

*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, № 1
Volume 12, No. 1

Журнал заснований у 1996 р.
Founded in 1996

Київ
Kyiv

Редакційна колегія:

ТРОНЬКО М.Д. (головний редактор), БЕЗВЕРХА Т.П.
(відповідальний секретар), БОЛЬШОВА О.В., ГОРБАНЬ Є.М.,
ЕПШТЕЙН О.В., ЄФІМОВ А.С. (заступник головного редактора
з клінічної ендокринології), КАРАЧЕНЦЕВ Ю.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:

БЕЛІНСЬКИЙ В.П. (Запоріжжя), БОДНАР П.М. (Київ),
БОЦЮРКО В.І. (Івано-Франківськ), ВЕНДЗИЛОВИЧ 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:

04114 Київ, вул. Вишгородська, 69,
Інститут ендокринології та обміну речовин
ім.В.П.Комісаренка,
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 15.02.2007. Підп. до друку 17.04.2007. Формат 70 x 108/16.
Офсетний друк. Ум.-друк, арк. 14,6. Наклад 290 прим.

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

ЗМІСТ

До століття від дня народження Василя Павловича Комісаренка	4
<i>Оригінальні дослідження</i>	
Дослідження експресії галектину-3 в різних типах пухлин щитовидної залози. Повідомлення 1: Аналіз патоморфологічних та імуногістохімічних даних <i>Л.Ю. Зурнаджи, Л.Г. Воскобойник, М.Д. Тронько, В.М. Пушкарьов, О.І. Ковзун, С.В. Бурко, Н.М. Костюченко, Т.І. Богданова</i>	7
Дослідження експресії галектину-3 в різних типах пухлин щитовидної залози. Повідомлення 2: Аналіз молекулярно-біологічних даних <i>В.М. Пушкарьов, О.І. Ковзун, Н.М. Костюченко, Л.Г. Воскобойник, Л.Ю. Зурнаджи, Т.І. Богданова, М.Д. Тронько</i>	23
Онкогенна активація генів RET, BRAF та NTRK1 в доброякісних та злоякісних післячорнобильських пухлинах щитовидної залози <i>Л.Г. Воскобойник</i>	33
Міжнуклеосомна та внутрішньонуклеосомна фрагментація ДНК у щитоподібній залозі хворих на різну тиреоїдну патологію <i>О.В. Калініченко, Т.М. Мишуніна, Л.І. Пількевич, Л.Ю. Зурнаджи, Ю.Н. Таращенко, А.Є. Коваленко</i>	48
Морфологічна характеристика дифузного токсичного зоба у дітей і підлітків <i>Б.Б. Гуда, Т.І. Богданова, С.Й. Рибаків</i>	58
Дерматогліфічні показники як генетичний маркер схильності до дифузного нетоксичного зоба у підлітків <i>М.В. Власенко</i>	68
Секс-стероїдзв'язуючий глобулін у жінок фертильного віку після тиреоїдектомії з приводу раку щитоподібної залози <i>З.Б. Хомінська, [О.В. Епштейн], Т.М. Кучменко</i>	73
Зростання поширеності ендокринної патології у мешканців міста Маріуполя <i>П.М. Лихоносов</i>	78
Характеристика інсулін-експресуючих клітин тимуса у нащадків щурів з експериментальним гестаційним діабетом <i>Ю.М. Колесник, О.М. Камишний, А.В. Абрамов</i>	92
Вплив короточасної гіпокінезії на показники інсулінорезистентності у нащадків матерів з гестаційним діабетом та соціально-емоційним стресом під час вагітності <i>Ж.А. Лещенко</i>	100
Ретроспективний аналіз перебігу вагітності та пологів у жінок з ожирінням <i>Л.П. Шелестова</i>	107
Особливості діагностики і лікування гіпопаратиреозу у дітей та підлітків <i>Г.А. Дерев'яко, Д.І. Дерев'яко, О.В. Большова</i>	111
Вплив N-стеароїлетаноламіну на інтенсивність апоптозу в пухлинних тканинах надниркових залоз людини <i>Н.І. Левчук, О.І. Ковзун, М.Д. Тронько, В.М. Пушкарьов</i>	121

Огляди

Порушення функціонального стану респіраторного відділу легень у хворих на цукровий діабет 2 типу та метаболічний синдром (огляд літератури) 126

О.А. Півоварова, Б.М. Маньковський

Медулярний рак щитоподібної залози: клініка, діагностика, лікування, прогноз (огляд літератури та власні дослідження) 136

О.А. Тонковид, А.Є. Коваленко

Коротке повідомлення

Рівень циркулюючих прозапальних цитокінів (інтерлейкіну-6 та фактора некрозу пухлин-альфа) у крові хворих на цукровий діабет 1 типу, ускладнений ретинопатією 151

К.М. Тронько

Лекція

Чоловічий гіпогонадізм: сучасні підходи до лікування 154

Є.В. Лучицький, В.О. Бондаренко

Ювілей

До 100-річчя від дня народження Ганса Сельє 167

Некролог

Пам'яті Епштейна Овсія Володимировича 170

До століття від дня народження
ВАСИЛЯ ПАВЛОВИЧА КОМІСАРЕНКА
(14 січня 1907 року – 7 квітня 1993 року)



Столітній ювілей славного сина України В.П. Комісаренка був широко відзначений науковою і медичною громадськістю нашої країни. Соті річниця його народження була слушною нагодою для того, щоб згадати цю чудову людину і видатного науковця, віддати заслужену шану його пам'яті. Немов би живий, стоїть він перед очима всіх, хто мав змогу спілкуватися з ним і відчувати його енергію, розум, любов до людей і до науки.

Постать В.П. Комісаренка уособлює в собі гармонійне поєднання дослідника-патофізіолога та організатора охорони здоров'я, засновника ендокринологічної школи. Він виявився гідним продовжувачем справи своїх вчителів – академіків Василя Яковича Данилевського та Олександра Олександровича Богомольця. Практична спрямованість наукових досліджень та втілення в життя їх результатів завжди були його творчим кредо. Досить згадати про низку створених В.П. Комісаренком та його учнями лікарських засобів. Це препарат із селезінки – спленін, який має детоксикаційні та імуномодуючі властивості. Це кортикотонін – один з перших у світі препаратів глюкокортикоїдних гормонів, які зараз широко застосовуються в медицині. Заслужене визнання отримав хлодитан – інгібітор кори надниркових залоз, що виявився незамінним препаратом для лікування раку надниркових залоз та хвороби Іценка-Кушинга. За створення цього препарату, його доклінічні та клінічні випробування, впровадження у промислове виробництво група дослідників була відзначена Державною премією УРСР.

Непересічна особистість академіка Комісаренка стала каталізатором прискореного розвитку ендокринологічної науки та спеціалізованої ендокринологічної допомоги в Україні. Особливе значення має створення В.П. Комісаренком нового першокласного наукового закладу – інституту ендокринології та обміну речовин у Києві, який зараз входить до складу Академії медичних наук України і носить ім'я свого засновника і першого директора. Він спромігся зібрати під одним дахом провідних талановитих вчених і лікарів, знаних фахівців своєї справи. Вони очолили експериментальні лабораторії та клінічні відділення – дитяче, хірургічне, діабетологічне, загальної ендокринної патології. З усіх куточків Радянського Союзу і навіть з-за кордону до клініки інституту приїздили люди за спеціалізованою допомогою і отримували її. В.П. Комісаренко завжди пишався своїм колективом. Інститут став місцем підготовки наукових, педагогічних і лікарських кадрів у галузі ендокринології не тільки для України, але й для Грузії, Узбекистану, Молдови та інших республік, а також для зарубіжних країн. Цей досвід міжнародного спілкування став у нагоді, коли після Чорнобильської катастрофи Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка залучився до багаторічного наукового співробітництва з Росією, Білоруссю, Сполученими Штатами Америки, Великою Британією, Японією, Італією.

Особливу увагу Василь Павлович приділяв вихованню здібної молоді, для якої створював максимально сприятливі умови. Чимало з цих людей стали завідувачами кафедр, професорами і членами Академії медичних наук, Національної Академії наук України, заслуженими діячами науки і техніки, лауреатами високих державних і наукових нагород.

Необхідно згадати і про активну державну та громадську діяльність В.П. Комісаренка на посадах заступника наркома охорони здоров'я УРСР

у мирні роки та під час Великої Вітчизняної війни, голови республіканського товариства «Знання», голови Українського комітету захисту миру та члена Всесвітньої ради миру. У нього на все вистачало сил і часу, завзятості і наснаги.

Багаторічна дружба зв'язувала академіка Комісаренка з найкращими представниками української творчої та медичної еліти того часу. Поміж них – Левко Медвідь, Михайло та Олексій Коломийченки, Максим Рильський, Олександр Корнійчук, Олесь Гончар, Наталія Ужвій і багато, багато інших.

Вшановуючи пам'ять про академіка Комісаренка, наукова і медична спільнота ендокринологів і патофізіологів України налаштована на дотримання традицій і високих стандартів діяльності, сповідуваних нашим Учителем і старшим другом.

Видання з 1996 року першого в Україні ендокринологічного журналу – Ендокринологія/Endokrynologia – це втілення в життя його давньої мрії: створити в Україні професійний журнал для ендокринологів.

Сторіччю від дня народження В.П.Комісаренка присвячено і книгу, в якій колеги, учні та друзі поділилися своїми спогадами та враженнями від спільної діяльності і зустрічей з цією непересічною людиною (В.П. Комісаренко. Життєвий і творчий шлях / Під заг. ред. М.Д. Тронька. – К.: Авіцена, 2007. – 144 с.).

Редколегія

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ ГАЛЕКТИНУ-3 В РІЗНИХ ТИПАХ ПУХЛИН ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ.

ПОВІДОМЛЕННЯ 1: АНАЛІЗ ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ ДАНИХ

Л.Ю. Журнаджи, Л.Г. Воскобойник, М.Д. Тронько, В.М. Пушкарьов,
О.І. Ковзун, С.В. Бурко, Н.М. Костюченко, Т.І. Богданова*

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

Проведено патоморфологічні та імуногістохімічні дослідження у 51 випадку фолікулярної аденоми, 26 випадках фолікулярної карциноми і 49 випадках папілярної карциноми. Встановлено, що серед фолікулярних пухлин, як доброякісних (фолікулярних аденом), так і злоякісних (фолікулярних карцином) переважали пухлини мікрофолікулярно-солідної будови, з яких 34,2% і 11,1%, відповідно, були оксифільноклітинними. Серед папілярних карцином пухлини змішаної гістологічної будови складали 59,2%, типової папілярної будови – 16,3%, фолікулярної – 16,3% та солідної – 8,2% випадків. Аналіз наявності капсули та інвазивних властивостей карцином показав, що неінкапсульовані папілярні карциноми у більшості випадків мали ознаки екстратиреоїдного росту, судинної інвазії та метастатичного ураження регіональних лімфовузлів, тобто були широко інвазивними. Частково інкапсульовані папілярні карциноми мали ознаки інвазивного росту у прилеглу тиреоїдну тканину, у частині випадків – ознаки судинної інвазії і регіонального метастазування. Такі пухлини були охарактеризовані як інвазивні. Повністю інкапсульовані папілярні карциноми наведеної серії в жодному випадку не мали ознак розповсюдження за межі капсули пухлини, судинної інвазії, а також метастатичного ураження лімфовузлів і були віднесені до мінімально інвазивних. Переважна частка фолікулярних аденом (76,5%) і фолікулярних карцином (53,8%), досліджених за допомогою імуногістохімічної реакції з антитілами до галектину-3, проявляли негативну реакцію у клітинах пухлин на тлі позитивної реакції з боку стромы (ендотелій, фібробласти). У клітинах 23,5% випадків фолікулярних аденом і 46,2% фолікулярних карцином спостерігалася локальна слабо позитивна цитоплазматична реакція. Імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах папілярних карцином будь-якої гістологічної будови і інвазивних властивостей відрізнялась від такої у клітинах фолікулярних пухлин високою інтенсивністю у 100% випадків і широкою розповсюдженістю у переважній більшості випадків на тлі негативної реакції з боку стромы пухлини (ендотелій, фібробласти). Встановлені відмінності дозволяють вважати можливим використання імуногістохімічної реакції з антитілами до галектину-3 у диференціальній діагностиці папілярної карциноми.

Ключові слова: щитовидна залоза, папілярна карцинома, фолікулярна карцинома, фолікулярна аденома, морфологія, імуногістохімія, галектин-3.

Поглиблене вивчення і аналіз структурних та імуногістохімічних особливостей різних типів тиреоїдних пухлин надає можливість поліпшити діагностичні можливості, розробити прогностичні критерії, допомагає клініцистам в період післяопераційного спостереження і лікування хворих з патологією щитовидної залози, що на сучасному етапі є актуальним і має велике соціальне значення.

Останнім часом найбільш перспективним маркером щодо тиреоїдних карцином вважається галектин-3 [1-4], тому основною метою наведених

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

досліджень було визначення взаємозв'язку між особливостями морфологічної будови доброякісних і злоякісних новоутворень щитовидної залози та експресією в клітинах пухлин галектину-3. Для вирішення цієї проблеми використовували імуногістохімічні дослідження експресії цього маркера в клітинах нормальної та пухлинної тканини щитовидної залози.

Галектини – це сімейство білків, що визначаються за двома критеріями: спорідненістю до β -галактозиду та суттєвою гомологічністю послідовностей сайтів зв'язування вуглеводнів [5]. Галектин-3 відрізняється від інших сполук цього класу химерною структурою молекули, яка складається з двох окремих доменів: N-кінцевий домен, що включає послідовності, що повторюються, збагачені проліном та гліцином, і C-кінцевий глобулярний домен, що включає сайт зв'язування вуглеводнів [6]. Галектин-3 може здійснювати в клітині різні функції в залежності від його локалізації. Молекули білка на поверхні клітин опосередковують взаємодію між клітинами та між клітинами і матриксом [7, 8], тоді як ядерний галектин-3 бере участь у визріванні мРНК [9]. Цитоплазматичний галектин-3 є антиапоптозним чинником [10].

Між тим, даних літератури відносно експресії даного лектину в тиреоїдній тканині небагато і вони носять суперечливий характер. Так, використовуючи методи імуногістохімії, виявлено високий рівень експресії галектину-3 в папілярних і фолікулярних карциномах щитовидної залози, в той час як в доброякісних пухлинах, за умов гіперпластичного зоба, а також в нормальній тиреоїдній тканині експресія означених лектинів не мала місця [1-4, 11].

Інші дослідники виявили експресію галектину-3 як в злоякісних тиреоїдних пухлинах (папілярна, фолікулярна, анапластична карциноми), так і у випадках гіперпластичних вузлів і фолікулярної аденоми [12-14].

Наведені дані наукової літератури вказують на те, що імуногістохімічний аналіз експресії галектину-3 потребує подальших досліджень за умов різних форм патології щитовидної залози, що може наблизити до об'єктивного диференціального розподілу доброякісних та злоякісних тиреоїдних пухлин.

Матеріали і методи дослідження

Патоморфологічні дослідження проведені у 51 випадку фолікулярної аденоми, 26 випадках фолікулярної карциноми і 49 випадках папілярної карциноми. Перш за все, отриманий з операційної матеріал досліджували макроскопічно, потім тканину пухлин та позапухлинної частини щитовидної залози фіксували в 10% нейтральному формаліні, зневоднювали в етанолі і заливали в парафін. Препарати забарвлювали гематоксиліном та еозином і вивчали у мікроскопах Leica, Zeiss (Німеччина).

Діагноз встановлювали згідно з класифікацією BOO3 [15]. Виходячи з того, що всі означені випадки включені до української частини міжнародного банку тканин післячорнобильських тиреоїдних пухлин [16, www.Chornobyltissuebank.com] і були додатково верифіковані міжнародною групою експертів-патологів, ми скористалися такою класифікацією, прийнятою експертами при додатковому розподілі фолікулярних аденом [17].

Дослідження експресії галектину-3 проведені за допомогою імуногістохімічних реакцій з відповідними антитілами за непрямим імунопероксидазним методом [18, 19]. При цьому, в якості первинних антитіл використовували моноклональні антитіла (NCL-gal-3, mouse monoclonal, Novocastra) у розведенні 1:200, а в якості вторинних антитіл – Rabbit anti-mouse immunoglobulins, biotin, DAKO у розведенні 1:200.

Розповсюдженість імуногістохімічної реакції оцінювалася від 0 до 4+: 0 – негативна реакція, 1/2+ – забарвлено до 50%; 3/4+ – до 75% і більш ніж 75% клітин забарвлено. Інтенсивність реакції оцінювалася від 0 до 4+: 0 – негативна реакція, 1/2+ – від слабкої до помірної, 3/4+ – від інтенсивного до дуже інтенсивного забарвлення.

Отриманий цифровий матеріал оброблено статистично за допомогою методів аналізу частки (проценту) варіант [20].

Результати та їх обговорення

1. Патоморфологічна характеристика фолікулярних аденом і фолікулярних карцином

Фолікулярні аденоми та фолікулярні карциноми (FC) складали групу інкапсульованих фолікулярних пухлин. При детальному світломікроскопічному дослідженні ми додатково розділяли фолікулярні аденоми на три основні підгрупи:

- фолікулярні аденоми без жодної підозри щодо малігнізації (FA);
- фолікулярні аденоми з незначними локальними змінами, підозрілими щодо папілярної карциноми (наявність скупчень клітин із збільшеними просвітленими ядрами з поодинокими борозенками і невиразними цитоплазматичними включеннями, WDT UMP);
- фолікулярні аденоми з поодинокими вростаннями в капсулу пухлини, тобто з локальними змінами, підозрілими щодо фолікулярної карциноми (FT UMP).

При наданні патоморфологічного діагнозу в двох останніх випадках вказувалося, що хворі потребують ретельного післяопераційного спостереження. За умов розгляду цих пухлин міжнародною групою експертів-патологів вони були охарактеризовані як добре диференційовані пухлини з невизначеними потенціями до малігнізації (WDT UMP) у разі наявності ділянок, підозрілих щодо папілярної карциноми, і як фолікулярні пухлини з невизначеними потенціями до малігнізації (FT UMP) у разі вростань до капсули новоутворення, підозрілих щодо фолікулярної карциноми [17]. Виділення подібних пухлин не має діагностичної мети (вони залишаються серед фолікулярних аденом), але з наукової точки зору формування подібних підгруп доцільно для проведення поглибленого аналізу та досліджень можливих маркерів малігнізації (в даному разі галектину-3) із застосуванням методів імуногістохімії.

Крім того, додатково ми підрозділяли фолікулярні пухлини в залежності від гістологічної будови, як і в попередніх наших дослідженнях [21, 22], на нормо-мікрофолікулярні (новоутворення нормофолікулярної чи змішаної нормо-мікрофолікулярної будови) та мікрофолікулярно-солідні (новоутворення мікрофолікулярної, солідної та змішаної мікрофолікулярно-солідної будови). Окремо було розглянуто пухлини з вираженими оксифільноклітинними змінами на рівні 3/4+, які в усіх випадках мали виключно мікрофолікулярно-солідну будову (табл. 1.1).

Таблиця 1.1. Розподіл фолікулярних пухлин за гістологічною будовою і оксифільноклітинними змінами

Гістологічна будова	FA		WDT UMP		FT UMP		FC	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Нормо-мікрофолікулярні	4	20,0	5	27,7	4	30,8	8	30,8
Мікрофолікулярно-солідні	8	40,0	10	55,6	7	53,8	16	61,5
Оксифільноклітинні	8	40,0	3	16,7	2	15,4	2	7,7
Всього	20		18		13		26	

З даних таблиці видно, що серед досліджених фолікулярних пухлин за гістологічною будовою переважали мікрофолікулярно-солідні, які у поєднанні з оксифільноклітинними новоутвореннями складали 74,5% при фолікулярній аденомі (38 із 51 випадку) і 69,2% при фолікулярній карциномі (18 із 26 випадків). Нормо-мікрофолікулярні аденоми у 4 випадках із 13 (30,8%) характеризувалися кістозними змінами. Біля ділянок кістозної трансформації спостерігалися ознаки папілярної гіперплазії епітелію.

Оксифільноклітинні пухлини складали 13 із 38 випадків (34,2%) фолікулярних аденом і 2 з 18 випадків (11,1%) фолікулярних карцином мікрофолікулярно-солідної будови. Вони були представлені крупними еозинофільними клітинами з гранульованою цитоплазмою та великим ядром з чітким ядерцем.

Таким чином, серед досліджених фолікулярних пухлин, як доброякісних (фолікулярних аденом), так і злоякісних (фолікулярних карцином) переважали пухлини мікрофолікулярно-солідної будови, серед яких 34,2% і 11,1%, відповідно, становили оксифільноклітинні новоутворення.

2. Патоморфологічна характеристика папілярних карцином

Папілярні карциноми щитовидної залози, як і в наших попередніх роботах [21, 23-27], було розподілено за гістологічною будовою, наявністю капсули (часткової чи повної) та вираженістю інвазивних властивостей. За гістологічною будовою папілярні карциноми були розподілені на такі підтипи: папілярний, фолікулярний, солідний та змішаний варіанти, який додатково було розділено на папілярно-фолікулярний, папілярно-солідний, солідно-фолікулярний, папілярно-фолікулярно-солідний та дифузно склерозуючий підтипи (табл. 2.1).

Таблиця 2.1. Розподіл папілярних карцином за гістологічною будовою

Гістологічний підтип чи варіант	Кількість випадків	%
Типовий папілярний	8	16,3
Фолікулярний	8	16,3
Солідний	4	8,2
Змішаний	29	59,2
Папілярно-фолікулярний	7	14,3
Папілярно-солідний	9	18,4
Солідно-фолікулярний	10	20,4
Папілярно-фолікулярно-солідний	2	4,1
Дифузно-склерозуючий	1	2,0
Всього	49	

Наведена таблиця свідчить, що в цілому досліджена група карцином за гістологічною будовою була відібрана згідно із співвідношенням, яке спостерігалось в останні роки в Україні серед папілярних карцином, видалених у пацієнтів високого ризику розвитку раку щитовидної залози, тобто серед тих, які були дітьми і підлітками на час Чорнобильської катастрофи [25, 26]. Так, найбільшу частку серед наведеної групи становили пухлини змішаної гістологічної будови (59,2%). Папілярні карциноми типової папілярної будови складали 16,3%, фолікулярної – 16,3% та солідної – 8,2%.

Важливою морфологічною характеристикою папілярної карциноми є також наявність капсули, що частково чи повністю відокремлює пухлину від «умовно нормальної» тиреоїдної тканини (табл. 2.2). Повністю інкапсульовані пухлини (ПП) у наведеній серії найчастіше відносилися до фолікулярного варіанту папілярної карциноми (50,0% випадків), а найрідше – до змішаного варіанту (10,3%). Найбільший відсоток частково інкапсульованих пухлин (ЧП) поєднувався із типовим папілярним варіантом (50,0%), а неінкапсульовані (НП), навпаки, в більшості випадків мали змішану гістологічну будову (65,5%). Слід відзначити, що для досліджень ми відібрали практично однакову кількість інкапсульованих (частково чи повністю) та неінкапсульованих папілярних карцином: відповідно 24 та 25 карцином.

Таблиця 2.2. Розподіл папілярних карцином за наявністю капсули і гістологічної будови

Гістологічний підтип чи варіант	ППП		ЧП		НП	
	п	%	п	%	п	%
Типовий папілярний (8)	3	37,5	4	50,0	1	12,5
Фолікулярний (8)	4	50,0	2	25,0	2	25,0
Солідний (4)	–	–	1	25,0	3	75,0
Змішаний (29)	3	10,3	7	24,1	19	65,5
Папілярно-фолікулярний (7)	–	–	2	28,6	5	71,4
Папілярно-солідний (9)	–	–	1	11,1	8	88,9
Солідно-фолікулярний (10)	3	30,0	2	20,0	5	50,0
Пап.-фол.-солідний (2)	–	–	2		–	
Дифузно-склерозуючий (1)	–	–	–	–	1	
Всього: 49 випадків	10	20,4	14	28,6	25	51,0

Примітка: Тут і в наступних таблицях в дужках вказане число випадків у кожній підгрупі.

Інвазивні властивості означених папілярних карцином ми зіставили із наявністю капсули (табл. 2.3).

Таблиця 2.3. Інвазивні властивості папілярних карцином в залежності від наявності капсули

Наявність капсули	ІТІ		ЕТІ		ЛІ		КрІ		РМТС		ВМТС	
	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
ППП (10)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
ЧП (14)	12	85,7	1	7,1	7	50,0	4	28,6	4	28,6	–	–
НП (25)	22	88,0	14	56,0	18	72,0	6	24,0	17	68,0	8	32,0
Всього (49)	34	69,4	15	30,6	25	51,0	10	20,4	21	42,9	8	16,3

Примітка: ІТІ – інтратиреоїдна інвазія; ЕТІ – екстратиреоїдна інвазія; ЛІ – лімфатична інвазія; КрІ – кровоносна інвазія; РМТС – метастази до регіональних лімфатичних вузлів; ВМТС – віддалені метастази до легенів.

Найширшими інвазивними властивостями відрізнялись неінкапсульовані пухлини, що окрім інтратиреоїдного розповсюдження мали у більшості випадків ознаки екстратиреоїдного росту, судинної інвазії та метастатичного ураження регіональних лімфовузлів. В цілому це не створювало проблем за умов патоморфологічної діагностики. У 32% хворих з НП визначались також віддалені метастази до легенів.

Частково інкапсульовані папілярні карциноми у переважній більшості випадків також не становили проблем для діагностики, тому що мали ознаки інвазивного росту за межі капсули пухлини у прилеглу тиреоїдну тканину, а також у частині випадків інвазії до судин капсули. Крім того, у 28,6% випадків карцином такої будови морфологічно визначалися регіональні метастази, тобто такі пухлини можуть бути охарактеризовані як інвазивні.

Повністю інкапсульовані папілярні карциноми наведеної серії в жодному випадку не мали ознак розповсюдження за межі капсули пухлини, ознак судинної інвазії, а також метастатичного ураження лімфовузлів, тобто були мінімально інвазивними.

Головними діагностичними критеріями у таких випадках були цитологічні ознаки ядер клітин карциноми (збільшення, вигляд «годинникових скелець», наявність внутрішньоядерних включень і борозенок), а також наявність «типових» папіл із фібро-васкулярним стеблом. Подібні

карциноми найбільш складні для діагностики, тому що означені критерії можуть носити локальний характер. Саме такі пухлини конче потребують пошуку відповідних маркерів, які поліпшать діагностику папілярних карцином.

Таким чином, імуногістохімічні дослідження з антитілами до галектину-3 проведені на пухлинах щитовидної залози (доброякісних і злоякісних), відібраних за типом, гістологічною будовою, а в разі папілярних карцином – і за інвазивними властивостями, що дозволило всебічно дослідити можливості цього лектину як маркера папілярної карциноми.

3. Імуногістохімічне дослідження експресії галектину-3 у фолікулярних аденомах і фолікулярних карциномах

Проведення реакції з антитілами до галектину-3 було спрямовано на визначення експресії цього лектину у клітинах фолікулярних пухлин та тиреоїдній позапухлинній тканині. В позапухлинній «умовно нормальній тканині» при фолікулярних пухлинах тироцити проявляли негативну реакцію з антитілами до галектину-3, але з боку компонентів стромати мала місце локальна на рівні 1/2+ помірно позитивна реакція. Позитивну реакцію проявляли також поодинокі макрофаги і плазмоцитарні клітини, які визначалися в тканині з ознаками тиреоїдиту. Між тим, лімфоїдні інфільтрати були негативні до галектину-3.

В клітинах пухлин у переважній більшості випадків реакція також була негативною. Слід підкреслити, що на відміну від нормальної тиреоїдної тканини, стромальні компоненти фолікулярних аденом і фолікулярних карцином (ендотелій, фібробласти) проявляли високо позитивну реакцію до галектину-3 на рівні 3/4+ за розповсюдженістю і 3/4+ за інтенсивністю. Також інтенсивно забарвлювалась цитоплазма макрофагів і плазмоцитарних клітин (мал. 3.1-3.3, табл. 3.1-3.4).

Таблиця 3.1. Співвідношення реакції з антитілами до галектину-3 за розповсюдженістю та інтенсивністю в клітинах фолікулярних аденом без жодних ознак малігнізації в залежності від гістологічної будови пухлини

Фолікулярні аденоми (ФА)	Галектин-3							
	Розповсюдженість реакції				Інтенсивність реакції			
	1/2+		3/4+		1/2+		3/4+	
	п	%	п	%	п	%	п	%
Нормо-мікрофолікулярні (4)	–	–	–	–	–	–	–	–
Мікрофолікулярно-солідні (8)	–	–	–	–	–	–	–	–
Оксифільноклітинні (8)	4	50,0	1	12,5	5	62,5	–	–
Всього (20)	4	20,0	1	5,0	5	25,0	–	–

Таблиця 3.2. Співвідношення реакції з антитілами до галектину-3 за розповсюдженістю і інтенсивністю в клітинах фолікулярних аденом з локальними змінами, підозрілими щодо папілярної карциноми в залежності від гістологічної будови пухлини

Фолікулярні аденоми (WDT UMP)	Галектин-3							
	Розповсюдженість реакції				Інтенсивність реакції			
	1/2+		3/4+		1/2+		3/4+	
	п	%	п	%	п	%	п	%
Нормо-мікрофолікулярні (5)	1	20,0	–	–	1	20,0	–	–
Мікрофолікулярно-солідні (10)	2	20,0	–	–	2	20,0	–	–
Оксифільноклітинні (3)	1		1		2		–	–
Всього (18)	4	22,2	1	5,6	5	27,8	–	–

Таблиця 3.3. Співвідношення реакції з антитілами до галектину-3 за розповсюдженістю і інтенсивністю в клітинах фолікулярних аденом з локальними змінами, підозрілими щодо фолікулярної карциноми в залежності від гістологічної будови пухлини

Фолікулярні аденоми (FT UMP)	Галектин-3							
	Розповсюдженість реакції				Інтенсивність реакції			
	1/2+		3/4+		1/2+		3/4+	
	п	%	п	%	п	%	п	%
Нормо-мікрофолікулярні (4)	–	–	–	–	–	–	–	–
Мікрофолікулярно-солідні (7)	–	–	–	–	–	–	–	–
Оксифільноклітинні (2)	1		1	–	2		–	–
Всього (13)	1	7,7	1	7,7	2	15,4	–	–

Таблиця 3.4. Співвідношення реакції з антитілами до галектину-3 за розповсюдженістю і інтенсивністю в клітинах фолікулярних карцином в залежності від гістологічної будови пухлини

Фолікулярні аденоми (FC)	Галектин-3							
	Розповсюдженість реакції				Інтенсивність реакції			
	1/2+		3/4+		1/2+		3/4+	
	п	%	п	%	п	%	п	%
Нормо-мікрофолікулярні (8)	5	62,5	–	–	5	62,5	–	–
Мікрофолікулярно-солідні (16)	5	31,3	–	–	5	31,3	–	–
Оксифільноклітинні (2)	–	–	2		2		–	–
Всього (26)	10	38,5	2	7,7	12	46,2	–	–

З наведених таблиць і малюнків випливає, що у більшості випадків фолікулярних аденом і фолікулярних карцином імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 була негативною у клітинах пухлин (39 з 51 випадку фолікулярних аденом в цілому чи 76,5%, і 14 з 26 випадків фолікулярних карцином чи 53,8%). Звертає увагу дещо нижчий відсоток негативних випадків у групі фолікулярних карцином у порівнянні з фолікулярними аденомами, але відмінності показників не є вірогідними ($P > 0,05$).

Серед фолікулярних аденом випадки з позитивною реакцією клітин пухлин до антитіл з галектином-3 можна бачити в кожній підгрупі, як при їхньому розподілі за наявністю локальних ознак, підозрілих щодо малігнізації, так і при розподілі за гістологічною будовою (табл. 3.1-3.3).

Найменший відсоток позитивних випадків виявлявся у підгрупі FT UMP (10,0%) і був приблизно однаковим у підгрупах FA і WDT UMP (25,0% і 27,8%, відповідно).

Розподіл фолікулярних аденом за гістологічною будовою дозволив більш детально проаналізувати позитивні випадки. Серед нормо-мікрофолікулярних аденом імунопозитивні клітини визначалися лише в одному випадку WDT UMP і характеризувалися локальною слабкою дифузною ядерно-цитоплазматичною реакцією на рівні 1+ в ділянках папілярної гіперплазії епітелію поблизу кістозних осередків. Частіш за все, помірно інтенсивна і помірно розповсюджена дифузна цитоплазматична позитивна реакція визначалася у оксифільноклітинних аденомах: 9 випадків серед 13 оксифільноклітинних аденом у всіх підгрупах чи 69,2% (мал. 3.4).

Особливої уваги заслуговують 2 випадки мікрофолікулярно-солідної будови у підгрупі WDT UMP, які були визначені як складні випадки при патоморфологічному аналізі з наявністю поодиноких ділянок з окремими ознаками, притаманними папілярній карциномі (збільшені, просвітлені ядра, поодинокі борозенки). Саме в цих ділянках визначалася слабо позитивна реакція з антитілами до галектину-3 (мал. 3.5).

Між тим, виявлена слабка позитивна реакція була недостатньою для зміни основного діагнозу, що співпадає з позицією міжнародної групи експертів-патологів [17] щодо класифікації подібних пухлин як доброякісних за характером процесу.

У групі фолікулярних карцином різної гістологічної будови позитивні випадки визначалися частіше, ніж при фолікулярній аденомі, але широко розповсюджена слабка за інтенсивністю реакція мала місце, знов-таки, лише в оксифільноклітинних пухлинах (табл. 3.4).

Таким чином, більшість фолікулярних аденом (76,5%) і більш ніж половина фолікулярних карцином (53,8%), досліджених за допомогою імуногістохімічної реакції з антитілами до галектину-3, проявляли негативну реакцію, однак, нижчий відсоток негативних випадків серед фолікулярних карцином потребує подальших спостережень.

Більшість оксифільноклітинних пухлин (9 з 13 фолікулярних аденом чи 69,2% і 2 з 2 фолікулярних карцином) мали ознаки помірно чи широко розповсюдженої слабо інтенсивної реакції, що свідчить за можливість експресії галектину-3 у таких пухлинах незалежно від доброякісності чи злоякісності процесу.

4. Імуногістохімічне дослідження експресії галектину-3 у папілярних карциномах

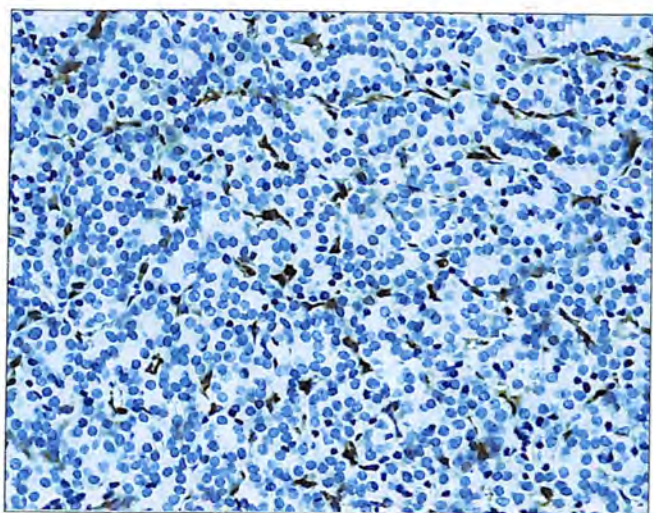
В «умовно нормальній» тиреоїдній тканині при папілярній карциномі спостерігалась така ж сама картина, як при фолікулярних пухлинах. Клітини тиреоїдного епітелію проявляли негативну реакцію з антитілами до галектину-3, але з боку компонентів строми мала місце локальна на рівні 1/2+ помірно позитивна реакція. Позитивну реакцію проявляли також поодинокі макрофаги і плазмоцитарні клітини, які визначалися в тканині з ознаками тиреоїдиту, але лімфоїдні інфільтрати були негативні до галектину-3.

Однак на відміну від фолікулярних пухлин, в усіх випадках папілярної карциноми, незалежно від їхньої гістологічної будови, простежувалась інтенсивно позитивна реакція з антитілами до галектину-3 (мал. 4.1-4.3, табл. 4.1).

Таблиця 4.1. Співвідношення реакції з антитілами до галектину-3 за розповсюдженістю і інтенсивністю в клітинах папілярних карцином в залежності від гістологічної будови пухлини

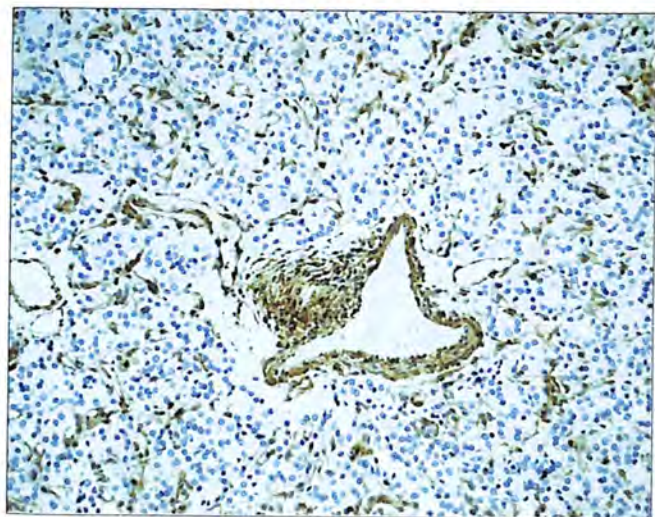
Гістологічний підтип чи варіант	Галектин-3							
	Розповсюдженість реакції				Інтенсивність реакції			
	1/2+		3/4+		1/2+		3/4+	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Типовий папілярний (8)	—	—	8	100	—	—	8	100
Фолікулярний (8)	3	37,5	5	62,5	—	—	8	100
Солідний (4)	—	—	4	100	—	—	4	100
<i>Змішаний (29)</i>	<i>4</i>	<i>13,8</i>	<i>25</i>	<i>86,2</i>	—	—	<i>29</i>	<i>100</i>
Папілярно-фолікулярний (7)	—	—	7	100	—	—	7	100
Папілярно-солідний (9)	—	—	9	100	—	—	9	100
Солідно-фолікулярний (10)	4	40,0	6	60,0	—	—	10	100
Пап.-фол.-солідний (2)	—	—	2		—	—	2	
Дифузно-склерозуючий (1)	—	—	1		—	—	1	
Всього: 49 випадків	7	14,3	42	85,7	—	—	49	100

Крім того, у 85,7% досліджених випадків така реакція була широко розповсюдженою і лише у 7 з 49 випадків (14,3%) за умов фолікулярної і солідно-фолікулярної будови пухлини мала місце локальна реакція



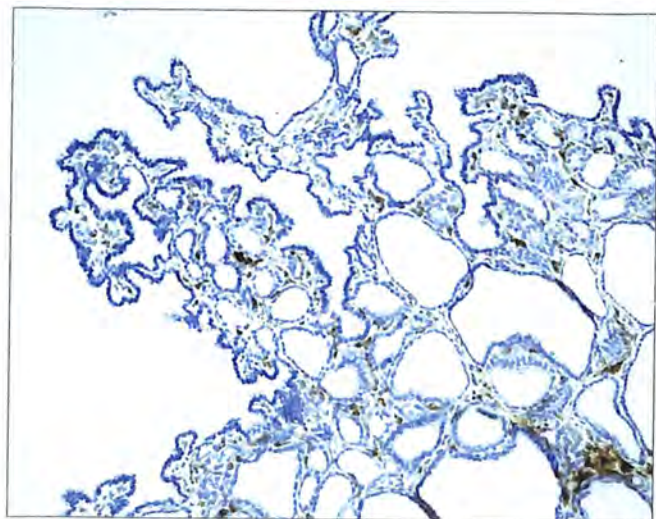
Мал. 3.1. Фолікулярна аденома мікрофолікулярно-солідної будови.

Негативна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини і позитивна – з боку стромальних компонентів.



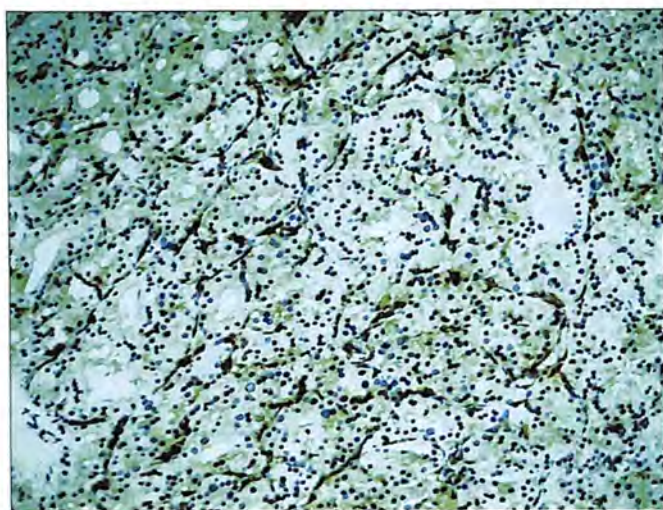
Мал. 3.2. Фолікулярна аденома мікрофолікулярно-солідної будови.

Негативна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини і позитивна – з боку стромальних компонентів.



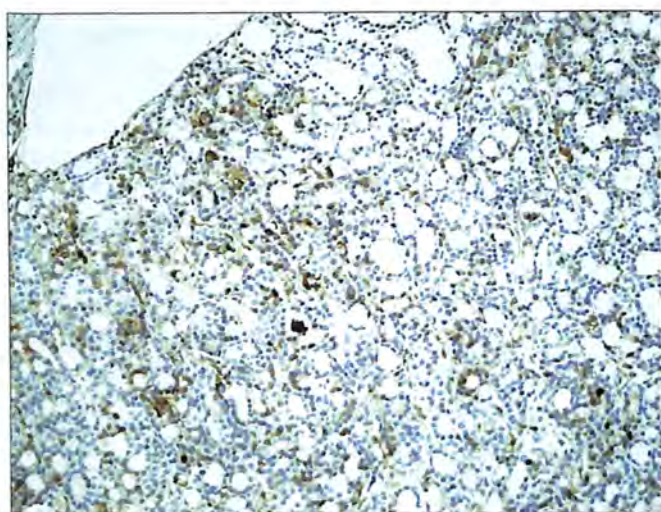
Мал. 3.3. Фолікулярна аденома з ділянками папілярної гіперплазії.

