синдромами, які супроводжуються ожирінням (синдроми Прадера-Віллі, Лоуренса-Муна і Барде-Бідля, Кюхена та інші), показана консультація генетика.

Клінічні симптоми ГСПП, як правило, достатньо характерні. А при додатковому обстеженні виявляються: зміни очного дна у вигляді ангіопатії сітківки, особливо при стійкій АГ, а іноді і порушення регуляції внутрішньочного тиску; прискорення біологічного віку; ознаки внутрішньочерепної гіпертензії (за рентгенограмами черепа).

Клінічні та біохімічні лабораторні тести виявляють порушення вуглеводного та ліпідного обміну. Часто діагностується IV тип ДЛП (за класифікацією Fredrickson), для якого характерно підвищення концентрації ТГ,

підвищення рівня ХС ЛПДНЩ, нормальний рівень ЗХС, підвищення рівня ЛПДНЩ та ЛПНЩ. Іноді виникає II-A тип ДЛП, коли підвищуються ЛПНЩ з помірним підвищенням ЗХС при збереженні нормальних показників ТГ. У багатьох пацієнтів виявляється гіпоальфаліпопротеїнемія, тобто ізольоване зниження ХС ліпопротеїдів високої щільності.

Майже у третини хворих відмічається «плоска» (гіперінсулінемічна) глікемічна крива, а також часто діагностуються порушення толерантності до вуглеводів, особливо при типовому клінічному варіанті ГСПП, і саме у цих хворих показники індексу інсулінорезистентності НОМА-IR досягають максимальних значень, хоча і при інших варіантах захворювання значно перевищують нормативні.

У хворих на ГСПП виникають також і характерні порушення обміну білків сполучної тканини: підвищується активність еластази навіть при відсутності смуг розтягнення. Високий рівень активності еластази спостерігається за умов активності процесу, а при ремісії – нормалізується. Активність колагенази підвищується майже у 2,5 рази, але за умови наявності смуг розтягнення на шкірі, і може бути критерієм вираженості активності процесу та прогнозу перебігу патологічного стану.

Гормональні обстеження виявляють помірно підвищену секрецію АКТГ, ЛГ та більш виражене підвищення рівнів кортизолу, ФСГ, С-пептиду, імунореактивного інсуліну, лептину, серотоніну, екскреції 17-ОКС (11-ОКС) і 17-КС з добовою сечею. Концентрація СТГ і ТТГ у сироватці крові може бути помірно підвищеною або в межах норми. У деяких хворих виявляється підвищення секреції вільного трийодтироніну і помірне підвищення вільного тироксину. Концентрація мелатоніну тісно пов'язана з клінічними проявами ГСПП і при рецидивуючому несприятливому його перебігу показники цього гормону залишаються низькими навіть у 15-17-річних хворих.

При ультрасонографічному обстеженні, а також при КТ чи МРТ, контури наднирників нормальної форми та розмірів. У деяких хворих виявляється помірне збільшення об'єму цитоподібної залози, але структурних змін її тканини не виявляється.

Диференційна діагностика

Диференційна діагностика спочатку проводиться з екзогенно-конституційним ожирінням, хворобою і синдромом Іценка-Кушинга та первинною АГ.

Диференціація здійснюється, перш за все, за клінічними ознаками, а також за даними біохімічних і гормональних тестів та за додатковими обстеженнями суміжних спеціалістів. Показники клініко-лабораторних ознак ГСПП наведені у диференціаль-но-діагностичних таблицях 1 і 2.

Лікування

Сучасні технології лікування ГСПП передбачають, перш за все, лікування ожиріння чи надлишкової маси тіла та корекцію метаболічних і гормональних порушень. Основні принципи лікування ГСПП наведені у схемі.

Першочерговою метою в лікуванні ожиріння чи надлишкової маси тіла є зупинення зростання маси тіла та її поступове довгострокове зменшення. Досягнення цієї мети можливе за умов нормалізації харчової поведінки, застосування гіпокалорійної дієти та достатній режим дозованих фізичних навантажень. Так як харчова поведінка є більш соціальною і сімейною проблемою, то до її вирішення необхідно залучити не тільки самого підлітка з ГСПП, а й батьків та членів усієї сім'ї. Їм необхідно роз'яснити умови режиму харчування (дотримуватись чотириразового харчування), правильного стереотипу прийому їжі та детально пояснити корекцію складових і калорійності продуктів, а також пояснити, що голодування протипоказане. Вечірній час ба-