Негативна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини і позитивна – з боку стромальних компонентів.



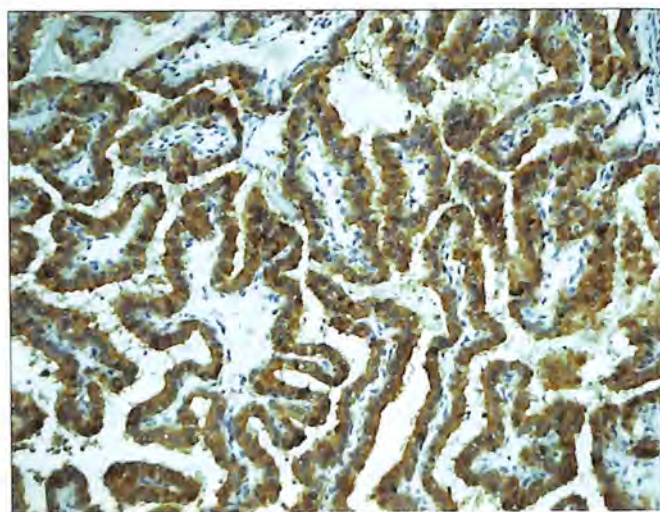
Мал. 3.4. Фолікулярна аденома мікрофолікулярно-солідної будови.

Широко розповсюджена слабо позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини і високо позитивна – з боку стромальних компонентів.



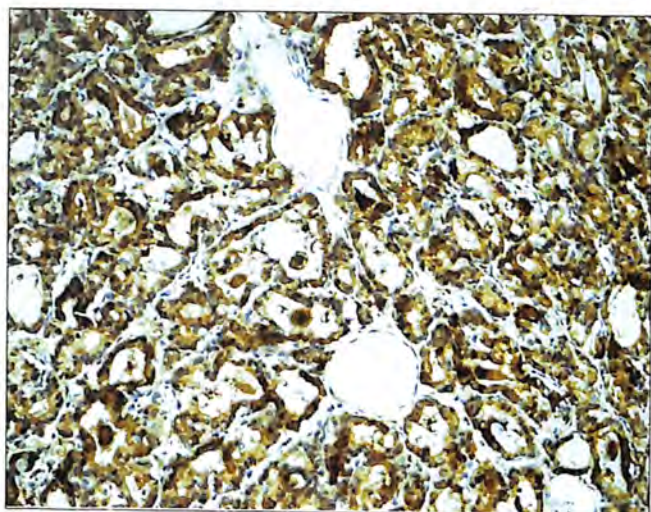
Мал. 3.5. Фолікулярна аденома (WDT UMP) мікрофолікулярно-солідної будови.

Локальна слабо позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини і високо позитивна – з боку стромальних компонентів.



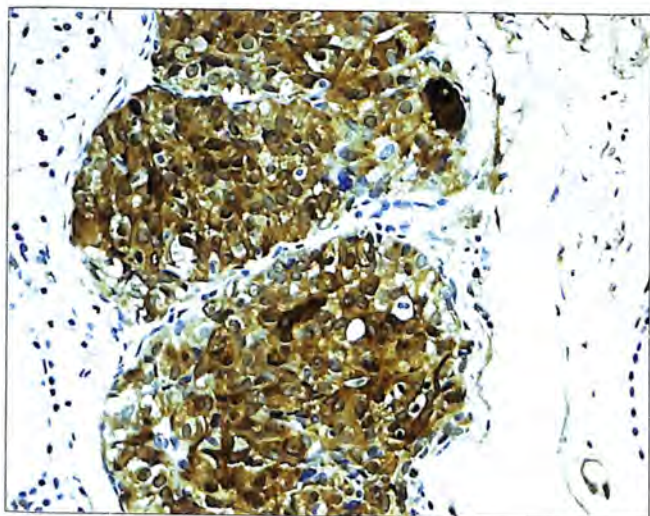
Мал. 4.1. Папілярна карцинома, типовий папілярний варіант.

Широко розповсюджена інтенсивно позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини. Реакція стромальних компонентів – негативна.



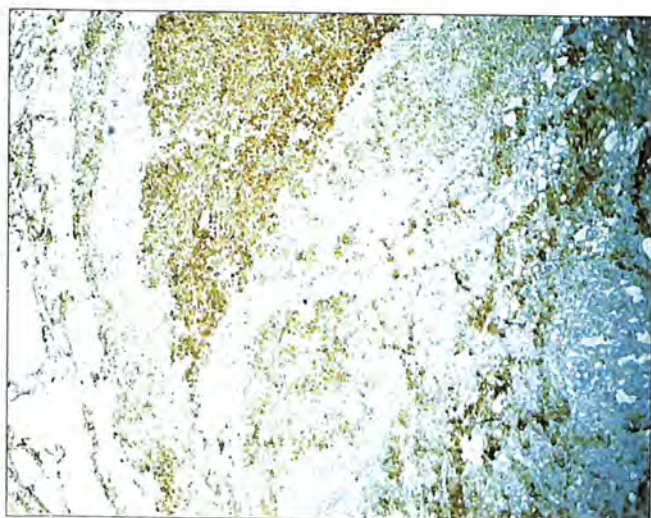
Мал. 4.2. Папілярна карцинома, фолікулярний варіант.

Широко розповсюджена інтенсивно позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини. Реакція стромальних компонентів – негативна.



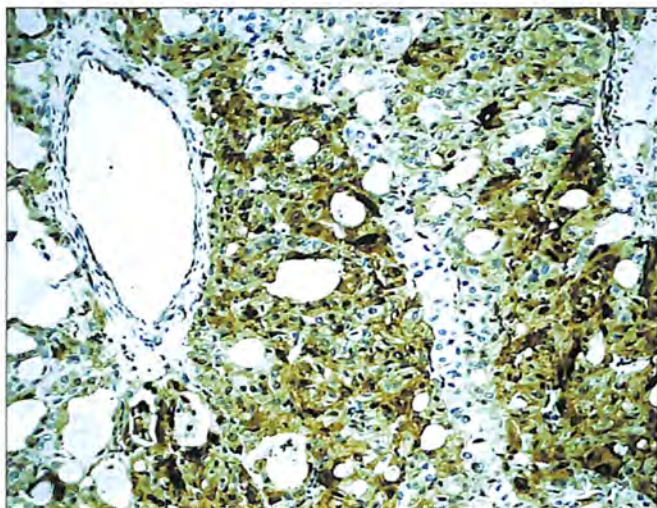
Мал. 4.3. Папілярна карцинома, солідний варіант.

Широко розповсюджена інтенсивно позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини. Реакція стромальних компонентів – негативна.



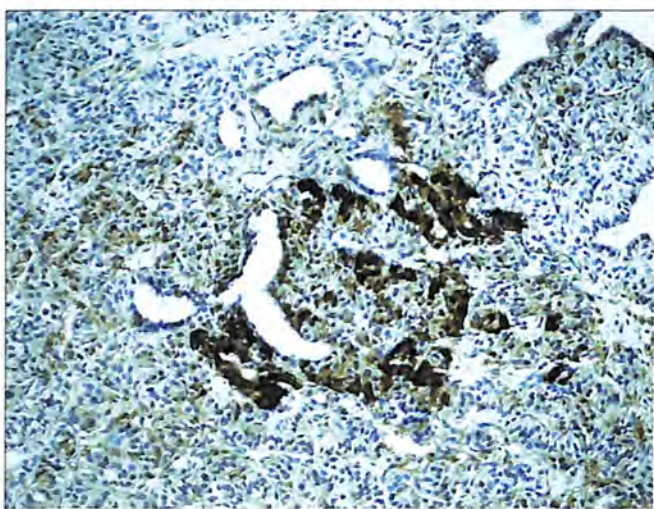
Мал.4.4. Інкапсульована папілярна карцинома, солідно-фолікулярний варіант.

Локальна інтенсивно позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини. Реакція стромальних компонентів – негативна.



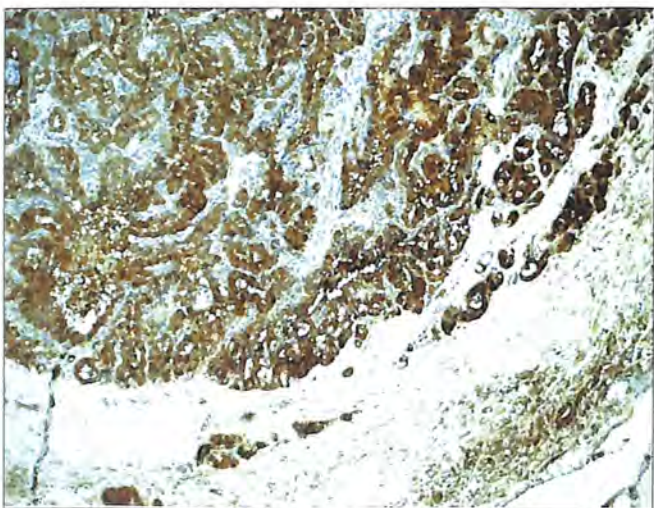
Мал. 4.5. Інкапсульована папілярна карцинома, солідно-фолікулярний варіант.

Локальна інтенсивно позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини. Реакція стромальних компонентів – негативна.



Мал. 4.6. Інкапсульована папілярна карцинома, солідно-фолікулярний варіант.

Локальна інтенсивно позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини. Реакція стромальних компонентів – негативна.



Мал. 4.7. Папілярна інкапсульована мікрокарцинома, папілярний варіант.

Широко розповсюджена, інтенсивно позитивна імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 у клітинах пухлини. Реакція стромальних компонентів – негативна.

з антитілами до галектину-3. Інтенсивність реакції у 100% випадків була високою і складала 3/4+.

Ми вже зазначали, що проведений патоморфологічний аналіз досліджених карцином за наявністю капсули і інвазивними властивостями дозволив віднести повністю інкапсульовані пухлини (ППП) до мінімально інвазивних, частково інкапсульовані (ЧІП) – до інвазивних, а неінкапсульовані – до широко інвазивних пухлин (розд. 2, табл. 2.3).

Ми провели також аналіз реакції з антитілами до галектину-3 при подібному розподілі пухлин (табл. 4.2).

Таблиця 4.2. Співвідношення реакції з антитілами до галектину-3 за розповсюдженістю і інтенсивністю в клітинах папілярних карцином в залежності від наявності капсули та інвазивних властивостей пухлини

Наявність капсули та інвазивних властивостей	Галектин-3							
	Розповсюдженість реакції				Інтенсивність реакції			
	1/2+		3/4+		1/2+		3/4+	
	n	%	n	%	n	%	n	%
ППП мінімально інвазивні (10)	6	60,0	4	40,0	–	–	10	100
ЧІП інвазивні (14)	1	7,1	13	92,9	–	–	14	100
НІП широко інвазивні (25)	–	–	25	100	–	–	25	100

Виявилося, що локальний характер реакція на галектин-3 мала тільки за умов наявності капсули, причому в 6 з 7 випадків (85,7%) наявності повної капсули і мінімальних інвазивних властивостей (мал. 4.4-4.6).

Але, слід ще раз звернути увагу, що на відміну від фолікулярних аденом, інтенсивність реакції в усіх випадках папілярної карциноми, незалежно від гістологічної будови чи інвазивних властивостей, була на рівні 3/4+ (мал. 6.6-6.11).

Ми не проводили спеціального аналізу експресії галектину-3 від розміру пухлини, але інкапсульована мінімально інвазивна папілярна мікрокарцинома типової папілярної будови розміром 8 мм мала також широко розповсюджену і високо інтенсивну реакцію (мал. 4.7).

Дуже важливо підкреслити, що на відміну від фолікулярних аденом, стромальні компоненти папілярних карцином (ендотелій, фібробласти) в жодному разі не проявляли позитивної реакції до галектину-3 (мал. 4.1-4.7). Забарвленою можна було бачити лише цитоплазму поодиноких макрофагів і плазмоцитарних клітин.

Тобто, за умов мінімально інвазивної інкапсульованої папілярної карциноми 60% випадків (пухлини фолікулярної чи фолікулярно-солідної будови) проявляли локальну, але високо інтенсивну реакцію з антитілами до галектину-3, знов-таки при негативній реакції строми, що відрізняє такі пухлини від фолікулярних новоутворень.

Таким чином, імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 відрізнялась при папілярній карциномі будь-якої гістологічної будови і інвазивних властивостей від такої при фолікулярних пухлинах високою інтенсивністю і в переважній більшості випадків широкою розповсюдженістю з боку цитоплазми клітин на тлі негативної реакції з боку строми пухлини (ендотелій, фібробласти). Це надає можливість рекомендувати використання антитіл до галектину-3 у диференціальній діагностиці папілярної карциноми, навіть у найскладніших для патолога випадках.

Висновки

1. Серед досліджених фолікулярних пухлин, як доброякісних (фолікулярні аденоми), так і злоякісних (фолікулярні карциноми) переважали пухлини мікрофолікулярно-солідної будови, серед яких 34,2% і 11,1%, відповідно, були оксифільноклітинними. Серед папілярних карцином пухлини змішаної гістологічної будови становили 59,2%, типової папілярної будови – 16,3%, фолікулярної – 16,3% та солідної – 8,2% випадків.

2. Переважна частка фолікулярних аденом (76,5%) і фолікулярних карцином (53,8%), досліджених за допомогою імуногістохімічної реакції з антитілами до галектину-3, проявляли негативну реакцію з боку клітин на тлі виражено позитивної реакції з боку строми пухлин (ендотелій, фібробласти). У клітинах 23,5% випадків фолікулярних аденом і 46,2% фолікулярних карцином спостерігалася локальна слабо позитивна цитоплазматична реакція до галектину-3.

3. У підгрупі оксифільноклітинних пухлин (у 9 з 13 фолікулярних аденом і у 2 з 2 фолікулярних карцином) простежувались ознаки помірно чи широко розповсюдженої, слабо позитивної цитоплазматичної реакції до галектину-3, компоненти строми пухлин були також позитивні до цього лектину.

4. У клітинах папілярних карцином будь-якої гістологічної будови і інвазивних властивостей імуногістохімічна реакція з антитілами до галектину-3 відрізнялась від такої у клітинах фолікулярних пухлин високою інтенсивністю у 100% випадків і широкою розповсюдженістю у переважній більшості випадків на тлі негативної реакції з боку строми пухлини (ендотелій, фібробласти).

5. Застосування імуногістохімічної реакції з антитілами до галектину-3 є доцільним у диференціальній діагностиці папілярної карциноми, але тільки за наявності високо інтенсивної реакції (на рівні 3+/4+) з боку клітин пухлини і негативної реакції з боку компонентів строми.

Подяка

Автори висловлюють подяку за додаткову верифікацію діагнозів міжнародній групі експертів-патологів за проектом банку тканин післячорнобильських тиреоїдних пухлин, а також менеджеру проекту професору Дж.Томас за надання відповідних реактивів і можливість виконати наведене дослідження.

Література

1. Inohara H., Honjo Y., Yoshii T. et al. Expression of galectin-3 in fine-needle aspirates as a diagnostic marker differentiating benign from malignant thyroid neoplasms // *Cancer*. 1999, **85**, 2475-2484.
2. Saggiorato E., Cappia S., De Giuli P. et al. Galectin-3 as a presurgical immunocytochemical marker of minimally invasive follicular thyroid carcinoma // *JCEM*. 2001, **86**, 5152-5158.
3. Bernet V.J., Anderson J., Vaishnav Y. et al. Determination of galectin-3 messenger ribonucleic acid overexpression in papillary thyroid cancer by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction // *JCEM*. 2002, **87**, 4792-4796.
4. Giannini R., Faviana P., Cavinato T. et al. Galectin-3 and oncofetal fibronectin expression in thyroid neoplasia as assessed by reverse transcription-polymerase chain reaction and immunohistochemistry in cytologic and pathologic specimens // *Thyroid*. 2003, **13**, 765-770.
5. Barondes S.H., Cooper D.N., Gitt M.A. and Leffler H. Galectins: structure and function of a large family of animal lectins // *J. Biol. Chem.* 1994, **269**, 20807-20810.
6. Herrmann J., Turck C.W., Atchison R.E. et al. Primary structure of the soluble lactose binding lectin L-29 from rat and dog and interaction of its non-collagenous proline-, glycine-, tyrosine-rich sequence with bacterial and tissue collagenase // *J. Biol. Chem.* 1993, **268**, 26704-26711.
7. Inohara H., Raz A. Functional evidence that cell surface galectin-3 mediates homotypic cell adhesion // *Cancer Res*. 1995, **55**, 3267-3271.

8. Inohara H., Akahani S., Kohts K. and Raz A. Interactions between galectin-3 and Mac-2-binding protein mediate cell-cell adhesion // *Cancer Res.* 1996, **56**, 4530-4534.
9. Dagher S.F., Wang J.L. and Patterson R.J. Identification of galectin-3 as a factor in pre-mRNA splicing // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995, **92**, 1213-1217.
10. Akahani S., Nangia-Makker P., Inohara H. et al. Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family // *Cancer Res.* 1997, **57**, 5272-5276.
11. Xu X.C., El-Naggar A.K. and Lotan R. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors; potential diagnostic implications // *Am. J. Pathol.* 1995, **147**, 815-822.
12. Coli A., Bigotti G., Zucchetti F. et al. Galectin-3, a marker of well-differentiated thyroid carcinoma, is expressed in thyroid nodules with cytological atypia // *Histopathology.* 2002, **40**, 80-87.
13. Martins L., Natsuo S.E., Ebina K.N. et al. Galectin-3 messenger ribonucleic acid and protein are expressed in benign thyroid tumours // *JCEM.* 2002, **87**, 4806-4810.
14. Aron M., Kapila K., Verma K. Utility of galectin 3 expression in thyroid aspirates as a diagnostic marker in differentiating benign from malignant thyroid neoplasms // *Indian J. Pathol. Microbiol.* 2006, **49**, 376-380.
15. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. WHO classification of tumours / R. DeLellis, R. Lloyd, Ph. Heitz, Ch. Eng (eds). IARC Press, Lyon, 2004. 320 p.
16. Thomas G.A., Williams E.D., Becker D.V. et al. Thyroid tumor banks // *Science.* 2000, **289**, N 29, 2945-2948.
17. Williams E.D., Abrosimov A., Bogdanova T. et al. Guest editorial: Two proposal regarding the terminology of thyroid tumors // *Intern. J. Surgical Pathology.* 2000, **8**, 181-183.
18. Molecular, biological characterization of childhood thyroid cancer / E.D Williams, N.D Tronko (eds.). Brussels-Luxembourg, ECSC-EC-EAEC, 1996. 105 p.
19. Powell N.G., Stephens L.A., Jeremiah S.J. et al. Determination on galectin-3 levels and localisation in thyroid tumours by realtime PCR and immunocytochemistry / ETA meeting 2003, 18-22 October, Edinburgh, Scotland, UK, 37.
20. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М: Медицина, 1975. 295 с.
21. Богданова Т.И., Козырицкий В.Г., Тронько Н.Д. Патология щитовидной железы у детей: Атлас. К.: Чернобыльинтеринформ, 2000. 160 с.
22. Богданова Т.И., Воскобойник Л.Г., Журнаджи Л.Ю. Імуногістохімічне дослідження експресії тироглобуліну у фолікулярних аденомах щитовидної залози дітей і підлітків // *Патологія.* 2005, **2**, 24-28.
23. Тронько Н.Д., Богданова Т.И. Рак щитовидной железы у детей Украины (Последствия Чернобыльской катастрофы). К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. 200 с.
24. Tronko M.D., Bogdanova T.I., Komissarenko I.V. et al. Thyroid carcinoma in children and adolescents in Ukraine after the Chernobyl accident: statistical data and clinicomorphologic characteristics // *Cancer.* 1999, **86**, 149-156.
25. 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.
26. 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.
27. Bogdanova T., Zurnadzy L., Greenebaum E. et al. A cohort study of thyroid cancer and other thyroid disease following the Chornobyl accident: pathology analysis of thyroid cancer cases in Ukraine detected during first screening (1998-2000) // *Cancer.* 2006, **107**, 2559-2566.

Исследование экспрессии галектина-3 в различных типах опухолей щитовидной железы. Сообщение I: Анализ патоморфологических и иммуногистохимических данных
 Л.Ю.Зурнаджи, Л.Г.Воскобойник, Н.Д.Тронько, В.М.Пушкарев, Е.И.Ковзун,
 С.В.Бурко, Н.М.Костюченко, Т.И.Богданова
Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев, Украина

Проведены патоморфологические и иммуногистохимические исследования в 51 случае фолликулярной аденомы, 26 случаях фолликулярной карциномы и 49 случаях папиллярной карциномы. Установлено, что среди фолликулярных опухолей, как доброкачественных (фолликулярных аденом), так и злокачественных (фолликулярных карцином)

преобладали опухоли микрофолликулярно-солидного строения, среди которых 34,2% и 11,1%, соответственно, были оксифильноклеточными. Среди папиллярных карцином опухоли смешанного гистологического строения составляли 59,2%, типичного папиллярного строения – 16,3%, фолликулярного – 16,3% и солидного – 8,2% случаев. Анализ наличия или отсутствия капсулы и инвазивных свойств опухолей показал, что инкапсулированные папиллярные карциномы в большинстве случаев характеризовались признаками экстракapsулярного роста, сосудистой инвазии и метастатического поражения регионарных лимфоузлов, то есть были широко инвазивными. Частично инкапсулированные папиллярные карциномы во всех случаях имели признаки инвазивного роста в прилежащую тиреоидную ткань, в части случаев – признаки сосудистой инвазии и регионарного метастазирования. Такие опухоли были охарактеризованы как инвазивные. Полностью инкапсулированные папиллярные карциномы приведенной серии ни в одном случае не имели признаков распространения за пределы капсулы опухоли, сосудистой инвазии, метастатического поражения лимфоузлов и были отнесены к минимально инвазивным. Преобладающая часть фолликулярных аденом (76,5%) и фолликулярных карцином (53,8%), исследованных с помощью иммуногистохимической реакции с антителами к галектину-3, проявляли негативную реакцию в клетках опухоли на фоне позитивной реакции со стороны стромы (эндотелий, фибробласты). В клетках 23,5% случаев фолликулярных аденом и 46,2% фолликулярных карцином наблюдалась очаговая слабо позитивная цитоплазматическая реакция. Иммуногистохимическая реакция с антителами к галектину-3 в клетках папиллярных карцином любого гистологического строения и инвазивных свойств отличалась от такой в клетках фолликулярных опухолей высокой интенсивностью в 100% случаев и широкой распространенностью в большинстве случаев на фоне негативной реакции со стороны стромы (эндотелий, фибробласты). Выявленные отличия позволяют считать возможным использование иммуногистохимической реакции с антителами к галектину-3 в дифференциальной диагностике папиллярной карциномы.

Ключевые слова: щитовидная железа, папиллярная карцинома, фолликулярная карцинома, фолликулярная аденома, морфология, иммуногистохимия, галектин-3.

Galectin-3 expression in different types of thyroid tumours.

1st report: Pathological and immunohistochemical analysis

L.Yu.Zurnadzhy, L.G.Voskoboynyk, M.D.Trunko, V.M.Pushkarev, O.I.Kovzun, S.V.Burko, N.M.Kostyuchenko, T.I.Bogdanova

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

51 follicular adenomas, 26 follicular carcinomas, and 49 papillary carcinomas have been studied. Most of the follicular tumours: benign (follicular adenomas) and malignant (follicular carcinomas), were represented by microfollicular-solid structure. Out of last ones 34.2% and 11.1%, respectively, were oxyphilic cells tumours. Out of papillary carcinomas 59.2% of cases were represented by mixed structure, 16.3% – by classic papillary, 16.3% – by follicular, and 8.2% – by solid structure. Analysis of the tumour's capsule presence and invasive properties showed that most of the non-encapsulated papillary carcinomas were characterized by extrathyroid spreading, vascular invasion, lymph nodes metastases, i.e. they were widely invasive. Partly encapsulated papillary carcinomas were characterized by intrathyroid spreading, vascular invasion, and lymph nodes metastases (in some cases). Such tumours were invasive. None of the cases of completely encapsulated papillary carcinomas of this series had signs of extratumour's capsule spreading, vascular invasion or lymph nodes metastases, that is such tumours were minimally invasive. Immunohistochemical study with galectin-3 antibodies showed that 76.5% of follicular adenomas and 53.8% of follicular carcinomas were characterized by negative reaction in tumours cells and positive reaction in stromal components (endothelium, fibroblasts). 23.5% of follicular adenomas and 46.2% of follicular carcinomas revealed weakly positive focal cytoplasmic staining. All papillary carcinomas with any structure and invasive properties showed strong intensive cytoplasmic immunohistochemical reaction with galectin-3 antibodies. Most of the cases were characterized by wide density of this reaction. Stromal components of papillary carcinomas (endothelium, fibroblasts) were negative in all the cases studied. The differences revealed by the study suggest the possibility of using immunohistochemical reaction with galectin-3 antibodies in differential diagnosis of papillary carcinomas.

Key words: thyroid gland, papillary carcinoma, follicular carcinoma, follicular adenoma, pathology, immunohistochemistry, galectin-3.

(Надійшла 25.12. 2006)

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ ГАЛЕКТИНУ-3 В РІЗНИХ ТИПАХ ПУХЛИН ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ. ПОВІДОМЛЕННЯ 2: АНАЛІЗ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНИХ ДАНИХ

В.М. Пушкар'єв, О.І. Ковзун, Н.М. Костюченко, Л.Г. Воскобойник,
Л.Ю. Зурнаджи, Т.І. Богданова, М.Д. Тронько*

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

За допомогою зворотної транскрипції-полімеразної ланцюгової реакції досліджено експресію мРНК галектину-3 у 39 випадках фолікулярної аденоми, 13 – фолікулярної карциноми та 41 – папілярної карциноми. З тканини тиреоїдних пухлин та з позапухлинної, «умовно нормальної», тканини щитовидної залози виділено та очищено РНК. Виділену РНК характеризували методом електрофорезу на біочіпах в біоаналізаторі Agilent-2100. Одержані молекулярно-біологічні дані свідчать про вірогідні відмінності у експресії мРНК галектину-3 між нормальною та пухлинною тканинами в трьох типах пухлин щитовидної залози – фолікулярній аденомі, фолікулярній карциномі та папілярній карциномі. Експресія галектину-3 в папілярній карциномі є найбільш вираженою і вірогідно відрізняється від експресії галектину-3 в інших пухлинах щитовидної залози, які досліджувались. Визначення експресії галектину-3 за допомогою зворотної транскрипції-полімеразної ланцюгової реакції не може вважатись достатньо надійним і самостійним методом диференціальної діагностики пухлин щитовидної залози. Використання цього методу може бути рекомендовано в якості допоміжного до імуногістохімічних досліджень в складних для патоморфологічної діагностики випадках.

Ключові слова: щитовидна залоза, папілярна карцинома, фолікулярна карцинома, фолікулярна аденома, полімеразна ланцюгова реакція, галектин-3.

В попередньому повідомленні ми вже відмічали, що одним з найперспективніших маркерів тиреоїдних карцином вважається галектин-3 [1]. Лектини – це клас білків, що зв'язують вуглеводи і мають спорідненість до специфічних олігосахаридів [2]. Вони підрозділяються на 4 групи: лектини С-типу, Р-типу, пентаксини і галектини. Галектини – зростаюча група білків, що здатні зв'язувати β -галактозид [3]. Зараз налічують 14 членів сімейства галектинів. Галектини беруть участь у різноманітних процесах – ембріогенезі, адгезії та проліферації клітин, апоптозних процесах, регуляції сплайсингу мРНК та імуномодуляції. Більше того, галектини відіграють важливу роль при таких патологічних станах, як автоімунні захворювання, алергічні реакції, запальні процеси, поширення злоякісних пухлин, атеросклероз, ускладнення при діабеті [3].

Кожен галектин має специфічну картину експресії в різних клітинах і тканинах. Галектин-3 виявляється в активованих макрофагах, в епітелії дихального тракту, в нирках та інших тканинах і клітинах [4]. Крім того, галектин-3 виявляє патологічну експресію в багатьох типах злоякісних пухлин і, в першу чергу, в карциномах щитовидної залози (ЩЗ).

Хоча галектин-3 переважно локалізується в цитоплазмі, він виявляється також в ядрах, на поверхні клітин та в позаклітинному середовищі, що свідчить про багатофункціональність цієї сполуки. Розподіл галектину-3 між ядром і цитоплазмою може характеризувати проліферативний стан

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

клітин [5]. Напевно, однією з найважливіших є антиапоптозна функція галектину-3. Клітини з надекспресією галектину-3 демонструють значну стійкість проти таких апоптозних стимулів, як стауроспорин, фактор некрозу пухлин, іонізуюча радіація та оксид азоту. Пояснюють це тим, що галектин-3 за своєю структурою подібний до супресора апоптозу, білка Bcl-2 [6].

Незважаючи на певні застереження щодо використання галектину-3 для діагностики пухлин ЩЗ, більшість вчених вважають, що експресія цього лектину в цитоплазмі фенотипічно пов'язана зі злоякісною трансформацією і метастатичним потенціалом тканини. Так, пригнічення експресії галектину-3 за допомогою антисенс-РНК в папілярній карциномі ЩЗ призводить до значної редукції фенотипу малігнізації [7]. Можливо, трансформуюча функція галектину-3 пов'язана з його антиапоптозними властивостями. Нещодавно було показано, що надекспресія галектину-3 в нормальних фолікулярних клітинах ЩЗ, трансфекованих кДНК галектину-3, призводить до набуття ними фенотипу малігнізації. Крім того, спроба ідентифікувати гени, асоційовані з надекспресією галектину-3 показала, що зростає експресія білка ретинобластоми, ядерного антигену проліферуючих клітин (PCNA) та фактора реплікації С (RCF). Всі ці білки залучені до G1/S-прогресії клітинного циклу [8]. Отже, існує імовірність, що галектин-3 бере участь і у регуляції поділу клітин.

Таким чином, стає очевидним, що подальші дослідження експресії галектину-3 у різних типах пухлин ЩЗ слід проводити у комплексі, застосовувати як імуногістохімічні, так і молекулярно-біологічні методи з кількісною оцінкою експресії мРНК галектину-3 за рахунок використання звичайних – зворотна транскрипція-полімеразна ланцюгова реакція (ЗТ-ПЛР) технологій і, в окремих випадках, кількісної (real-time) ПЛР. Подібний підхід може наблизити нас до об'єктивного визначення відмінностей між доброякісними та злоякісними тиреоїдними пухлинами.

Матеріали і методи дослідження

Досліджено 39 випадків фолікулярної аденоми, 13 – фолікулярної карциноми та 41 – папілярної карциноми, які детально описані у попередньому повідомленні [1]. З тканини тиреоїдних пухлин виділена та очищена РНК. Крім того, РНК виділена також з позапухлинної, «умовно нормальної», тканини ЩЗ.

Для виділення РНК, промарковані згідно з умовами банку післячорнобильських тиреоїдних пухлин [9], зразки «умовно нормальної» (наприклад, UA130N) і пухлинної (наприклад, UA130T) тканин (20-80 мг) гомогенізували в 1 мл TRIzol LS, гомогенат струшували з хлороформом, фази розділяли центрифугуванням (12000 g, 4 °C, 15 хв). РНК осаджували з водної фази ізопропанолом. Осад збирали центрифугуванням (12000 g, 4 °C, 15 хв), двічі промивали 75% етанолом (7500 g, 4 °C, 5 хв), підсушували і розчиняли у воді без рибонуклеаз. Розчин РНК прогрівали при 60 °C протягом 10 хв. Виділену РНК аналізували методом електрофорезу на біочіпах в біоаналізаторі «Agilent» 2100 за методикою, що запропонована фірмою-виробником.

Реакцію зворотної транскрипції проводили (термоциклер – GeneTech фірми «Stuart scientific») в реакційній суміші, що містила: стандартний буфер для ПЛР, 5 мМ хлористого магнію, по 1 мМ всіх дНТФ, інгібітор РНКаз (1 од/мкл), зворотну транскриптазу (2,5 од/мкл), суміш випадкових гексамерів (2,5 мкМ) і 1 мкг екстрагованої РНК. Інкубація в термоциклері проводилась за таких умов: 22 °C – 10 хв, 42 °C – 15 хв, 99 °C – 5 хв, 4 °C – 5 хв.

Реакцію полімеразної ланцюгової реакції проводили (термоциклер Techgene фірми «Techne») в суміші, що містила: стандартний буфер для ПЛР, 2 мМ хлористого магнію, по 1 мМ всіх дНТФ, 5 од/мкл полімерази AmpliTaq Gold, прямий та зворотний праймери по 0,2 мкМ, 5 мкл кДНК, одержаної в результаті реакції зворотної транскрипції. Умови інкубації: 96 °C – 5 хв, 95 °C – 30 с, 60 °C – 30 с, 72 °C – 15 с, а потім температуру знижували до 4 °C. Кількість циклів становила 30.

Реакцію кількісної (real-time) полімеразної ланцюгової реакції проводили за методикою K.J. Rhoden та співавт. [10].

Продукти ПЛР аналізували в агарозному гелі (1,7%), який готували на буфері, що містив: 40 мМ трис-ацетат (pH 8,5), 2 мМ EDTA (ТАЕ-буфер). У гель додавали бромистий етидій до концентрації 1 мкг/мл. Проби готували, змішуючи розчин проби з розчином бромфенолового синього та сахарози (відповідно 0,025% та 45%) на ТАЕ-буфері. Загальний об'єм проби не перевищував 20 мкл. В роботі використовували маркери ДНК – 100-1000 пар основ (п.о.). Тривалість електрофорезу становила 1 год при напрузі 100 мВ. Гелі фотографували в транслюмінаторі, сканували за допомогою програм «Scion Image» та «Photo Capt Mw» і порівнювали інтенсивність смуг ДНК, одержаної шляхом ампліфікації кДНК з умовно нормальної та пухлинної тканин. Електрофорез ДНК кожного зразка робили не менше 3 раз і результати сканування усереднювали.

Реактиви. TRIzol LS – фірми «Invitrogen». Агароза, хлороформ, ізопропанол, трис, ПЛР-буфер, етанол – фірми «Sigma». Реактиви для ЗТ-ПЛР – фірми «Roche».

Статистичну обробку даних проводили за Стьюдентом та з використанням парного t критерію [11].

Результати та їх обговорення

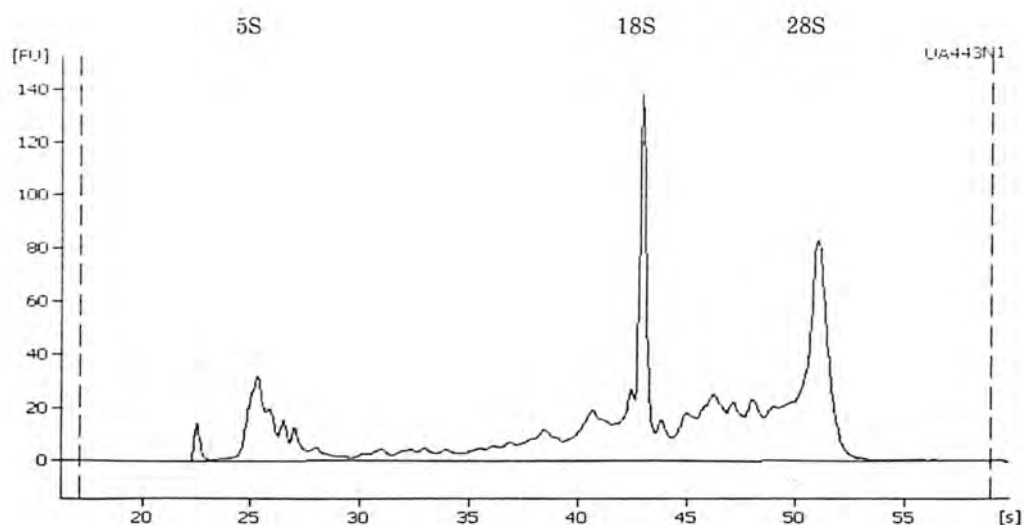
В результаті проведеної роботи були одержані нативні, високоочищені препарати РНК з 17 фолікулярних аденом, 13 фолікулярних аденом з локальними змінами, підозрілими щодо папілярної карциноми (WDT UMP), 9 фолікулярних аденом з локальними змінами, підозрілими щодо фолікулярної карциноми (FT UMP), 17 фолікулярних карцином, 41 папілярної карциноми та з «умовно нормальної» тканини ЩЗ означених випадків. Виділена РНК мала співвідношення A260/A280 в межах 1,85-2,0, що вказує на незначний вміст білка та інших домішок в препаратах РНК.

Якість виділеної РНК попередньо перевіряли за допомогою реакції зворотної транскрипції та полімеразної ланцюгової реакції з PBDG праймерами (ген порфобіліноген-деамінази) (F – 5' TGTCTGGTAACGGCAATGCG 3', R – 5' AACTGTGGGTCATCCTCAGG 3') з розміром амплімерів F/R – 942 п.о. Додатково проводився аналіз нативності, цілісності виділеної РНК методом електрофорезу на біочіпах за допомогою біоаналізатора «Agilent» 2100. Як видно з мал. 1А, Б, одержані препарати РНК характеризуються досить високою нативністю та чистотою. Співвідношення між кількістю 18S та 28S РНК складає в середньому близько 1, а індекс інтегрованості – близько 7, що є хорошим показником, хоча і вказує на деяку деградацію матеріалу.

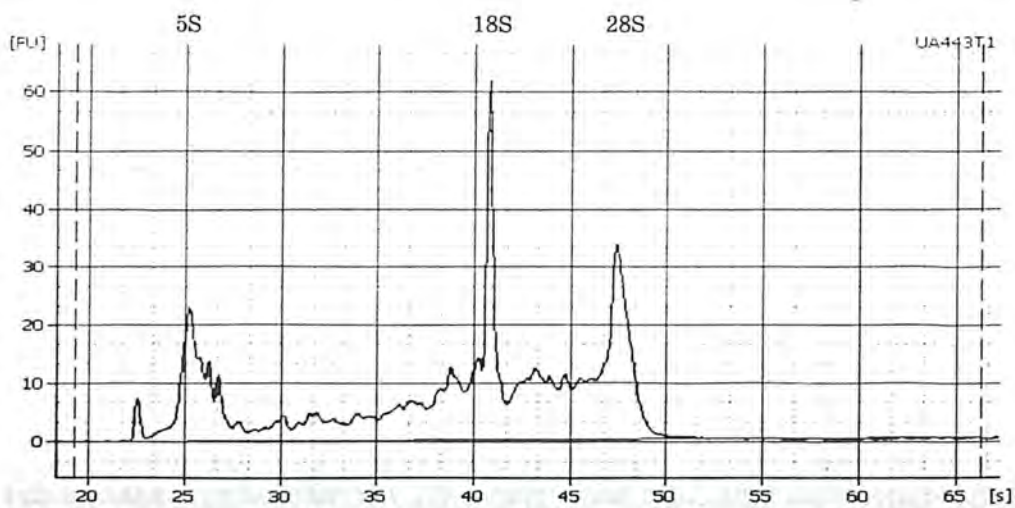
В першій серії дослідів аналізували тканину від хворих з фолікулярною аденомою (мал. 2, табл.). Як видно з мал. 2А, галектин-3 виявляється практично в усіх досліджених зразках, за винятком UA095N1 та UA114N1.

Сканування геля дозволяє оцінити експресію гена кількісно (мал. 2Б). Зазвичай кількість галектину-3 в нормі нижча, ніж в пухлинній тканині від хворих з фолікулярною аденомою. Про це свідчать і усереднені дані (табл.). Хоча різниця між умовною нормою та пухлинною тканинами досягає тільки 27,8%, вона за парним критерієм Стьюдента є вірогідною ($P < 0,01$). Напевно, цей показник відображає експресію галектину-3 в клітинах строми, де галектин-3 виявлявся і за допомогою імуногістохімічних методів [1].

Вивчення експресії галектину-3 в фолікулярних аденомах з локальними змінами, підозрілими щодо папілярної карциноми (WDT UMP), показало, що практично в усіх досліджених випадках, як і у тканині фолікулярної аденоми, кількість мРНК галектину-3 в пухлинах вища, ніж в нормальній тканині (табл.). Проте на відміну від фолікулярної аденоми різниця між експресією галектину-3 в умовно нормальній тканині та пухлинах є невірогідною ($P > 0,05$).



А



Б

Мал. 1. Аналіз РНК методом електрофорезу на біочіпах.