Таблиця 1. Диференційна діагностика ГСПП та екзогенно-конституційного ожиріння

Клінічна ознака	Гіпоталамічний синдром пубертатного періоду	Екзогенно-конституційне ожиріння
Строк маніфестації	У перед- та пубертатному віці	З раннього віку
Розподіл підшкірно-жирового шару	Диспластичний: переважно на животі, грудній клітці, тулубі, в ділянці 7 шийного хребця; іноді – пропорційний	Пропорційний
Зміни шкіри	Колір шкіри мармурово-ціанотичний, ділянки гіперпігментації, гіперкератозу; вертикальні та горизонтальні багряні, рожеві, блідо-рожеві, білясті тонкі стрії	Не змінена
Кістковий вік	Частіше – випереджає паспортний вік (на 1-2 роки) або співпадає з паспортним	Співпадає з паспортним віком
Статевий розвиток (СР)	У дівчат – частіше прискорений, у хлопців – частіше затримка СР; іноді – нормальний СР	Нормальний СР; іноді – незначна затримка СР
Артеріальний тиск	В залежності від варіанту ГСПП : нормальний, транзиторна чи стійка АГ	Нормальний
Апетит	Підвищений	Підвищений
Головний біль	Є	Відсутній
Ознаки лікворної гіпертензії	Є	Відсутні
Стандартний глюкозотолерантний тест	Гіперінсулінемічна(сплошена) крива або порушення толерантності до вуглеводів	Нормальна глікемічна крива
С-пептид, імунореактивний інсулін крові	Частіше – підвищені, в деяких випадках – нормальні показники	Нормальні показники або помірно підвищені
Кортизол сироватки крові	Частіше – підвищений чи відповідає показникам верхньої межі норми, іноді – нормальний	Співпадає з показниками вікових норм
Екскреція сумарних 17-КС, 17-ОКС (11-ОКС) із сечею	Підвищена чи відповідає показникам верхньої межі норми	Співпадає з показниками вікових норм
Альдостерон плазми крові	Підвищений	Співпадає з показниками вікових норм
Серотонін крові	Підвищений	Нормальний
Холестерин крові	Частіше – IV тип дисліпопротеїдемії: нормальний ЗХС при підвищенні ТГ та ХС ЛПНЩ, іноді – помірно підвищений	Частіше – підвищений, іноді – нормальний
Індекс НОМА-IR	Частіше – підвищений, іноді – нормальний	Переважно нормальний, зрідка – підвищений

Таблиця 2. Диференційний діагноз ГСПП з хворобою та синдромом Іценка-Кушинга

Критерії діагностики	Хвороба Іценка-Кушинга	ГСПП	Синдром Іценка-Кушинга
Зріст	Уповільнений (відстає)	Нормальний або випереджає паспортний	Уповільнений (відстає)
Кістковий вік	Відстає від паспортного	Нормальний або випереджає паспортний	Нормальний або відстає від паспортного
Статевий розвиток	Затриманий	Випереджає паспортний, нормальний або затриманий	Нормальний
Артеріальний тиск	Стійка артеріальна гіпертензія	Транзиторна АГ або нормальний	Стійка артеріальна гіпертензія
Ожиріння	Диспластичне, матронізм	Диспластичне або пропорційне	Диспластичне, матронізм
Апетит	Знижений	Підвищений	Знижений або нормальний
Симптоми вірилізації	Не характерні	Не характерні	Часті
Тест толерантності до глюкози	Діабетоїдна крива/порушення толерантності до вуглеводів	Порушення толерантності до вуглеводів або гіперінсулінемічна (плоска) крива	Діабетоїдна крива/порушення толерантності до вуглеводів
Кортизол в крові ранком	Підвищений у 1,5-3 рази	Відсутній добовий ритм секреції кортизолу: ранком помірно підвищений, увечері – знижений	Підвищений у 2-3 рази
Вільний кортизол у добовій сечі	Підвищений у 1,5-2 рази	Помірно підвищений або нормальний	Підвищений у 2-3 рази
АКТГ	Підвищений, рідко – нормальний	Нормальний або помірно підвищений	Знижений
Мала проба з дексаметазоном	Негативна	Позитивна	Негативна
Велика проба з дексаметазоном	Позитивна	Позитивна	Негативна
Калій у крові	Знижений	Нормальний	Знижений
Натрій у крові	Підвищений	Нормальний	Підвищений
Хлор у крові	Підвищений	Нормальний	Підвищений
УЗД надниркових залоз	Двобічне збільшення	Норма	Однобічне збільшення/ візуалізується пухлина
МРТ (КТ) надниркових залоз	Двобічне збільшення	Норма	Новоутворення в наднирниках