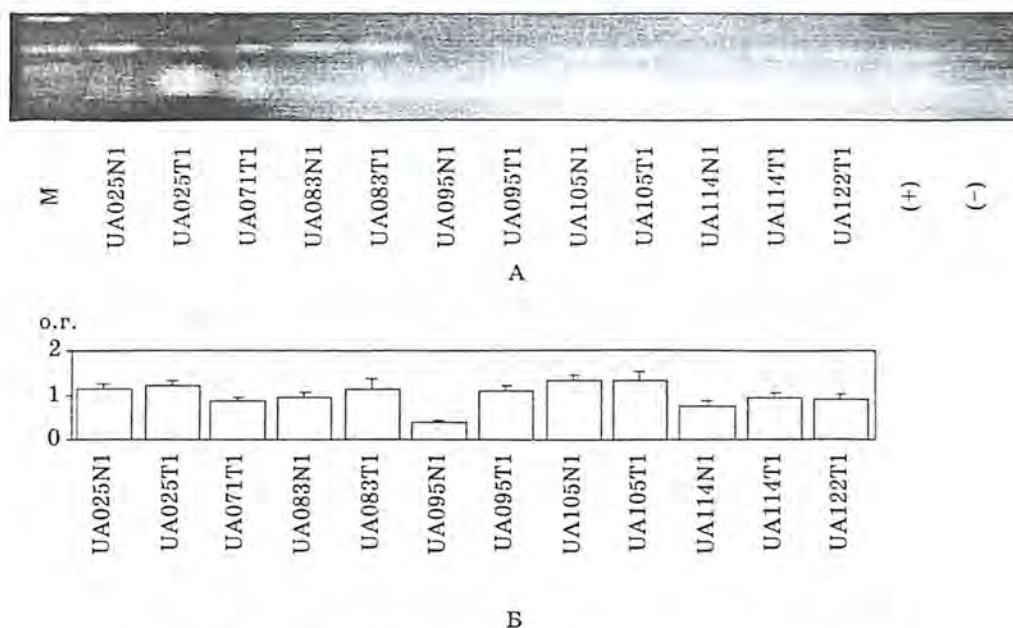
Таблиця. Експресія мРНК галектину-3 в клітинах різних пухлин ЩЗ, визначена методом ЗТ-ПЛР

Тип пухлини	Умов. норма		Пухлина		% над нормою	n	P
	о.г.	m	о.г.	m			
Фолікулярна аденома	2,41	0,43	3,08	0,59	127,8	17	**
Фолікулярна аденома (WDT UMP)	1,96	0,33	2,28	0,34	116,3	13	
Фолікулярна аденома (FT UMP)	2,25	0,49	2,40	0,41	106,7	9	
Фолікулярна карцинома	2,21	0,23	3,05	0,36	138,0	13	**
Папілярна карцинома	3,45	0,24	6,10	0,47	176,8	41	**, ++

Примітка: о.г. – оптична густина смуги ДНК у гелі, умовні одиниці.

** – відмінність від норми за парним t-критерієм вірогідна, $P < 0,01$;

++ – відмінність від рівня експресії галектину-3 в інших пухлинах за критерієм Стьюдента вірогідна, $P < 0,01$.



Мал. 2. Експресія мРНК галектину-3 в деяких зразках тканини хворих фолікулярною аденомою.

А – розділення продуктів полімеразної реакції в агарозному гелі.
 Б – графічне відображення кількості галектину-3 для кожного зразка.
 М – маркер, (+), (-) – позитивний і негативний контролю;
 о.г. – оптична густина смуги ДНК у гелі, умовні одиниці.

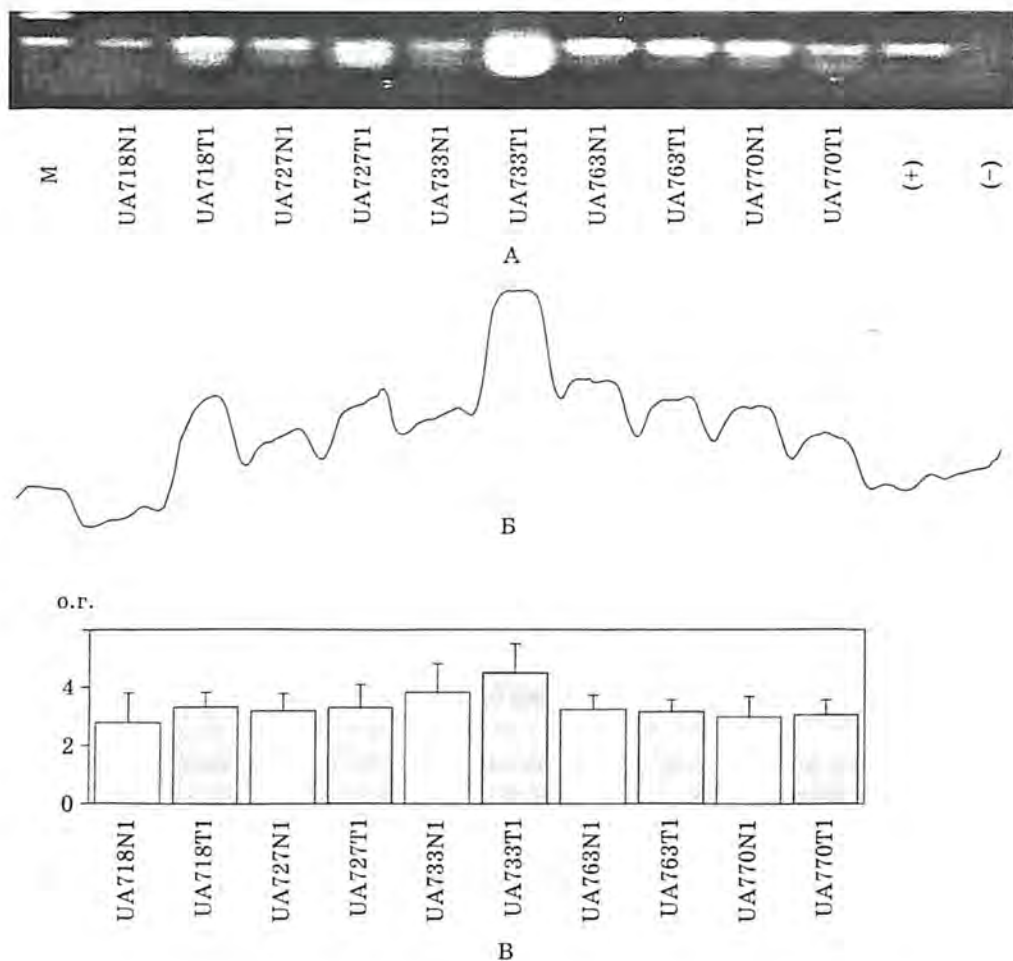
Подібна картина спостерігається і в клітинах FT UMP (табл.). Галектин-3 експресується і в нормальній тканині залози, і в пухлині. Однак вірогідної різниці в експресії між цими тканинами немає. Останнє можна пояснити невеликою кількістю спостережень. Напевно, для пояснення особливостей цих двох підтипів пухлин потрібні будуть додаткові дослідження.

Інші дані були одержані при вивченні пухлинної тканини фолікулярної карциноми у порівнянні з умовно нормальною тканиною (табл.). В деяких зразках фолікулярної карциноми (наприклад, UA733T1) було відмічено надзвичайно високий рівень експресії галектину-3 в пухлинній тканині в порівнянні з нормою (мал. 3А). Це досить цікаве явище, яке потребує додаткових досліджень. Усереднений рівень експресії галектину-3 в пухлинній тканині фолікулярної карциноми був також вірогідно, майже в 1,4 рази, вищим від експресії в умовно нормальній тканині і ця різниця перевищувала аналогічний показник для фолікулярної аденоми. Ці дані добре узгоджуються з результатами проведеного нами імуногістохімічного аналізу [1], згідно з яким відсоток випадків фолікулярних карцином із слабо позитивною реакцією з антитілами до галектину-3 перевищував такий при фолікулярній аденомі (46,2% і 23,5%, відповідно).

Найбільш вираженою різниця між експресією галектину-3 в умовно нормальній тканині та пухлинній була у папілярних карциномах (мал. 4, табл.), що також добре корелює з даними імуногістохімічних досліджень, які продемонстрували високу інтенсивність забарвлення та широке розповсюдження реакції з антитілами до галектину-3 в клітинах папілярних карцином. Середній рівень експресії мРНК лектину в клітинах папілярних карцином був значно вищим, ніж в інших досліджуваних пухлинах ЩЗ (табл.). Різниця

в експресії галектину-3 між пухлинною тканиною папілярної карциноми і умовно нормальною вірогідно відрізнялась від такої для фолікулярної аденоми та карциноми ($P < 0,01$).

Найбільше показовими і надійними є досліді з визначення експресії галектину-3 в тканині папілярної карциноми методом кількісної (real-time) ПЛР (мал. 5). Середній показник експресії цього лектину в пухлинах перевищує аналогічний показник в умовно нормальній тканині майже в 10 раз.



Мал. 3. Експресія мРНК галектину-3 в деяких зразках тканини хворих фолікулярною карциномою.

А – розділення продуктів полімеразної реакції в агарозному гелі.

Б – сканограма геля.

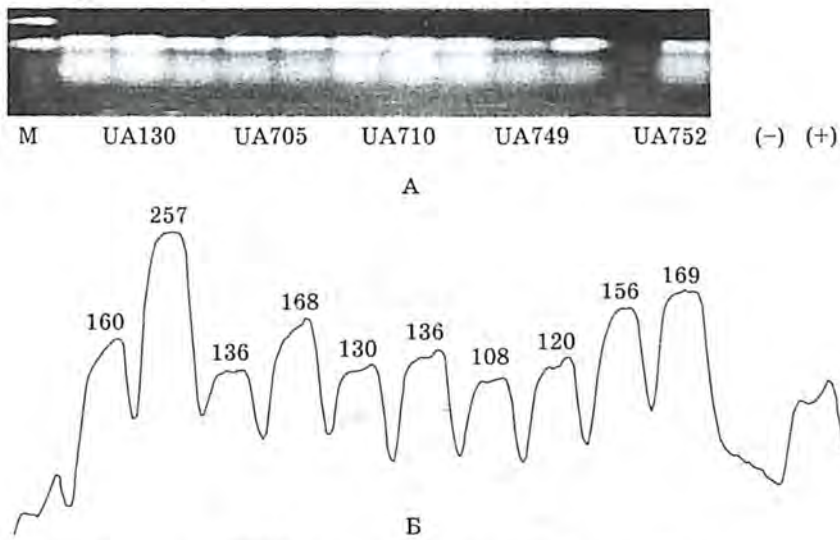
В – графічне відображення кількості галектину-3 для кожного зразка.

М – маркер; (+), (-) – позитивний і негативний контролі;

o.g. – оптична густина смуги ДНК у гелі, умовні одиниці.

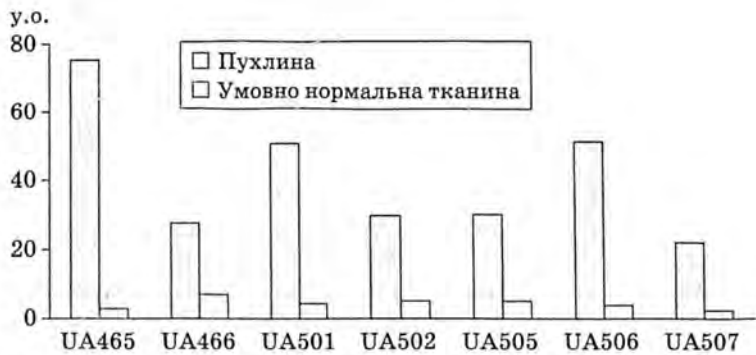
Отже, результати досліджень продемонстрували експресію галектину-3 в 94% зразків умовно нормальної та 100% зразків пухлинної тканини, проте рівень синтезу мРНК галектину-3 в нормі був завжди нижчим, ніж в пухлинах. Аналіз експресії мРНК галектину-3 методом ЗТ-ПЛР свідчить про вірогідні відмінності синтезу РНК між нормальною та пухлинною

тканинами в трьох основних типах пухлин ЩЗ – фолікулярній аденомі, фолікулярній та папілярній карциномах. Експресія мРНК галектину-3 в папілярній карциномі є найвираженішою і вірогідно відрізняється від експресії галектину-3 в усіх інших пухлинах ЩЗ, які досліджувались (мал. 6). Використання методу кількісної ПЛР показало, що в пухлинній тканині папілярної карциноми відбувається інтенсивний синтез мРНК галектину-3, в той час як в умовно нормальній тканині – утворення цієї мРНК було на мінімальному рівні.



Мал. 4. Експресія мРНК галектину-3 в деяких зразках тканини хворих папілярною карциномою.

А – розділення продуктів полімеразної реакції в агарозному гелі.
 Б – сканограма геля.
 М – маркер; (+), (-) – позитивний і негативний контролі.



Мал. 5. Діаграма, що характеризує рівень експресії мРНК галектину-3 в клітинах папілярної карциноми, визначений методом кількісної ПЛР.
 у.о. – умовні одиниці.



Мал. 6. Підсумкова діаграма, що характеризує рівень експресії мРНК галектину-3 в різних пухлинах ЩЗ, визначений методом ЗТ-ПЛР.

FA – фолікулярна аденома;

FC – фолікулярна карцинома;

WDT UMP – фолікулярна аденома з локальними змінами, підозрілими щодо папілярної карциноми;

FT UMP – фолікулярна аденома з локальними змінами, підозрілими щодо фолікулярної карциноми;

PTC – папілярна карцинома.

** – вірогідна відмінність між нормою та пухлиною за парним t критерієм ($P < 0,01$);

++ – вірогідна відмінність між пухлинною тканиною папілярних карцином та іншими пухлинами за критерієм Стюдента ($P < 0,01$).

Водночас, результати, одержані за допомогою методу ЗТ-ПЛР, слід інтерпретувати з обережністю. Недоліком цього методу, що обмежує використання його для діагностики, є надто висока чутливість. Відомо, що необхідно всього кілька молекул ДНК, щоб за допомогою ампліфікації одержати її кількість достатню для детекції методом електрофорезу. Одержані дані продемонстрували експресію галектину-3 майже в усіх зразках умовно нормальної тканини. На це вказують і ряд інших авторів [12-14], що відмічають експресію галектину як в доброякісних пухлинах ЩЗ, так і в карциномах. Напевно експресія мРНК галектину-3 має місце у багатьох (якщо не у всіх) пухлинах та в незначній кількості в нормальній тканині ЩЗ. Проте в нормальній тканині ця мРНК може зберігатися в ядрах або цитоплазмі в вигляді неактивних мРНК, які здатні активуватися тільки в певних типах пухлин (карциноми) з утворенням білка галектину-3, який і виявляється імуногістохімічними методами. З огляду на це, імуногістохімічні методи є надійнішими для діагностики типу пухлин, які нами вивчалися, тоді як метод ЗТ-ПЛР може розглядатися тільки як допоміжний. Напевно перспективнішим міг би стати метод кількісної ПЛР, проте цей метод є досить затратний, тому не може застосовуватися для рутинної діагностики.

Для діагностики складних випадків пухлин ЩЗ може бути рекомендовано використання звичайного методу ЗТ-ПЛР, як допоміжного, при одночасному застосуванні імуногістохімічних методів.

Подяка

Автори висловлюють подяку за додаткову верифікацію діагнозів міжнародній групі експертів-патологів за проектом банку тканин післячорнобильських тиреоїдних пухлин: доктору О.Абросімову, професорам М.Іто, В.ЛіВолсі, Дж.Розаї, Д.Вільямсу, а також менеджеру проекту професору Дж.Томас за надання відповідних реактивів і можливість виконати наведене дослідження.

Література

1. Журнаджи Л.Ю., Воскобойник Л.Г., Тронько М.Д. та ін. Дослідження експресії галектину-3 в різних типах пухлин щитовидної залози. Повідомлення 1: Аналіз патоморфологічних та імуногістохімічних даних // *Ендокринологія*. 2007, 12, № 1, 7-22.
2. Barondes S.H., Cooper D.N., Gitt M.A., Leffler H. Galectins: structure and function of a large family of animal lectins // *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 20807-20810.
3. Krzeslak A., Lipinska A. Galectin-3 as a multifunctional protein // *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2004, 9, 305-328.
4. Hughes R.C. Secretion of the galectin family of mammalian carbohydrate binding proteins // *Biochim. Biophys. Acta.* 1999, 1473, 172-185.
5. Moutsatsos I.K., Wade M., Schindler M. et al. Endogenous lectins from cultured cells: nuclear localization of carbohydrate-binding protein 35 in proliferating 3T3 fibroblasts // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987, 84, 6452-6456.
6. Akahani S., Nangia-Makker P., Inohara H. et al. Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family // *Cancer Res.* 1997, 57, 5272-5276.
7. Yoshii T., Inohara H., Takenaka Y. et al. Galectin-3 maintains the transformed phenotype of thyroid papillary carcinoma cells // *Int. J. Oncol.* 2001, 18, 787-792.
8. Takenaka Y., Inohara H., Yoshii T. et al. Malignant transformation of thyroid follicular cells by galectin-3 // *Cancer Lett.* 2003, 195, 111-119.
9. Thomas G.A., Williams E.D., Becker D.V. et al. Thyroid tumor banks // *Science*. 2000, 289, N 29, 2945-2948.
10. Rhoden K.J., Johnson C., Brandao G. et al. Real-time quantitative RT-PCR identifies distinct c-RET, RET/PTC1 and RET/PTC3 expression pattern in papillary thyroid carcinoma // *Lab. Invest.* 2004, N 84, 1557-1570.
11. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина, 1975. 295 с.
12. Kaliszewski K., Lukieniczuk T., Dobosz T. et al. Analysis of expression of LGALS3BP gene in thyroid tissues and peripheral blood lymphocytes in patients with papillary thyroid cancer // *Endokrynol. Pol.* 2006, 57 (Suppl. A), 38-44.
13. Scognamiglio T., Hyjek E., Kao J., Chen Y.T. Diagnostic usefulness of HBME1, galectin-3, CK19, and CITED1 and evaluation of their expression in encapsulated lesions with questionable features of papillary thyroid carcinoma // *Am. J. Clin. Pathol.* 2006, 126, N 5, 700-708.
14. Cvejic D.S., Savin S.B., Petrovic I.M. et al. Galectin-3 expression in papillary thyroid carcinoma: relation to histomorphologic growth pattern, lymph node metastasis, extrathyroid invasion, and tumor size // *Head Neck.* 2005, 27, N 12, 1049-1055.

Исследование экспрессии галектина-3 в различных типах опухолей щитовидной железы. Сообщение 2: Анализ молекулярно-биологических данных

В.М. Пушкарев, Е.И. Ковзун, Н.Н. Костюченко, Л.Г. Воскобойник, Л.Ю. Журнаджи, Т.И. Богданова, Н.Д. Тронько

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

С помощью обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции исследована экспрессия мРНК галектина-3 в 39 случаях фолликулярной аденомы, 13 – фолликулярной карциномы и 41 – папиллярной карциномы. Из ткани тиреоидных опухолей и неопухолевого, «условно нормальной», ткани щитовидной железы выделена и очищена

РНК. Выделенную РНК анализировали методом электрофореза на биочипах в биоанализаторе Agilent 2100. Полученные молекулярно-биологические данные свидетельствуют о достоверных отличиях в экспрессии мРНК галектина-3 между нормальной и опухолевой тканями в трех типах опухолей щитовидной железы – фолликулярной аденоме, фолликулярной карциноме и папиллярной карциноме. Экспрессия галектина-3 в папиллярной карциноме является наиболее выраженной и достоверно отличается от экспрессии галектина-3 в других исследованных опухолях щитовидной железы. Определение экспрессии галектина-3 с помощью обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции не может считаться достаточно надежным и самостоятельным методом дифференциальной диагностики опухолей щитовидной железы. Использование этого метода может рекомендоваться в качестве дополнительного к иммуногистохимическим исследованиям в сложных для патоморфологической диагностики случаях.

Ключевые слова: щитовидная железа, фолликулярная аденома, фолликулярная карцинома, папиллярная карцинома, полимеразная цепная реакция, галектин-3.

Galectin-3 expression in different types of thyroid tumours.

2nd report: Molecular-biological analysis

V.M. Pushkarev, O.I. Kovzun, N.M. Kostyuchenko, L.G. Voskoboinyk, L.Yu. Zurnadzhly, T.I. Bogdanova, M.D. Tronko

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

Using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) method, the expression of galectin-3 mRNA in 39 cases of follicular adenoma, 13 cases of follicular carcinoma, and 41 cases of papillary carcinoma has been studied. RNA was extracted from the thyroid tumour tissue and from the «conventionally normal» thyroid tissue as well. Extracted RNA was characterized by biochip electrophoresis using Agilent-2100 bioanalyzer. The molecular-biology data obtained suggested reliable changes in galectin-3 mRNA synthesis between normal and tumour tissues in the three types of thyroid tumours: follicular adenoma, follicular carcinoma, and papillary carcinoma. The galectin-3 expression in papillary carcinoma was the most pronounced and was reliably distinct from galectin-3 expression in other thyroid tumours studied. We concluded that determination of galectin-3 expression using RT-PCR could not be considered as reliable enough and self-consistent method for differential diagnosis of thyroid tumours. The use of this method could be recommended as a supplementary one for immunohistochemical investigations in cases with complicated pathomorphological diagnosis.

Key words: thyroid gland, papillary carcinoma, follicular carcinoma, follicular adenoma, polymerase chain reaction, galectin-3.

(Надійшла 25.12.2006)

ОНКОГЕННА АКТИВАЦІЯ ГЕНІВ RET, BRAF ТА NTRK1 В ДОБРОЯКІСНИХ ТА ЗЛОЯКІСНИХ ПІСЛЯЧОРНОБИЛЬСЬКИХ ПУХЛИНАХ ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ

Л.Г. Воскобойник

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

Молекулярно-біологічно та морфологічно проаналізовано 59 післячорнобильських пухлин (35 папілярних карцином і 24 фолікулярні аденоми) щитовидної залози (ЩЗ) із латентним періодом понад 10 років, тобто з часом, що минув між Чорнобильською катастрофою і оперативним втручанням. У всіх випадках досліджено також і відносно незмінену тканину ЩЗ.

Встановлено, що частка RET/PTC-перебудов в папілярних карциномах (ПК) щитовидної залози становить 51,4% із превалюванням найрозповсюдженіших RET/PTC1 та RET/PTC3-альтерацій (34,3%) у порівнянні з RET/PTCХ (17,1%). Відсоток точкових мутацій V600E гена BRAF також є достатньо високим – 24%. Одночасна експресія генів RET/PTC3 та мутованого BRAF визначена в одній ПК (2,9%). Транслокації гена NTRK1, так звані TRK-перебудови, знайдені в двох випадках ПК (5,7%). Наявність химерного гена AKAP9-BRAF не було виявлено в жодному із досліджених зразків. Загалом, присутність будь-яких генетичних змін встановлена в 71,4% випадків ПК. В протилежність ПК, у 25% фолікулярних аденом (ФА) відмічена лише присутність невідомих, так званих RET/PTCХ-перебудов, що відрізняються від класичних RET/PTC1 та RET/PTC3-альтерацій. Слід зазначити, що цей відсоток був дещо вищим у порівнянні із папілярними карциномами (17,1%). Крім того, в одному випадку ФА мала місце транслокація TRK при одночасній експресії химерного гена RET/PTCХ (4,2%).

Отже, найрозповсюдженіші транслокації гена RET (RET/PTC1 та RET/PTC3) і точкові мутації BRAF V600E спостерігалися лише в папілярних карциномах ЩЗ. Невідомі RET/PTCХ-перебудови та транслокації гена NTRK1 були присутні як в ПК, так і в ФА.

Ключові слова: папілярна карцинома, фолікулярна аденома, RET/PTC-перебудови, TRK-перебудови, AKAP9-BRAF-перебудови, точкові мутації BRAF V600E.

Папілярні карциноми є найрозповсюдженішим типом злоякісних пухлин ЩЗ і становлять більше 80% від всіх злоякісних уражень ЩЗ [1, 2]. Активация ряду генів, що беруть участь у RET/RAS/RAF/MAPK сигнальному шляху, визначена у значній більшості ПК. Одним з прикладів такої активації є RET/PTC-перебудови. На сьогодні відомі 11 потенційних генів, що можуть сполучатися із геном RET та формувати до 15 різних химерних онкогенів [3, 4]. Серед RET/PTC-перебудов, що описані в літературі, RET/PTC1 та RET/PTC3 є найрозповсюдженішими і охоплюють близько 90% всіх генетичних змін, які знайдені в спонтанних та радіоіндукованих пухлинах [5, 6]. Присутність RET/PTC-перебудов відмічено в 12-30% спонтанних ПК, а в післячорнобильських пухлинах цей показник є дещо вищим [7, 8]. Дійсно, в післячорнобильських дитячих ПК із коротким латентним періодом розвитку (5-8 років) присутність RET/PTC-перебудов знайдено в 60-87% випадків із значним превалюванням онкогена RET/PTC3 (58%) [9, 10]. В публікаціях, що були наведені пізніше, відсоток RET/PTC-транслокацій

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

є нижчим, що можна пояснити різною чутливістю використаних методів або подовженим латентним періодом розвитку пухлин і, як наслідок, збільшенням віку пацієнтів [11].

Подібно до протоонкогена RET, що кодує тирозинкіназний (ТК) рецептор, ген трансмембранного рецептора нервового фактора росту NTRK1 також здатний до транслокацій, що призводять до утворення химерних онкогенів TRK, активованих у ПК [12]. Вважають, що експресія гібридних генів RET/PTC та TRK є раннім етапом в процесі злоякісної трансформації клітин. Доведено, що відсоток перебудов гена NTRK1 коливається в межах 3-12% і є однаковим в післячорнобильських та спонтанних ПК [13-16].

Ще до одного типу генетичних змін, специфічних для спонтанних ПК, відносять точкові мутації V600E гена BRAF [8, 17]. Варто зазначити, що в дитячих післячорнобильських папілярних карциномах такі порушення знайдені лише в окремих випадках [11, 18]. Точкові мутації генів H-, N- та K-RAS відсутні або дуже рідко зустрічаються в післячорнобильських ПК [19]. Навпаки, дані літератури щодо наявності таких порушень в спонтанних пухлинах мають суперечливий характер. Так, деякі автори відмічають наявність мутацій гена RAS в 12-20% ПК, інші знаходять такі альтерації лише в окремих випадках [13, 20]. Загалом, наявність RET/PTC-перебудов та точкових мутацій генів RAS і BRAF різні дослідники відмічають в більш ніж 70% випадків папілярних карцином ЩЗ [21, 22]. Наявність одночасних змін генів RET, RAS та BRAF відмічається вкрай рідко [23, 24].

Химерний ген AKAP9-BRAF являє собою новий тип генетичних порушень. Він знайдений в дитячих післячорнобильських папілярних карциномах ЩЗ із коротким латентним періодом розвитку після опромінення, і є ще одним прикладом формування онкогену шляхом хромосомних транслокацій [13, 25]. В спонтанних ПК ген AKAP9-BRAF зустрічається вкрай рідко або ніколи [25, 26].

У цілому, ПК ЩЗ характеризуються сприятливим прогнозом та однотипними цитологічними особливостями клітин. Однак зазначений тип пухлин є досить гетерогенним за гістологічною будовою та агресивністю. Доведено, що наявність специфічних генетичних альтерацій корелює із певним гістологічним варіантом ПК [18, 27, 28]. Визначено, що точкові мутації V600E гена BRAF асоційовані із класичним папілярним або висококлітинним варіантами ПК та знайдені на різних стадіях пухлинної прогресії, включаючи мікрокарциноми та низькодиференційовані пухлини ЩЗ [17, 24, 29].

Дані літератури щодо кореляції між наявністю BRAF-мутацій та біологічною поведінкою пухлин носять суперечливий характер. Деякі автори демонструють асоціацію точкових мутацій V600E із найгіршим прогнозом захворювання [30]. Однак в інших публікаціях таку кореляцію не виявлено [17]. Відсутність зазначеної кореляції підтверджують і дослідження про наявність точкових мутацій BRAF V600E у 52% випадків мікрокарцином, значна частка яких характеризується відсутністю метастазів та ознак екстратиреоїдного розповсюдження [29].

Відомо, що перебудови RET/PTC відіграють важливу роль в патогенезі ПК. Онкогени RET/PTC1 найчастіше зустрічаються за умов класичного папілярного і дифузно-склерозуючого варіантів ПК, та в папілярних мікрокарциномах [28]. Навпаки, солідно-фолікулярний варіант післячорнобильських ПК асоціюється переважно із наявністю RET/PTC3-перебудов [18]. Не визначено кореляцію між гістологічним підтипом ПК, її біологічною поведінкою та наявністю AKAP9-BRAF- чи TRK- транслокацій.

Суперечливі дані літератури щодо можливості виникнення RET/PTC-перебудов в доброякісних новоутвореннях ЩЗ. Значна більшість публікацій, що базуються на достатній кількості спостережень, вказує на їх відсутність.

Однак деякі автори вважають, що RET/PTC-перебудови властиві не лише ПК, а і доброякісним пухлинам, зокрема ФА [10, 31, 32]. Транслокації гена RET із утворенням RET/PTC-транскриптів знайдені і за умов тиреоїди-ту Хашимото [33].

У зв'язку із зазначеним вище, ми вирішили дослідити наявність генетичних порушень в групі післячорнобильських пухлин ЩЗ (доброякісних і злоякісних) із подовженим латентним періодом їх розвитку (більше 10 років) після опромінення внаслідок аварії на ЧАЕС, та проаналізувати взаємозв'язок між наявністю генетичних змін і клініко-патоморфологічними особливостями пухлин.

Матеріали і методи

Зразки тканин. Досліджено 118 екстрактів РНК, що були виділені з післячорнобильських пухлин та відносно незміненої тканини (НТ) щитовидної залози. Морфологічні особливості та адекватність матеріалу досліджено на заморожених зрізах, що були зроблені перед екстракцією. Лише зразки, в яких пухлинні ділянки займали понад 80%, були обрані для подальшої екстракції. Проаналізовано 59 зразків пухлин (35 папілярних карцином і 24 фолікулярні аденоми) та 59 зразків відповідної відносно незміненої тиреоїдної тканини. Патогістогічний 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 [45]. Середній вік пацієнтів на момент операції (21 ± 5 років для ПК і 23 ± 7 років для ФА) та середній латентний період (14 ± 1 років) були майже однако-вими в обох досліджених групах.

Екстракція РНК та реакція зворотної транскрипції (RT). Екстракцію РНК проводили з реагентом TRIzol («Sigma», США) згідно з рекомендаціями виробника. Концентрацію РНК визначали на спектрофотометрі «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 ен-зиму AMV транскриптази («Promega», США). Один мікрограм РНК розводили ульт-рачистою водою до кінцевого об'єму 12 мкл, додавали 90 одиниць олігопраймеру pd(N)g («Amersham Pharmacia Biotech», Швеція) та інкубували протягом 10 хв при 65 °C. Потім проводили реакцію зворотної транскрипції в 20 мкл суміші, що містила 1 mM dNTP, 20 одиниць Avian Myeloblastosis Virus зворотної транскриптази, 40 оди-ниць рекомбінованого RNasin («Promega», США) та AMV RT 1 x буфер («Amersham Pharmacia Biotech», Швеція). Після годинної інкубації при 42 °C ензим інактивували шляхом нагрівання до 95 °C протягом 5 хв. В якості негативного контролю, для виклю-чення можливого забруднення зразків, використовували зазначену суміш без додаван-ня РНК. Якість отриманої кДНК тестували за допомогою ланцюгової полімеразної ре-акції після реакції зворотної транскрипції (RT-PCR метод) та кількісної ланцюгової полімеразної реакції (real-time RT-PCR). В першому випадку проводили ампліфікацію частки гена GAPDH (гліцеральдегід 3-фосфат дегідрогенази), довжиною 302 пари ос-нов (п.о.), протягом 35 циклів – денатурація (95 °C протягом 30 с), приєднання (57 °C протягом 30 с), ампліфікація (72 °C протягом 40 с) – за допомогою термациклеру («DNA thermal cycler MJ»). Ланцюгову полімеразну реакцію проводили в суміші (кінцевий об'єм 50 мкл), що містила 2 мкл кДНК, 1 x буфер, 1,5 mM MgCl₂, 2,5 оди-ниць Taq ензиму («Promega», США); 200 мкМ dNTP, 20 пмоль кожного з праймерів. Нуклеотидна послідовність використаних праймерів наведена у табл. 1. В усіх зраз-ках при візуалізації на 1,5% агарозному гелі була визначена наявність GAPDH-транс-криптів. Тест за допомогою методу real-time RT-PCR описаний нижче.

Ампліфікація за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (PCR) та прове-дення Southern blotting. RT-PCR ампліфікацію та Southern blotting методи викорис-тані для визначення наявності RET/PTC1-, RET/PTC3-, TRK- та AKAP9-BRAF-пере-будов. Всі типи праймерів та зондів наведені у табл. 1. Для виключення можливості забруднення продуктами PCR проведений додатковий тест-контроль із зовнішньою па-рою праймерів. Лише випадки, що були позитивними за двома парами праймерів (зовнішніх та внутрішніх), були визнані дійсно позитивними.

Для визначення наявності так званих RET/PTCХ-перебудов, що відрізняються від RET/PTC1 і RET/PTC3, було досліджено експресію тирозинкіназного (ТК) та екстраклітинного (ЕК) доменів гена RET. Зразки, що проявляли лише ТК експресію на тлі негативної реакції з праймерами до ЕК вважали позитивними до химерних генів RET/PTCХ. Умови проведення PCR були однаковими для всіх вищезазначених реакцій: 2 мкл кДНК додавали до суміші, що містила 1 х буфер без Mg, 1,5 мМ MgCl₂, 2,5 одиниць Taq («Promega», США); 200 мкМ dNTP, 32 пмоль кожного з праймерів в кінцевому об'ємі 50 мкл. Ампліфікацію проведено за 35 термальними циклами на термациклері «DNA thermal cycler MJ» – денатурація (94 °C протягом 1 хв), приєднання (57 °C протягом 30 с), ампліфікація (72 °C протягом 40 с). Ланцюгову полімеразну реакцію із зовнішньою парою праймерів для TRK проводили за умов підвищення температури приєднання в циклі до 59 °C.

Умови проведення PCR для ампліфікації AKAP9-BRAF-фрагментів: 2 мкл кДНК додавали до суміші, що містила Super Buffer, 1,5 мМ MgCl₂, 2,5 одиниць Taq («Promega», США); 200 мкМ dNTP, 32 пмоль кожного із праймерів у фінальному об'ємі 30 мкл. Ампліфікацію проведено за 35 термальними циклами – денатурація (94 °C протягом 1 хв), приєднання (55 °C протягом 1 хв), ампліфікація (72 °C протягом 1 хв).

В якості позитивного контролю до RET/PTC1-, RET/PTC3- та TRK-транскриптів використані РНК папілярних карцином з наявністю відповідних перебудов з генетичного банку нуклеїнових кислот. Клітинна лінія ТТ (культура клітин медулярної карциноми ЩЗ) використана в якості позитивного контролю для проведення PCR з праймерами до ТК і ЕК доменів гена RET. Позитивним контролем до химерного гена AKAP9-BRAF була відповідна плазміда.

Для проведення методу Southern blotting 10 мкл продуктів PCR розділяли електрофорезом у 1,5% агарозному гелі (2% агарозний гель використовували для аналізу AKAP9-BRAF-транскриптів) із наступним переносом на нейлонову мембрану («Amersham Pharmacia Biotech», Швеція) згідно з рекомендаціями виробника. Кожну мембрану гібридували протягом 12 год з відповідними зондами (табл. 1) та мітили за допомогою люмінесцентного методу з використанням комерційних наборів «Gene Images 3'-Oligolabelling» та «CDP-Star Detection System» («Amersham Pharmacia Biotech», Швеція).

Аналіз точкових мутацій гена BRAF. Для визначення точкових мутацій V600E гена BRAF (екзон 1) 2 мкл кДНК ампліфікували в суміші, що містила 1 х буфер без Mg, 1,5 мМ MgCl₂, 2,5 одиниць Taq («Promega», США); 200 мкМ dNTP, 50 пмоль кожного із праймерів (табл. 1) в об'ємі 50 мкл. Проводили PCR за 35 термальними циклами – денатурація (94 °C протягом 1 хв), приєднання (60 °C протягом 1 хв), ампліфікація (72 °C протягом 2 хв). Продукти PCR очищували з використанням стандартного набору («Jet quick»), виконували спеціальну реакцію за 24 термальними циклами з 6,4 пмоль праймера та знов очищували отримані продукти комерційним стандартним набором («Bio-RAD», Італія). Автоматичне секвенування здійснювали на спеціальному аналізаторі «ABI prism 3100 Genetic Analyzer» («Perkin-Elmer», Швеція). Секвенування робили як з прямим, так і зі зворотним праймерами.

Виявлення RET/PTC-перебудов за допомогою кількісного real-time RT-PCR методу. Використовували зразки РНК пухлин та позапухлинної тканини після проведення реакції зворотної транскрипції (метод описаний вище). Для оцінки експресії гена GAPDH, який був обраний для нормалізації отриманих даних, обрані стандартні праймери та зонд («Applied Biosystems», США). Нуклеотидна послідовність праймерів та зондів, специфічних для ТК та ЕК доменів гена RET, наведені у табл. 2. Зонди синтезовані підприємством «Custom Oligo Synthesis Service» («Applied Biosystems», США), а праймери – комерційною компанією «Promega» (США). Для побудови стандартної кривої рівня експресії гена GAPDH та доменів ТК і ЕК гена RET використані клітини лінії ТТ [34]. Визначено, що для всіх транскриптів показник Ct лінійно корелює з кількістю дослідженої РНК при значенні $R^2 > 0,95$.

Кількісну real-time PCR проводили в 25 мкл суміші, що містила 100 пг РНК, 1 х TaqMan Universal PCR Master Mix («Applied Biosystems», США), 200 нМ кожного із праймерів та 100 нМ зонду, на приладі «ABI PRISM 7700 Sequence Detection System» за 40 термальними циклами – 50 °C протягом 1 хв, 95 °C протягом 10 хв, 60 °C протягом 1 хв. Кожний зразок кДНК досліджували у триплеті та визначали середній показник. При проведенні кожної real-time PCR обов'язково використовували негативний

Таблиця 1. Праймери та зонди, що використані для виявлення генетичних перебудов за RT-PCR та Souther blotting методами

Назва	Довжина (п.о.)	Праймери (5'-3')	Зонди (5'-3')
DAPDHM	302	F:GCTGCCAAGGCTGTGGGCAAGGTC R:TTGTCATACCAGGAAATGAGCTT	
c-RET, ТК	155	F: GGAGCCAGGGTCGGATTCCAGTTA R: CCGCTCAGGAGGAATCCCAGGATA	ACGCAAAGTGATGTATGGTCT
c-RER, ЕК	184	F: GGCGGCCCAAGTGTGCCGAAGTT R:CCCAGGCCGCCACACCTCCTCACA	GGTAACAGTGAGGGGGTCATAT
TRK (внутрішні)	308	F: GTGTCTGAGTGTGCTGCCGAAG R: CAAACTTGTCTTCTCCGTCCAC	AGCCAAGCTGGAAAAGACAA
TRK (зовнішні)	401	F: AGAGGTGGCTCGTAAGTTGG R: CAAGGAGGAGCGTAGAAAGG	GACCTGGAAGACACTAACAG
RET/PTC1 (внутрішні)	205	F: GCTGGAGACCTACAACTGA R: GTTGCCCTTGACCACTTTTC	GAATTCCTCGGAAGAACTT
RET/PTC1 (зовнішні)	258	F: GTCGGGGGGGCATTGT R: AAGTTCTTCCGAGGGAAT	GGCACTGCAGGAGGAGAACCGCGA
RET/PTC3 (внутрішні)	228	F: AAGCAAACCTGCCAGTGG R: AAGTTCTTCCGAGGGAAT	GCAGACCTTGGAGAACAGTCA
RET/PTC3 (зовнішні)	341	F: AAGCAAACCTGCCAGTGG R: CTTTCAGCATCTTCAACGG	GCAGACCTTGGAGAACAGTCA
AKAP9-BRAF	164	F: AGCAAGAACAGTTGATTTTGGGA R:GCAGACAAACCTGTGGTTGA	AAACTTCAGAAAGAACTCAATGTACTT
BRAF (екзон 1)	176	F: GCACAGGGCATGGATTACTT R: CCACAAAATGGATCCAGACA	

Примітка. В табл. 1 і 2: F – прямий праймер, R – зворотний праймер. Послідовність нуклеотидів в наведених праймерах обрана за допомогою комп'ютерної програми «Primers 3 output».

Таблиця 2. Праймери та зонди, що використані для виконання real-time RT-PCR методу

Назва	Довжина (п.о.)	Праймери (5'-3')	Зонди (5'-3')
c-RET, ТК	64	F: CGGTGGCCGTGAAGATG R: TCTGACAGCAGGTCTCGAAGC	6FAM-TGAAAGAGAACGCCTCCCCGAGTG
c-RER, ЕК	62	F: TGCTTCTGCGAGCCCG R:ATCACCGTGCGGCACAG	6FAM-CATCCAGGATCCACTGTGCGACGA

контроль. Дані аналізувалися за допомогою комп'ютерної програми «ABI7700» і рівень експресії Ст визначали як кількість циклів, що необхідні для генерації флуоресцентного сигналу. Рівень експресії гена GAPDH аналізували також для оцінки якості досліджуваних зразків РНК. Так, у всіх зразках, обраних для аналізу, показник Ст не перевищував 37. Рівень експресії мРНК ТК та ЕК доменів гена RET визначали за методом K.L. Livak і T.D. Schmittgen [34] як $2^{-\Delta C_t}$ ($-\Delta C_t = C_t$ досліджуваного гена – C_t GAPDH). Показник достатності ампліфікації був близько одиниці для всіх транскриптів, що вказує на адекватну оцінку рівня експресії генів як $2^{-\Delta C_t}$.

Співвідношення ТК/ЕК було підраховано для кожної групи: клітини ТТ, відносно незміненої тканини, папілярні карциноми та фолікулярні аденоми. Для відносно незміненої тканини та клітин ТТ співвідношення ТК/ЕК було близько 1 та ніколи не перевищував 2. Так званий «cut-off» показник співвідношення ТК/ЕК за умов нормальної експресії гена RET визначено як $M+3m$, тобто $0,85 \pm (3 \times 0,41)$ за даними групи відносно незміненої тканини та клітин ТТ. Таким чином, «cut-off» показник дорівнює 2, а папілярні карциноми та фолікулярні аденоми із співвідношенням ТК/ЕК більше 2 характеризувалися незбалансованою експресією домена ТК та вважалися позитивними щодо наявності RET/PTC-перебудов.

Статистичний аналіз отриманих даних проведений за допомогою комп'ютерної програми EXEL за критеріями t-test та χ^2 -test.

Результати

Папілярні карциноми. Результати, отримані при використанні RT-PCR методу із наступним Southern Blotting, встановили, що в групі з 35 післячорнобильських ПК, відсоток RET/PTC1- та RET/PTC3-перебудов дорівнює 34,3% (12/35), включаючи один випадок із одночасною експресією зазначених онкогенів (табл. 3). Частка RET/PTC3-перебудов була дещо вищою (20,0%) порівняно із RET/PTC1 (11,4%), однак невірогідно за t-test та χ^2 -test. Експресія лише ТК домену гена RET на тлі негативної реакції з праймерами до ЕК, тобто наявність так званих RET/PTCX-перебудов, визначена в одному випадку (2,9%). Загалом, в 13 ПК відмічена наявність транслокації гена RET за методами RT-PCR та Southern Blotting.

Таблиця 3. Генетичні зміни в післячорнобильських доброякісних та злоякісних пухлинах

Генетичні альтерації	Папілярні карциноми, % (n=35)	Фолікулярні аденоми, % (n=24)
RET/PTC-перебудови	51,4 (18/35)	25,0 (6/24)
RET/PTC1	11,4 (4/35)	0
RET/PTC3	17,1 (6/35)	0
RET/PTC1+RET/PTC3	2,9 (1/35)	0
RET/PTCX	17,1 (6/35)	25,0 (6/24)
BRAF точкові мутації V600E	24,0 (6/25)	0
BRAF+RET/PTC3	2,9 (1/35)	0
AKAP9-BRAF-перебудови	0	0
TRK-перебудови	5,7 (2/35)	0
TRK+RET/PTCX	0	4,2 (1/24)
Всього	71,4 (25/35)	25,0 (6/24)

За допомогою методу real-time PCR встановлено, що експресія мРНК екзону 12-13 (ТК домен) при відсутності експресії мРНК екзону 10-11 (ЕК домен) гена RET спостерігалася в одному випадку ПК, що свідчило про наявність RET/PTC-перебудов. Це був випадок із встановленими за методами RT-PCR та Southern Blotting RET/PTCX-перебудовами. Крім того, в 16 досліджених ПК співвідношення ТК/ЕК було вищим за 2, що свідчило про незбалансовану ТК експресію. Варто звернути увагу, що серед них в 11 випадках виявлено наявність онкогенів RET/PTC1 та RET/PTC3 за методами

RT-PCR та Southern Blotting. Таким чином, результати кількісної real-time PCR підтвердили майже всі дані RT-PCR та Southern Blotting методів за виключенням однієї ПК. В останніх 5 ПК з визначеною незбалансованою експресією мРНК ТК домена співвідношення ТК/ЕК було вищим за 4, тобто мінімум вдвічі більшим показника «cut-off», що надало підставу вважати їх позитивними до RET/PTCX. При поєднанні даних методів Southern blotting та real-time PCR, наявність RET/PTC-перебудов визначена в 18 із 35 випадків ПК (табл. 3). На відміну від пухлин, у відносно незмінній тканині RET/PTC-перебудови не були знайдені.

Ми також проаналізували наявність точкових мутацій V600E гена BRAF в 25 ПК. Встановлено, що такі генетичні порушення спостерігалися в 6 із 25 випадків. Цікаво, що в одному випадку ПК визначена одночасна експресія RET/PTC3 та мутантів BRAF.

Транслокації гена NTRK1 спостерігалися лише в двох випадках із 35 досліджених ПК (табл. 4) і не були знайдені у відносно незмінній тканині. Новий химерний ген AKAP9-BRAF був відсутнім в усіх досліджених зразках (як в пухлинній, так і відносно незмінній тканині).

Взаємозв'язок між наявністю специфічних генетичних порушень та гістологічним варіантом папілярних карцином достатньо широко висвітлений в літературі [11, 17, 28]. На відміну від інших дослідників, ми вирішили проаналізувати не тільки парафінові препарати, які характеризують гістологічну будову та інвазивні властивості пухлини в цілому, а також заморожені зрізи, що були зроблені саме із зразків, обраних для екстракції. Визначена певна кореляція між генетичними порушеннями та гістологічною будовою зразків пухлин. Дійсно, більшість ПК із RET/PTC1-перебудовами (3 із 4) характеризувалася папілярною структурою за відсутності ділянок солідної будови. Навпаки, солідний компонент був більш властивий групі ПК із RET/PTC3-транскриптами (5 із 6). Одна папілярна карцинома характеризувалася коекспресією онкогенів RET/PTC1 та RET/PTC3 і мала папілярну будову. Не визначено кореляції із гістологічним підтипом в ПК із RET/PTCX-перебудовами. В зазначеній групі спостерігалися ділянки різної гістологічної будови – фолікулярної, папілярної, солідної та змішаної. Більшість BRAF-позитивних ПК мала папілярну структуру (4 із 5). Лише в двох випадках ПК визначено наявність перебудов гена NTRK1 і обидві пухлини характеризувалися фолікулярною будовою. Слід зазначити, що більшість ПК, що не містили генетичних порушень, мали змішану гістологічну структуру із превалюванням папілярних чи фолікулярних ділянок.

Дані щодо розміру пухлин, ознак екстратиреоїдного розповсюдження, багатофокусного росту в протилежну долю ЩЗ, судинної інвазії, метастатичного ураження лімфовузлів ший та наявності віддалених метастазів у легені наведені у табл. 5. Не встановлено залежності між наявністю генетичних порушень та розміром пухлин і судинною інвазією. Однак ознаки екстратиреоїдного розповсюдження та багатофокусного росту в протилежну долю ЩЗ спостерігалися у переважаючій більшості ПК із RET/PTC- і TRK-перебудовами та були відсутні в пухлинах із точковими мутаціями гена BRAF. Крім того, BRAF-позитивні папілярні карциноми характеризувалися низьким відсотком випадків із метастазами до лімфовузлів ший. Слід особливо зазначити, що віддалені метастази у легені спостерігалися лише в ПК із RET/PTC-перебудовами (табл. 5). Однак наведені дані лише відображають існуючу тенденцію, але ж не є статистично вірогідними за критеріями t-test та χ^2 -test.

Фолікулярні аденоми. Наші дослідження продемонстрували, що альтерації RET/PTC1, RET/PTC3, AKAP9-BRAF та BRAF V600E відсутні як в ФА, так і у відносно незмінній тканині. Наявність перебудов гена NTRK1 визначено в одній пухлині (табл. 3). Крім того, в 4 фолікулярних аденомах

Таблиця 4. Гістологічна будова заморожених зразків папілярних карцином щитовидної залози, відібраних для екстракції

Гістологічна будова ПК	RET/PTC1 (n=4)	RET/PTC3 (n=6)	RET/PTC1+RET/PTC3 (n=1)	RET/PTCX (n=5)	BRAF (n=5)	BRAF + RET/PTC3 (n=1)	TRK (n=2)	Зміни відсутні (n=10)	Всього (n=35)
Папілярна	2	0	1	1	4	0	0	2	10
Фолікулярна	1	1	0	1	1	0	2	3	9
Солідна	0	4	0	1	0	0	0	0	5
Змішана	1	1	0	3	0	1	0	5	11
ПФ	1	0	0	3	0	0	0	2	3
СФ	0	1	0	0	0	0	0	1	2
СП	0	0	0	0	0	1	0	2	4

Примітка: ПФ – папілярно-фолікулярна, СФ – солідно-фолікулярна, СП – солідно-папілярна.

Таблиця 5. Порівняння генетичних змін та інвазивних властивостей папілярних карцином ЩЗ

Інвазивні властивості ПК	RET/PTC1 (n=4)	RET/PTC3 (n=6)	RET/PTC1+RET/PTC3 (n=1)	RET/PTCX (n=5)	BRAF (n=5)	BRAF + RET/PTC3 (n=1)	TRK (n=2)	Зміни відсутні (n=10)	Всього (n=35)
Розмір пухлини, мм	44±2	24±8	22	31±22	33±19	38	35±9	32±6	31±15
Екстратиреоїдне розповсюдження	1	2	1	1	0	0	1	2	8
Багатофокусний ріст в протилежну частку ЩЗ	3	1	0	2	0	0	1	1	8
Судинна інвазія	4	6	1	4	4	1	2	7	29
Метастази до лімфовузлів ший	4	3	0	4	1	1	2	5	20
Віддалені метастази	3	1	0	2	0	0	0	0	6

за методами RT-PCR та Southern blotting виявлено експресію ТК домену гену RET, що не була асоційована із ЕС експресією.

Метод real-time PCR виявив експресію мРНК екзону 12-13 (ТК домен), але ж не екзону 10-11 (домен ЕК) гену RET в 3 ФА. Ще в одному випадку співвідношення ТК/ЕК дорівнювало 2,5. У цілому, наявність RET/PTC-перебудов встановлено в 4 із 24 ФА. Слід зазначити, що подібно дослідженням ПК, в ФА кількісний real-time PCR метод підтвердив майже всі результати RT-PCR та Southern blotting досліджень за винятком одного випадку, що характеризувався показником ТК/ЕК рівним 0,8. Цікаво, що саме ця пухлина із збалансованим рівнем експресії мРНК ТК та ЕК доменів гену RET була позитивною щодо наявності TRK-перебудов. Підсумовуючи результати Southern blotting та real-time PCR досліджень, наявність RET/PTCХ-перебудов визначена в 6 із 24 випадків ФА (табл. 3).

Мікроскопічні дослідження заморожених зрізів встановили, що більшість фолікулярних аденом характеризувалася мікрофолікулярно-солідною будовою. Однак 2 ФА мали нетипову гістологічну структуру – парагангліомоподібну та світлоклітинну. Варто підкреслити, що обидві ФА характеризувалися наявністю RET/PTCХ-перебудов. Інші RET/PTCХ-позитивні фолікулярні аденоми мали солідну (1 випадок) та мікро-нормофолікулярну гістологічну будову (2 випадки). ФА із одночасною експресією онкогенів RET/PTCХ та TRK характеризувалася переважно мікро-нормофолікулярною будовою.

Обговорення результатів досліджень

Після Чорнобильської катастрофи в Україні спостерігалось вірогідне збільшення випадків раку ЩЗ серед дітей та підлітків [35-37]. Проведено багато експериментальних та клінічних досліджень щодо молекулярно-біологічних та морфологічних особливостей післячорнобильських карцином ЩЗ, однак більшість з них виконана на пухлинах із коротким латентним періодом розвитку (4-7 років) після опромінення. Минуло вже 20 років після аварії на ЧАЕС і перед дослідниками виникло питання – чи змінилися молекулярно-біологічні характеристики післячорнобильських пухлин із подовженням латентного періоду їх розвитку, тобто з часом, що минув між Чорнобильською катастрофою і оперативним втручанням?

У нашій роботі наведені дані щодо молекулярно-біологічного дослідження післячорнобильських пухлин ЩЗ (доброякісних та злоякісних) із латентним періодом розвитку 12-15 років та порівняльного аналізу виявлених генетичних змін із біологічною поведінкою пухлин та їх гістологічними особливостями. Папілярні карциноми ЩЗ у цілому характеризуються сприятливим прогнозом, однак являють собою гетерогенну групу пухлин відносно гістологічних, генетичних особливостей та характеру біологічної поведінки.

За даними літератури, дитячі ПК ЩЗ із коротким латентним періодом розвитку після опромінення характеризуються високим відсотком RET/PTC-перебудов (87%) із значним превалюванням (58%) транслокацій RET/PTC3 [9]. Дослідження, що були опубліковані пізніше, вказують на зниження цього показника до 41% [11]. В наших дослідженнях наявність RET/PTC-перебудов встановлена в 51,4% із переважанням найбільш розповсюджених форм – RET/PTC1 та RET/PTC3 (34,3%). Слід зазначити, що аналогічно іншим дослідженням, проведеним на післячорнобильських ПК, відсоток RET/PTC3-перебудов був вищим (20,0%), але ж невірогідно за критеріями t-test та χ^2 -test порівняно із RET/PTC1 (11,4%). На відміну від післячорнобильських папілярних карцином, спонтанні ПК дорослих характеризувалися переважанням саме RET/PTC1-перебудов [3, 38].

Наші дослідження також підтвердили думку багатьох авторів, що наявність онкогену RET/PTC1 в ПК найчастіше асоціюється із папілярною структурою, а RET/PTC3 – із солідною [11, 28]. Однак на відміну від інших дослідників, ми вирішили аналізувати не загальний варіант ПК, а гістологічну будову саме зразків, що були обрані для екстракції РНК. Наше рішення було зумовлено тим, що переважна більшість досліджених ПК (51,4%) мала змішану гістологічну структуру. Превалювання пухлин саме із змішаною гістологічною будовою (папілярно-фолікулярна, папілярно-солідна, папілярно-солідно-фолікулярна та ін.) серед ПК із довгим латентним періодом розвитку після опромінення внаслідок аварії на ЧАЕС доведено також іншими дослідниками [39]. Крім того, деякі автори свідчать про значну кластеризацію пухлинних клітин, що містять RET/PTC-перебудови за даними інтерфазного FISH-методу, в ПК із латентністю 9-12 років [40].

Цікаво, що папілярна карцинома з одночасною експресією онкогенів RET/PTC1 та RET/PTC3, мала типову папілярну гістологічну будову, що більш властиво пухлинам із наявністю RET/PTC1-перебудов. Деякі дослідники також відмічали коекспресію онкогенів RET/PTC1 та RET/PTC3 і висловили думку, що RET/PTC3-перебудови є вторинною подією і обумовлені присутністю лише невеликого клону неопластичних клітин, поява якого була індукована саме впливом RET/PTC1-порушень [41].

Вважають, що точкові мутації V600E гена BRAF відносяться до найпоширеніших генетичних змін, властивих спонтанним папілярним карциномам дорослих [8, 17, 21]. Наявність таких порушень ми виявили в 24% випадків досліджених ПК. Попередні дослідження післячорнобильських папілярних карцином ЩЗ встановили нижчий відсоток точкових мутацій V600E гена BRAF (12%) в групі пацієнтів із середнім віком на момент операції 19 років [18] та аналогічні нашим результати (24%), отримані в групі пацієнтів із середнім віком 23 роки [11]. Наведені дані повністю підтверджують гіпотезу, що відсоток точкових мутацій V600E гена BRAF тісно корелює із віком пацієнтів на час операції.

В наших дослідженнях ми також спостерігали, що більшість BRAF-позитивних ПК мала типову папілярну гістологічну будову, що погоджується із даними інших авторів [11, 18]. Одна папілярна карцинома характеризувалася коекспресією онкогенів RET/PTC3 та BRAF. Цікаво, що ця пухлина мала змішану гістологічну будову і була представлена папілярними та солідними ділянками. Слід зазначити, що одночасна наявність двох різних генетичних порушень, за даними літератури, вкрай рідко спостерігається в післячорнобильських папілярних карциномах ЩЗ [20].

Доведено, що точкові мутації V600E гена BRAF асоційовані із високотітним варіантом ПК [17, 23, 24]. Вважають, що такі ПК є найагресивнішими і характеризуються найгіршим прогнозом захворювання [1, 2]. Саме тому виникло припущення, що BRAF-позитивні пухлини є достатньо агресивними за своєю біологічною поведінкою [17]. Дійсно, за даними Y.E. Nikiforov et al. [28] у пацієнтів із BRAF-позитивними ПК найчастіше спостерігаються ознаки екстратиреоїдного розповсюдження, наявність метастазів до лімфовузлів шиї, що свідчить про гірший прогноз захворювання. Однак в інших дослідженнях, проведених на післячорнобильських папілярних карциномах, таку асоціацію виявлено не було [11]. Таку розбіжність результатів, на нашу думку, можна пояснити різним віком пацієнтів та припущенням, що агресивність BRAF-позитивних пухлин зростає саме з віком. За нашими власними даними, група папілярних карцином із мутаціями BRAF V600E характеризується сприятливішим прогнозом у порівнянні з іншими ПК (позитивними до RET/PTC-перебудов та без будь-яких генетичних змін). Це підтверджується даними, що зазначена

група ПК характеризується низьким відсотком метастазів до лімфовузлів ший, відсутністю віддалених метастазів у легені та ознак екстратиреоїдного розповсюдження і багатофокусного росту в протилежну частку ЩЗ.

Несподівані результати отримані в групі ПК із наявністю RET/PTC-перебудов. Чисельні дані літератури свідчать, що саме онкогени RET/PTC3, а не RET/PTC1, асоціюються із солідною гістологічною будовою пухлин та їх агресивністю [7, 33]. Наші дослідження встановили, що відсутня різниця щодо біологічної поведінки пухлини між ПК із присутністю RET/PTC1-, RET/PTC3- або RET/PTCX-перебудов. Всі групи ПК із зазначеними змінами характеризувалися високим відсотком метастазів до лімфатичних вузлів, ознаками екстратиреоїдного розповсюдження та багатофокусного росту в протилежну частку ЩЗ порівняно із карциномами без будь-яких генетичних альтаерацій, або BRAF-позитивними пухлинами.

Крім того, слід зазначити, що серед 35 досліджених карцином лише 6 мали віддалені метастази до легенів і всі вони характеризувались наявністю RET/PTC-перебудов. Таким чином, наші дослідження показали, що найагресивнішими за своєю біологічною поведінкою були саме ПК із транслокаціями RET/PTC.

Крім точкових мутацій V600E, в літературі описаний ще один механізм активації гена BRAF, що включає інверсію хромосоми 7q та формування химерного онкогена AKAP9-BRAF [42]. Вважають, що AKAP9-BRAF зустрічається в 0-1% випадків спонтанних ПК дорослих і більш властивий дитячим папілярним карциномам із коротким латентним періодом розвитку (4-5 років) після опромінення [25, 26]. В наших дослідженнях AKAP9-BRAF-перебудови визначені не були.

Варто підкреслити, що ми вперше проаналізували частоту транслокацій гена NTRK1 в післячорнобильських українських пухлинах із подовженим латентним періодом розвитку. Перебудови TRK спостерігалися в незначному відсотку ПК (2 із 35), що узгоджується з даними інших авторів, які знаходять такі перебудови в 0-12 % випадків ПК [12, 14]. Можливо саме тому, що частота транслокацій гена NTRK1 в ПК низька, тільки в поодиноких роботах наводяться дані щодо клініко-морфологічних особливостей таких пухлин. Автори відмічають, що кореляції між наявністю TRK-перебудов та віком пацієнтів, статтю, гістологічним варіантом ПК і агресивністю не існує [38]. Як згадано вище, ми виявили транслокації гена NTRK1 лише в двох випадках ПК, що недостатньо для всебічного аналізу. Однак слід зазначити, що обидві ПК характеризувалися наявністю метастазів до лімфовузлів ший та судинної інвазії. Крім того, одна пухлина із 2 мала ознаки екстратиреоїдного розповсюдження та багатофокусного росту в протилежну частку ЩЗ.

Таким чином, наші дослідження встановили, що післячорнобильські папілярні карциноми із подовженим латентним періодом розвитку (12-15 років) характеризуються високою частотою генетичних порушень (71,4%). Серед них найагресивнішими за біологічною поведінкою були пухлини із RET/PTC-перебудовами.

Чисельні молекулярно-біологічні дослідження довели, що онкогенна активація гена BRAF (AKAP9-BRAF-перебудови та точкові мутації V600E) властива лише ПК [8, 25, 42, 43]. Навпаки, дані літератури щодо транслокацій гена RET суперечливі. Тільки в поодиноких роботах наводяться результати про наявність RET/PTC-перебудов в доброякісних нозоутвореннях ЩЗ [10, 31-33]. Однак всі зазначені дослідження не супроводжувалися мікроскопічним аналізом заморожених зразків перед наступною екстракцією, і як наслідок, неможливо виключити наявність локусів злоякісних клітин в тканині, зокрема мікрокарцином. Більш того, досліджувалися не лише

фолікулярні аденоми, а і тиреоїдити. У цьому зв'язку варто звернути увагу на інші дослідження, які встановили, що в тиреоїдитах Хашимото, позитивних до RET/PTC за FISH-методом, інтерфазний сигнал був локалізований саме в атипичних клітинах [44]. В наших дослідженнях RET/PTC1- та RET/PTC3-перебудови були відсутні як в фолікулярних аденомах, так і в зразках відносно незміненої тканини. Навпаки, невідомі RET/PTCХ-транслокації визначені в 6 доброякісних пухлинах. Також варто зазначити, що частота змін RET/PTCХ в ФА була дещо вищою, ніж у ПК. Ми не знайшли повідомлень у літературі про наявність перебудов гена NTRK1 в доброякісних новоутвореннях ЩЗ, але ж виявили таку зміну в одному випадку ФА, яка була позитивною і до онкогену RET/PTCХ.

Висновки

1. Післячорнобильські папілярні карциноми із подовженим латентним періодом розвитку (12-15 років) після опромінення внаслідок аварії на ЧАЕС характеризувалися високим відсотком (71,4%) генетичних змін.
2. Найбільше розповсюджені перебудови RET/PTC1 і RET/PTC3 та точкові мутації V600E гена BRAF властиві лише папілярним карциномам.
3. Наявність RET/PTCХ- та TRK-перебудов спостерігалася як в папілярних карциномах, так і в фолікулярних аденомах.
4. Папілярні карциноми із RET/PTC-перебудовами були найагресивнішими за морфологічними ознаками біологічної поведінки.

Подяка

Автор висловлює подяку керівнику лабораторії морфології ендокринної системи, д.б.н., проф. Т.І. Богдановій за консультативну допомогу і виконання морфологічних досліджень, 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: проф. А.Пінкейра і проф. Р. Елізеї) та міжнародній організації боротьби з раком (UICC) – за надання наукового гранту для виконання роботи.

Література

1. LiVolsy V.A. Surgical Pathology of Thyroid. Philadelphia, Saunders, 1990. 422 p.
2. Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology. Ch.9:Thyroid gland. 8th edit., St.Louis, Mosby, 1996, 493-588.
3. Tallini G., Asa S.L. RET oncogene activation in papillary thyroid carcinoma // Adv. Anat. Pathol. 2001, N 8, 345-354.
4. Saenko V., Rogounovitch T., Shimizu-Yoshida Y. et al. Novel tumorigenic rearrangement, Delta rfp/ret, in a papillary thyroid carcinoma from externally irradiated patients // Mutat. Res. 2003, 527, 81-90.
5. Nikiforov Y. RET/PTC rearrangement in thyroid tumors // Cancer Res. 2002, 13, N 1, 3-16.
6. 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 carcinogenic chromosomal rearrangement induced by ionizing radiation // J. Clin. Endocrinol. 2005, 90, N 4, 2364-2369.
7. Santoro M., Thomas G.A., Vecchio G. et al. Gene rearrangement and Chernobyl related thyroid cancer // Br. J. Cancer. 2000, 82, N 2, 315-322.
8. Carta C., Moretti S., Passeri L. et al. Genotyping of an Italian papillary thyroid carcinoma cohort revealed high prevalence of BRAF mutations, absence of RAS mutations and allowed the detection of a new mutation of BRAF oncoprotein (BRAF V599Ins) // Clin. Endocrinol. 2006, 64, 105-109.

9. Nikiforov Y.E., Rowland J.M., Bove K.E. et al. Distinct pattern of ret oncogene rearrangements in morphological variants of radiation-induced and sporadic thyroid papillary carcinomas in children // *Cancer Res.* 1997, **57**, 1680-1684.
10. Elisei R., Romei C., Vorontsova T. et al. RET/PTC rearrangements in thyroid nodules: studies in irradiated and not irradiated, malignant and benign thyroid lesions in children and adults // *J. Clin. Endocrinol.* 2001, **86**, N 7, 3211-3216.
11. Lima J., Trovisco V., Soares P. et al. BRAF mutations are not a major event in post-Chernobyl childhood thyroid carcinomas // *J. Clin. Endocrinol.* 2004, **89**, N 9, 4267-4271.
12. Musholt T.J., Brehm C., Hanack J. et al. Identification of differentially expressed genes in papillary thyroid carcinomas with and without rearrangements of tyrosine kinase receptor RET and/or NTRK1 // *J. Surg. Res.* 2006, **131**, 15-25.
13. Fusco A., Viglietto G., Santoro M. A new mechanism of BRAF activation in human thyroid papillary carcinomas // *J. Clin. Invest.* 2005, **115**, N 1, 20-23.
14. Pierotti M.A., Greco A. Oncogenic rearrangement of the NTRK1/NGF receptor // *Cancer Letters.* 2006, **232**, 90-98.
15. Bounacer A., Schlumberger M., Wicker R. et al. Search for NTRK1 proto-oncogene rearrangements in human thyroid tumors originated after therapeutic radiation // *Br. J. Cancer.* 2000, **82**, 308-314.
16. Roccato E., Bressan P., Sabatella G. et al. Proximity of TPR and NTRK1 rearranging loci in human thyrocytes // *Cancer Res.* 2005, **65**, N 7, 2572-2576.
17. Fugazzola L., Mannavola D., Cirello V. et al. BRAF mutations in an Italian cohort of thyroid cancers // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 2004, **61**, 239-243.
18. Kumagai A., Namba H., Saenko V.A. et al. Low frequency of BRAF^{Y1796A} mutations in childhood thyroid carcinomas // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004, **89**, N 9, 4280-4284.
19. Giordano T.J., Kuick R., Thomas D.G. et al. Molecular classification of papillary thyroid carcinoma: distinct BRAF, RAS, and RET/PTC mutation-specific gene expression profiles discovered by DNA microarray analysis // *Oncogene.* 2005, **24**, N 44, 6646-6656.
20. Nikiforova M.N., Ciampi R., Salvatore G. et al. Low prevalence of BRAF mutations in radiation-induced thyroid tumors in contrast to sporadic papillary carcinomas // *Cancer Letters.* 2004, **209**, 1-6.
21. Kimura E.T., Nikiforova M.N., Zhu Z. et al. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma // *Cancer Res.* 2003, **63**, N 7, 1454-1457.
22. Xu X., Quiros R.M., Gattuso P. et al. High prevalence of BRAF gene mutation in papillary thyroid carcinomas and thyroid tumor cell line // *Cancer Res.* 2003, **63**, N 9, 4561-4567.
23. Puxaddu E., Moretti S., Elisei R. et al. BRAF (V599E) mutation is the leading genetic event in adult sporadic papillary thyroid carcinomas // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004, **89**, N 9, 2414-2424.
24. Nikiforova M.N., Kimura E.T., Gandhi M. et al. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinoma // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003, **88**, 5399-5404.
25. Ciampi R., Knauf J.A., Kerler R. et al. Oncogenic AKAP9-BRAF fusion is a novel mechanism of MAPK pathway activation in thyroid cancer // *J. Clin. Invest.* 2005, **115**, N 1, 94-101.
26. Lee J.H., Lee E.S., Kim Y.S. et al. Oncogenic AKAP9-BRAF fusion is a novel mechanism of MAPK pathway activation in thyroid cancer // *Pathology.* 2006, **38**, N 3, 201-204.
27. Puzianowska-Kuznicka M., Pietrzak M. Genetic factors predisposing to the development of papillary thyroid cancer // *Endokrynol. Polska.* 2005, **56**, N 3, 339-345.
28. Adeniran A.J., Zhu Z., Gandhi M. et al. Correlation between genetic alterations and microscopic features, clinical manifestations, and prognostic characteristics of thyroid papillary carcinomas // *Am. J. Sur. Pathol.* 2006, **30**, 216-222.
29. Kim T.Y., Kim W.B., Song J.Y. et al. The BRAF V600E mutation is not associated with poor prognostic factor in Korean patients with conventional papillary thyroid microcarcinoma // *Clin. Endocrinol.* 2005, **63**, 588-593.
30. Namba H., Nakashima M., Hayashi T. et al. Clinical implication of hot spot BRAF mutation, V599E, in papillary thyroid cancer // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003, **88**, 4393-4397.

31. Ishizaka Y., Kobayas H.S., Ushijima T. et al. Detection of ret TCP/PTC transcripts in thyroid adenomas and adenomatous goiter by an RT-PCR method // *Oncogene*. 1991, N 6, 1667-1672.
32. Domingues R., Mendoca E., Sobrinho L., Bugalho M.J. Searching for RET/PTC rearrangements and BRAF V599E mutation in thyroid aspirates might contribute to establish a preoperative diagnosis of papillary thyroid carcinoma // *Cytopathol*. 2004, 16, 27-31.
33. Arighi E., Borrello M.G, Sariola H. RET tyrosine kinase signaling in development and cancer // *Cytokine Growth Factor Reviews*. 2005, 16, 441-467.
34. Livak K.L., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method // *Methods*. 2001, 25, 402-408.
35. Leenhouts H.P., Brugmans M.J.P., Chadwick K.H. Analysis of thyroid cancer data from the Ukraine after «Chernobyl» using a two-mutation carcinogenesis model // *Radiat. Environ. Biophys*. 2000, 39, 89-98.
36. Jacob P., Bogdanova T.I., Buglova E. et al. Thyroid cancer risk in areas of Ukraine and Belarus affected by the Chernobyl accident // *Radiat. Res*. 2006, 165, N 1, 1-8.
37. Jacob P., Bogdanova T.I., Buglova E. et al. Thyroid cancer among Ukrainian and Belarusians who were children or adolescents at the time of the Chernobyl accident // *J. Radiol. Protec*. 2006, 26, 51-67.
38. Brzezianska E., Karbownik M., Migdalska-Sek M. et al. Molecular analysis of the RET and NTRK1 gene rearrangements in papillary thyroid carcinomas in the Polish population // *Mutat. Res*. 2006, 599, N 1-2, 26-35.
39. Williams E.D., Abrosimov A., Bogdanova T. et al. Thyroid carcinoma after Chernobyl latent period, morphology and aggressiveness // *Br. J. Cancer*. 2004, 90, N 11, 2219-2224.
40. Unger K., Zurnadzhly L., Walch A. et al. RET rearrangements in post-Chernobyl papillary thyroid carcinomas with a short latency analysed by interphase FISH // *Br. J. Cancer*. 2006, 94, N 10, 1472-1477.
41. Rhoden K.J., Johnson C., Brandao G. et al. Real-time quantitative RT-PCR identifies distinct c-RET, RET/PTC1 and RET/PTC3 expression pattern in papillary thyroid carcinoma // *Lab. Invest*. 2004, 84, 1557-1570.
42. Ciampi R., Nikiforov Yu.E. Alterations of the BRAF gene in thyroid tumors // *Endocrin. Pathol*. 2005, 16, N 3, 1-9.
43. Fugazzola L., Puxeddu E., Avenia N. et al. Correlation between BRAF V600E mutations and clinico-pathologic parameters in papillary thyroid carcinoma: data from a multicentric Italian study and review of literature // *Endocrinol. Relat. Cancer*. 2006, 13, N 20, 455-464.
44. Rhoden K.J., Unger K., Salvatore G. et al. RET/PTC rearrangement 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.
45. Thomas G.A., Williams E.D., Becker D.V. et al. Thyroid tumor banks // *Science*. 2000, 289, N 29, 2945-2948.

Онкогенная активация генов RET, BRAF и NTRK1 в доброкачественных и злокачественных послечернобыльских опухолях щитовидной железы

Л.Г. Воскобойник

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

Молекулярно-биологически и морфологически проанализированы 59 послечернобыльских опухолей (35 папиллярных карцином и 24 фолликулярные аденомы) щитовидной железы (ЩЖ) с латентным периодом более 10 лет, т.е. временем, прошедшим между Чернобыльской катастрофой и хирургическим лечением. Во всех случаях была исследована и относительно неизменная ткань ЩЖ.

Показано, что частота RET/PTC-перестроек в папиллярных карциномах (ПК) щитовидной железы составляет 51,4% с преобладанием наиболее распространенных

RET/PTC1 и RET/PTC3 альтераций (34,3%) по сравнению с RET/PTCX (17,1%). Процент точечных мутаций V600E гена BRAF также был достаточно высоким – 24%. Одновременная экспрессия гена RET/PTC3 и мутированного BRAF выявлена в одной ПК (2,9%). Транслокации TRK найдены в двух случаях ПК (5,7%). Химерный ген AKAP9-BRAF ни в одном из исследуемых образцов выявлен не был. В целом, наличие генетических изменений показано в 71,4% случаев ПК. В отличие от ПК, в 25% фолликулярных аденом (ФА) отмечено только присутствие неизвестных, так называемых RET/PTCX-перестроек, которые отличаются от классических изменений RET/PTC1 и RET/PTC3. Следует отметить, что этот процент был несколько выше по сравнению с папиллярными карциномами (17,1%). Кроме того, в одной ФА выявлена транслокация гена NTRK1 при одновременной экспрессии химерного гена RET/PTCX (4,2%).

Таким образом, наиболее распространенные транслокации гена RET (RET/PTC1 и RET/PTC3) и точечные мутации BRAF V600E наблюдались только в папиллярных карциномах ЩЖ. Неизвестные RET/PTCX-перестройки и транслокации гена NTRK1 были отмечены как в ПК, так и в ФА.

Ключевые слова: папиллярная карцинома, фолликулярная аденома, RET/PTC-перестройки, TRK-перестройки, AKAP9-BRAF-перестройки, точечные мутации BRAF V600E.

Oncogenic activation of RET, BRAF and NTRK1 genes in benign and malignant post-Chornobyl thyroid tumors

L.G. Voskoboynyk

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

We analyzed 59 post-Chornobyl tumors (35 papillary carcinomas and 24 follicular adenomas) with a latency period of more than 10 years, that is the time between the Chornobyl accident and operation. In all cases the corresponding normal tissue was also studied.

The overall frequency of RET/PTC rearrangements in papillary thyroid carcinomas was 51.4% with the prevalence of the most common RET/PTC1 and RET/PTC3 alterations (34.3%) as compared to RET/PTCX (17.1%). The percentage of BRAF V600E point mutations was also quite high – 24%. In one case the coexistence of RET/PTC3 and BRAF abnormalities was detected (2.9%). NTRK1 abnormalities were revealed in 2 cases of PTCs (5.7%). AKAP9-BRAF rearrangement was not detected in any studied sample. The overall frequency of any gene abnormalities in PTCs was 71.4%. In contrast to PTCs, 25% of FAs demonstrated the presence of the so-called RET/PTCX rearrangements, other than classical RET/PTC1 та RET/PTC3 ones. It should be noted that percentage of RET/PTCX abnormalities was slightly higher as compared to PTCs (25.0%). Moreover, in one FA co-expression of RET/PTCX and NTRK1 mutants was detected (4.2%).

In conclusion, the most common RET/PTC rearrangements, RET/PTC1 and RET/PTC3, like BRAF V600E point mutations were observed only in PTCs as compared to FA. The percentage of BRAF point mutations was 24%. Unknown RET/PTCX rearrangements were present in both PTCs and FA, like NTRK1 alterations.

Key words: papillary thyroid carcinoma, follicular adenoma, RET/PTC rearrangement, TRK rearrangement, AKAP9-BRAF rearrangement, BRAF V600E point mutation.

(Надійшла 26.01.2007)

МІЖНУКЛЕОСОМНА ТА ВНУТРІШНЬОНУКЛЕОСОМНА ФРАГМЕНТАЦІЯ ДНК У ЩИТОПОДІБНІЙ ЗАЛОЗІ ХВОРИХ НА РІЗНУ ТИРЕОЇДНУ ПАТОЛОГІЮ

О.В. Калініченко, Т.М. Мишуніна*, Л.І. Пількевич, Л.Ю. Зурнаджи,
Ю.Н. Таращенко, А.Є. Коваленко

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

Методом електрофорезу в агарозному гелі досліджена фрагментація ДНК, яку виділяли із зразків позавузлової тканини щитоподібної залози у разі її вузлової патології, тканини еутиреоїдного чи токсичного вузлового зоба, дифузного токсичного зоба, фолікулярної аденоми, папілярної та фолікулярної карциноми. Встановлено, що у тканині еутиреоїдного вузлового зоба, фолікулярної аденоми, фолікулярної карциноми, а також позавузлової тканини, яка мала певні гістологічні ознаки порушення її будови або ознаки хронічного тиреоїдиту, спостерігалось суттєве зниження рівня мононуклеосом. У тканині вузлового токсичного чи дифузного токсичного зоба рівень олігонуклеосом не відрізнявся від такого у позавузлової незміненої тканини щитоподібної залози, тоді як на електрофореграмах ДНК з тканини папілярної карциноми мав місце суттєво менший вміст моно-, ди-, три- та тетрануклеосом. Обговорюють можливі механізми виникнення особливостей змін інтенсивності термінальної стадії апоптозу у щитоподібній залозі хворих на різну тиреоїдну патологію.

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

В останні роки широко вивчається роль програмованої загибелі клітин (апоптозу) у патогенезі різних захворювань щитоподібної залози [1, 2]. Вже з'ясовано, що у разі аутоімунних захворювань (дифузний токсичний зоб, хронічний лімфоцитарний тиреоїдит) апоптоз виступає одним із чинників розвитку або прогресування хвороби, хоча патогенетичні молекулярні механізми його реалізації за цих патологій багато в чому відмінні та ще до кінця не з'ясовані. Апоптоз може відігравати одну із центральних ролей у регуляції маси тиреоїдних клітин у разі посиленої їх проліферації за умов формування зоба, проте динаміка змін його інтенсивності досліджена недостатньо. Щодо новоутворень щитоподібної залози (ЩЗ), то хоча вже не викликає сумнівів значення апоптозу у звільненні організму від трансформованих клітин, дані літератури про спроможність його механізму, як і про порушення функцій численних компонентів ініціації, регуляції та реалізації апоптозної загибелі клітин різних пухлин ЩЗ багато в чому неповні та суперечливі [3].

Відомо, що термінальним етапом руйнування клітин за апоптозу є порушення структури хроматину та міжнуклеосомна фрагментація ДНК. Слід зазначити, що фрагменти, за розміром кратні розміру нуклеосом (~200 пар основ, п.о.), з'являються у клітині на пізніх стадіях апоптозу. Міжнуклеосомній деградації ДНК передують «ініціююча», яка торкається вищих рівнів організації ДНК і в результаті якої утворюються високомолекулярні фрагменти двониткової ДНК розміром від 4 до 300 тис. п.о. [4, 5].

Фрагментація ДНК пов'язана із протеолітичним розщепленням під дією каспаз, насамперед, топоізомерази II, специфічного білка, який, виконуючи ферментативну та структурну функцію, бере участь у формуванні надструктур компактизації ДНК – дископодібних розеток, що складаються

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

із 6 суперспіралізованих петель, кожна з яких містить по 50 тис. п.о. Субстратом каспаз є і гістон H1, який зумовлює складання та конденсацію нуклеосом у структури вищого порядку (нуклеомери) та захищає нуклеосомні від дії ендонуклеаз. В свою чергу, активація останніх також залежить від дії каспаз: вони ініціюють процесинг білка DFF (DNA fragmentation factor) із утворенням його активної форми, яка здатна активувати ендонуклеази, а також відокремлення інгібіторного компонента від нейтральної ендонуклеази CAD (caspase-activated DNase). Останню на сьогодні вважають чи не універсальним ферментом, здатним розщеплювати ДНК у лінкерних ділянках із вивільненням олігонуклеосом [6]. Взагалі, дані літератури вказують на ще декілька ендонуклеаз, що забезпечують фрагментацію ДНК у різних типах клітин – Ca^{2+} , Mg^{2+} -залежна ендонуклеаза, γ ДНКаза, ДНКаза I, ДНКаза II та інші. Ці ферменти мають широкий діапазон рН оптимуму, для прояву активності потребують різного та складного набору катіонів і беруть участь як в утворенні великих фрагментів ДНК, так і у міжнуклеосомній її фрагментації. В той же час, питання про природу ферментів, відповідальних за деградацію хроматину при апоптозі, до кінця ще не вирішено.

Подальша деградація олігонуклеосом супроводжується утворенням субнуклеосом – фрагментів ДНК розміром від 20-30 до 115-125 п.о., вони містять різні гістони з тих, що входять у структуру нуклеосом [7]. Електрофоретичний аналіз розподілу в агарозному гелі олігонуклеосом дозволяє, із деякими застереженнями, одержати підтвердження наявності апоптозу [6], а використання комп'ютерних програм – певну кількісну характеристику його інтенсивності [8].

Метою роботи було дослідження особливостей інтенсивності міжнуклеосомної та внутрішньонуклеосомної фрагментації ДНК у тканині ЩЗ хворих на різну тиреоїдну патологію.

Матеріал та методи

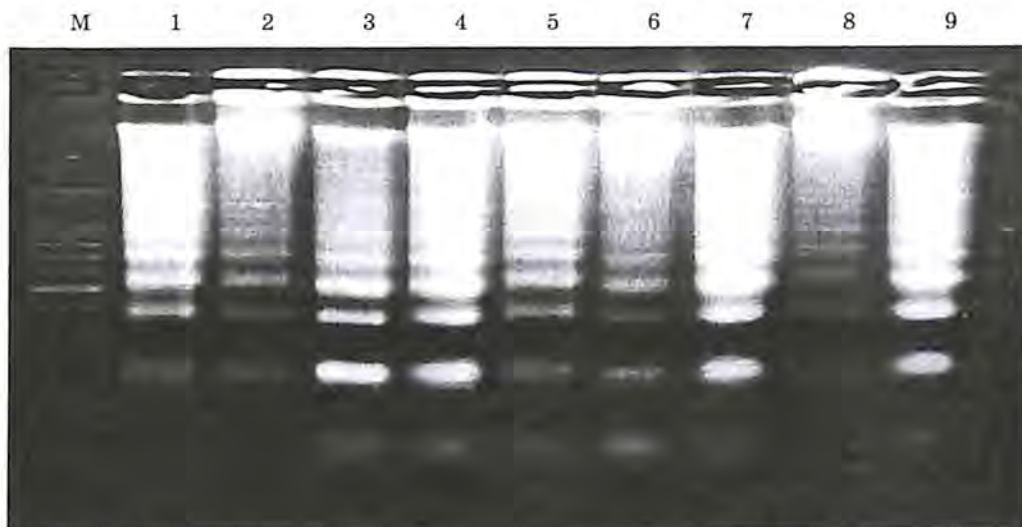
Досліджено 54 зразки тканин ЩЗ та її новоутворень, які отримували від хворих на вузлову патологію залози (еутиреоїдний чи токсичний вузловий зоб, карцинома чи аденома ЩЗ), а також на дифузний токсичний зоб. Враховуючи клінічний діагноз та патогістологічний висновок, зразки тканин були розділені на 9 груп. Патогістологічна характеристика зразків тканин, кількість зразків у групах, вік та стать хворих наведені у табл. 1.