Схема. Принципи лікування ГСПП

1. Нормалізація режиму дня та відпочинку.
2. Санація вогнищ хронічної інфекції; лікування хронічних автоімунних захворювань неендокринного генезу.
3. Лікування ожиріння: нормалізація режиму харчування, гіпокалорійна дієта (корекція вмісту жирів), дозовані фізичні навантаження. Рекомендуються етіопатогенетичні препарати, що знижують апетит: при інсуліно-резистентності – бігуаніди (метформін, діаформін, глюкофаж) – протягом 3-6 міс; при лептинорезистентності – сибутрамін (меридіа) – протягом 3-6 міс. Для зниження всмоктування жирів у кишківнику показаний ксенікал (орлістат) – протягом 2-3 міс.
4. Базова терапія: дегідратаційна, вітамінотерапія, антиоксиданти, цереброваскулярна, нормалізуюча метаболічні процеси в організмі, гепатотропна.
5. Додаткова терапія (симптоматична).
 - При гіпертензії: седативні (фітопрепарати), селективні β -адреноблокатори (2-3 міс), блокатори альдостеронових рецепторів (спіронолактон, верошпірон, епоксимексренон, еплеренон). Не застосовуються: інгібітори АПФ, антагоністи кальцієвих каналів, препарати раувольфії.
 - При гіперліпідемії, гіперхолестеринемії: α -ліпоєва кислота (еспаліпон, діаліпон).
 - Для нормалізації секреції мелатоніну та ЛГ, ФСГ: метіонін (курсами, тривалістю 3 тиж), фолієва кислота (курсами, тривалістю 3-4 тиж).

жано зайняти прогулянкою чи спортом – рекомендуються ігрові види спорту чи легкоатлетичні, або заняття спортивними чи бальними танцями.

Гіпокалорійна дієта повинна бути досить різноманітною, з обов'язковим включенням продуктів з великим вмістом клітковини і вітамінів та збалансованою за співвідношенням білків, жирів і вуглеводів (редукованою за жиром), тобто білки : жири : вуглеводи = 20-25 % : менше 30 % (переважно ненасичені): 50-55 % денного раціону. Відомо, що для зменшення маси тіла на 0,5 -1,0 кг за тиждень необхідно зменшити калораж їжі на 500 – 1000 ккал/добу. Для підлітка з ожирінням калораж їжі не повинен перевищувати 1500-1700 ккал/добу. Обмеження набору продуктів повинно бути поступовим. Також необхідно зменшувати кількість їжі, прийнятої за раз, тобто порції.

Однією з проблем лікування ожиріння у хворих на ГСПП є наявність у них підвищеного апетиту, який зумовлений інсуліно- та лептинорезистентністю, як чинників регуляції апетиту і центрів насичуваності головного мозку. Відчуття голоду у цих пацієнтів доволі часто призводить до психоемоційного напруження, депресії і може закінчитися достроковим припиненням дотримання дієти. До теперішнього часу медикаментозні схеми лікування підвищеного апетиту, незважаючи на велику кількість фармацевтичних препаратів, залишаються недостатньо ефективними, а можливості лікарів ендокринологів-педіатрів досить обмежені. У педіатричній практиці протипоказано застосування аноректиків, тому що вони можуть викликати небажані психотичні ефекти. Також відмічається недостатній досвід тривалого клінічного застосування препаратів центральної дії (сибутрамін, меридіа) у дітей та підлітків. Препарати, які блокують всмоктування жирів у кишківнику, і

таким чином ефективно знижують масу тіла (орлістат, ксенікал), порушують всмоктування поліненасичених жирних кислот та жиророзчинних вітамінів, що при довготривалому прийомі призводить до розвитку їх дефіциту та в цілому шкідливо впливає на ростучий організм дитини і підлітка.