Таблиця 1. Характеристика об'єктів дослідження та хворих, від яких одержані зразки тканин щитоподібної залози та її новоутворень

Гістологічна характеристика зразків тканини	n	Вік хворих, роки	Жінки/чоловіки
Позавузлова незмінена тканина ЩЗ нормофолікулярної будови	5	41,8±5,7	1/4
Позавузлова тканина із певними гістологічними порушеннями у будові (ознаки склеротичних чи дистрофічних змін, дифузного гіперпластичного процесу, інвазивного росту злоякісної пухлини)	11	36,6±14,6	5/6
Позавузлова тканина із ознаками хронічного тиреоїдиту	6	47,5±2,3	5/1
Тканина еутиреоїдного вузлового аденоматозного колоїдного зоба (часто дифузно-склерозуючого або із ділянками кістозного переродження)	4	50,3±4,7	4/0
Тканина токсичного вузлового зоба	5	42,4±11,4	4/1
Тканина дифузного токсичного зоба (іноді із супутнім хронічним тиреоїдитом)	8	27,8±2,8	8/0
Тканина фолікулярної аденоми	3	55,6±10,3	3/0
Тканина папілярної карциноми	9	31,4±4,4	7/2
Тканина фолікулярної карциноми	3	59,3±3,1	0/3
Разом	54	—	37/17

Тканину зразків ЩЗ та її новоутворень звільняли від жирової тканини та крововиливів. Виділення ДНК та умови проведення електрофорезу в агарозному гелі описані раніше [9]. Локалізацію фракцій ДНК на гелі визначали у трансільюмінаторі (мал. 1), фореграми з цифрових фотографій сканували, використовуючи програму «Photo Cart Mw» (мал. 2). Кількість низькомолекулярних фрагментів ДНК різних фракцій нуклеосом розраховували у відсотках. Одержані дані опрацьовані статистично із використанням критерію t Стюдента та непараметричного критерію U Вілкоксона-Мана-Уїтні. Вірогідними вважали різницю між показниками при $P < 0,05$. У таблицях дані представлені як $(M \pm m)\%$.

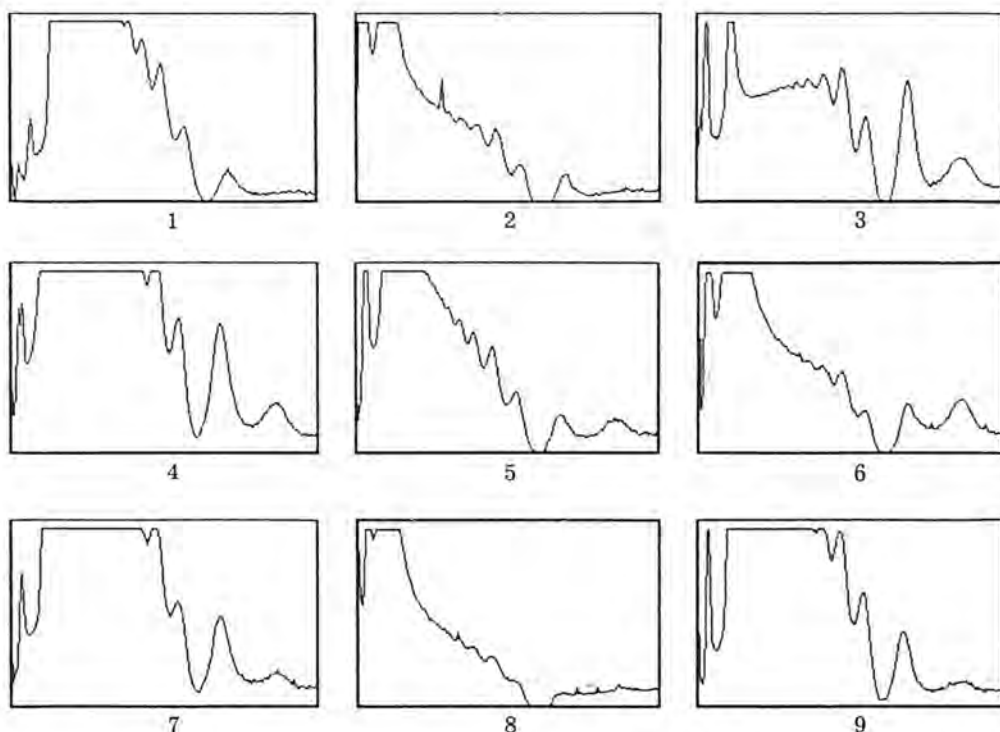
На проведення досліджень був одержаний дозвіл від комітету Інституту з біоетики.



Мал. 1. Електрофореграми ДНК із тканини зразків ЩЗ та її новоутворень: М – маркер, 1 – позавузлова тканина із ознаками порушення її будови, 2 – тканина еутиреоїдного вузлового зоба, 3 – тканина вузлового токсичного зоба, 4 – тканина дифузного токсичного зоба, 5 – позавузлова тканина із ознаками хронічного тиреоїдиту, 6 – тканина папілярної карциноми, 7 – тканина фолікулярної карциноми, 8 – тканина фолікулярної аденоми, 9 – позавузлова незміненна тканина.

Результати та їх обговорення

При проведенні електрофоретичного дослідження ДНК, яка була виділена з тканини ЩЗ, не вдається одержати видимого розподілення ДНК на фракції низькомолекулярних її фрагментів (не показано), що пов'язано із невеликою кількістю клітин, які у даний момент часу знаходяться в апоптозі, і ще меншим, у яких цей процес досяг її термінальної стадії – фрагментації ДНК. Для стимуляції апоптозу застосовують ряд методичних процедур, які передують виділенню ДНК – опромінення клітин, застосування Ca^{2+} -іонофорів, тривалу інкубацію клітин чи тканин тощо [10, 11]. За умов передінкубації зрізів тканини ЩЗ, що були підібрані раніше [9], на електрофореграмах ДНК, яка виділена із зразків тканини залози хворих, чітко фіксуються фрагменти розміром ~200, 400, 600 та 800 п.о., іноді 1000 п.о., утворюючи в гелі характерну «апоптозну драбинку» (мал. 1). Підвищення інтенсивності спонтанної міжнуклеосомної фрагментації ДНК після передінкубації зрізів ЩЗ відображає присутність у тканині як клітин, що вже вступили у фазу апоптозу, так і передапоптозних. Як видно з мал. 1, якісна характеристика розподілення ДНК, що була виділена із зразків, відібраних із залози хворих на різну тиреоїдну патологію, значно відрізняється. У подальшому цей висновок був підтверджений кількісним аналізом розподілу фракцій оліго- та субнуклеосом (мал. 2).



Мал. 2. Сканограми електрофореграм ДНК із тканини зразків ЩЗ та її новоутворень (1-9 – див. мал. 1).

Для визначення інтенсивності фрагментації ДНК у незмінній тканині ЩЗ було досліджено 16 зразків позавузлової тканини, відібраних як з частки, де локалізовано новоутворення, так і з контрлатеральної. Всі зразки не мали макроскопічних ознак патології, проте лише 5 з них виявилися такими, що відповідають умовам (тканина нормофолікулярної будови без особливостей), за якими їх можна було вважати зразками незміненої тканини і включити до групи порівняння. Найбільша кількість фрагментів ДНК із незміненої тканини ЩЗ при електрофоретичному розділенні припадала на фракцію мононуклеосом (~200 п.о.), а сумарний рівень моно-, ди-, три- та тетрануклеосом становив біля третини від загальної кількості ДНК (табл. 2). Раніше було показано, що в інтактних клітинах низький (10%) рівень олігонуклеосом невеликого розміру підвищується до 25-30% після передінкубації клітин [11, 12].

У позавузловій тканині, яка мала певні гістологічні порушення чи ознаки хронічного тиреоїдиту, сумарний рівень олігонуклеосом невеликого розміру (200-800 п.о.) був зниженим за рахунок значного падіння вмісту мононуклеосом (табл. 2). Встановлено, що більш значна доля фрагментів ДНК розміром ~200 п.о. утворюється при більш тривалій діяльності ендонуклеаз і, отже, зменшення кількості мононуклеосом може свідчити про зниження чутливості специфічних ділянок хроматину до ферментів, що, в свою чергу, пов'язано зі змінами конформації нуклеосом за рахунок порушення зв'язку молекули ДНК з гістонами [7]. В імуногістологічних дослідженнях було з'ясовано, що у позавузловій тканині ЩЗ, яка оточувала доброякісні чи злоякісні новоутворення, спостерігається висока експресія маркерів генної нестабільності, зокрема, чинників, які безпосередньо беруть участь у регуляції апоптозу (Bcl-2, p53) [13]. Ці дані вказують на наявність суттєвих

генетичних змін у тканині, що оточує новоутворення і, отже, може свідчити про модуляцію інтенсивності апоптозу [3] у тканині ЩЗ із ознаками порушень її будови чи хронічного тиреоїдиту.

В той же час, при спектрофотометричному дослідженні загального вмісту фрагментованої ДНК було встановлено, що її концентрація у позавузловій тканині залози із гістологічними ознаками порушення її будови вищий, ніж у позавузловій незмінній тканині ЩЗ [14]. Різنا спрямованість змін загального вмісту фрагментованої ДНК та олігонуклеосом може бути пов'язана із наявністю за цих умов фрагментів ДНК більшого розміру, ніж тих, що можуть бути зафіксованими методом електрофорезу за зазначених вище умов (див. табл. 2).

Аналіз отриманих даних в залежності від діагнозу чи характеру гістологічних зрушень у будові тканини ЩЗ не виявив особливостей у величині змін вмісту олігонуклеосом. В той же час, у позавузловій тканині ЩЗ жінок відмічений зменшений вміст не тільки моно-, але і тетрануклеосом, крім того, рівень динуклеосом та, меншою мірою, тетрануклеосом ($0,1 > P > 0,05$) у тканині жінок був нижчим, ніж у позавузловій тканині залози хворих чоловіків. Подібна різниця мала місце і при визначенні загального вмісту фрагментованої ДНК [14].

Вміст олігонуклеосом розміром 200-800 п.о. у тканині еутиреоїдного вузлового зоба був дещо зменшеним ($0,1 > P > 0,05$) у порівнянні із незміненою тканиною також за рахунок суттєвого зниження вмісту моонуклеосом (табл. 3). Такий же характер змін рівня олігонуклеосом спостерігали і у тканині фолікулярної аденоми. При цьому рівень фрагментів ДНК більшого ніж 800 п.о. розміру, певно, також зростає, так як у тканині еутиреоїдного вузлового зоба та тканині фолікулярної аденоми загальна концентрація фрагментованої ДНК значно вища, ніж у позавузловій незмінній тканині [14]. Зважаючи на те, що ці зміни подібні таким, що мали місце у позавузловій тканині ЩЗ з гістологічними змінами, можна припустити, що за умов будь-яких порушень структурної будови тканини ЩЗ в клітинах відбувається підвищення фрагментації ДНК із утворенням більших за розміром фрагментів за одночасного гальмування її у тих ділянках хроматину, розщеплення яких призводить до вивільнення моонуклеосом.

В той же час, у тканині вузлового токсичного зоба не відмічено значущого падіння вмісту моонуклеосом і сумарного рівня олігонуклеосом, проте мав місце збільшений вміст тетрануклеосом (табл. 3), що може свідчити про певний модулюючий вплив тиреоїдних гормонів на фрагментацію ДНК у ЩЗ. Загальна концентрація фрагментованої ДНК у тканині вузлового токсичного зоба також збільшена, особливо у разі тяжкої форми хвороби [14]. Відомо, що за дії гормонів у хроматині з'являються додаткові ділянки, для яких характерна підвищена чутливість до ендонуклеаз [7]. Щодо тиреоїдних гормонів, то була показана індукція ними гіперчутливості таких ділянок до ДНКаз-І у хроматині клітин селезінки, печінки та пухлин гіпофіза щурів [15].

У тканині дифузного токсичного зоба рівень міжнуклеосомної фрагментації ДНК відповідав такому у позавузловій незмінній тканині (табл. 3). Залишався незмінним і загальний вміст фрагментованої ДНК [14]. Дані літератури вказують на захищеність тиреоцитів при дифузному токсичному зобі від апоптозу внаслідок підвищення під впливом цитокінів рівня білків-інгібіторів апоптозу FLIP та антиапоптозного білка Bcl-2 [16]. В той же час, за тяжкої форми хвороби спостерігали зниження сумарного рівня олігонуклеосом невеликого розміру (див. табл. 3) та відсотка фрагментованої ДНК [14]. Можливо, суттєвим у цьому випадку є наявність за тяжкої форми хвороби у переважної більшості зразків тканини дифузного токсичного зоба

Таблиця 2. Базальний вміст олігонуклеосом у позавузловій незмінній та позавузловій тканині, яка має певні гістологічні порушення у будові, щитоподібної залози хворих на вузлову патологію останньої

Зразки тканин	n	Вміст олігонуклеосом (%) розміром				
		800 п.о.	600 п.о.	400 п.о.	200 п.о.	200-800 п.о.
Позавузлова незмінена тканина	5	6,66±0,47	6,82±0,97	4,32±0,86	15,21±4,63	33,00±2,82
Позавузлова тканина, яка має певні порушення у будові, у т.ч.	11	6,04±0,45	6,20±0,49	3,36±0,43	2,56±0,37 *	18,16±1,11 *
зразки тканини жінок	5	5,25±0,35 *	5,36±0,33	2,60±0,37	3,12±0,61 *	16,33±0,94 *
зразки тканини чоловіків	6	6,69±0,70	6,89±0,77	4,00±0,64 #	2,10±0,42 *	19,68±1,70 *
зразки за вузлового зоба	4	5,33±0,60	5,60±0,94	3,76±0,99	2,29±0,69 *	16,98±1,98 *
зразки за карциноми	7	6,43±0,61	6,54±0,57	3,13±0,42	2,72±0,47 *	18,83±1,37 *
зразки із ознаками склеротичних змін	4	5,53±0,83	5,33±1,00	3,06±0,60	2,42±0,50 *	16,34±2,39 *
зразки із ознаками дифузного гіперпластичного процесу	4	6,57±0,97	7,02±0,72	4,33±0,82	2,38±0,99 *	20,30±1,31 *
зразки із ознаками інвазивного росту пухлини	3	6,00±0,43	6,24±0,66	2,48±0,52	3,01±0,05 *	17,73±1,51 *
Позавузлова тканина із ознаками хронічного тиреоїдиту	6	6,65±0,49	7,16±0,32	5,35±1,37	3,28±0,92 *	22,43±2,17 *

Примітка. * – $P < 0,05$ у порівнянні із вмістом у позавузловій незмінній тканині, # – $P < 0,05$ у порівнянні із вмістом у тканині ЩЗ жінок.

Таблиця 3. Базальний вміст олігонуклеосом у тканині щитоподібної залози за умов її патології

Зразки тканин	n	Вміст олігонуклеосом (%) розміром				
		800 п.о.	600 п.о.	400 п.о.	200 п.о.	200-800 п.о.
Позавузлова незмінена тканина	5	6,66±0,47	6,82±0,97	4,32±0,86	15,21±4,63	33,00±2,82
Тканина еутиреоїдного вузлового колоїдного зоба	4	6,08±0,48	6,22±1,18	4,76±2,51	4,50±1,42 *	21,56±4,94
Тканина токсичного вузлового зоба	5	9,56±1,17 * §	7,50±1,13	5,89±1,61	11,17±2,67 §	34,13±4,21 §
Тканина дифузного токсичного зоба, у т.ч.:	8	7,11±0,58	6,39±0,82	5,57±1,62	7,81±3,58	26,88±5,41
тканина дифузного токсичного зоба, середня тяжкість	5	7,45±0,92	7,04±1,06	7,31±2,16	8,52±5,89	30,32±8,34
тканина дифузного токсичного зоба, тяжка форма	3	6,54±0,10	5,32±1,26	2,66±1,55	6,62±1,62	21,15±3,89 *
Тканина папілярної карциноми, у т.ч.:	9	4,73±0,53 *	4,25±0,70 *	2,46±0,73	3,38±0,56 *	14,82±1,54 *
розмір пухлини T_2 - T_3	3	3,40±0,62 *	3,25±1,27 *	1,14±0,38 *	3,38±1,31 *	11,17±2,16 *
розмір пухлини T_4	6	5,40±0,58 * #	4,75±0,84	3,12±0,99	3,38±0,65 *	16,64±1,66 *
Тканина фолікулярної карциноми	3	7,21±0,20 &	9,14±1,34 &	6,89±1,46 &	5,00±0,86 *	28,23±3,44 &
Тканина фолікулярної аденоми	3	5,34±0,55	4,09±1,05	2,20±1,22	3,21±1,65 *	14,84±2,98 *

Примітка. $P < 0,05$ у порівнянні із вмістом: * – у позавузловій незмінній тканині, § – у тканині еутиреоїдного вузлового колоїдного зоба, # – у тканині папілярної карциноми розміром T_2 - T_3 , & – у тканині папілярної карциноми.

ознак дифузного хронічного тиреоїдиту, при якому відбувається як зменшення загального вмісту фрагментованої ДНК [14], так і гальмування заключних стадій фрагментації ДНК із вивільненням мононуклеосом (див. табл. 2).

Вміст усіх олігонуклеосом, які реєструються на електрофореграмах ДНК, виділеної із тканини папілярної карциноми, суттєво нижчий, ніж у незмінній тканині ЩЗ (табл. 3), як і загальна концентрація фрагментованої ДНК [14]. Вірогідно значуще зменшення було встановлено для тетра-, три- та, особливо, мононуклеосом, а найчіткіше це спостерігалось у пухлинах розміром T_2-T_3 – у цьому випадку зменшений також рівень і динуклеосом. Загальна концентрація фрагментованої ДНК також виявилася зменшеною більшою мірою у пухлинах T_2-T_3 [14]. Обговорюючи ці дані, насамперед, слід вказати на суттєвішу вираженість фрагментації ДНК на більш ранніх стадіях пухлинного росту [17] та зменшення активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -залежної ендонуклеази по мірі прогресування процесу трансформації [18]. Відомо також, що недоступність сайтів ДНК для ендонуклеаз зумовлена такими структурними перебудовами хроматину, в основі яких лежить екранування чутливих ділянок внаслідок утворення ковалентних зшивок ДНК-білок [7]. Останні можуть бути результатом пошкодження молекули ДНК. Враховуючи той факт, що у більшості випадків міжнуклеосомна фрагментація є показником загибелі клітин шляхом апоптозу, можна припустити, що у папілярних карциномах спостерігається суттєве гальмування інтенсивності термінальної стадії цього механізму.

На відміну від папілярної карциноми у тканині фолікулярної карциноми поряд зі зменшенням рівня мононуклеосом спостерігали дещо збільшений вміст тетра-, три- та динуклеосом (табл. 3). Внаслідок таких зрушень сумарний вміст олігонуклеосом невеликого розміру у фолікулярній карциномі вірогідно не відрізнявся від такого у незмінній тканині ЩЗ. Загальний рівень фрагментованої ДНК при цьому був вищим, ніж у незмінній тканині ЩЗ [14]. Отже, у фолікулярній карциномі зниження рівня мононуклеосом відбувається, певно, поряд із підвищенням фрагментації ДНК у ділянках хроматину, розщеплення яких призводить до вивільнення олігонуклеосом більшого розміру. Інформація щодо інтенсивності апоптозу у папілярних та фолікулярних карциномах нечисельна та суперечлива. Так, в одних дослідженнях показана дуже низька апоптозна активність як у фолікулярних, так і папілярних карциномах ЩЗ [19], в інших – встановлено, що апоптозний індекс у папілярних карциномах ЩЗ суттєво вищий, ніж у фолікулярних [20]. Значна розбіжність щодо інтенсивності змін апоптозу у карциномах ЩЗ може бути пояснена не тільки гістологічними особливостями, але і різною швидкістю їх росту, стадією розвитку та прогресії, метастазуванням [6, 21].

При дослідженні міжнуклеосомної фрагментації ДНК на електрофореграмах усіх досліджених зразків тканин була присутня смуга, яка мала локалізацію у зоні, що відповідає розміру фрагментів ДНК -100 п.о. (мал. 1). Присутність невеликої кількості фрагментів такого розміру (табл. 4) свідчить про незначне внутрішньонуклеосомне розщеплення ДНК [22] у клітинах незміненої тканини ЩЗ. В той же час, у позавузловій тканині ЩЗ, яка мала певні ознаки порушення гістологічної будови, рівень субнуклеосом був у 3 рази вищим, ніж у позавузловій незмінній тканині. Ступінь підвищення внутрішньонуклеосомного розщеплення суттєво не різнився в залежності від характеру структурних порушень, але він був вищим у тканині, яка відібрана із залози за умов еутиреоїдного зоба, у порівнянні із такою за умов карциноми, та менш закономірним у тканині залози із ознаками склеротичних та дистрофічних змін, і тканині із ознаками хронічного тиреоїдиту ($0,1 > P > 0,05$).

Таблиця 4. Вміст субнуклеосом у незмінній тканині та тканині щитоподібної залози за умов її патології

Зразки тканин	n	Вміст субнуклеосом, %
Позавузлова незмінена тканина	5	1,84±0,55
Позавузлова тканина, яка має певні порушення у будові, у т.ч.	11	5,63±0,98 *
тканина залози за вузлового зоба	4	8,43±1,43 *
тканина залози за карциноми	7	4,04±0,88 * #
тканина залози із ознаками склеротичних чи дистрофічних змін	4	4,54±1,97
тканина залози із ознаками дифузного гіперпластичного процесу	4	6,77±1,82 *
тканина залози із ознаками інвазивного росту пухлини	3	5,57±1,31 *
Позавузлова тканина із ознаками тиреоїдиту	6	4,65±1,14
Тканина еутиреоїдного багатовузлового колоїдного зоба	4	5,31±1,21
Тканина токсичного вузлового зоба	5	5,40±0,61 *
Тканина дифузного токсичного зоба	8	6,50±1,26 *
Тканина папілярної карциноми	9	8,37±1,74 *
Тканина фолікулярної карциноми	3	2,42±1,92 §
Тканина фолікулярної аденоми	3	8,20±4,04

Примітка. $P < 0,05$ у порівнянні із вмістом: * – у незмінній тканині, # – у тканині залози за вузлового зоба, § – у папілярній карциномі.

У патологічно зміненій тканині ЩЗ рівень субнуклеосом виявився також підвищеним, у тканині еутиреоїдного вузлового зоба ці зміни були менш закономірними ($0,1 > P > 0,05$). Виключення становить лише тканина злоякісних пухлин – у папілярній карциномі це збільшення було суттєвішим (4,8 рази), а у тканині фолікулярної карциноми рівень внутрішньонуклеосомного розщеплення ДНК не відрізнявся від такого у незмінній тканині ЩЗ (табл. 4). З'ясування значення та причин неоднакових змін субнуклеосомної деградації ДНК у тканині ЩЗ при різній тиреоїдній патології потребують подальших досліджень.

Таким чином, спираючись на дані щодо кількісних змін загального вмісту фрагментованої ДНК та вмісту олігонуклеосом невеликого розміру, можна зробити висновок про різний характер змін термінальної стадії апоптозу у тканині ЩЗ хворих на тиреоїдну патологію. Припускаємо, що у тканині еутиреоїдного вузлового зоба, фолікулярної аденоми, фолікулярної карциноми та у позавузловій тканині, яка оточує ці новоутворення і має певні порушення у будові, деградація ДНК активується на рівні утворення більш крупних фрагментів ДНК та гальмується на етапі її фрагментації із вивільненням мононуклеосом, тоді як у тканині папілярної карциноми має місце різке зниження інтенсивності термінальної стадії апоптозу. За умов патології ЩЗ, яка супроводжується підвищеною секрецією тиреоїдних гормонів, інтенсивність фрагментації ДНК суттєво не змінюється. Розщеплення олігонуклеосом із утворенням субнуклеосом за умов тиреоїдної патології, за виключенням фолікулярної карциноми, збільшене.

Література

1. Кандор В.И., Крайнова С.И., Крюкова И.В., Мкртумова Н.А. Механизмы пролиферации и смерти тиреоцитов при аутоиммунных заболеваниях // Вестник РАМН. 2006, № 9-10, 56-61.
2. Wang S., Baker J. Apoptosis in thyroid cancer // Thyroid cancer: A comprehensive guide to clinical management. 2nd ed. / L. Wartofsky and D. Van Nostrand (eds.). Humana Press Inc., Totowa, NY, 2006, 55-61.

3. 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.
4. 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 совр. биол. 2006, 126, № 1, 3-9.
5. Тронов В.А., Терещенко Д.Г., Конопляников М.Л. Механизмы радиационной гибели лимфоцитов периферической крови человека, оцениваемой методом ДНК-комет // Биофизика. 1998, 43, вып. 1, 115-124.
6. Фильченков О.О., Стойка Р.С. Апоптоз і рак: від теорії до практики. Тернопіль: Укрмедкнига, 2006. 524 с.
7. Збарский И.Б. Организация клеточного ядра. М.: Медицина, 1988. 368 с.
8. Kostyuchenko N., Pushkarev V., Kashevarov G. et al. Effects of N-acyl ethanolamines and various antimitotic agents on apoptotic DNA fragmentation in conventionally normal and tumor tissue of human adrenals // Exp. oncol. 2005, 27, N 3, 215-219.
9. 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.
10. Галитовский В.Е., Гогвадзе В.Г. Ингибиторы энергетики митохондрий предотвращают межнуклеосомную фрагментацию ДНК в тимocyтах // Биохимия. 1998, 63, вып. 12, 1616-1620.
11. Петрова Г.В., Донченко Г.В. Влияние α -токоферола на апоптоз и некроз тимocyтов крыс, индуцированное Ca^{++} -ионофором A23187 в различных концентрациях // Укр. біохім. журн. 2004, 76, № 1, 103-107.
12. Уманский С.Р. Упорядоченная энзиматическая деградация ДНК in vitro – новая модель для изучения структуры хроматина // Тез. VII Всесоюз. симпоз. по строению и функции клеточного ядра. Харьков, 1980, 173-177.
13. Пальцев М.А., Коган Е.А., Тунцова О.И. и др. Морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика рака, аденом и окружающей ткани щитовидной железы // Архив патол. 1998, № 3, 5-10.
14. 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.
15. Nyborg J., Spindler S. Alteration in local chromatin structure accompany thyroid hormone induction of growth hormone gene transcription // J. Biol. Chem. 1986, 261, N 13, 5685 – 5688.
16. Stassi G., Di Liberto D., Todaro M. et al. Control of target cell survival in thyroid autoimmunity by T helper cytokines via regulation of apoptotic proteins // Nat. Immunol. 2000, 1, N 6, 483-488.
17. Комаревцева І.О., Фільчуков Д.О. Біохімічна регуляція апоптозу в умовах пухлинного процесу в нирках // Мат. ІХ Укр. біохім. з'їзду. Харків, 2006, 2, с. 10.
18. Сухих Г.Т., Серов В.Н., Дементьева М.М. и др. Активность Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимой эндонуклеазы как биологического маркера апоптоза при гиперпластических процессах и раке эндометрия // Акушерство и гинекол. 2000, № 4, 41-45.
19. Szende B. The occurrence and significance of apoptosis in tumors // Magy Onkol. 2004, 48, N 3, 215-219.
20. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю. Гибель клетки (апоптоз). М.: Медицина, 2001. 192 с.
21. Райхлин Н.Т., Райхлин А.Н. Регуляция и проявление апоптоза в физиологических условиях и в опухолях // Вопр. онкол. 2002, 48, № 2, 159-171.
22. Нелипович П.А., Король Б.А., Рыбалко Г.В. Закономерности распада ядерной ДНК в гормон-чувствительных тимocyтах под влиянием гидрокортизона // Тез. VII Всесоюз. симпоз. по строению и функции клеточного ядра. Харьков, 1980, 118-119.

Межнуклеосомная и внутринуклеосомная фрагментация ДНК в щитовидной железе больных с разной тиреоидной патологией

Е.В. Калиниченко, Т.М. Мишунина, Л.И. Пилькевич, Л.Ю. Зурнаджи, Ю.Н. Тарашченко, А.Е. Коваленко

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

Методом электрофореза в агарозном геле исследована фрагментация ДНК, выделенная из образцов внеузловой ткани щитовидной железы при ее узловой патологии, ткани эутиреоидного или токсического узлового зоба, диффузного токсического зоба, фолликулярной аденомы, папиллярной и фолликулярной карциномы. Показано, что в ткани эутиреоидного узлового зоба, фолликулярной аденомы, фолликулярной карциномы, а также во внеузловой ткани, в которой отмечены некоторые гистологические признаки нарушения ее строения или признаки хронического тиреоидита, наблюдали существенное снижение уровня мононуклеосом. В ткани узлового токсического или диффузного токсического зоба уровень олигонуклеосом не отличался от такого во внеузловой неизменной ткани щитовидной железы, тогда как на электрофореграммах ДНК ткани папиллярной карциномы содержание моно-, ди-, три- и тетрануклеосом было резко сниженным. Обсуждают возможные механизмы возникновения изменений интенсивности терминальной стадии апоптоза в щитовидной железе больных с различной тиреоидной патологией.

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

Internucleosomic and intranucleosomic fragmentation of DNA in the thyroid of patients with various thyroid pathology

O.V. Kalinichenko, T.M. Myshunina, L.I. Pilkevych, L.Yu. Zurnadzhi,

Yu.N. Tarashchenko, A.Ye. Kovalenko

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

Using the method of electrophoresis in agarose gel fragmentation of DNA isolated from specimens of thyroid extranodular tissue in case of nodular thyroid pathology, from tissues of euthyroid or toxic nodular goiter, diffuse toxic goiter, follicular adenoma, papillary and follicular carcinoma was studied. There was evidence of a significant decrease in mononucleosome level in tissue from euthyroid nodular goiter, follicular adenoma, follicular carcinoma, as well as in extranodular tissue, which had, according to pathologist's conclusion, certain histological signs of structural disturbances or signs of chronic thyroiditis. In tissue of nodular toxic or diffuse toxic goiter oligonucleosome level did not differ from that in extranodular unchanged thyroid tissue, while on electrophoregrams of DNA from papillary carcinoma tissue there was evidence of a much lower content of mono-, di-, tri-, and tetranucleosomes. The possible mechanisms of development of changes in the intensity of apoptosis at the terminal stage in the thyroid of patients with various thyroid pathology are discussed.

Key words: thyroid pathology, DNA fragmentation, apoptosis.

(Надійшла 12.02.2007)

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДИФУЗНОГО ТОКСИЧНОГО ЗОБА У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ

Б.Б. Гуда*, Т.І. Богданова, С.Й. Рибаків

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

У клініці Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України прооперовано 1843 хворих з приводу дифузного токсичного зоба (1654 дорослих і 149 дітей та підлітків). Описані морфологічні особливості тиреотоксичного зоба у дітей та підлітків, які полягають у переважанні таких гістологічних типів морфологічної будови зоба як мікрофолікулярний – 24,2% випадків, нормофолікулярний – 19,5% та змішаний мікрофолікулярно-солідний – 16,8%. У половини прооперованих дітей та підлітків виявлена папілярна гіперплазія тиреоїдного епітелію (54,4%), що переважно була локальною (43,6%), а також у 26,8% випадків – ознаки локального тиреоїдиту. Доброякісні і злоякісні вузлові новоутворення на тлі дифузного токсичного зоба у дітей та підлітків зустрічаються рідше (відповідно в 4,7% і 1,3%), ніж у дорослих (відповідно в 12,6% і 3,3%).

Ключові слова: дифузний токсичний зоб, морфологічна характеристика, щитоподібна залоза, карцинома щитоподібної залози.

Дифузний токсичний зоб (хвороба Базедова, Грейвса, Пері, Флаяні) – аутоімунне захворювання, яке характеризується гіперфункцією щитоподібної залози, гіперплазією та гіпертрофією її клітин. Вищезазначена патологія становить приблизно 0,1 на 100000 у дітей та 3,0 на 100000 у підлітків [1,2]. Дане захворювання спричиняє розвиток глибоких патологічних змін з боку різних органів і систем, суттєво впливає на фізичний та інтелектуальний розвиток, стан імунної системи у пацієнтів даних вікових груп. В останні роки з'явилося багато повідомлень про виявлення дифузного токсичного зоба (ДТЗ) у дітей. Зарубіжні роботи, в основному, базуються на аналізі порівняно невеликої кількості випадків тиреотоксикозу серед пацієнтів дитячого віку. В поодиноких медичних закладах, клініках західних країн проаналізовано в середньому від 30 до 90 дітей, хворих на тиреотоксичний зоб. Це не є достатнім для вивчення усіх особливостей та закономірностей клінічного перебігу тиреотоксикозу, віддалених результатів та розробки оптимальних методів лікування і реабілітації [3-6]. Практично не зустрічаються роботи, які присвячені вивченню морфологічних особливостей дифузного токсичного зоба у дитячому віці [7,8].

Матеріали та методи дослідження

В роботі розглянуто морфологічні особливості тиреотоксичного зоба у 149 дітей та підлітків, які були оперовані у клініці Інституту ендокринології та обміну речовин протягом 1989-2003 років. До досліджуваної когорти входили 126 (84,5%) дівчат та 23 (15,5%) хлопців. Співвідношення осіб жіночої та чоловічої статі становило 5,8:1. Вік хворих коливався у межах 5-18 років і у середньому дорівнював $14,67 \pm 0,43$ років. За стандартними віковими критеріями були виділені групи дітей до 14 років – 61 (40,9%) та підлітків 15-18 років – 88 (59,1%).

Морфологічне дослідження щитоподібної залози проводили у лабораторії морфології ендокринної системи під керівництвом завідувача – д.б.н., проф. Т.І. Богданової.

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

Отриманий з операційної матеріал досліджували макроскопічно, потім тканину залози, вузлів чи пухлини (за їхньої наявності) фіксували в 10% нейтральному формаліні, зневоднювали в етанолі і заливали в парафін. Препарати забарвлювали гематоксиліном та еозином. Аналіз та фотографування препаратів проводили на мікроскопах Nikon, Olympus (Японія).

Для електронномікроскопічного дослідження фрагменти тканини щитоподібної залози фіксували в 2,5% розчині глутаральдегіду, дофіксували в 1% розчині чотирьохокису осмію, зневоднювали в етанолах і заливали в епон-812. Ультрамикротомію робили на ультрамикротомі LKB-8800 (Швеція). Препарати забарвлювали ураніацетатом і цитратом свинцю, а потім вивчали та фотографували в електронному мікроскопі JEM-100C (Японія).

Результати та їх обговорення

Макроскопічно у випадках ДТЗ щитоподібна залоза у дітей, так як і в дорослих, незважаючи на збільшення в розмірах, зберігала нормальну конфігурацію.

На розрізі тиреоїдна тканина мала крупнозернисту будову світло-коричневого кольору, інколи з білястими тяжами сполучної тканини або білястими вогнищами лімфоїдної інфільтрації. У деяких випадках визначалися невеликі крововиливи, некрози та кістозні зміни. Капсула залози тонка, рухлива.

У випадках ДТЗ у дорослих пацієнтів характерними морфологічними ознаками вважають: високу клітинність, наявність вираженої папілярної гіперплазії тиреоїдного епітелію, наявність вогнищевої лімфоїдної інфільтрації залози [9-11]. Ця тріада морфологічних змін переважно відмічалася і у щитоподібній залозі дітей, яка мала мономорфну будову і складалася переважно із дрібних фолікулів, які покриті високими клітинами з еозинофільною цитоплазмою та крупними активними ядрами (мал. 1).

Колоїд переважно не визначався або був рідкий, слабо забарвлений з численними резорбційними вакуолями. Відмінною рисою дифузного тиреотоксичного зоба у дітей була наявність у більшості фолікулів папілярних виростів, які інколи мали чітке фіброваскулярне стебло (мал. 2). Ядра тиреоцитів, особливо клітин, які утворювали папілярні структури, могли бути значно збільшеними, просвітленими, інколи з «порізними» контурами (мал. 3), але вони не мали характерних ознак ядер клітин папілярної карциноми (пилеподібний хроматин, внутрішньоядерні цитоплазматичні вклучення і борозенки).

Вираженість проліферативних процесів у випадках дифузного токсичного зоба у різних пацієнтів значно відрізнялася. У деяких випадках просвіт фолікулів був щільновидним з нерівними контурами, а в паренхімі залози були поширені осередки солідної будови (мал.4). Останні представлені крупними полігональними клітинами, цитоплазма яких проявляла оксифільні властивості і ознаки вираженого поліморфізму ядер (мал. 5).

У більшості випадків дифузного токсичного зоба у дітей, незалежно від типу гістологічної будови, виявлялися ознаки локальної лімфоїдної інфільтрації (мал. 4). Інколи мало місце утворення лімфоїдних фолікулів з центрами розмноження. Частіше подібна інфільтрація виявлялася поблизу крупних судин та вогнищ проліферації тиреоїдного епітелію. В цих вогнищах інколи визначалася оксифільноклітинна трансформація тиреоїдних клітин, що свідчило за наявність у цих хворих хронічного автоімунного тиреоїдиту.

Характерним для більшості випадків дифузного токсичного зоба було склерозування стромы залози (потовщення та фібротизація міждолькових перетинок), яке інколи може імітувати вузлоутворення.

Ультраструктурно ознаки підвищеної секреторної активності тиреоцитів проявлялися у збільшенні їх розмірів, гіпертрофії мітохондрій, ендоплазматичної сітки, комплексу Гольджі. Суттєво збільшувалася кількість мікроворсинок на апікальній поверхні клітин, відбувалося інтенсивне утворення внутрішньоклітинних мікрофолікулів (мал. 6, 7).

Збільшення поверхні тиреоцитів відбувалося і за рахунок утворення масивних виростів апікальної поверхні у просвіт фолікула (мал. 8).

Чіткими також були ознаки захоплення колоїду за допомогою апікальних мікроворсин і утворення комплексів лізосом та колоїдних капель (мал.9), що у поєднанні вказувало на активацію процесу розщеплення тиреоглобуліну і наступного біосинтезу тиреоїдних гормонів.

Для більш поглибленого вивчення морфологічних особливостей ДТЗ у дітей та підлітків до введення для кожного випадку такі категорії:

- будова зоба (нормо-, макро- чи мікрофолікулярна, солідна, а також змішана: нормо-макрофолікулярна, нормо-мікрофолікулярна, мікрофолікулярно-солідна та нормо-макро-мікрофолікулярно-солідна);
- наявність ознак папілярної гіперплазії (широко розповсюджена чи локальна);
- наявність оксифільноклітинних змін (широко розповсюджених чи локальних);
- наявність фіброзних змін;
- наявність ознак тиреоїдиту (локального чи дифузного);
- додаткові вогнищеві ураження (початкове вузлоутворення, вузли солітарні чи численні);
- наявність злоякісних уражень на тлі ДТЗ.

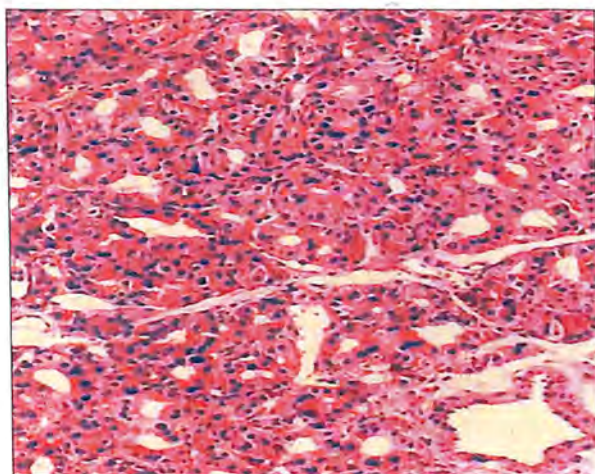
Серед гістологічних типів морфологічної будови тиреотоксичного зоба у дітей і підлітків частіше зустрічалися мікрофолікулярний, нормофолікулярний та змішаний мікрофолікулярно-солідний варіанти (табл. 1.) В той же час, у дорослих пацієнтів превалюють макро- і нормофолікулярні варіанти будови ДТЗ [12, 13].

Таблиця 1. Варіанти морфологічної будови ДТЗ у дітей і підлітків

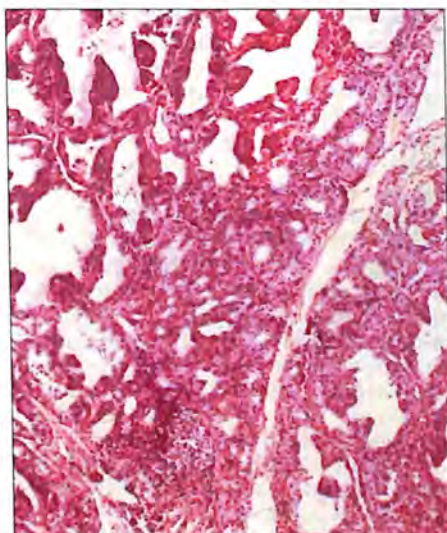
Морфологічна будова ДТЗ	Кількість випадків (%)
Нормофолікулярна	29 (19,5)
Макрофолікулярна	19 (12,7)
Мікрофолікулярна	36 (24,2)
Солідна	2 (1,3)
Змішана нормо-макрофолікулярна	5 (3,4)
Змішана нормо-мікрофолікулярна	13 (8,7)
Змішана мікрофолікулярно-солідна	25 (16,8)
Змішана мікро-нормо-макрофолікулярно-солідна	20 (13,4)
Всього	149 (100)

Папілярна гіперплазія тиреоїдного епітелію була виявлена у 81 (54,4%) випадку із прооперованих з приводу ДТЗ. Причому, значно переважала локальна – 65 серед 149 випадків (43,6%), ніж широко розповсюджена папілярна гіперплазія – 16 випадків (10,7%). Також при дослідженні мікропрепаратів визначалося значне превалювання локального тиреоїдиту (40 випадків чи 26,8%) над дифузним, який визначався у 12 випадках чи 8%.

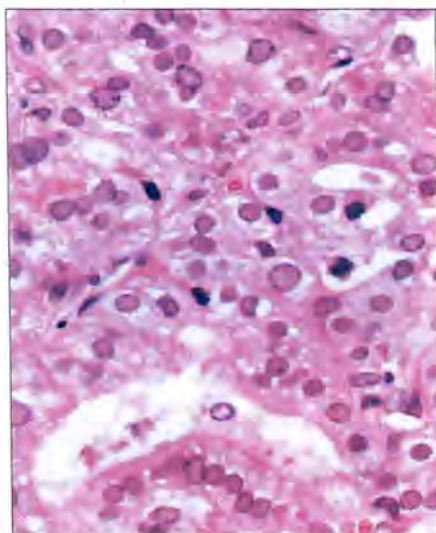
Оксифільноклітинні зміни зустрічалися у 10 випадках (6,7%) і мали локальний характер. У дорослих пацієнтів оксифільноклітинні зміни, навпаки, зустрічаються у більшості випадків [12, 13]. Фіброзні зміни були присутніми у 30 випадках (20,1%).



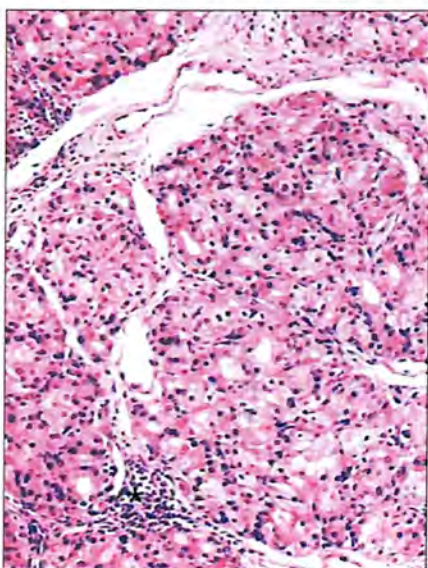
Мал.1. Дифузний токсичний зоб, переважно мікрофолікулярної будови. Операцію виконано підлітку 18 років. Забарвлення гематоксилін-еозином.



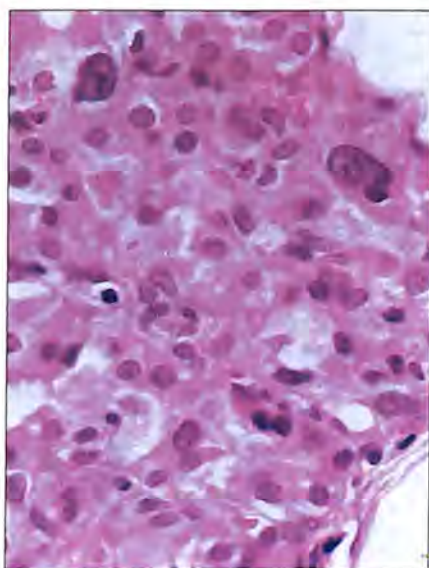
Мал. 2. ДТЗ з ознаками вираженої папілярної гіперплазії, який був видалений у дівчинки 13 років. Забарвлення гематоксилін-еозином.



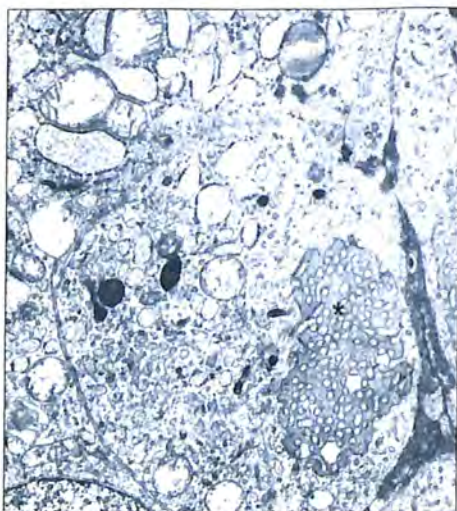
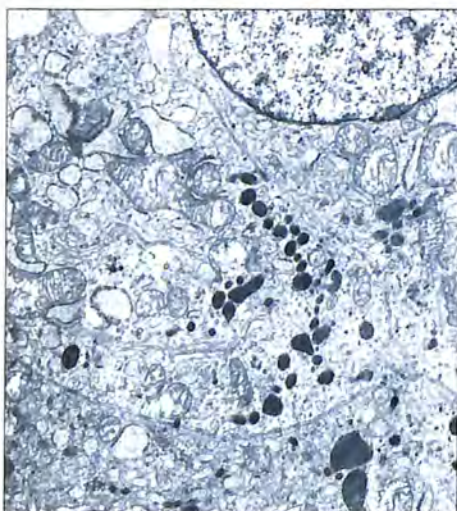
Мал. 3. Поліморфізм ядер клітин фолікулярного епітелію при ДТЗ у дівчинки 13 років. Забарвлення гематоксилін-еозином.



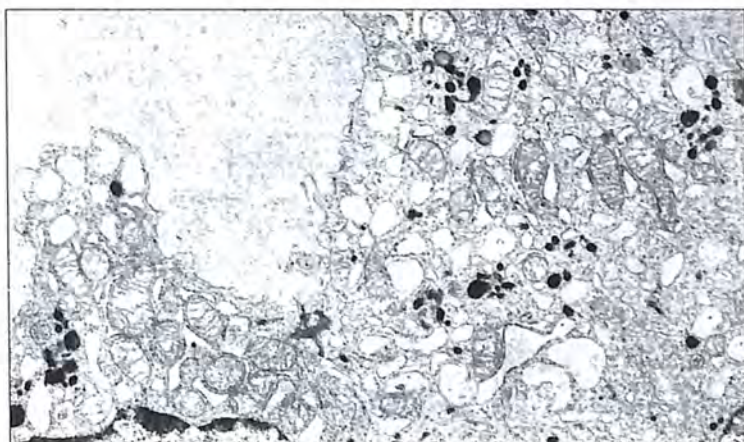
Мал. 4. Мікрофолікулярні та солідні ділянки при ДТЗ у підлітка 18 років. Ознаки локальної лімфоїдної інфільтрації. Забарвлення гематоксилін-еозином.



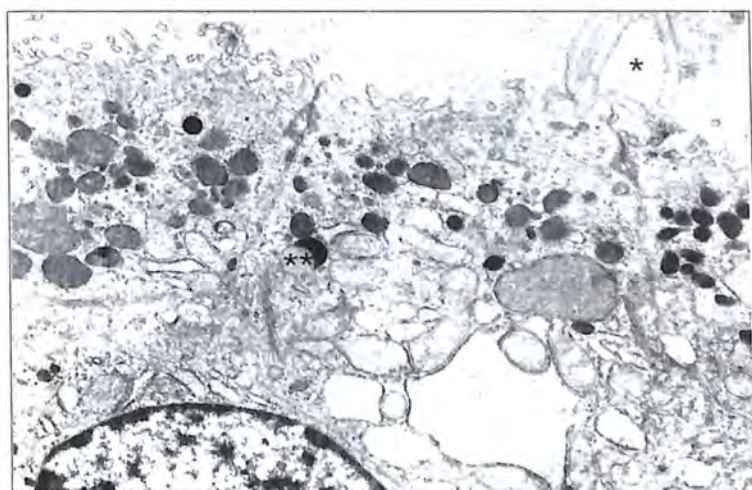
Мал. 5. Оксифільноклітинні зміни та ознаки вираженого поліморфізму ядер в тиреоцитах солідних зон при ДТЗ у підлітка 18 років. Забарвлення гематоксилін-еозином.



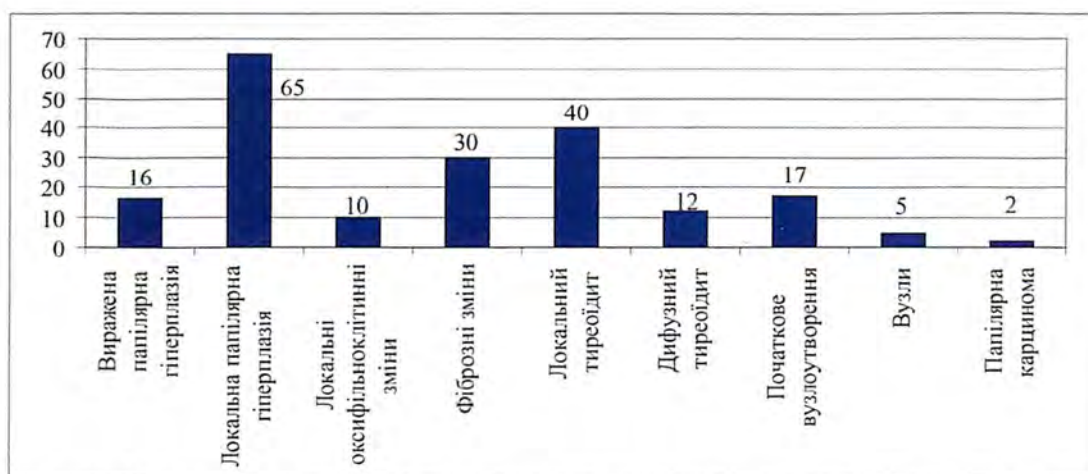
Мал. 6, 7. Ультраструктурні ознаки активації тиреоцитів при ДТЗ у дівчинки 13 років. Гіпертрофія органел, утворення внутрішньоклітинних мікрофолікулів ($\times 1000, 12000$).



Мал. 8. Збільшення апікальної поверхні тиреоцита за рахунок випинання цитоплазми у просвіт фолікула при ДТЗ у підлітка 18 років ($\times 10000$).



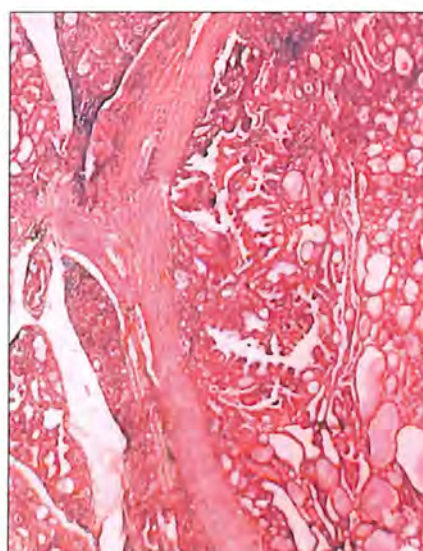
Мал. 9. Захват колоїда за допомогою апікальних мікрроворсин, утворення комплексів лізосом з колоїдними каплями при ДТЗ у підлітка 18 років ($\times 10000$).



Мал. 10. Варіанти гістологічних змін, які були виявлені в препаратах щитоподібної залози, видалених у дітей та підлітків з приводу тиреотоксичного зоба.



Мал. 11. Інкапсульована папілярна мікрокарцинома діаметром 0,8 см, що була видалена у дівчинки 18 років. Хвора оперована з приводу ДТЗ. Пухлина була виявлена при дослідженні макропрепарату і підтверджена гістологічним дослідженням.



Мал. 12. Інкапсульована папілярна мікрокарцинома діаметром 0,8 см. Пухлина має переважно фолікулярну будову з окремими ділянками папілярного росту. Забарвлення гематоксилін-еозином.

Досить рідко виявлялися ознаки початкового вузлоутворення (у 17 дослідженнях чи 11,4%). Сформовані солітарні вузли виявлені у 3 (2%), а численні вузли – у 2 випадках (1,3%) (мал. 10).

Особливо слід зупинитися на двох випадках карциноми щитоподібної залози (1,3%), що були виявлені на тлі тиреотоксичного зоба у двох дівчаток 18 років. При доопераційному ультрасонографічному дослідженні вогнищевих уражень тиреоїдної паренхіми не виявлялося. При гістологічному дослідженні видалених дифузних зобів в обох випадках була виявлена інкапсульована папілярна мікрокарцинома 0,8 і 0,9 см, з окремими ділянками інвазивного росту в капсулу пухлини, без ознак її розповсюдження за межі капсули пухлини, на тлі локального тиреоїдиту (мал. 11, 12). Папілярні карциноми не мали також ознак судинної інвазії, регіонарних та віддалених метастазів і були віднесені за класифікацією TNM до T₁N₀M₀.

Отже, з наведених результатів можна відзначити відмінності у морфологічній картині ДТЗ у різних вікових груп. За даними літератури, у дорослих пацієнтів домінують макро- і нормофолікулярні варіанти будови дифузного токсичного зоба, тоді як у дітей та підлітків значно частіше виявлялися мікрофолікулярний, нормофолікулярний та змішаний мікрофолікулярно-солідний варіанти. Крім того, у дорослих частіше присутні оксифільноклітинні зміни [12,13]. У дітей та підлітків останні зустрічалися у 10 (6,7%) випадках і мали локальний характер. За даними нашої клініки, доброякісні вузли і злоякісні пухлини, які були виявлені на тлі ДТЗ, у дорослих становили відповідно 12,6% і 3,3%. На противагу, у дітей та підлітків – 4,7% і 1,3% (табл. 2). Ці результати не протирічать численним літературним даним [6,7,10-14]. До того ж, у дорослих пацієнтів були карциноми з більш агресивним перебігом – фолікулярні та медулярна (табл. 2).

Таблиця 2. Частота поєднання доброякісних вузлових новоутворень та злоякісних уражень щитоподібної залози на тлі ДТЗ

Вікові категорії		Діти та підлітки (n=149)		Дорослі (n=1654)	
		Абсолютне число	%	Абсолютне число	%
Вогнищеві ураження					
Доброякісні вогнищеві ураження		7	4,7	208	12,6
Карциноми	Папілярна	2	1,3	39	3,3
	Фолікулярна	0		15	
	Медулярна	0		1	

Висновки

1. Серед гістологічних типів морфологічної будови тиреотоксичного зоба у дітей значно переважали: мікрофолікулярний – 36 випадків (24,2%), нормофолікулярний – 29 (19,5%) та змішаний мікрофолікулярно-солідний – 25 випадків (16,8%).

2. У половини прооперованих з приводу ДТЗ дітей та підлітків виявлена папілярна гіперплазія тиреоїдного епітелію – у 81 (54,4%) випадку, що здебільшого була локальною (43,6%). Також у 26,8% випадків спостерігались ознаки локального тиреоїдиту.

3. Доброякісні вузлові та злоякісні новоутворення на тлі тиреотоксичного зоба в осіб дитячого і підліткового віку зустрічаються рідше, ніж у дорослих. Виявлені папілярні карциноми мають сприятливий перебіг (незначні розміри, відсутність ознак інвазивного росту за межі капсули залози та метастазування). Фолікулярних та медулярних карцином виявлено не було.

Література

1. Witte J., Goretzki P.E., Roher H.D. Surgery for Graves disease in childhood and adolescens // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 1997, 105, N 4, 58-60.
2. Rudberg C., Johansson H., Akerstrom G. et al. Graves disease in children and adolescents. Late results of surgical treatment // Eur. J. Endocrinol. 1996, 134, N 6, 710-715.
3. Scott A., Rivkees, Charles Sklar, Michael Freemark. The management of Graves' disease in children, with special emphasis on radioiodine treatment // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1998, 83, N 11, 3767-3776.
4. Холодова Е.А., Мохорт Т.В., Гиткина Л.С. и др. Справочник по клинической эндокринологии. Минск: Беларусь, 1996. 510 с.
5. Жуковский М.А. Детская эндокринология. М.: Медицина, 1982. 448 с.
6. Жуковский М.А., Николаев О.В., Пинский С.Б. Заболевание щитовидной железы у детей. М.: Медицина, 1972. 263 с.
7. Богданова Т.И., Козырицкий В.Г., Тронько Н.Д. Патология щитовидной железы у детей: Атлас. К.: Чернобыльинтеринформ, 2000, 15-21.
8. Hay I.K., Grant C.S., van Heerden J.A. et al. Papillary thyroid microcarcinoma: A study of 535 cases observed in a 50 years period // Surgery. 1992, 112, 1139-1147.
9. Колосовская В.Ф. Функциональная морфология щитовидной железы при различных формах зоба // Тр. госпит. хирург. клиники и хирург. отделений клинической больницы. Свердловск, 1951, 5, 15-26.
10. Сорокина А.И., Пинский С.Б. Клинико-морфологические параллели диффузного тиреотоксического зоба у взрослых и детей // Мат. выездной сессии Всесоюзного института экспериментальной эндокринологии. Иркутск, 1963, 62-66.
11. Шадрин М.В. О морфологии щитовидной железы при тиреотоксикозе в детском и юношеском возрасте. Свердловск, 1961, 311-327.
12. Калинин А.П., Майстренко Н.А., Ветшева П.С. Хирургическая эндокринология. СПб.: Питер, 2004. 941 с.
13. Старкова Н.Т. (ред.). Руководство по клинической эндокринологии. СПб.: Питер, 1996. 538 с.
14. Павловський М.П., Сироїд О.М., Коломійцев В.І. та ін. Клініко-морфологічні паралелі у пацієнтів різних вікових груп, оперованих з приводу токсичного зоба // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2003, 3, №4, 21-24.

Морфологическая характеристика диффузного токсического зоба у детей и подростков
Б.Б. Гуда, Т.И. Богданова, С.И. Рыбаков
Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев, Украина

В клинике Института эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АМН Украины проведено 1843 операции по поводу диффузного токсического зоба (1654 – у взрослых и 189 – у детей и подростков). Описаны морфологические особенности тиреотоксического зоба у детей и подростков, которые заключаются в преобладании таких гистологических типов морфологического строения зоба как микрофолликулярный – 24,2% случаев, нормофолликулярный – 19,5% и смешанный микрофолликулярно-солидный – 16,8%. У половины оперированных детей и подростков выявлена папиллярная гиперплазия тиреоидного эпителия (54,4%), которая в большинстве случаев была локальной (43,9%), в 26,8% случаев отмечены признаки очагового тиреоидита. Доброкачественные и злокачественные узловые новообразования на фоне диффузного токсического зоба у детей и подростков встречаются реже (соответственно у 4,7% и 1,3%), чем у взрослых (соответственно у 12,6% и 3,3%).

Ключевые слова: диффузный токсический зоб, морфологическая характеристика, щитовидная железа, карцинома щитовидной железы.

Morphological characterization of Graves' disease among children and adolescents

B.B. Guda, T.I. Bogdanova, S.I. Rybakov

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

At the Clinic of V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Academy of Medical Sciences of Ukraine, 1843 patients have been operated on for a Graves' disease (1654 adults and 149 children and adolescents). The authors describe the morphological features of thyrotoxic goiter in children and adolescents, which consist in predominance of such histological types of morphological structure of goiter as microfollicular (24,2% of cases), normofollicular (19,5% of cases), and mixed microfollicular-solid (16,8% of cases) types. In half operated children and adolescents there was evidence of papillary hyperplasia of thyroid epithelium (54,4%), with a mainly local character (43,6%), 26,8% cases showed of focal thyroiditis. Benign and malignant nodular neoplasms in the presence of Graves' disease among children and adolescents were reported more rarely (4,7% and 1,3%, respectively) compared to adults (12,6% and 3,3%, respectively).

Key words: Graves' disease, morphological characterization, thyroid gland, thyroid carcinoma.

(Надійшла 19.02.2007)

ДЕРМАТОГЛІФІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЯК ГЕНЕТИЧНИЙ МАРКЕР СХИЛЬНОСТІ ДО ДИФУЗНОГО НЕТОКСИЧНОГО ЗОБА У ПІДЛІТКІВ

М.В. Власенко*

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018
Вінниця, Україна

Проведено дерматогліфічне обстеження 210 (103 хлопчики і 107 дівчаток) практично здорових підлітків та 100 підлітків із дифузним нетоксичним зобом. Дерматогліфічне дослідження виконано за методикою Гладкової: визначали гребеневий рахунок на кожному пальці, сумарний гребеневий рахунок на 5 пальцях кожної руки та тотальний гребеневий рахунок, типи пальцевих візерунків, 20 показників долонної дерматогліфіки кистей обох рук. Встановлено, що гребеневий рахунок, частота виявлення латерально-кишечкової та ульнарної петлі, величина кутів atd, ctd, atb мають діагностично-прогностичний характер при дифузному нетоксичному зобі. Отримані дерматогліфічні дані вірогідно більші у дівчаток із дифузним нетоксичним зобом, ніж у хлопчиків.

Ключові слова: дифузний нетоксичний зоб, підлітки, дерматогліфіка.

Увага лікарів до дифузного нетоксичного зоба (ДНЗ) пояснюється значним розповсюдженням, значенням гормонів щитоподібної залози (ЩЗ) для формування інтелектуальних здібностей та для фізіологічного перебігу пубертатного періоду дитини. Висока частота ДНЗ залежить від багатьох причин, серед яких найвагомішими вважають недостатність йодної профілактики, технологічне забруднення довкілля, негативні тенденції змін харчування населення [1]. Однак Е.П.Касаткіна [2] загострила увагу на проблемі наявності зобної ендемії на тлі нормального вживання населенням йоду, нормальної йодурії та відсутності ефекту йодної профілактики. Разом з тим, неможливо виключити, що «екопатогени» у багатьох випадках обмежують адекватну утилізацію ЩЗ йоду, який надходить в організм у достатній кількості. У майбутньому має збільшитись питома вага тих захворювань, у патогенезі яких значну роль відіграють ендогенні чинники [3]. Не дивлячись на те, що генетична схильність до йоддефіцитного зоба виявлена у багатьох епідеміологічних дослідженнях та у близнюків, конкретні генетичні дефекти або особливості, що обумовлюють схильність до зоба, у даний час невідомі [4]. У патогенезі спорадичного зоба, коли збільшується щитоподібна залоза у розмірах на тлі адекватного йодного забезпечення і за відсутності впливу інших фонових зобогенів, значення генетичних чинників, мабуть, найбільше.

Йодна недостатність закономірно супроводжується формуванням зоба. При легкому йододефіциті зоб розвивається у невеликого числа найбільш схильних осіб. Із посиленням йодного дефіциту розповсюдженість зоба збільшується. Важкий ступінь йодного дефіциту призводить до формування зоба практично у будь-якої людини незалежно від наявності генетичної схильності. Таким чином, генетичні чинники не є визначальними в патогенезі йододефіцитного зоба, але здійснюють суттєвий вплив на розповсюдженість та клінічний поліморфізм захворювання.

* Адреса для листування (Correspondence): Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, вул. М. Пирогова, 56, 21018 Вінниця, Україна

На сьогодні генетики, антропологи, клініцисти єдині у думці: дерматогліфіка включає в себе найбільш спадково детерміновані характеристики і одночасно відображає ефекти статі, раси, популяції, генних мутацій, хромосомних дефектів і тератогенних впливів. У майбутньому віці генної терапії знання характеру та ролі генетичних причин захворювань ЦЗ може змінити підходи до їх лікування.

Виходячи з вищесказаного, визначення дерматогліфічних особливостей в осіб із дифузним нетоксичним зобом має практичне значення для прогнозування розвитку ДНЗ та розробки тактики спостереження за хворобою.

Мета дослідження – вивчити особливості дерматогліфічних показників у підлітків Подільського регіону України із ДНЗ для визначення генетичних маркерів ДНЗ із метою використання їх при відмежуванні групи ризику до ДНЗ серед підлітків.

Матеріали і методи дослідження

Після отримання згоди, обстежено 100 підлітків (71 дівчинка – середній вік 13,97 років та 29 хлопчиків – середній вік 14,59 років) із дифузним нетоксичним зобом різного ступеня збільшення. Використовуючи схему вікової періодизації онтогенезу людини, що була прийнята на VII Всесоюзній конференції з проблем вікової морфології, фізіології та біохімії АПН СРСР [1965], в групу підлітків були віднесені дівчата від 12 до 15 років, а хлопчики – від 13 до 16 років включно. В якості контролю використовували результати популяційних досліджень 210 практично здорових підлітків (103 хлопчики і 107 дівчаток). Вони належали до української етнічної групи.

Дерматогліфічне дослідження виконане за методикою Т.Д. Гладкової [5]. Ми визначали гребеневий рахунок на кожному пальці правої та лівої руки, сумарний гребеневий рахунок (SRC) на п'яти пальцях кожної кисті та тотальний гребеневий рахунок (TRC) на десяти пальцях обох рук, типи пальцевих візерунків на лівій та правій кисті (A – дуга; L^u – ульнарна петля; L^r – радіальна петля; W – завиток; ЦК – центральна кишеня; ЛП – латеральна кишенькова петля; ДП – подвійна петля; СУ – випадковий візерунок), 20 показників долонної дерматогліфіки кистей обох рук.

Отримані дані проаналізовано за допомогою програми «Statistica 5.5» із використанням параметричних та непараметричних методів оцінки результатів. Оцінювали характер розподілів для кожного із варіаційних рядів, середні для кожної ознаки, похибки середньої арифметичної та стандартне квадратичне відхилення. Вірогідність відмінностей між незалежними кількісними величинами визначали при нормальності розподілів за критерієм t Стьюдента, а в інших випадках – за допомогою U-критерія Мана-Уїтні.

Результати та їх обговорення

Аналіз показників гребеневого рахунку пальців правої і лівої кисті у підлітків із ДНЗ різної статі показав, що кількість гребенів на всіх пальцях обох рук у хлопчиків менша, ніж у дівчаток. При порівнянні цих показників між здоровими підлітками та підлітками із ДНЗ встановлено, що кількість гребенів більша у здорових підлітків, ніж у хворих, незалежно від статі. Але вірогідні відмінності ($P < 0,05$) встановлені лише у дівчаток для сумарного гребеневого рахунку на пальцях правої кисті, кількості гребенів на 2-му, 4-му та 5-му пальцях правої кисті і на 4-му пальці лівої кисті, та тотального гребеневого рахунку десяти пальців обох кистей. Отже, показники гребеневого рахунку мають значення лише у дівчаток для розмежування схильності до ДНЗ (таблиця).

Щодо розподілу різних типів візерунків, то у здорових підлітків встановлено, що частота виявлення пальцевих візерунків на різних кистях суттєво не відрізняється у представників різної статі. Винятком є латеральні кишенькові петлі на 5-му пальці правої руки та ульнарні петлі на 2-му пальці лівої руки, у частоті розподілу яких встановлені гендерні відмінності.

Таблиця. Дерматогліфічні показники обох кистей у здорових підлітків та підлітків із ДНЗ ($M \pm \sigma$)

Дерматогліфічні показники	У хлопчиків		P	У дівчаток		P	P ₁	P ₂
	Здорові	ДНЗ		Здорові	ДНЗ			
FRCR – II палець	12,58±6,08	10,52±6,06	>0,05	12,65±6,17	10,52±6,25	<0,05	>0,05	>0,05
FRCR – IV палець	14,88±5,47	13,97±4,53	>0,05	15,88±5,12	12,52±6,18	<0,01	>0,05	>0,05
FRCR – V палець	11,77±4,63	11,00±4,70	>0,05	12,55±4,63	10,07±5,09	<0,05	>0,05	>0,05
SRCR – I-V палець	67,81±21,25	63,93±20,18	>0,05	69,33±21,43	60,17±20,23	<0,05	>0,05	>0,05
FRCL – IV палець	14,81±5,72	14,03±4,20	>0,05	15,53±5,88	13,18±5,75	<0,05	>0,05	>0,05
TRC	134,88±44,17	124,48±40,55	>0,05	136,63±42,93	120,25±44,13	<0,05	>0,05	>0,05
R-ATD (град.)	41,48±6,05	45,10±11,45	<0,05	41,25±6,81	45,07±7,33	<0,01	>0,05	>0,05
R-CTD (град.)	15,87±3,80	16,55±3,66	>0,05	15,48±3,82	17,32±4,25	<0,001	>0,05	>0,05
R-ATB (град.)	16,13±2,78	18,48±3,90	<0,001	15,84±2,87	17,54±3,22	<0,01	>0,05	>0,05
L-ATB (град.)	16,36±2,64	18,03±3,25	<0,05	17,14±3,30	17,55±3,06	>0,05	>0,05	>0,05
R-DAT (град.)	55,65±6,80	57,03±6,22	>0,05	57,14±5,95	54,44±6,43	<0,05	>0,05	<0,05
R-CT (мм)	76,41±10,99	75,59±11,32	>0,05	74,38±9,86	68,41±9,33	<0,001	>0,05	<0,01
L-CT (мм)	77,06±10,38	74,69±18,24	>0,05	73,35±9,37	70,36±11,45	>0,05	>0,05	<0,05

Примітка: FRCR – пальцевий гребеневий рахунок правої кисті; FRCL – пальцевий гребеневий рахунок лівої кисті; TRC – тотальний гребеневий рахунок; ATD – величина кута atd; CTD – величина кута ctd; ATB – величина кута atb; DAT – величина кута dat; CT – відстань від міжпальцевого трирадіуса с до вісьового трирадіуса t (ct); P – показник вірогідності різниці між здоровими підлітками і підлітками з ДНЗ, P₁ – між здоровими хлопчиками і дівчатками, P₂ – між дівчатками і хлопчиками з ДНЗ.

Частота, з якою зустрічаються типи візерунків на правій і лівій кисті у підлітків із ДНЗ різної статі, однакова. Відмінності, що виявлені при порівнянні показників здорових підлітків із показниками підлітків з ДНЗ, однотипні на правій та лівій кистях і полягають у зменшенні частоти дуг, збільшенні ульнарних петель та центральних кишень, відсутності радіальних петель та латеральних кишенькових петель, різнонаправленій тенденції подвійних петель на різних кистях. Встановлені відмінності у повному обсязі мають місце на 1-му, 3-му пальцях правої кисті та 4-му, 5-му пальцях лівої кисті у підлітків із ДНЗ, незалежно від статі.

При аналізі показників долонної дерматогліфіки обох кистей у підлітків з ДНЗ виявлено, що більшість із них помітно не відрізняються у дівчат та хлопців. Ми встановили, що у підлітків чоловічої статі лише величина кута dat , відстань від міжпальцевого трирадіуса s до вісьового трирадіуса t правої долоні, міжпальцевого трирадіуса s до вісьового трирадіуса t лівої долоні статистично значуще більша, ніж в осіб жіночої статі. При порівнянні показників долонної дерматогліфіки обох кистей між здоровими та хворими на ДНЗ хлопчиками і здоровими та хворими дівчатками встановлені вірогідні відмінності. Так, між здоровими та хворими на ДНЗ хлопчиками є статистично значуще більші показники величини кута atd на правій долоні, величини кута atb правої та лівої долоней. Показники долонної дерматогліфіки статистично більшими є у дівчаток з ДНЗ, а саме: величина кута atd , ctd , atb правої долоні та зменшення відстані міжпальцевого трирадіуса s до вісьового трирадіуса t (ct), і величини кута dat на правій долоні.

Таким чином, описані особливості дерматогліфічних показників у підлітків із ДНЗ відрізняються від даних у здорових дітей. Встановлені закономірності можуть бути використані при прогнозуванні ДНЗ за умов «екопатогенів» з ціллю використання відповідних показників дерматогліфіки при відмежуванні групи ризику до ДНЗ.

Висновки

1. У підлітків із ДНЗ мають місце статеві варіації дерматогліфічних показників.
2. Діагностично-прогностичний характер мають такі дерматогліфічні показники: гребеневий рахунок, частота виявлення латерально-кишенькової та ульнарної петлі, величина кутів atd , ctd , atb .
3. Встановлені особливості у повному обсязі зустрічаються на 1-му, 3-му пальцях правої кисті та 4-му, 5-му пальцях лівої кисті.
4. Описані дерматогліфічні особливості у дівчаток із ДНЗ вірогідно мають вищі показники, ніж у хлопців.
5. Отримані результати вказують, що спадкова схильність до ДНЗ більше притаманна жіночій статі.

Література

1. Богин Ю.Н., Дедов В.И., Слесарев В.Г. и др. Функция щитовидной железы в процессе оздоровительных мероприятий у участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС // Вестник новых медицинских технологий. 2000, № 1, 72-73.
2. Касаткина Э.П., Шилин Д.Е., Пыков М.И. Методические подходы к разработке ультразвуковых нормативов щитовидной железы у детей и подростков // Ультразвуковая диагностика в акушерстве и гинекологии. 1994, № 1, 68-73.
3. Кандрор В.И. Молекулярно-генетические аспекты тиреоидной патологии // Пробл. эндокринологии. 2001, 47, № 5, 3-10.
4. Фадеев В.В., Абрамова Н.А. Генетические факторы в патогенезе йододефицитного зоба // Пробл. эндокринологии. 2004, 50, № 1, 51-55.

5. Гладкова Т.Д. Кожные узоры кисти и стопы обезьян и человека. М.: Наука, 1966, с. 151.
6. Никитюк Б.А. Количественные показатели дерматоглифики близнецов. 1975, вып. 50, 68-84.
7. Финогенова С.А. Общая характеристика изменчивости дерматоглифических признаков в выборке из популяции Москвы // Вопросы антропологии. 1977, вып. 56, 134-145.
8. Holt S.B. Considerations on total finger ridgecount // Int. Dermatoglyph. Assoc. 1977, 1, 5-7.
9. Kunter M., Ruhl M. Laterality and sex differences in quantitative finger – print ridge analysis in a middle European sample // Antropol. Anz. 1995, 53, 79-90.
10. Reed T., Evans M.M., Norton J., Christaian J.C. Maternal effects on fingertip dermatoglyphics // Am. J. Hum. Genet. 1979, 31, N 3, 315-323.

Дерматоглифические показатели как генетический маркер склонности к диффузному нетоксическому зобу у подростков

М.В. Власенко

Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 21018 Винница, Украина

Проведено дерматоглифическое обследование 210 (103 мальчика и 107 девочек) практически здоровых подростков и подростков с диффузным нетоксическим зобом. Дерматоглифические исследования выполнены по методике Гладковой: определяли гребневый счет на каждом пальце, суммарный гребневый счет на 5 пальцах каждой руки и общий гребневый счет, типы пальцевых рисунков, 20 показателей ладонной дерматоглифики кистей обеих рук. Установлено, что гребневый счет, частота встречаемости латерально-карманной и ульнарной петель, величина углов atd, ctd, atb имеют диагностически-прогностический характер при ДНЗ. Полученные дерматоглифические данные достоверно больше у девочек с ДНЗ, чем у мальчиков.

Ключевые слова: диффузный нетоксический зоб, подростки, дерматоглифика.

Dermatoglyphics data as genetic marker of propensity to diffuse non-toxic goitre in teenagers

M.V. Vlasenko

Pirogov Vinnytsya National Medical University, 21018 Vinnytsya, Ukraine

The dermatoglyphic study of healthy teenagers and teenagers with diffuse non-toxic goiter of both sexes was conducted. The general for both sexes line of dermatoglyphic signs for teenagers with diffuse goiter (DG) and without him it is established. Bimanual differences are certain for teenagers with DG: ulnar loops are more frequent in boys on the II-V fingers of the left hand, and in girls – on the I, III fingers of the right hand. Both in boys and in girls with DG the arcs are absent on the V finger, radial loops on the I, III, IV, V fingers; lateral pocketal loops on the I-V fingers and double loops on the IV, V fingers of both hands.

Key words: diffuse non-toxic goiter, teenagers, dermatoglyphics data.

(Надійшла 17.01.2007)

СЕКС-СТЕРОЇДЗВ'ЯЗУЮЧИЙ ГЛОБУЛІН У ЖІНОК ФЕРТИЛЬНОГО ВІКУ ПІСЛЯ ТИРЕОІДЕКТОМІЇ З ПРИВОДУ РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

З.Б. Хомінська, О.В. Епштейн¹, Т.М. Кучменко^{1*}

Інститут педіатрії, акушерства та гінекології АМН України, 04050 Київ;

¹Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, 04114 Київ, Україна

У статті викладено результати вивчення концентрації секс-стероїдзв'язуючого глобуліну у крові жінок фертильного віку в перший рік після тиреоїдектомії з приводу раку щитоподібної залози з урахуванням тиреоїдного гомеостазу та балансу статевих гормонів. В результаті обстеження 78 жінок встановлено, що стан вираженого гіпотиреозу, зумовлений тиреоїдектомією, супроводжується суттєвим зниженням концентрації в крові секс-стероїдзв'язуючого глобуліну та коефіцієнту секс-стероїдзв'язуючий глобулін/тестостерон відносно доопераційних показників, що свідчить про розвиток гіперандрогенії у обстежених жінок. Підвищення індексу андрогенності у жінок, оперованих з приводу раку щитоподібної залози, може сприяти порушенню циклічної функції яєчників, яка спостерігається в перший рік після тиреоїдектомії і радіоїодтерапії.

Ключові слова: рак щитоподібної залози, тиреоїдектомія, секс-стероїдзв'язуючий глобулін, індекс андрогенності.

Секс-стероїдзв'язуючий глобулін (ССЗГ), відомий також як тестостерон-естрадіолзв'язуючий глобулін (ТЕЗГ), є найважливішим транспортним білком крові для статевих гормонів. Транспортні білки крові впливають на швидкість надходження стероїдних гормонів в клітини для здійснення специфічних впливів на тканини-мішені, зв'язуючи стероїди та перешкоджаючи їх дифузії у клітини [1].

ССЗГ є пептидом з молекулярною масою 94000, що має дві субодиниці. Синтез ССЗГ відбувається в печінці. Під впливом естрогенів його концентрація в крові підвищується в 5-10 разів, під впливом тестостерону – знижується в 2 рази [2-4].

Простежується певний зв'язок між концентрацією ССЗГ в крові та функціональним станом щитоподібної залози (ЩЗ). В літературі є відомості про підвищення синтезу ССЗГ за умов гіпертиреозу та його зниження при гіпотиреозі [5, 6]. Нормалізація функціонального стану ЩЗ сприяє відновленню синтезу ССЗГ [7].

Ступінь спорідненості ССЗГ із тестостероном (Т) надзвичайно висока і завдяки зв'язуванню із ССЗГ, альбумінами та іншими білками тільки мала частина гормону (3%) залишається вільною. Швидкість метаболізму Т прямо корелює із кількістю вільного та пов'язаного з альбумінами гормону. Зв'язаний із ССЗГ тестостерон важкодоступний для метаболізму. На репродуктивні органи здійснює вплив тільки вільний Т. Спорідненість ССЗГ до естрадіолу (Е₂) виражена меншою мірою, що дозволяє оцінювати цей β-глобулін в комплексі з іншими показниками андрогенності [8].

Відомо, що фізіологічні концентрації чоловічих статевих гормонів, зокрема Т, необхідні для нормального функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-

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

яєчникової системи та забезпечення процесів овуляції. Малі дози Т стимулюють синтез гонадотропних гормонів гіпофіза, великі – блокують його функцію. У фізіологічних умовах основний синтез жіночих статевих гормонів відбувається з андростендіону та Т [1]. Підвищення концентрації вільного біодоступного Т порушує процеси ароматизації андрогенів в естрогени, може сприяти змінам циклічної регуляції процесів дозрівання фолікула та овуляції на різних рівнях гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникової системи [9-11].

Враховуючи тісний зв'язок секреції ССЗГ із станом тиреоїдної системи [5-7] та суттєві зміни тиреоїдного гомеостазу у жінок після радикальної операції з приводу раку щитоподібної залози (РЩЗ) – післяопераційний гіпотиреоз, позитивна супресивна терапія тиреоїдними гормонами, уявлялося доцільним вивчення концентрації ССЗГ в крові жінок фертильного віку в перший рік після операції як можливого чинника гормональних дисфункцій статеві системи.

Метою роботи є вивчення концентрації ССЗГ в крові жінок фертильного віку в перший рік після тиреоїдектомії з приводу РЩЗ з урахуванням тиреоїдного гомеостазу та балансу статевих гормонів.

Матеріали та методи

Обстежено 78 жінок репродуктивного віку (18-35 років), прооперованих з приводу РЩЗ (основна група). До контрольної групи увійшли 20 здорових жінок відповідного віку.

Визначення ССЗГ, естрадіолу (E_2), прогестерону (Р) та Т проведено до тиреоїдектомії, через 6 тиж та 1 рік після операції з використанням відповідних тест-систем для імуноферментного аналізу фірми «Immunotech» (Чехія). Аналіз результатів робили з урахуванням фаз менструального циклу.

Цифрові дані оброблено за правилами варіаційної статистики з використанням t критерію Стюдента та кореляційного аналізу.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати обстеження жінок, хворих на РЩЗ, в доопераційний період свідчили, що вміст ССЗГ у сироватці крові не відрізнявся від здорових жінок контрольної групи і був однаковим в обидві фази менструального циклу. Індивідуальні показники знаходилися в межах нормативних коливань – 30-100 нмоль/л (табл. 1).

Таблиця 1. Концентрація ССЗГ та тестостерону в крові жінок у перший рік після тиреоїдектомії, $M \pm m$

Групи жінок	Фаза менстр. циклу	Т, нмоль/л	ССЗГ, нмоль/л	ССЗГ/Т
До операції	I, n=46	1,65 $\pm$ 0,11	71,4 $\pm$ 5,5	44,6 $\pm$ 3,5
	II, n=39	1,70 $\pm$ 0,21	79,2 $\pm$ 12,4	46,6 $\pm$ 7,2
6 тиж після операції	I, n=54	1,74 $\pm$ 0,16	37,4 $\pm$ 3,0* ^	22,6 $\pm$ 2,3* ^
	II, n=48	2,14 $\pm$ 0,12*	33,7 $\pm$ 3,2* ^	15,7 $\pm$ 1,8* ^
1 рік після операції	I, n=49	1,67 $\pm$ 0,23	57,7 $\pm$ 6,2 *^#	30,3 $\pm$ 3,2*^#
	II, n=42	1,72 $\pm$ 0,39	73,1 $\pm$ 18,2#	42,5 $\pm$ 4,8#
Контрольна група	I, n=20	1,63 $\pm$ 0,14	72,4 $\pm$ 4,8	40,4 $\pm$ 2,2
	II, n=20	1,63 $\pm$ 0,14	74,6 $\pm$ 8,4	44,5 $\pm$ 3,6

Примітка. У табл. 1 і 2: * – різниця вірогідна відносно відповідних показників у жінок контрольної групи, $P < 0,05$; ^ – відносно показників у жінок до тиреоїдектомії, $P < 0,05$; # – відносно показників у жінок через 6 тиж після тиреоїдектомії, $P < 0,05$.