Однак при підвищенні апетиту на тлі інсулінорезистентності показане застосування бігуанідів – метформін («Глюкофаж», «Діаформін»), а при підвищенні показників лептину та серотоніну за активації САС – сибутрамін («Меридіан»), який є селективним інгібітором зворотного захвату серотоніну і норадреналіну, тобто має центральний подвійний механізм дії, – по 10 мг (1 капсула) на добу, а через 3-5 тиж дозу збільшують до 15 мг (1 капсула) на добу, але призначають курсами по 3-6 міс, під контролем загального стану, показників глікемії та С-пептиду і лептину. За необхідності, курс можна повторити через 2-3 міс. Також, особливо при негативних змінах ліпідограмі крові, можна короткими курсами (2-3 міс.) і в невеликій дозі (1-2 таблетки на добу) застосовувати препарати, які блокують всмоктування жирів у кишківнику.

Базова медикаментозна терапія при всіх варіантах ГСПП передбачає проведення дегідратаційної терапії, із застосуванням діакарбу чи фуросеміду перорально, паралельно з прийомом препаратів калію (3-4-денними курсами протягом 3 тиж 3-4 рази на рік), а при АГ – 25 % розчин сульфату магнію внутрішньом'язово. У хлопців і дівчат з прискореним статевим розвитком, коли виявляється підвищення концентрації тестостерону і прогестерону у крові, можна призначити спіронолактон (верошпірон) курсами до 2-3 тиж. Також базова терапія повинна включати призначення вітамінів, антиоксидантів (особливо вітамінів групи В і вітаміну Е) та препаратів клітковини, кальцію. Обов'язково рекомендується обмежити прийом кухонної солі (менше за 3 г на день) і води (до 1,5 л на день).

За наявності церебро-васкулярної патології – лікворно-венозної дисциркуляції призначають препарати, які покращують церебральний кровообіг (кавінтон, цинаризин, актовегін) і метаболічні процеси в організмі (мідронат, пікамілон, оротат калію, рибоксин), та метаболічні процеси у ЦНС – ноотропні препарати (енцефабол, амінолон, луцетам, церебрум-композитум) у вікових дозах, протягом 1,5-2 міс.

При виявленні дискінезії жовчєвивідних шляхів та хронічного гепатохолангіту, особливо за наявності пубертатної гінекомастії, призначаються гепатотропні і жовчогінні препарати (сілібор, аллохол, хофетол та інші), можливо, як фітопрепарати і чаї.

За умов несприятливого прогресуючого перебігу ГСПП та при тяжкому ступені ожиріння і вираженій інсулінорезистентності доцільне призначення препаратів групи бігуанідів – метформіну («Глюкофаж», «Діанормет»), що дозволені до застосування у дітей та підлітків, у початковій дозі 500 мг на добу, за 2 прийоми, з подальшим підвищенням дози, за необхідності, до 1500 мг на добу. Курс лікування становить 3-6 міс під контролем клініко-лабораторного і гормонального обстеження.

На тлі ДЛП, лептино- та інсулінорезистентності показане призначення препаратів α -ліпоєвої кислоти («Еспаліпон», «Діаліпон») у дозі 600 мг перорально, 1 раз на добу, протягом 2 міс. Після закінчення курсу лікування – контроль ліпідограмі крові.

З метою нормалізації секреції ЛГ,ФСГ і корекції сезонних та вікових порушень синтезу мелатоніну (при зниженій його секреції) показаний прийом фолієвої кислоти у максимальних вікових дозах курсами по 2-3 тиж та метіоніну у дозі 0,5 г 3 рази на добу протягом 21 дня. Метіонін сприяє формуванню нічного піку екскреції мелатоніну та призводить до нормалізації САС, гормональних і метаболічних показників. З цією метою показаний для терапії ГСПП і пікамілон.

За наявності дифузного нетоксичного зоба призначають препарати йодиду калію протягом 6 міс, а за умови відсутності позитивної динаміки лікування або наявності субклінічного гіпотиреозу – рекомендоване призначення препаратів левотироксину у вікових дозах.

При АГ у хворих на ГСПП, перш за все, необхідно призначати седативні фітопрепарати (седавіт, фітосет та інші), чергуючи їх протягом тривалого часу. Якщо на тлі проведення комплексного лікування протягом 4-6 міс неможливо досягнути нормалізації АТ і у хворих відсутня брадикардія – рекомендується призначення препаратів із групи селективних β -адреноблокаторів, а саме – небівололу, так як ці препарати не мають негативного впливу на ліпідний і вуглеводний обмін, і дають можливість застосовувати їх у підлітків за наявності інсулінорезистентності. Лікування починають з мінімальних доз (1,25 мг/добу) і при необхідності поступово підвищують дозу до 5 мг на добу. Селективні β -адреноблокатори застосовують до досягнення стійкої нормалізації АТ, але не менше, ніж протягом 2 міс.

З метою нормалізації АТ недоцільне призначення препаратів із групи інгібіторів АПФ та антагоністів кальцію. Застосування препаратів раувольфії протипоказане, так як вони спричиняють розвиток гіперпролактинемії. У деяких випадках терапії АГ показано призначення селективних блокаторів альдостеронових рецепторів (спіронолактон, верошпірон – у дівчат та епоксимекренон, еплеренон – у хлопців).

На тлі проведення комплексної терапії ГСПП протягом 6-12 міс клініко-гормональний стан хворих значно покращується і в подальшому проводиться «підтримуюча» терапія. У випадках тяжкої форми ГСПП та при рецидивуючому несприятливому перебігу хвороби доцільно повторювати курси комплексної терапії декілька раз протягом кількох років до нормалізації стану і досягнення стійкої ремісії.

Критерії ефективності лікування:

- Нормалізація показників маси тіла або значне її зниження. Відсутність рецидиву збільшення маси тіла.
- Відсутність або значна регресія клінічних проявів хвороби.
- Позитивна динаміка або нормалізація метаболічних і гормональних показників.

Диспансерний нагляд:

- При прогресуючому перебігу захворювання – консультація ендокринолога і біохімічно-гормональне обстеження, а також обстеження суміжних спеціалістів за показаннями (невролога, окуліста, кардіолога) з проведенням додаткового обстеження 1 раз на 6 міс.
- При стабільному перебігу ГСПП – консультація ендокринолога і гормональне обстеження та консультація невролога, окуліста – 1 раз на рік.

Профілактика

Запобігання ГСПП передбачає збалансований режим і складові харчування, а також дозовані фізичні навантаження. Для підтримання стабільної ремісії доцільно проводити протирецидивне лікування 1 раз на рік. При прогресуючому перебігу захворювання протирецидивне лікування необхідно проводити 1 раз на 6 міс.

Таким чином, ГСПП – це самостійне нейроендокринне захворювання пубертатного віку з поліморфною клінічною картиною, яка значною мірою зумовлена станом гіпоталамо-гіпофізарної системи, що призводить до порушення майже усіх ланок ендокринної регуляції та формування серії метаболічних розладів вже на ранніх стадіях статевого дозрівання. Тому, першо-

черговим завданням ендокринолога є виявлення захворювання за клінічними ознаками та проведення ретельного обстеження для визначення «об'єму» гормональних і метаболічних порушень з метою своєчасного призначення адекватної терапії. Хворі на ГСПП потребують ретельного диспансерного спостереження з метою попередження прогресування патології та виникнення її ускладнень у більш старшому віці, тобто попередження розвитку цукрового діабету 2 типу, атеросклерозу, гіпертонічної хвороби, що призводять до інвалідизації людини та зниження якості і скорочення строків життя.