Рівень Т в I та II фазу менструального циклу також був однаковим. Співвідношення ССЗГ/Т, яке використовувалось як додатковий показник андрогенності, також було сталим протягом циклу і відповідало показникам здорових жінок (табл. 1).

Циклічні зміни вмісту E_2 та Р в крові жінок свідчили про наявність у них двофазних циклів (табл. 2). Вміст E_2 був вищим в I фазу та знижувався у II фазу циклу, що сприяло підвищенню коефіцієнту P/E_2 у 8,1 рази відносно аналогічного показника у фолікулінову фазу. Співвідношення T/E_2 у другу фазу циклу дещо збільшувалось, що відповідало зменшенню секреції E_2 у лютеїнову фазу. В цілому динаміка гормональних показників свідчила про наявність овуляції та формування жовтого тіла у обстежених жінок в доопераційний період.

Таблиця 2. Вміст естрадіолу та прогестерону в крові обстежених жінок в динаміці першого року після тиреоїдектомії, $M \pm m$

Групи жінок	Фази менстр. циклу	E_2 , нмоль/л	Р, нмоль/л	P/E_2	T/E_2
До операції	I, n=46	$0,447 \pm 0,072$	$6,05 \pm 1,8$	$13,5 \pm 3,4$	$3,69 \pm 0,41$
	II, n=39	$0,353 \pm 0,034$	$64,40 \pm 5,21$	$182,4 \pm 6,1$	$4,80 \pm 0,38$
6 тиж після операції	I, n=54	$0,115 \pm 0,013^{**}$	$5,02 \pm 1,12$	$43,6 \pm 4,1^{**}$	$15,1 \pm 1,31^{**}$
	II, n=48	$0,366 \pm 0,042$	$14,82 \pm 2,30^{**}$	$40,5 \pm 5,8^{**}$	$5,80 \pm 1,0$
1 рік після операції	I, n=49	$0,285 \pm 0,036^{**}$	$7,69 \pm 2,11$	$27,0 \pm 4,6^{**}$	$5,86 \pm 0,82^{**}$
	II, n=42	$0,497 \pm 0,077^*$	$6,74 \pm 1,83^{**}$	$11,2 \pm 2,2^{**}$	$2,86 \pm 0,12^{**}$
Контрольна група	I, n=20	$0,475 \pm 0,045$	$3,66 \pm 0,53$	$7,7 \pm 0,61$	$3,43 \pm 0,28$
	II, n=20	$0,295 \pm 0,021$	$50,56 \pm 7,31$	$171,4 \pm 8,9$	$5,52 \pm 0,41$

Тиреоїдектомія зумовила стан глибокого гіпотиреозу, в якому, згідно протоколу лікування РЩЗ, жінки знаходились 6 тиж до проведення сканування з радіойодом з метою визначення залишкової тканини ЩЗ та метастазів РЩЗ і проведення радіойодтерапії. Цей етап обстеження характеризувався вірогідним зниженням концентрації ССЗГ в крові: в 1,9 рази в першу і в 2,4 рази – в другу половину циклу відносно вихідних даних до операції та показників контрольної групи (табл. 1). Водночас, значно зменшувалось співвідношення ССЗГ/Т як за рахунок зниження концентрації транспортного глобуліну, так і в результаті підвищення вмісту Т в крові у другу фазу циклу. Це свідчило про підвищення вільної фракції Т в крові у обстежених жінок.

В той же час визначались суттєві зміни ритму секреції статевих гормонів. Концентрація E_2 в крові в I фазу циклу була нижчою, ніж у II фазу. Вміст Р в крові у другу половину циклу знижувався у 6,4 рази відносно вихідних даних, співвідношення P/E_2 – у 4,5 рази. В результаті зниження вмісту E_2 в крові в першу фазу циклу значно підвищувався коефіцієнт T/E_2 . Такі зміни репрезентували порушення процесів овуляції та лютеїнізації в післяопераційний період (табл. 2). Порушення циклічної регуляції стероїдогенезу у жінок основної групи можуть виникати внаслідок низки причин, серед яких провідна роль належить глибокому гіпотиреозу, післяопераційному стресу, гіперпролактинемії та гіперандрогенії, зокрема, підвищенню фракції вільного Т за рахунок суттєвого зниження ССЗГ.

В подальший період спостереження через 1 рік після тиреоїдектомії на тлі прийому супресивних доз тиреоїдних гормонів визначалось підвищення вмісту ССЗГ в крові відносно післяопераційних показників, хоча рівень ССЗГ в I фазу менструального циклу залишався нижчим за показники контрольної групи та вихідні передопераційні показники. Це підтверджувало безумовний зв'язок між вмістом ССЗГ в крові та тиреоїдними гормонами жінки. Співвідношення ССЗГ/Т в першу половину циклу через 1 рік після

тиреоїдектомії теж залишалось нижчим за вихідні дані, а у другу половину циклу досягало їх (табл. 1).

В той же час рівень E_2 у крові в другу фазу залишався високим, а секреція Р була одноманітною протягом всього циклу. Коефіцієнт P/E_2 у другу половину циклу знижувався в 13,3 рази відносно доопераційного рівня. Коефіцієнт T/E_2 в першу половину циклу перевищував норму та вихідні дані.

Відомо, що гіперандрогенія у першу половину циклу особливо негативно впливає на процеси фолікулогенезу та овуляції [9-11], що може, як і на попередньому етапі обстеження, слугувати одним із чинників порушення циклічної функції яєчників. Це обумовлює необхідність додаткових заходів з метою відновлення вмісту ССЗГ у крові, зокрема, проведення терапії, спрямованої на поліпшення білоксинтезуючої функції печінки.

Кореляційні зв'язки між вмістом ССЗГ та статевих гормонів в крові були непостійними та змінювались в залежності від етапу спостереження і тиреоїдного статусу жінок. В передопераційний період взаємозв'язок між рівнем в крові ССЗГ та E_2 , а також ССЗГ та Т був відсутнім. Коефіцієнт кореляції дорівнював відповідно 0,05 та 0,02. В стані післяопераційного гіпотиреозу кореляційні зв'язки значно посилювались. Коефіцієнт кореляції між вмістом ССЗГ та Т становив 0,62 ($P < 0,05$), між вмістом ССЗГ та E_2 – 0,54 ($P < 0,05$). Корекція тиреоїдного статусу після призначення супресивних доз тиреоїдних гормонів супроводжувалась подальшим збільшенням ступеня кореляційного зв'язку між рівнем ССЗГ та E_2 ($r = 0,84$, $P < 0,05$) і зниженням до слабкого між ССЗГ та Т ($r = 0,3$, $P < 0,05$).

Таким чином, існує тісний зв'язок між вмістом ССЗГ в крові та тиреоїдним станом жінок фертильного віку в процесі лікування РЩЗ: стан вираженого гіпотиреозу, обумовлений тиреоїдектомією, супроводиться суттєвим зниженням концентрації ССЗГ в крові та коефіцієнта ССЗГ/Т відносно передопераційних показників, що свідчить про розвиток гіперандрогенії у обстежених жінок.

Призначення супресивних доз тиреоїдних гормонів сприяє нормалізації показників андрогенності у другу половину менструального циклу, проте в першу фазу циклу концентрація ССЗГ в крові та коефіцієнта ССЗГ/Т залишаються нижчими за показники здорових жінок і аналогічні показники до тиреоїдектомії.

Підвищення індексу андрогенності у жінок, прооперованих з приводу РЩЗ, може сприяти порушенню циклічної функції яєчників, що має місце впродовж першого року після тиреоїдектомії та радіойодтерапії.

Кореляційні зв'язки між вмістом ССЗГ і статевих гормонів в крові змінюються в залежності від тиреоїдного стану обстежених жінок: в доопераційний період за умов еутиреозу такий зв'язок відсутній, на тлі вираженого післяопераційного гіпотиреозу кореляційний зв'язок між ССЗГ та E_2 має середній, а за умов прийому супресивних доз тиреоїдних гормонів досягає високого ступеня. Кореляційні зв'язки між ССЗГ та Т, навпаки, найтісніші в перші тижні після операції і слабшають через 1 рік після тиреоїдектомії на тлі супресивної терапії тиреоїдними гормонами.

Література

1. Lipsett M.B. Стероидные гормоны // Репродуктивная эндокринология / Под ред. С.С.К. Йена, Р.Б. Джаффе. М.: Медицина, 1998, 193-211.
2. Rosner W. The binding of steroid hormones in human serum // Trace components of plasma, isolation and clinical significance. Inc. New York, 1976, 377-378.
3. Ben-Rafael Z., Struass J., Arendash-Durand B. et al. Changes in thyroid function tests and sex hormone binding globulin associated with treatment by gonadotropin // Fertil. Steril. 1987, 48, N 2, 318-320.

4. Diaz L., Queipo G., Carino C. et al. Biologically active steroids and thyroid hormones stimulate secretion of sex hormone binding globulin by human term placenta in culture // Arch. Med. Res. 1997, 28, N 1, 29-36.
5. Dumolin S.C., Perret B.P., Bennet A.P. et al. Opposite effects of thyroid hormones on binding protein for steroid hormones (sex hormone binding globulin and corticosteroid binding globulin) in humans // Eur. J. Endocrinol. 1995, 133, N 3, 381-386.
6. Brente G., Schniman M., Gurfinkiel M. et al. Variation of sex hormone binding globulin in thyroid dysfunction // Thyroid. 1999, 9, N 3, 273-277.
7. Hampl R., Kancheva R., Hill M. et al. Interpretation of sex hormone binding globulin levels in thyroid disorders // Thyroid. 2003, 13, N 8, 755-760.
8. Vermeulen A., Storia T., Verdonck L. The apparent free testosterone concentration, an index of androgenicity // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1981, 33, 759-766.
9. Чайка В.К., Корнієнко С.М., Носенко О.М. та ін. Гормональний профіль сироватки периферійної крові та фолікулярної рідини у пацієнток з синдромом Штейна-Левенталя // Педіатрія, акушерство та гінекологія. 2003, № 2, 80-83.
10. Трушкевич О.О. Сучасні аспекти синдрому гіперандрогенної дисфункції у дівчаток-підлітків // Педіатрія, акушерство та гінекологія. 2005, № 4, 103-105.
11. Овсянникова Т.В. Гиперандрогения в гинекологии // Гинекологическая эндокринология / Под. ред. В.Н. Серова, В.Н. Прилепской, Т.В. Овсянниковой. М.: МЕДпресс-информ, 2006, 2-е изд., 125-158.

Секс-стероидсвязывающий глобулин у женщин фертильного возраста после тиреоидэктомии по поводу рака щитовидной железы

З.Б.Хоминская, [Е.В.Эпштейн¹], Т.М. Кучменко¹

Институт педиатрии, акушерства и гинекологии АМН Украины, 04050 Киев;

¹Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев, Украина

В статье описаны результаты изучения концентрации секс-стероидсвязывающего глобулина в крови у женщин фертильного возраста в первый год после тиреоидэктомии по поводу рака щитовидной железы с учетом тиреоидного гомеостаза и баланса половых гормонов. В результате обследования 78 женщин установлено, что состояние выраженного гипотиреоза, обусловленное тиреоидэктомией, сопровождается существенным снижением концентрации в крови секс-стероидсвязывающего глобулина и коэффициента секс-стероидсвязывающий глобулин/тестостерон относительно дооперационных показателей, что свидетельствует о развитии гиперандрогении у обследованных женщин. Повышение индекса андрогенности у женщин, оперированных по поводу рака щитовидной железы, может способствовать нарушению циклической функции яичников, наблюдаемой в первый год после тиреоидэктомии и радиоiodотерапии.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, тиреоидэктомия, секс-стероидсвязывающий глобулин, индекс андрогенности.

Sex hormone binding globulin in fertile women after thyroidectomy for thyroid cancer

Z.B. Khominska, [O.V. Epstein¹], T.M. Kuchmenko¹

Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of AMS, 04050 Kyiv;

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

The results of investigation of sex hormone binding globulin levels in fertile women during the first year observation after thyroidectomy for thyroid cancer with special emphasis to thyroid status and blood sex steroid hormone concentrations are described. 78 women were included. Sex hormone binding globulin levels and SHBG/T index demonstrated a considerable decrease as compared to indices before thyroidectomy. It was an evidence of hyperandrogenicity development. Increased index of androgenicity in women after surgery thyroid cancer may contribute to the ovarian dysfunction, observed during the first year after thyroidectomy and radioiodine therapy.

Key words: thyroid cancer, thyroidectomy, sex hormone binding globulin, index of androgenicity.

(Надійшла 2.11.2006)

ЗРОСТАННЯ ПОШИРЕНOSTІ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ У МЕШКАНЦІВ МІСТА МАРІУПОЛЯ

П.М. Лихоносов*

Ендокринологічний стаціонар міської лікарні №4, 87502 Маріуполь, Україна

На підставі річних звітів у статті проаналізована динаміка статистичних показників поширеності ендокринної патології, хвороб щитоподібної залози і цукрового діабету та частоти поєднання цих недуг у місті Маріуполі за період з 1960 року по 2002 рік включно. Враховувались демографічні зміни за вказаний період, стан медичної допомоги (кількість кабінетів лікарів-ендокринологів, апаратів УЗД, гормональних лабораторій) та екологічна ситуація.

Встановлена тенденція до суттєвого зростання поширеності ендокринної патології (коефіцієнт детермінації $R^2=0,935$, $P<0,01$). Виявлене неухильне збільшення розповсюдженості цукрового діабету обох типів ($R^2=0,776$, $P<0,01$). Динаміка частоти цукрового діабету 1 типу графічно мала хвилеподібний вигляд з періодом у 18-20 років, також з тенденцією до зростання ($R^2=0,810$, $P<0,01$). Зміни відбувались як на тлі збільшення населення міста у період з 1960 по 1991 рік, так і на тлі негативних демографічних змін, починаючи з 1992 року. Залежності показників поширеності ендокринних хвороб від коливань чисельності населення не встановлено ($r=-0,105$, $P=0,866$). Виявлене збільшення поширеності хвороб щитоподібної залози ($R^2=0,970$, $P<0,01$), але відчутна залежність статистичних показників від методів діагностики та чинної класифікації хвороб щитоподібної залози, тому динаміка показників патології неритмічна. Припускається, що у зростанні ендокринної патології в населення м. Маріуполя важлива роль належить екологічним чинникам: підвищеному радіаційному випромінюванню та хімічному забрудненню довкілля. За даними статистичних звітів, на тлі зростання розповсюдженості цукрового діабету 1 типу та хвороб щитоподібної залози збільшення частоти автоімунного полігландулярного синдрому не відзначено. У період з 1999 по 2002 рік у Маріуполі поширеність цього синдрому становила 0,092 випадки на 10 тис. населення, що свідчить про неадекватність оцінки дійсного стану поширеності ендокринних хвороб і необхідність подальшого удосконалення методів діагностики та статистичного обліку. На нашу думку, показник поширеності автоімунних полігландулярних синдромів в даний час можна використовувати як критерій рівня ендокринологічної допомоги населенню.

Ключові слова: цукровий діабет, автоімунний тиреоїдит, поширеність автоімунних поліендокринопатій.

Збільшення поширеності ендокринної патології найбільше пов'язане з розповсюдженістю цукрового діабету та зростанням частоти патології щитоподібної залози [1, 2]. Якщо кількість хворих на цукровий діабет (ЦД) за розрахунками експертів у 1960 році у всьому світі становила 30 млн [3], у 2000 році – 175 млн, то вже у 2010 році їх очікується 240 млн [4]. Такий значний приріст ЦД викликає велике занепокоєння, бо ця хвороба призводить до ранньої інвалідизації та смертності і, з цієї причини, є однією з найскладніших медико-соціальних проблем. В Україні у 2002 році було зареєстровано 920256 хворих на ЦД, із яких 3185 особам проведено ампутації, пов'язані з цією хворобою, 292 прооперованих померло [5]. Ранньому виявленню та своєчасному взяттю на диспансерний облік хворих на ЦД для лікування та профілактики ускладнень приділяється значна увага науковців та організаторів охорони здоров'я у всьому світі.

* Адреса для листування (Correspondence): Ендокринологічний стаціонар міської лікарні № 4, вул. Пашковського, 4, м. Маріуполь Донецької обл., 87502, Україна

На показники поширеності хвороби значною мірою впливає такий чинник, як рівень організації медичної допомоги населенню. Так, наприклад, на кінець 1950 року в Українській РСР під наглядом ендокринологічних диспансерів знаходилося всього 170 хворих на ЦД, та після прийнятих організаційних заходів з діагностики та диспансерного обліку на кінець 1951 року їх число досягло 755 чоловік, тобто показник поширеності ЦД зріс у 4,4 рази за рік [3]. Високий темп збільшення розповсюдженості ЦД спостерігався упродовж майже 10 років. У 1960 році цей показник рівнявся 74 на 100 тис. населення, у 1970 році він становив 369 на 100 тис. населення, тобто зріс у 5 разів. Це обумовлено покращенням пропаганди знань з проблем ЦД, збільшенням числа спеціалістів з ендокринології, розгортанням спеціалізованих ліжок, удосконаленням методик діагностики діабету, наявністю цукрознижуючих ліків, своєчасним взяттям на диспансерний облік та регулярним профілактичним оглядом населення [3]. Завдяки вищезазначеним заходам, у 2002 році поширеність ЦД в Україні становила вже 1907,6 на 100 тис. населення [5].

Не меншу актуальність має неухильне зростання патології щитоподібної залози (ЩЗ), зокрема, автоімунного тиреоїдиту (АІТ) [2]. З початку 80-х років останній, завдяки сучасним методам дослідження, все частіше виявляється за декілька років до стадії клінічного гіпотиреозу. За даними досліджень [6-8], цю хворобу мають 3-4% населення світу. Але в Україні показник поширеності тиреоїдиту у 2002 році рівнявся 212,2 на 100 тис. населення (це 0,2% від всього населення) [3]. На його розповсюдженість значно впливає сучасна екологічна ситуація [8, 9]. Так, показник поширеності тиреоїдиту в областях значно відрізняється і вищий він у промислово розвинутих регіонах: у Донецькій області у 2002 році він дорівнював 360,8 на 100 тис. населення (0,36% від всього населення) проти 37,8 на 100 тис. населення у Тернопільській області (0,04% від всього населення) [5]. Слід враховувати можливі недоліки у встановленні діагнозу АІТ, тому що діагностика цієї хвороби повинна базуватися на результатах багатьох клінічних, лабораторних, інструментальних методів обстеження [2].

ЦД 1 типу і АІТ відносять до класичних органоспецифічних автоімунних захворювань [10, 11]. Їх об'єднує єдиний патогенез, обумовлений частковим генетичним дефектом імунологічного нагляду, який призводить до продукції автоантитіл, викликаючи деструкцію фолікулярного епітелію ЩЗ та бета-клітин підшлункової залози [12-15]. Наявність автоімунного ураження кількох ендокринних залоз відокремили у так званий «автоімунний полігландулярний синдром» (АПС) [16-19]. Поширеність АПС вивчена ще недостатньо. Науковцями найчастіше досліджується наявність автоантитіл до пероксидази ЩЗ у хворих на ЦД 1 типу, яка становить, за даними різних авторів, від 5 до 40 відсотків [17]. Для своєчасної діагностики компонентів АПС великого значення набуває спрямований скринінг у пацієнтів із ураженням тільки одного ендокринного органа, із застосуванням пошуку імунологічних маркерів автоімунної агресії. Це необхідно робити тому, що взаємний вплив компонентів АПС передбачає особливості клінічного перебігу захворювання, які потребують додаткових методів обстеження і зваженого призначення медикаментів [18, 19]. Якщо зростає поширеність ЦД та АІТ, то мусить зростати і кількість хворих, у яких має місце автоімунне ураження двох або більше ендокринних органів, і показник поширеності АПС є досить важливим і доцільним з науково-практичної точки зору.

Мета дослідження – оцінка динаміки поширеності ендокринної патології, хвороб ЩЗ та ЦД, а також їх поєднання (на прикладі АПС) у мешканців промислового міста Маріуполя, починаючи з 1960 року по 2002 рік включно.

Матеріали та методи дослідження

Для статистичного аналізу було взято двадцять вісім річних звітів ендокринологів міста Маріуполя за період з 1960 року по 2002 рік включно. Використовувалися показники чисельності населення, поширеності хвороб ендокринної системи, ЦД (разом I і II типів, та I типу окремо), ЩЗ та випадків поєднання двох або більше ендокринних хвороб у однієї людини. Захворюваність включена до статистичних звітів з 1980 року, тому для аналізу використовувався тільки показник поширеності, який розраховувався однаково впродовж всіх 42 років (кількість зареєстрованих хворих на 100 тис. населення). Статистичний облік ендокринних хвороб впроваджувався у відповідності до діючих на той час класифікацій [21, 22]. Показник поширеності ендокринної патології з 1960 року по 1974 рік об'єднував такі основні ендокринні хвороби, як цукровий діабет, зоб, тиреотоксикоз, гіпотиреоз, гіпофізарний нанізм, фізичну і статеву недорозвиненість та рубрику «Інші ендокринні хвороби». Починаючи з 1975 року, коли була прийнята Міжнародна класифікація хвороб дев'ятого перегляду (МКХ-9), форма статистичної звітності значно розширилась за рахунок більшої деталізації рубрики «Інші ендокринні хвороби». Показник поширеності ЦД у період з 1960 року по 1970 рік включає тільки загальну кількість хворих на ЦД. З 1970 року у звітах вказується кількість хворих, які потребують інсуліну. З 1983 року вже проводиться чітке розділення на типи діабету (I тип – інсулінозалежний, та II тип – інсулінонезалежний) [23]. Починаючи з 1999 року, впроваджується класифікація цукрового діабету ВООЗ (ЦД 1 типу, ЦД 2 типу) [24].

У статті показник поширеності хвороб ЩЗ вжито умовно, в нього включені такі нозологічні одиниці, як дифузний зоб, тиреоїдит, вузловий зоб, тиреотоксикоз, гіпотиреоз. Не враховувались показники післяопераційного гіпотиреозу та випадки раку щитоподібної залози за відсутністю даних тривалий час (з 1960 по 1975 роки). Рівень йодного дефіциту теж не брався до уваги, тому що дані про його наявність в м. Маріуполі не підтверджуються [25]. Для оцінки розмірів щитоподібної залози раніше використовувалась класифікація ВООЗ Perez з співавторами від 1963 року, яка передбачала збільшення I, II та III ступенів [26]. Починаючи з 1966 року, в СРСР впроваджена класифікація О.В. Ніколаєва [27], за якою виділяли I, III, V ступені та проміжні II і IV ступені. З 1986 року, коли було затверджено адаптований варіант МКХ-9 для використання в СРСР другого видання, в рубрикації хвороб ЩЗ у розділі «Тиреоїдити», шифр 245 (245.0-245.9), частіше почав реєструватися діагноз «Хронічний лімфоцитарний тиреоїдит» (245.2) та передбачалося використання шифру 258 (258.0-258.9) «Полігландулярна дисфункція» [28].

Перші згадки про поєднання цукрового діабету з ураженням щитоподібної залози знайдені в аналітичних оглядах річних звітів м. Маріуполя, починаючи з 1975 року. За період з 1986 по 1999 роки кількість хворих з АПС наводилась у аналітичних оглядах та почала враховуватися у розділі «Інші хвороби ендокринної системи». З впровадженням у 1999 році Міжнародної статистичної класифікації хвороб та споріднених проблем охорони здоров'я десятого перегляду (МКХ-10), у звітах починають реєструвати хворих на аутоімунний полігландулярний синдром, шифр E31.0-E31.9 [29].

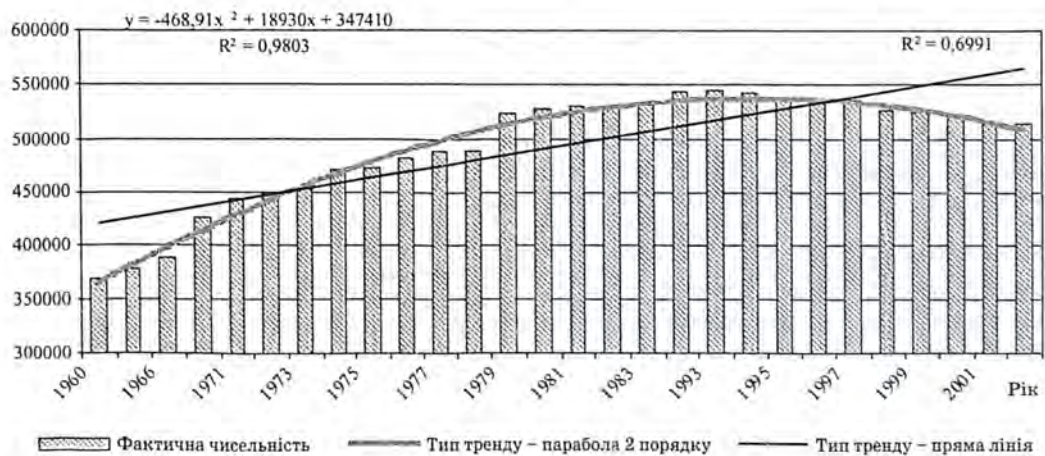
Стан ендокринологічної служби міста Маріуполя оцінювався за кількістю кабінетів лікарів-ендокринологів, кабінетів ультразвукового дослідження, лабораторій, у тому числі гормональних.

Статистичний аналіз проводився за допомогою Microsoft Excel та Stat Soft STATISTICA 6.0. Динамічні зміни оцінювались за показниками абсолютного росту (зменшення), темпу зміни росту (зменшення), темпу приросту (зменшення) та ціни (значущості) 1% темпу приросту [30]. Зроблено регресивний аналіз із побудовою ліній тренда, які графічно відобразили тенденції змін даних та спрогнозували їх подальші зміни. Відсутні проміжні показники ряду динаміки, обчислені за методом екстраполяції (продовження ряду на основі виявленої закономірності зміни рівнів у досліджуваній період): середнього абсолютного росту, середнього темпу росту та екстраполяції на основі вивірнювання рядків згідно будь-якої аналітичної формули (у даному випадку застосовано метод апроксимації – заміна табличних даних формулою) [31, 32]. Обчислювався коефіцієнт детермінації (показник вірогідності апроксимації) R^2 , інформативність якого обчислена за формулою $r = \frac{r}{\sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}}$, та порівнювався з табличними

даними t при рівні істотності $P = 0,01$. Цифрові дані, які стосувалися кількості населення, вікових груп та кількості хворих тією чи іншою ендокринною патологією, були оброблені із застосуванням критерію χ^2 і визначенням рівня вірогідності різниці (P). Кореляційний аналіз проводився із використанням непараметричного коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (ρ), також із визначенням рівня вірогідності (P) [33, 34].

Результати та їх обговорення

Демографічна ситуація у м. Маріуполі протягом 42 років відображає стан економічного розвитку промислово розвинутого міста. Динаміка показників руху населення за весь період має позитивну тенденцію: абсолютний ріст становить 142800 осіб, темп росту дорівнює 138,7%, темп приросту – +38,7%, ціна (значущість) 1% приросту – 3689 осіб. При проведенні регресивного аналізу була побудована пряма лінія тренда, що має коефіцієнт детермінації $R^2=0,699$. Відомо, що коефіцієнт детермінації найінформативніший при показниках не нижчих 0,96-0,97 [33]. Тому для характеристики змін чисельності населення мусимо застосувати лінію тренда у вигляді параболи 2 порядку, тоді коефіцієнт детермінації дорівнює $R^2=0,980$. Інформативність знайденого R^2 обчислена як $t_{обч}=36,6$, що значно перевищує табличне значення $t_{табл}=2,779$ при ступені свободи $v=28-2$ та рівні істотності $P=0,01$ (далі подаватиметься скорочено: $t_{обч}=36,6$; $t_{табл}=2,779$, $v=28-2$, $P=0,01$). Динаміка чисельності населення міста Маріуполя протягом 42 років подана на мал. 1.



Мал. 1. Динаміка чисельності населення м. Маріуполя.

Лінія тренда у вигляді параболи зумовлює наявність кількох максимумів частот. У такому разі досліджувану сукупність потрібно розчленувати на окремі однорідні сукупності і вивчати їх окремо [32]. Тому виділяємо перший період, коли спостерігався значний приріст чисельності населення, з 1960 по 1971 рік, другий період – повільного збільшення, з 1972 по 1990 рік, та третій період, коли відбувалося скорочення чисельності мешканців міста, з 1991 по 2002 рік. Найінформативнішими періодами є перший та третій. Перший період з 1960 по 1971 роки характеризувався значним збільшенням населення: абсолютний ріст становив 74900 мешканців, темп зростання дорівнював 120,2%, темп приросту – +20,2%, ціна 1% приросту – 3707 осіб. Третій період, з 1991 по 2002 роки, має негативні показники: абсолютне зменшення населення становить –32100 осіб, темп зменшення дорівнює 94%, темп зниження – –6%, ціна 1% зниження становить 5350 осіб. У перший та

другий періоди (з 1960 по 1990 роки) відбувалося зростання кількості населення з 369000 до 547000 мешканців за рахунок перевищення кількості народжених над кількістю померлих (максимальні показники маємо у 1985 році: 7546 народжених та 5402 померлих), позитивній міграції робітників до м. Маріуполя для працевлаштування на численні металургійні комбінати. Але, починаючи з 1991 року, встановлена негативна і стійка тенденція до зменшення кількості народжених та поступового збільшення смертності (у 2002 році: 3148 народжених і 7555 померлих; $\chi^2=1970$, $P<0,001$ у порівнянні з 1985 роком). У 2002 році нараховувалося вже 514000 населення. Демографічні зміни відбулися і в структурі населення, що характеризують старіння його мешканців. Кількість дітей та підлітків була значно більшою у 1971 році (132894 при населенні 444000), ніж у 2001 році (86539 при населенні 514900; $\chi^2=23266$, $P<0,001$ у порівнянні з 1971 роком). Кількість мешканців пенсійного віку у 1998 році вперше перевищила рубіж 25% і становила 26,7%, тобто, кожний четвертий мешканець міста – людина пенсійного віку [35]. Природний приріст населення до 1990 року мав позитивне значення, а починаючи з 1992 року встановлюється негативні показники (-2,9), які неухильно змінюється до відмітки -8,3 у 2002 році. Також зменшується і показник народжуваності (з 7,7 у 1991 році до 6,8 у 2002 році), зростає смертність (з 13,6 у 1991 році до 15 у 2002 році) [36].

Окрім демографічних чинників, на здоров'я населення впливають екологічні фактори. Визначення залежності стану здоров'я населення від кожного конкретного чинника – завдання досить складне, яке вимагає проведення серйозних досліджень. Встановлено, що основний радіаційний тиск на населення України припадає на опромінювання радоном (58,8%) [37]. Доведено, що радіаційне опромінювання викликає індукцію низки аутоімунних реакцій у людини [38, 39]. Останні роки вивчається вплив на здоров'я мешканців північного Приазов'я «чорних пісків» (радій-226, торій-232, калій-40). Загальна площа забрудненої території з гамма-фоном у 50-120 мкР/год у місті Маріуполі постійно збільшується: 1997 рік – 96 м², 1998 рік – 360 м², 1999 рік – 366 м², 2000 рік – 512 м² [35]. Рівень радіації на узбережжі у 20-50 разів перевищує допустимий. Тому при вивченні показників поширеності ендокринних хвороб треба враховувати, що Маріуполь знаходиться у зоні природно підвищеної радіації. Це місце виходу докембрійського кристалічного фундаменту на поверхню – Український щит. Він протягнувся з північного заходу (Рівненська, Житомирська, Черкаська, Вінницька, Миколаївська області) на південний схід (Дніпропетровська, Запорізька області) до Азовського моря. У вказаних регіонах у воді вміст радія-226 знаходиться на рівні в 5-10 раз більшому, ніж у середньому по Україні [35].

Окремо від радіаційного, вивчався вплив хімічних речовин на здоров'я мешканців м. Маріуполя. За даними Республіканського гігієнічного центру «...хімічне забруднення повітряного середовища міста Маріуполя значно перевищило норму, яке при збереженні сьогоденного рівня забруднення за 150 років призведе до фізичного та інтелектуального виродження місцевого населення. Наприклад, вивчивши вплив місцевого атмосферного повітря на генетичні структури статевих клітин людини, вчені прийшли до висновку: наслідки цього хімічного пресингу, будучи відображені у біологічних еквівалентах рентгена (бер), за 30 років в Маріуполі оцінюються в 180 бер» [35]. Прослідковується зв'язок між чинником середньорічної запиленості в одиницях гранично допустимих концентрацій (ГДК) та станом здоров'я населення. Показники загальної захворюваності та смертності на

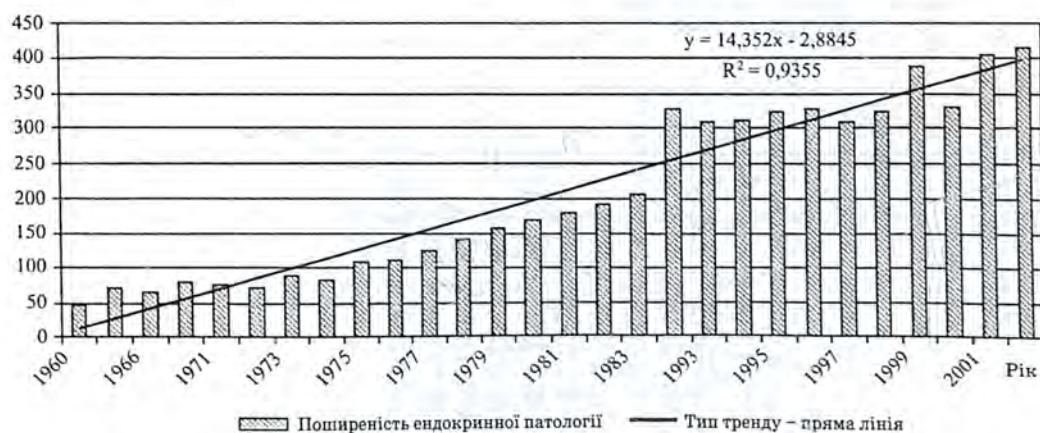
1000 осіб за 1998 рік за даними радіологічного центру «Стратегія» (м. Маріуполь) наведені у табл. 1.

Таблиця 1. Зв'язок між забрудненістю атмосфери і станом здоров'я населення

Район міста Маріуполя	Середньорічна запиленість в одиницях ГДК	Захворюваність (на 1000 чоловік)	Смертність (на 1000 чоловік)
Іллічівський	5,0	1347	14,55
Жовтневий	2,8	1073	11,19
Орджонікідзевський	1,4	1062	11,70
Приморський	0,8	990	11,46

Аналізуючи дані, можна зробити висновок, що забрудненість атмосфери є одним із вагомих чинників впливу на стан здоров'я мешканців міста Маріуполя. У найбільш екологічно несприятливому районі міста – Іллічівському – населення і хворіє, і помирає частіше, ніж в інших його районах [35].

Зміни показників поширеності ендокринної патології протягом всього досліджуваного періоду графічно представлені на мал. 2. Динаміка відображена прямою лінією тренда з коефіцієнтом детермінації $R^2=0,935$ ($t_{\text{обч}}=19$, $t_{\text{табл}}=2,779$, $v=28-2$, $P=0,01$). Спостерігається постійне та значне зростання цього показника, незалежно від зменшення чисельності населення у період з 1991 по 2002 роки.

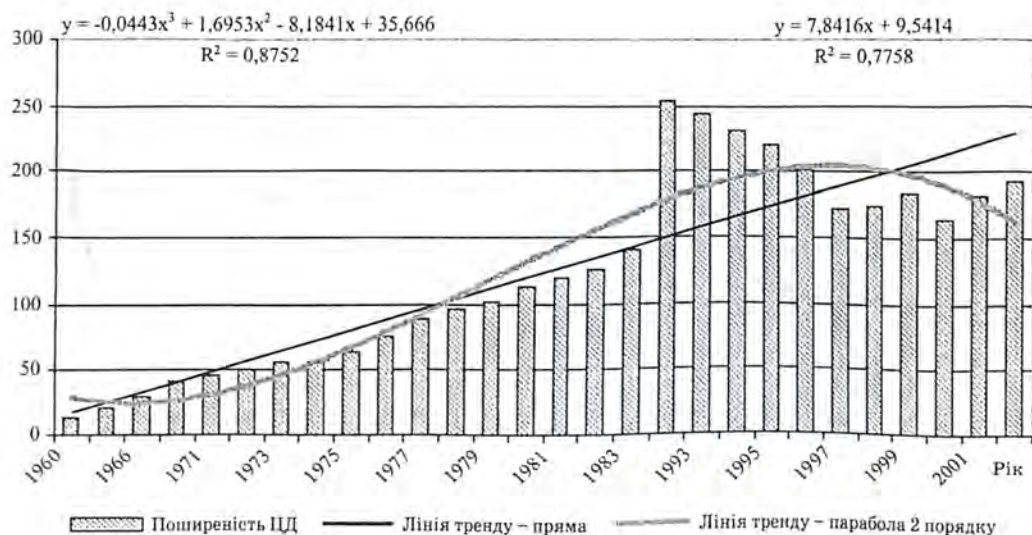


Мал. 2. Динаміка поширеності ендокринної патології серед мешканців міста Маріуполя.

За весь досліджуваний період динаміка показників поширеності ендокринної патології має прогресуючу тенденцію: абсолютний ріст становить 19536 осіб, темп росту дорівнює 901,7%, темп приросту – +801,7%, ціна 1% приросту – 1250 осіб. Значний ріст поширеності ендокринної патології пояснюється, з одного боку, вже згадуваними екологічними чинниками та, з другого боку, безумовним покращенням рівня і стану ендокринологічної служби міста, своєчасною діагностикою на сучасному рівні цих хвороб. Проведення кореляційного аналізу між кількістю відкритих кабінетів лікарів-ендокринологів, кількістю лабораторій (у тому числі з дослідження гормонального стану), кабінетів ультразвукового дослідження, кількістю населення міста та поширеністю ендокринної патології, цукрового діабету, тиреоїдиту, гіпотиреозу виявило наступне. На показники поширеності ЦД, тиреоїдиту

та гіпотиреозу вірогідно впливають такі чинники, як кількість кабінетів лікарів-ендокринологів ($\rho=0,997$, $P=0,028$), стан лабораторної служби ($\rho=0,954$, $P=0,012$), кількість кабінетів ультразвукового дослідження ($\rho=0,978$, $P=0,004$). Обчислені коефіцієнти рангів вказують на прямий тісний зв'язок між станом ендокринологічної служби м. Маріуполя та показниками поширеності ендокринної патології. Найбільше вплинули на показники поширеності тиреоїдиту та гіпотиреозу відкриті упродовж останнього десятиліття гормональні лабораторії (для тиреоїдиту $\rho=0,912$, $P=0,003$; для гіпотиреозу $\rho=0,999$, $P<0,001$) та кабінети УЗД (для тиреоїдиту $\rho=0,978$, $P=0,004$; для гіпотиреозу $\rho=0,965$, $P=0,008$). Не виключено, що маємо випадки гіпердіагностики захворювань щитоподібної залози, особливо АІТ на стадії клінічного та лабораторного еутиреозу [2]. Не виявлено впливу чисельності населення, з його коливаннями у вказаний період, на всі показники поширеності ендокринних захворювань ($\rho=-0,105$, $P=0,866$) (табл. 2).

Динаміка показників поширеності ЦД обох типів протягом всього досліджуваного періоду графічно представлена на мал. 3. Зміни найточніше відображені параболою 2 порядку з коефіцієнтом детермінації $R^2=0,875$ ($t_{\text{обч}}=13,5$, $t_{\text{табл}}=2,779$, $v=28-2$, $P=0,01$), але і пряма лінія тренду має суттєвий показник $R^2=0,776$ ($t_{\text{обч}}=9,4$, $t_{\text{табл}}=2,779$, $v=28-2$, $P=0,01$). Це свідчить про неухильне збільшення поширеності ЦД у м. Маріуполі за весь час спостереження.



Мал. 3. Динаміка поширеності ЦД 1 та 2 типів серед мешканців міста Маріуполя.

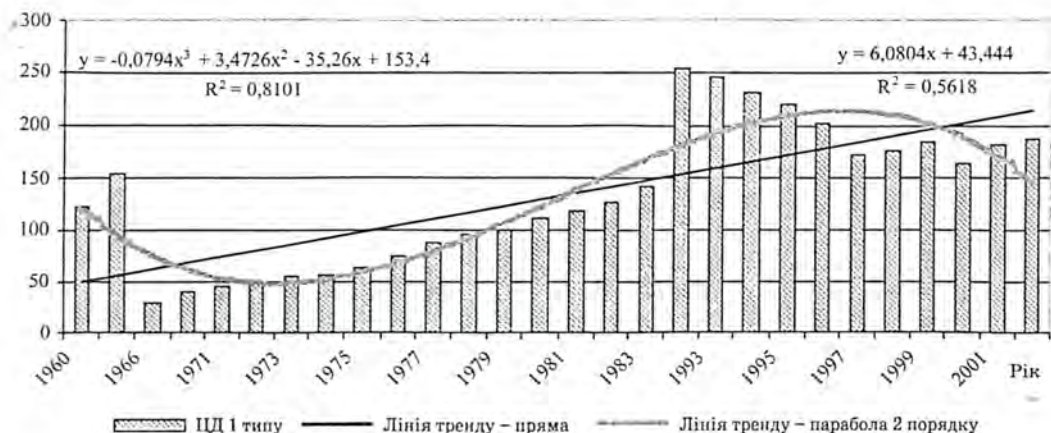
Показники динаміки поширеності ЦД обох типів за весь період також мають прогресуючу тенденцію: абсолютний ріст становить 9400 осіб, темп росту дорівнює 1516,1%, темп приросту – +1418,1%, ціна 1% приросту – 2104 осіб. За рахунок цього показника і відбувається збільшення всієї ендокринної патології протягом всього досліджуваного періоду. Але маємо зниження показника у період, починаючи з 1992 року. Припускаю, що це відбувалось внаслідок зменшення реєстрації хворих на ЦД 2 типу у зв'язку з незадовільним забезпеченням цукрознижувальними пероральними препаратами та інсуліном. Хворі не відвідували лікарів-ендокринологів, тому що не отримували безкоштовно ліки.