Рекомендована література

1. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний : Руководство. М.: Медицина, 2002. 752 с.
2. Гинзбург М.М., Крюков Н.Н. Ожирение. Влияние на развитие метаболического синдрома. Профилактика и лечение. М.: Медпрактика, 2002. 128 с.
3. Диагностика и лечение эндокринных заболеваний у детей и подростков / Под ред. проф. Н.П.Шабалова. М.: МЕДпресс-информ, 2003. 544 с.
4. Миняйлова Н.Н., Казакова Л.М. Диагностические аспекты гипоталамического и метаболического синдромов у детей // Педиатрия. 2002, № 4, 98-101.
5. Плехова Е.И., Хижняк О.О., Турчина С.И. Роль гормона эпифиза мелатонина в патогенезе метаболических нарушений при гипоталамическом синдроме у мальчиков-подростков // Пробл. эндокрин. патол. 2003, № 3, 61-66.
6. Плехова О.И., Хижняк О.О., Багацька Н.В. та ін. Гіпоталамічний синдром пубертатного періоду у хлопців (клініка, діагностика, прогнозування перебігу, лікування): Метод. рекомєнд. Харків, 2005. 24 с.
7. Рациональная фармакотерапия заболеваний эндокринной системы и нарушений обмена веществ: Руководство для практикующих врачей / Под общ. ред. И.И. Дедова, Г.А.Мельниченко. М.: Литтерра, 2006. 1080 с. (Рациональная фармакотерапия: Сер. рук. для практикующих врачей; Т. 12).
8. Строев Ю.И., Чурилов Л.П., Бельгов А.Ю., Чернова Л.А. Ожирение у подростков. СПб: ЭЛБИ-СПб, 2003. 216 с.
9. Семичева Т.В., Гарибашвили А.Ю. Эпифиз: современные данные о физиологии и патологии // Пробл. эндокринологии. 1999, № 3, 38-44.
10. Старкова Н.Т. Руководство по клинической эндокринологии. СПб: Питер, 1996. 544 с.
11. Тронько М.Д., Лучицький Є.В., Паньків В.І. Ендокринні аспекти метаболічного синдрому : Навчальний посібник. Київ-Чернівці, 2005. 185 с.
12. Хижняк О.О., Плехова Е.И., Сулима Т.Н., Багацкая Н.В. Роль наследственных и средовых факторов в формировании гипоталамического синдрома пубертатного периода у мальчиков // Эндокринология. 2003, 8, № 2, 221-227.
13. Хижняк О.О., Сулима Т.Н. Особенности липидного обмена у мальчиков-подростков с гипоталамическим синдромом пубертатного периода // Эндокринология. 2003, 8, № 1, 73-78.
14. Bekker K.L. (ed). Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism. 2nd ed. Philadelphia: J.B.Lippincott Company, 1995. 2161 p.
15. Dock A.M. Obesity a threat to Public Health // In: Research the Future – 2002. Huddingle Univ. Hosp., 2002, 12-14.
16. Wilson J., Foster D. (eds.). Textbook of Endocrinology. 8th ed. Philadelphia: Saunders Company, 1992. 1712 p.

Рецензія на підручник «ЭНДОКРИНОЛОГИЯ» за редакцією проф. П.М. БОДНАРА (російською мовою). Вінниця: Нова книга, 2007. 344 с.

Рецензований підручник підготував авторський колектив кафедри ендокринології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (зав. кафедри проф. П.М. Боднар та доценти – Г.П. Михальчишин, Ю.І. Комісаренко, О.М. Приступок) за участю проф. В.В. Поворознюка та Н.А. Григор'євої (Інститут геронтології АМН України), Г.А. Дерев'янка (Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України). Підручник відповідає чинній програмі з ендокринології МОЗ України. Його адресовано в першу чергу іноземним студентам-медикам, яких нараховується в Україні близько 15 тисяч і які представляють понад 90 країн світу.

Загальне враження від підручника позитивне. Він містить достатню кількість кольорових ілюстрацій. Приємною особливістю цього видання є використання творів живопису для ілюстрації ендокринної патології. Важливою рисою подання матеріалу є також наявність контрольних запитань з кожної теми.

Оригінальним є перший розділ «Предмет ендокринології та короткий нарис її розвитку». В ньому наведена класифікація, механізм дії гормонів, а також основні етапи розвитку ендокринології та внесок українських вчених. Детально характеризуються здобутки харківського та київського інститутів ендокринології, вузівських ендокринологів.

В другому розділі «Захворювання гіпоталамо-гіпофізарної системи» розглядається хвороба Іценка-Кушинга, акромегалія, синдром гіперпролактинемії, гіпітuitarизм, соматотропна недостатність, нецукровий діабет. Всі вищенаведені захворювання характеризуються за схемою: класифікація, етіологія, патогенез, клініка, діагноз та лікування. Доречно наведені художні полотна Дієго Веласкеса, на яких зображені хворі ахондроплазією.

Фахівцям з внутрішніх хвороб відомо, що провідне місце в ендокринологічній практиці належить цукровому діабету та захворюванням щитоподібної залози. В третьому розділі «Захворювання щитоподібної залози» центральне місце займають йододefіцитні захворювання щитоподібної залози. Дана патологія гарно ілюстрована картою поширеності їх у Європі і світі, фотографіями хворих. В цьому розділі достатньо ілюстровано і змістовно представлено тиреотоксикоз, гіпотиреоз, тиреоїдити, рак щитоподібної залози.

Цукровий діабет сьогодні є масовою хворобою людини з колосальною тенденцією до збільшення поширеності. В цьому відношенні цікавими є карти IDF поширеності цукрового діабету у світі, а також дані епідеміологічних досліджень ВООЗ. На сучасному рівні обговорюються етіологія, патогенез та клініка діабету. З точки зору терапевта найбільший інтерес в діабетології представляють дані з лікування цукрового діабету. Важливо, що автори використали узгоджений консенсус з терапії цукрового діабету 2 типу. Оригінальною і сучасною є схема класифікації препаратів інсуліну. Важливою є інформація про хронічні ускладнення цукрового діабету – діабетичну ретинопатію, нефропатію, нейропатію та діабетичну стопу. На мою думку, питання цукрового діабету описані доступною зрозумілою мовою і на сучасному рівні.

Захворювання надниркових та статевих залоз також викладені інформативно та достатньо ілюстровані.

В підручнику наведені показники нормального вмісту гормонів, усталені терміни, список рекомендованої сучасної літератури – вітчизняної та зарубіжної.

Підсумок: підручник «Ендокринологія» за редакцією проф. П.М. Боднара підготовлено на сучасному рівні, гарно ілюстровано, видано в кольоровому зображенні. Видання заслуговує схвалення. В майбутньому бажано більше уваги приділити невідкладним станам.

Завідувач кафедри госпітальної терапії № 2
Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця,
доктор мед.наук, проф. А.С. СВІНЦІЦЬКИЙ

ЭНДОКРИНОЛОГИЯ. Под редакцией заслуженного деятеля науки и техники Украины, проф. П.Н. БОДНАРА. Винница: Нова книга, 2007. 343 с.

Эндокринология – медико-биологическая наука, изучение которой представляется чрезвычайно важным как в теоретическом, так и в клиническом аспектах при подготовке врача любой специальности, в том числе, семейного врача.

На сегодняшний день эндокринология является одной из наиболее быстро развивающихся медико-биологических наук. В связи с тем, выход в свет учебника по эндокринологии для студентов высших учебных заведений IV уровня аккредитации на русском языке, подготовленного коллективом сотрудников кафедры эндокринологии Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца, является очень современным и необходимым для подготовки врачебных кадров, как в Украине, так и в зарубежье.

Рецензируемый учебник полностью соответствует программе по эндокринологии для студентов высших учебных заведений, утвержденной МЗ Украины в 2003 году.

Учебник состоит из 10 разделов, построенных по классической схеме, списка литературы, показателей гормональных констант, используемых в эндокринологической практике, предметного указателя. Интересными являются общие положения эндокринологии, краткий очерк истории её развития, содержащий данные о вкладе выдающихся мировых и отечественных учёных в развитие теоретической и клинической эндокринологии, характеристика эндокринных желёз и продуцируемых ими гормонов.

В учебнике чётко сформулированы классификации эндокринных заболеваний, большинство из которых утверждены экспертами ВОЗ. Вопросы этиологии и патогенеза рассматриваемых заболеваний отражают все современные достижения медицинской науки в области фундаментальной эндокринологии. Описание клинической симптоматики эндокринопатий является достаточно подробным. При этом чётко расставлены акценты на тех клинических проявлениях заболеваний, которые являются наиболее значимыми для постановки правильного диагноза и контроля эффективности лечения. Вопросы диагностики и лечения представлены на современном уровне. Диагностические алгоритмы, протоколы лечения и мониторингования состояния пациентов полностью соответствуют утверждённым национальным и мировым стандартам по каждой рассматриваемой патологии.

Учебник издан на высоком полиграфическом уровне. Очень ценным является то, что он богато иллюстрирован фотографиями, микрофотографиями, графиками, таблицами, что позволяет лучше усвоить представленный материал, познакомиться с клинической картиной конкретной эндокринной патологии, понять механизмы её развития. Обращает на себя внимание чёткость, последовательность и доступность изложения материала.

Очень важным с педагогической точки зрения является то, что каждый раздел учебника заканчивается контрольными вопросами, позволяющими преподавателю проводить контроль уровня усвоения полученных знаний.

Учебник «Эндокринология» под редакцией проф. П.М. Боднара имеет большое значение не только для подготовки врачей в медицинском ВУЗе, но и для совершенствования знаний в области эндокринологии у врачей-интернов, эндокринологов, терапевтов, семейных врачей.

Заведующая курсом эндокринологии
Крымского государственного медицинского университета
им. С.И. Георгиевского, Заслуженный врач Украины,
доктор мед. наук, проф. К.Ф. СЕЛИВАНОВА