Таблиця 2. Залежність поширеності ендокринних захворювань від стану ендокринологічної служби у м. Маріуполі за період з 1960 по 2002 роки

Рік	Кількість				Поширеність на 10 тис. населення			
	Каб. лікарів	Каб. УЗД	Лабораторій	Населення	Всієї ендокринної патології	ЦД	Тиреоїдиту	Гіпотиреозу
1960	2	0	1	369100	46	12,7	0	1
1971	4	0	2	444000	76	45	0	3,5
1980	7	2	3	528600	168,8	101	0,1	6,6
1991	12	5	4	544000	328	253	5,1	8,7
2002	15	16	7	511900	414,8	192,8	43,8	16,3
	ρ				$\rho=0,9975$	$\rho=0,9171$	$\rho=0,7864$	$\rho=0,9600$
	P_1				$P_{1-5}=0,000$	$P_{1-6}=0,028$	$P_{1-7}=0,115$	$P_{1-8}=0,01$
		ρ			$\rho=0,9012$	$\rho=0,6576$	$\rho=0,9782$	$\rho=0,9646$
		P_2			$P_{2-5}=0,037$	$P_{2-6}=0,228$	$P_{2-7}=0,004$	$P_{2-8}=0,008$
			ρ		$\rho=0,9543$	$\rho=0,7685$	$\rho=0,9121$	$\rho=0,9993$
			P_3		$P_{3-5}=0,012$	$P_{3-6}=0,129$	$P_{3-7}=0,031$	$P_{3-8}=0,000$
				ρ	$\rho=-0,1053$	$\rho=-0,0809$	$\rho=-0,2690$	$\rho=-0,035$
				P_4	$P_{4-5}=0,866$	$P_{4-6}=0,897$	$P_{4-7}=0,662$	$P_{4-8}=0,955$

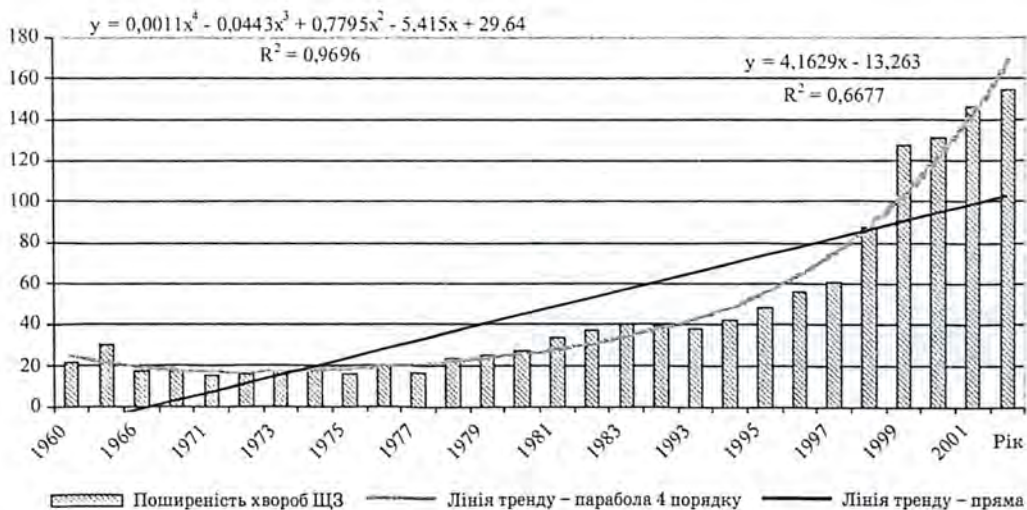
Примітка: P – рівень істотності визначеного коефіцієнта кореляції ρ .

Динаміка показників поширеності ЦД 1 типу графічно представлена на мал. 4. Зміни найточніше відображені параболою 2 порядку з коефіцієнтом детермінації $R^2=0,810$ ($t_{обч}=10,5$, $t_{табл}=2,779$, $v=28-2$, $P=0,01$). Цікаво, що лінія тренду має яскравий хвилеподібний вигляд з періодом у 18-20 років.



Мал. 4. Динаміка поширеності ЦД 1 типу у мешканців м. Маріуполя за період з 1960 по 2002 роки.

Динаміка показників поширеності патології ЩЗ графічно представлена на мал. 5. Ці зміни найточніше відображені параболою 2 порядку з коефіцієнтом детермінації $R^2=0,970$ ($t_{обч}=28,8$, $t_{табл}=2,779$, $v=28-2$, $P=0,01$). Абсолютний ріст становить 974 особи, темп росту дорівнює 161,5%, темп приросту – +61,5%, ціна 1% приросту – 224 особи. Слід зауважити, що коректне порівняння показників захворюваності ЩЗ викликає певні труднощі. Це обумовлене зовсім різними класифікаційними підходами до визначення діагнозу [2, 3, 20-23]. Так, у період з 1960 по 1974 роки рубрикація була такою: перша – «Зобна хвороба» об'єднувала «Вузлові форми», «Суміжні форми», «Дифузні форми»; друга – «Тиреотоксикоз»; третя – «Мікседема», до якої відносили всі форми гіпофункції щитоподібної залози, включно післяопераційну форму. Рубрики «Тиреоїдити» не було взагалі. У вітчизняній літературі термін аутоімунний тиреоїдит вперше впроваджується з 1964 року. Крім того, запропонований О.В. Ніколаєвим термін «предзоб» призвів до реєстрації значної кількості «Гіперплазій щитоподібної залози» I-II ступеня, який певний час реєструвався як окрема номенклатурна одиниця [27]. Так, у звітах «Гіперплазію щитоподібної залози» продовжували враховувати в рубриці «Інші хвороби щитоподібної залози» (246.8). Остаточо виключена «Гіперплазія щитоподібної залози» із звітів тільки з впровадженням у 1999 році Міжнародної статистичної класифікації хвороб та споріднених проблем охорони здоров'я 10-го перегляду [29]. Тому порівняльний аналіз хвороб щитоподібної залози можна робити тільки з погляду загальної тенденції, яка показує неухильне та відчутне збільшення кількості захворювань даною патологією.



Мал. 5. Динаміка поширеності хвороб ЩЗ серед мешканців м. Маріуполя.

Незважаючи на те, що вже з 1908 року використовується термін «полігландулярна недостатність», який запропонували Н. Claud і Н. Gourgeo [15], введення у статистичний звіт цієї патології відбулося тільки з прийняттям у 1975 році Міжнародної класифікації хвороб дев'ятого перегляду та із затвердженням адаптованого варіанту МКХ-9 для використання в СРСР у 1986 році, коли було введено шифр 258 «Полигландулярная дисфункция и родственные расстройства») [28]. Цей показник відображався у текстовому форматі в описовій частині аналітичних звітів і був відсутній при статистичному аналізі поширеності хвороб ендокринної системи, тому що проводилась статистична реєстрація окремих складових частин синдрому. З впровадженням у 1999 році в Україні Міжнародної статистичної класифікації хвороб та споріднених проблем 10-го перегляду, у розділі «Ендокринні хвороби (Е00-Е90)», «Полігландулярна дисфункція» має шифр Е31 (Е31.0-Е31.9), і вперше починає з'являтися повноцінна інформація у статистичних звітах про поширеність аутоімунного полігландулярного синдрому. Так, по м. Маріуполю за весь період з 1999 року по 2002 рік, АПС становить 0,092 випадки на 10 тис. населення. Зареєстровані хворі з АПС II типу – поєднання хвороби Аддісона з аутоімунними захворюваннями ЩЗ (синдром Шмідта) та із ЦД 1 типу (синдром Карпентера), і хворі на АПС III типу – поєднання ЦД 1 типу з АІТ [18, 19]. Діагноз АПС встановлюється завдяки лікарському досвіду та сучасному медичному обладнанню, тому показник поширеності АПС в даний час можна використовувати як критерій рівня ендокринологічної допомоги населенню.

Відношення вивчених коефіцієнтів зростання показників чисельності населення і поширеності ендокринних хвороб графічно узагальнено на мал. 6.

Проведене дослідження встановило основні тенденції динаміки ендокринних захворювань. Це зростання поширеності ЦД та хвороб ЩЗ. Провідну роль у їх виникненні відіграють генетичні чинники, які все частіше реалізуються за умов прогресуючої урбанізації та провокуються гіподинамією, надмірним харчуванням і ожирінням. На виникнення та перебіг аутоімунних захворювань діють також чинники забрудненого зовнішнього середовища. Виявлення та усунення цих впливових чинників є одним з найефективніших засобів профілактики ендокринних захворювань. Суттєвим виявляється і рівень організації та комплексність медичного обслуговування населення.



Мал. 6. Коефіцієнт зростання показників чисельності населення та поширеності ендокринних хвороб у мешканців м. Маріуполя за період з 1960 по 2002 роки.

Таким чином, аналіз динаміки поширеності ендокринних захворювань є важливим фактором в оцінці стану здоров'я населення, одним із критеріїв розвитку та ефективності медичної допомоги.

Висновки

1. Зростання показників поширеності ендокринних захворювань за весь досліджений період відбувалося постійно та незалежно від коливань кількості населення у місті Маріуполі.

2. Впливовими чинниками на поширеність ендокринних хвороб є радіаційний чинник (природний і техногенний) та хімічне забруднення навколишнього середовища.

3. Рівень медичної допомоги, єдина методологія при діагностиці ендокринних захворювань, правильне використання діючих класифікацій хвороб, кваліфікаційна статистична реєстрація, наявність безкоштовних цукрознижувальних ліків суттєво впливають на показники поширеності ендокринних хвороб.

4. Діюча Міжнародна статистична класифікація хвороб та споріднених проблем 10-го перегляду, де ендокринні хвороби мають шифр E00-E90, використовується у річних звітах лікарів-ендокринологів не в повному обсязі: не відображені достатньо випадки поєднаного ураження ендокринних органів, що гальмує вивчення їх поширеності.

5. Необхідне подальше впровадження сучасних методів діагностики ендокринних захворювань та удосконалення статистичного обліку в ендокринології.

Література

1. Тронько М.Д., Єфімов А.С., Кравченко В.І., Паньків В.І. Епідеміологія цукрового діабету. К.: Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України, 1996.152 с.
2. Олійник В.А. Патологія щитовидної залози в Україні (епідеміологія та регіональні особливості) // Журн. практ. лікаря. 2001, № 2, 5-7.
3. Абер В.Я. Организация эндокринологической службы. М.: Медицина, 1972. 200 с.
4. Zimmet P.Z., McCarty D.J., de Courten M.P. The global epidemiology of non-insulin-dependent diabetes mellitus and the metabolic syndrome // J. Diab. Complicat. 1997, 11, N 2, 60-68.

5. Основні показники діяльності ендокринологічної служби України за 2002 рік. К.: Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України, 2003.
6. Volpe R. Autoimmune diseases of the endocrine system. CRC, Boca Raton, 1990. 364 p.
7. Браверман Л.И. (ред.). Болезни щитовидной железы М.: Медицина, 2000. 417 с.
8. Дедов И.И., Трошина Е.А., Антонова С.С. и др. Аутоиммунные заболевания щитовидной железы: состояние проблемы // Пробл. эндокринол. 2002, 48, № 2, 6-13.
9. Савина Л.В., Белоножкина С.Л., Кадыгроб Г.В. и др.. Роль экологических факторов в формировании заболеваемости аутоиммунным тиреоидитом // Пробл. эндокринол. 1999, 45, № 5, 26-29.
10. Малышев В.А. Инсулинзависимый сахарный диабет как аутоиммунное заболевание. Иммунодиагностика и иммунопрофилактика // Імунологія та алергія. 1998, № 1-2, 47-59.
11. Подольский Ю.А. Особенности диагностики и лечения аутоиммунного тиреоидита: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 1990. 24 с.
12. Галенок В.А., Жук Е.А. Маркеры аутоиммунного процесса при инсулинзависимом сахарном диабете // Пробл. эндокринол. 1997, 43, № 3, 13-26.
13. Кандор В.И. Аутоиммунные заболевания щитовидной железы и апоптоз // Пробл. эндокринол. 2002, 48, № 1, 45-48.
14. Калинин А.П., Потемкин Е.Е., Пешева Н.В. Иммунологические аспекты аутоиммунного тиреоидита // Пробл. эндокринол. 1994, 40, № 1, 56-58.
15. Torn C. C-peptide and autoimmune markers in diabetes // Clin. Lab. 2003, 49, N 1-2, 1-10.
16. Бондар П.М. (ред.). Эндокринологія. К.: Здоров'я, 2002. 512 с.
17. Fernandez-Castaner M., Molina A., Lopez-Jimenez L. et al. Clinical presentation and early course of type 1 diabetes in patients with and without thyroid autoimmunity // Diabetes Care. 1999, 22, N 3, 377-381.
18. Фадеев В.В., Шевченко И.В., Мельниченко Г.А. Аутоиммунные полиглангулярные синдромы // Пробл. эндокринол. 1999, 45, № 1, 47-54.
19. Riley W.J. Autoimmune polyglandular syndromes // Horm. Res. 1992, 38, Suppl. 2, 9-15.
20. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Эндокринология. М.: Медицина, 2000. 632 с.
21. Олійник В.А. Класифікація захворювань щитоподібної залози // Ендокринологія. 2001, 6, № 1, 124-127.
22. Болгов М.Ю., Комісаренко І.В., Олійник В.А. та ін. Рубрикація діагнозів щодо патології щитоподібної залози при автоматизації ведення медичної документації // Ендокринологія. 2002, 7, № 1, 55-61.
23. Ефимов А.С. (ред.). Эндокринология. К.: Вища школа, 1983. 328 с.
24. World Health Organization Consultation. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications, Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of a WHO Consultation. Geneva: World Health Organization, 1999.
25. Кравченко В.І. Основні етапи дослідження йодної недостатності та динаміка її ліквідації в Україні // Міжнар. ендокринол. журнал. 2006, 1, N 3, 40-48.
26. Perez C., Scrimshaw N.S., Munoz J. A. Методика обследования на эндемичный зоб. Эндемичный зоб. ВОЗ, Женева, 1963. 361 с.
27. Николаев О.А. Эндемичный зоб. Руководство по внутренним болезням, т.7. Л.: Медицина, 1966. 152 с.
28. Статистическая классификация болезней, травм и причин смерти (адаптированный вариант МКБ-9 для использования в СССР), 2-е изд., часть I. М., 1986. 96 с.
29. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems. Tenth Revision. Vol.1. World Health Organization, Geneva, 1992, ICD-10.
30. Гарина М.Г., Мостипака Л.К., Оборнев Л.Е. и др. Здоровье населения и методы его изучения. Донецк: Донецкий государственный медицинский университет, 1995. 183 с.
31. Шмойлова Р.А. (ред.). Теория статистики. Учебник. 2-е изд., доп. и перераб. М.: Финансы и статистика, 1998. 576 с.

32. Гаркавий В.К., Ярова В.В. Математична статистика: Навчальний посібник. К.: Професіонал, 2004. 384 с.
33. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н.. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: Морион, 2001. 408 с.
34. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 460 с.
35. Поживанов М.А., Семенченко П.М., Буторина И.В. и др. Экология Мариуполя. Мариуполь: Стратегия, 1998. 224 с.
36. Показники здоров'я населення та діяльності медичних установ Донецької області за 1974, 1986-1990, 1991, 1993-1995, 1997, 1999-2002 роки (статистичні матеріали). Донецька обласна держадміністрація, Управління охорони здоров'я, Центр медичної статистики. Донецьк.
37. Радиационная безопасность, здоровье человека и окружающая среда. Проблемы и пути их решения на современном этапе. Радиоэкология 2002: Матер. междуна. конф. Мариуполь, 2002. 230 с.
38. Ушаков И.Б., Арлащенко Н.И., Должанов А.Я., Попов В.И. Чернобыль: радиационная психофизиология и экология человека. М.: ГНИИИ авиационной и космической медицины, 1997. 227 с.
39. Зуева Н.А., Коваленко А.Н., Ефимов А.С., Тронько Н.Д.. Ионизирующая радиация и инсулинорезистентность. К.: Здоров'я, 2004. 197 с.

Увеличение распространенности эндокринной патологии у жителей города Мариуполя

П.Н. Лихоносов

Эндокринологический стационар городской больницы № 4, 87502 Мариуполь, Украина

На основании годовых отчетов в статье сделан анализ динамики изменений статистических показателей распространенности эндокринной патологии, болезней щитовидной железы и сахарного диабета, а также частоты сочетания этих заболеваний в г. Мариуполе за период с 1960 года по 2002 год включительно. Учитывались демографические изменения за указанный период, состояние медицинской помощи (количество кабинетов врачей-эндокринологов, аппаратов УЗИ, гормональных лабораторий) и экономико-экологическая ситуация.

Установлена тенденция к существенному росту распространенности эндокринной патологии (коэффициент детерминации $R^2=0,935$, $P<0,01$). Выявлено неуклонное увеличение распространенности сахарного диабета обоих типов ($R^2=0,776$, $P<0,01$). Динамика частоты сахарного диабета 1 типа графически имела волнообразный вид с периодом в 18-20 лет, также с тенденцией к росту ($R^2=0,810$, $P<0,01$). Изменения происходили как на фоне увеличения численности населения города в период с 1960 по 1991 год, так и на фоне негативных демографических изменений, начиная с 1992 года. Зависимости показателей распространенности эндокринных болезней от колебаний численности населения не установлено ($r=-0,105$, $P=0,866$). Выявлено увеличение распространенности болезней щитовидной железы ($R^2=0,970$, $P<0,01$), но установлена ощутимая зависимость статистических показателей от методов диагностики и действующей классификации болезней щитовидной железы, поэтому динамика показателей патологии неритмичная. Предполагается, что в увеличении эндокринной патологии у населения г. Мариуполя важная роль принадлежит экологическим факторам: повышенному радиационному излучению и химическому загрязнению окружающей среды.

По данным статистических отчетов, на фоне роста распространенности сахарного диабета 1 типа и болезней щитовидной железы увеличения частоты аутоиммунного полигландулярного синдрома не отмечено. В период с 1999 по 2002 год в Мариуполе распространенность аутоиммунного полигландулярного синдрома была 0,092 случая на 10 тыс. населения, что свидетельствует об неадекватности оценки действительной распространенности эндокринных болезней и необходимости дальнейшего усовершенствования методов диагностики и статистического учета. В настоящее время как критерий уровня эндокринологической помощи населению можно использовать показатель распространенности аутоиммунного полигландулярного синдрома.

Ключевые слова: сахарный диабет, аутоиммунный тиреодит, аутоиммунный полигландулярный синдром.

Increase of endocrine pathology prevalence in Mariupol city inhabitants

P. Likhonosov

Endocrinological Department of Mariupol City Hospital N 4, 87502 Mariupol, Ukraine

Basing on the annual reports for Mariupol in 1960-2002 we analysed the prevalence of endocrine pathology, thyroid diseases and diabetes mellitus as well as the frequency of their combinations. Demographic changes, medical aid (number of endocrinologist consulting rooms, ultrasonographic devices, hormonal laboratories) and ecological situation for the period mentioned were taken into account.

The tendency to considerable increase in the prevalence of endocrine pathology (determination coefficient $R^2=0.935$, $P<0.01$) was established. A steady increase in the prevalence of both types of diabetes mellitus was found ($R^2=0.776$, $P<0.01$). The incidence of type 1 diabetes mellitus showed undulatory pattern with the period of 18-20 years also exhibiting a tendency to an increase ($R^2=0.810$, $P<0.01$). The changes were observed both against a background of population growth during 1960-1991 and negative demographic changes beginning in 1992. Relation between the prevalence of endocrine diseases and fluctuations in population number has not been established ($\rho=-0.105$, $P=0.866$). An increase in the incidence of thyroid diseases ($R^2=0.970$, $P<0.01$), and significant association between statistical indices and diagnostic methods and existing thyroid diseases classification was found, that is why the dynamics of thyroid pathology changes was not a rhythmic one. It is supposed that ecological factors – increased irradiation and chemical contamination of the environment – contributed greatly to the increase of thyroid pathology in Mariupol.

According to statistical reports, no growth of the incidence of autoimmune polyglandular syndrome was observed against a background of the increase in type 1 diabetes mellitus and thyroid pathology. During 1999-2002 prevalence of autoimmune polyglandular syndrome made 0.092 cases per 10 000 population that proves the inadequate estimate of actual prevalence of endocrine diseases and the necessity of further improvement of diagnosis and statistical evaluation. At the present, the prevalence of autoimmune polyglandular syndrome may be used as a reliable criterion of the level of endocrinological care.

Key words: diabetes mellitus, autoimmune thyroiditis, autoimmune polyglandular syndromes.

(Надійшла 24.01.2007)

ХАРАКТЕРИСТИКА ІНСУЛІН-ЕКСПРЕСУЮЧИХ КЛІТИН ТИМУСА У НАЩАДКІВ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГЕСТАЦІЙНИМ ДІАБЕТОМ

Ю.М. Колесник, О.М. Камішній*, А.В. Абрамов

Запорізький державний медичний університет, 69035 Запоріжжя, Україна

Метою роботи було вивчити особливості експресії інсуліну в тимусі у нащадків щурів з експериментальним гестаційним діабетом. Для визначення інсулін-експресуючих клітин тимуса використовувався імуногістохімічний метод непрямої імуофлуоресценції з використанням моноклональних антитіл до інсуліну щура. Встановлено, що розвиток експериментального гестаційного діабету супроводжується вірогідним зниженням кількості інсулін-імунопозитивних клітин у нащадків як в корковій, так і в мозковій речовині тимуса у всі досліджені вікові періоди порівняно з контрольними тваринами.

Ключові слова: інсулін, тимус, гестаційний діабет.

Однією з найактуальніших проблем сучасної діабетології є гестаційний діабет (ГД) – порушення вуглеводного обміну, що вперше виявляється або виникає під час вагітності та призводить до гіперглікемії різного ступеня вираженості [1]. ГД є основною причиною розвитку макросомії плода (частота пологів крупним плодом коливається в межах 8-18,5 %) і є одним з чинників ризику подальшого розвитку у нащадків цукрового діабету [2].

Інсулін – один з ключових гормонів людського організму. Протягом тривалого часу вважалося, що β -клітини панкреатичних островців є єдиним місцем продукції інсуліну в організмі [3]. Проте в останнє десятиріччя було виявлено екстрапанкреатичну експресію інсуліну в тимусі, головному мозку, печінці, жировій тканині, кістковому мозку, селезінці у людини і експериментальних тварин (мишей, щурів) в нормі і при цукровому діабеті 1 та 2 типів, а також за штучно підтримуваної гіперглікемії [4-6].

У свою чергу, останнім часом з'являється все більше даних, що свідчать про важливу роль порушення функціонування центрального органа імуногенезу – тимуса у механізмах розвитку цукрового діабету (ЦД) [7-10]. Враховуючи, що тимічний інсулін разом з іншими островковими антигенами (GAD, карбоксипептидаза Н, проглюкагон, просоматостатин, пропанкреатичний поліпептид та ін.) забезпечує формування центральної толерантності до β -клітин панкреатичних островців [11, 12], а порушення його експресії антигенпрезентуючими клітинами тимуса може бути одним з пускових механізмів розвитку ЦД, в тому числі і у нащадків щурів з ГД, вивчення рівня експресії інсуліну в тимусі являє значний інтерес. Тому метою цієї роботи стало вивчення особливостей експресії інсуліну в тимусі у нащадків щурів з експериментальним гестаційним діабетом.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальний гестаційний діабет (ЕГД) моделювали за методикою, що розроблена на кафедрі патофізіології нашого університету [13]. Для цього самкам щурів лінії Вістар на 15 добу датованої вагітності одноразово внутрішньоочеревинно

* Адреса для листування (Correspondence): Запорізький державний медичний університет, пр-т Маяковського, 26, 69035 Запоріжжя, Україна; E-mail: Kamyshny@patho.zsmu.edu.ua

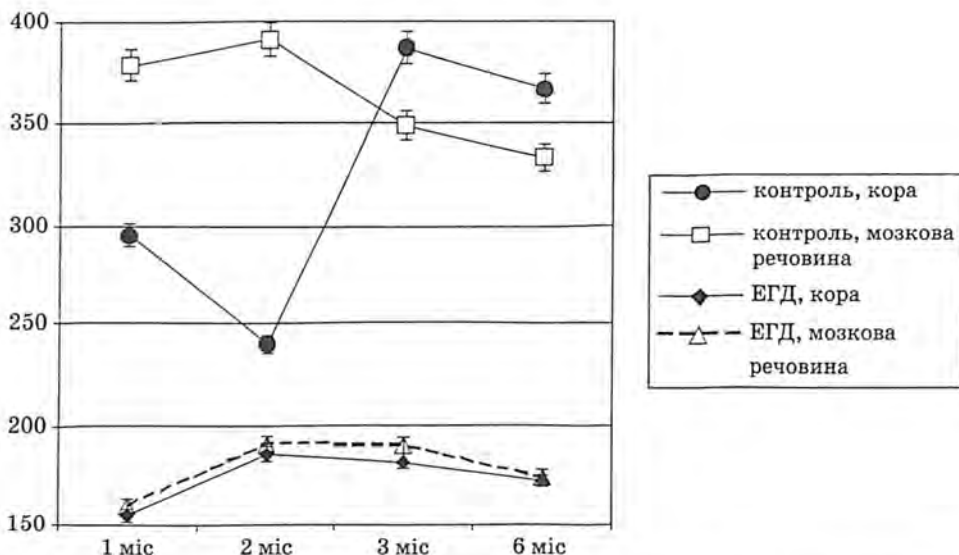
вводили стрептозотоцин («Sigma», США) в дозі 45 мг/кг, що розводився *ex tempore* в 1 мл 0,1 М цитратного буфера (рН 4,5). На третю добу у самок вимірювали рівень глюкози крові і в подальший експеримент відбирали тільки тих щурів, рівень глюкози у яких сягав не менше 8 ммоль/л. Новонароджених щурят від самок з ЕГД відсаджували через місяць після народження, розділивши за віком і статтю. Дослідження проведено на 1-місячних (n=9), 2-місячних (n=9), 3-місячних (n=9) і 6-місячних (n=9) самцях – нащадках щурів з ЕГД. Як контрольну групу використовували самців того ж віку, що утримувалися в тих самих умовах і були народжені від інтактних щурів лінії Вістар, яким на 15-у добу вагітності вводили внутрішньоочеревинно цитратний буфер. Тварин декапітували під наркозом і видаляли тимус, який фіксували в розчині Буена (18 год) і після стандартної гістологічної обробки заливали в парафін.

Для виявлення інсулін-експресуючих клітин тимуса застосовували імуно-гістохімічний метод непрямої імуофлуоресценції за допомогою первинних антитіл до інсуліну щура фірми «Peninsula Laboratories Inc.» (США). Заздалегідь для демаскування поверхневих клітинних антигенів зрізи тимуса товщиною 5 мкм протягом 45 хв ($t=37^{\circ}\text{C}$) інкубували з 0,1 % розчином трипсину, розведеним 0,1 % розчином CaCl_2 , і потім двічі відмивали в 0,1 М фосфатному буфері (рН=7,4). Після цього зрізи протягом 30 хв ($t=37^{\circ}\text{C}$) інкубували з нормальною козиною сироваткою (розведення 1:10), а потім – з первинними антитілами до інсуліну (розведення 1:200) протягом 6 год при $t=4^{\circ}\text{C}$. Після відмивання надлишку первинних антитіл в 0,1 М фосфатному буфері зрізи інкубували 60 хв ($t=37^{\circ}\text{C}$) з вторинними антитілами, кон'югованими з FITC (розведення 1:100). Після інкубації зрізи промивали 0,1 М фосфатним буфером і поміщали в суміш гліцерину і фосфатного буфера (9:1) для подальшої флуоресцентної мікроскопії. Для контролю специфічності зв'язування антитіл проводили аналогічні процедури маркування, проте заздалегідь первинні антитіла 45 хв інкубували ($t=37^{\circ}\text{C}$) в еквімолярній кількості синтетичного інсуліну («Peninsula Laboratories Inc.», США). Досліджували коркову і мозкову речовину тимуса, зображення яких за допомогою відеокамери СОНУ-4922 (США) вводили в систему цифрового аналізу зображення VIDAS-386 («Kontron Elektronik», Німеччина). Аналіз інсулін-експресуючих клітин тимуса проводили за допомогою оригінального програмного забезпечення, що розроблене на основі макроми програмування VIDAS [14].

Результати дослідження і їх обговорення

За результатами проведених досліджень встановлено, що кількість інсулін-імунопозитивних клітин в мозковій речовині тимуса у контрольних 1-місячних і 2-місячних щурів відповідно на 28 % і на 63 % є вищою, ніж в корковій, що, мабуть, зумовлено переважною експресією інсуліну епітеліоретикулоцитами тимуса [4, 15] і відповідає даним літератури про переважання епітеліоретикулоцитів в мозковій речовині [16]. Проте вже на 3 міс життя спостерігається зрівняння кількості інсулін-імунопозитивних клітин в обох досліджуваних зонах тимуса; вказана тенденція зберігається і у 6-місячних контрольних щурів (мал. 1).

Вивчення щільності популяції інсулін-імунопозитивних клітин в корковій речовині тимуса у нащадків щурів з ЕГД виявило вірогідне зниження їх кількості в усі досліджувані вікові періоди порівняно з контрольними тваринами (мал. 1 і 2). Так, щільність популяції інсулін-імунопозитивних клітин у 1-місячних нащадків щурів з ЕГД знижувалася на 48 % ($P<0,05$), у 2-місячних – на 23 % ($P<0,05$), у 3- і 6-місячних – на 52-53 % ($P<0,05$) порівняно з відповідними контрольними тваринами. Аналогічна динаміка виявлялася і в мозковій речовині тимуса у нащадків щурів з ЕГД, де кількість інсулін-імунопозитивних клітин також вірогідно знижувалася на 46-51 % ($P<0,05$) в усі досліджувані вікові періоди порівняно з контрольними тваринами (мал. 1).

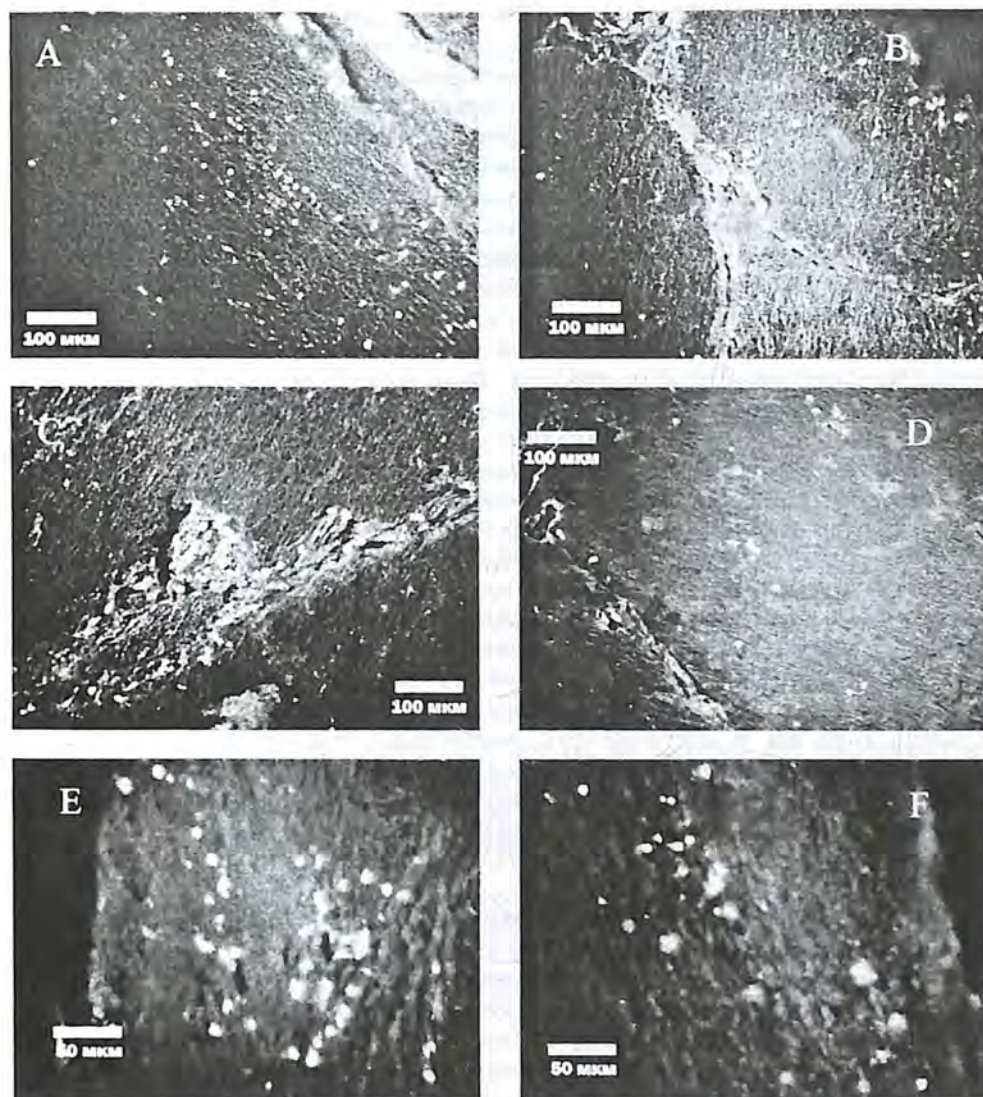


Мал. 1. Щільність популяції (на 1 мм² площі тимуса) інсулін-імунопозитивних клітин в корковій і мозковій речовині тимуса експериментальних щурів ($M \pm m$).

Таким чином, отримані результати свідчать, що популяція інсулін-експресуючих клітин тимуса, яка сформована вже до 1 міс постнатального життя, з віком не тільки не зменшується, а навпаки, зокрема в корі, збільшується і зберігається до дорослого віку. Це дозволяє вважати, що формування імунних механізмів толерантності до інсуліну потребує постійного синтезу інсуліну тимічного походження і відповідає літературним даним щодо виявлення в тимусі експресуючих інсулін антиген-презентуючих клітин у дорослому віці [11].

Необхідно відзначити, що перші прямі докази залежності розвитку толерантності до ендогенного інсуліну від рівня тимічної експресії останнього було одержано на трансгенних NOD-мишах, як на моделі автоімунного діабету, що спонтанно розвивається і нагадує цукровий діабет 1 типу у людини [17]. Відомо, що у людини існує єдина форма інсуліну, яка кодується єдиним геном хромосоми 11. На відміну від цього, у гризунів виявлено два неалельних гени інсуліну: *Ins1* – в хромосомі 19 та *Ins2* – в хромосомі 7, а відповідні їм пептиди відрізняються за двома амінокислотами – в положеннях 9 і 29 В-ланцюга [18, 19].

У панкреатичних β -клітинах обидва гени експресуються в значних кількостях [20]. Разом з тим, в тимусі спостерігається переважна експресія *Ins2*, тоді як рівень експресії *Ins1* дуже незначний [4, 12, 21]. У мишей, геном яких позбавлений гена *Ins2*, знайдено зниження рівня тимічного інсуліну і появу периферичної автореактивності до інсуліну, що не спостерігається у мишей, які втратили ген *Ins1*. У NOD-мишей, що позбавлені гена *Ins2*, спостерігається підвищена продукція контрінсулярних автоантитіл, прискорений розвиток цукрового діабету, що чітко корелює з відсутністю експресії *Ins2* у тимусі [22]. Останнім часом отримано дані про те, що не тільки *Ins2*, але і *Ins1* може бути об'єктом імунної автоагресії. Так, було одержано лінію NOD-мишей, що втратили гени *Ins1* і *Ins2* зі зміною їх на модифікований ген інсуліну, продукт експресії якого гормонально активний, але не розпізнається лімфоцитами. У таких мишей автоімунна деструкція β -клітин не спостерігається, тоді як у мишей, геном яких містить щонайменше єдиний природний ген *Ins1*, розвивається діабет [23].



Мал. 2. Інсулін-експресуючі клітини в тимусі щура. Імуногістохімічна реакція непрямої імуофлуоресценції з моноклональними антитілами до інсуліну: (А, С – контроль, 1 міс; В, D – нащадки щурів з ЕГД, 1 міс; Е – контроль, 6 міс; F – нащадки щурів з ЕГД, 6 міс).

Аналогічні дані були отримані при вивченні залежності між рівнем тимічного інсуліну і розвитком цукрового діабету 1 типу у людини. Так, локус IDDM2 у хромосомі 11, що асоційований із схильністю до цукрового діабету, картується разом з ділянкою варіабельного числа сумісних повторів, яка розміщена в промоторній зоні гена інсуліну [24, 25]. Мале число сумісних повторів (алельний клас I) сприяє розвитку цукрового діабету 1 типу, корелюючи зі зниженням рівня препроінсулін-мРНК в тимусі і зростанням її вмісту в панкреатичних β -клітинах. Велике число сумісних повторів (алельний клас III), зумовлюючи протилежні ефекти, має протективний ефект щодо діабету 1 типу, але сприяє розвитку діабету 2 типу [24, 26].

Крім того, епідеміологічні дослідження показали, що у тих дітей, батько яких хворів на діабет, вірогідність розвитку цукрового діабету 1 типу

вища, ніж у разі хвороби матері. Цю закономірність в наш час пояснюють існуванням механізму імпринтингу, який полягає в пригніченні експресії або материнської, або батьківської алелі. Так, ген IGF2, що межує з геном інсуліну, експресується виключно в батьківській хромосомі [24]. Імпринтинг модулює ефекти описаних вище алельних класів, призводячи до зниження рівня транскриптів інсуліну в тимусі [27].

Перші повідомлення про клітинну локалізацію синтезу інсуліну в тимусі з'явилися в 1997 році [28]. Тоді в тимусі мишей, головним чином, в мозковій речовині, було знайдено спеціалізовані клітини, які експресують гени інсуліну і соматостатину. Для вивчення ролі цих клітин у формуванні імунної толерантності були одержані трансгенні миші з генетичною міткою (Tag-SV40, T-антиген) активації промотора інсулінового гена (RIP – rat insulin promoter); тимус цих мишей було трансплантовано безтимусним нетрансгенним мишам. Миші-реципієнти виявляли толерантність до Tag, а відсутність експресії гена RIP-Tag в іншій лінії трансгенних мишей асоціювалася з відсутністю ауто толерантності [28]. Таким чином, було з'ясовано, що експресія інсуліну антигенпрезентуючими клітинами (АПК) тимуса виключає появу імунних до β -клітин Т-лімфоцитів.

У 1998 році були здійснені перші спроби для встановлення клітинної приналежності АПК тимуса, які експресують інсулін [12]. Отримані результати свідчили про те, що такими клітинами є дендритні клітини і макрофаги, що мають кістковомозкове походження, але не тимоцити. Було виявлено клітинний розподіл синтезу попередників панкреатичних гормонів: у дендритних клітинах виявлялася експресія тільки препроінсуліну, тоді як в макрофагах визначали експресію проглюкагону, просоматостатину і пропанкреатичного поліпептиду, але не препроінсуліну [12]. Чіткою виявилась послідовність і клітинна топографія експресії генів родини інсуліну в стромі тимуса: IGF-2 (епітеліальні клітини тимуса) – IGF-1 (тимічні макрофаги) – інсулін (епітеліальні та дендритні клітини) [8, 12].

Крім того, АПК, що містять специфічні маркери дендритних клітин і макрофагів, були виявлені у тимусі і периферичних лімфоїдних органах людини і мишей – селезінці і лімфатичних вузлах [11]. Як у тимусі, так і в периферичних лімфоїдних органах було знайдено розетки, які складаються з проінсулін-позитивних дендритних клітин, що тісно контактують з оточуючими їх апоптичними клітинами. Це спостереження показує, що АПК здатні індукувати апоптоз autoreактивних Т-лімфоцитів не тільки в пренатальному періоді, але і в дитячому, підлітковому і навіть старшому віці [11]. Успішним виявилось і використання толерогенних популяцій дендритних клітин для попередження і модуляції розвитку цукрового діабету у NOD-мишей [29, 30].

Разом з тим, за даними J. Derbinski et al. [15], значуща кількість інсуліну, як і інших тканиноспецифічних молекул, у нормальних і NOD-мишей експресуються лише медулярними епітеліоцитами тимуса, але не дендритними клітинами і не макрофагами. На підтвердження цього на трансгенній моделі мишей, що експресують β -галактозидазу під контролем промотора гена інсуліну, було встановлено, що тимічний проінсулін і транскрипти β -галактозидази в значній кількості виявляються в окремих (не більше 1-3 % від загального числа) медулярних епітеліоцитах тимуса, які утворюють тільки Гассала [4, 31].

Однак у дослідженнях С. Garcia et al. [32] було визначено проінсулін-експресуючі клітини не тільки в тимусі, але і в селезінці та циркулюючій крові, де не можуть існувати медулярні епітеліоцити тимуса. Знайдені клітини було запропоновано вважати спеціалізованими дендритними

клітинами, які відповідають за формування автотолерантності не тільки в тимусі, але і в периферичних лімфоїдних органах.

На жаль, в цьому попередньому дослідженні ми не мали можливості визначити фенотип інсулін-експресуючих клітин за допомогою специфічних маркерів, проте аналіз їх морфометричних показників дозволяє стверджувати, що це досить різноманітна популяція, куди, окрім В-лімфоцитів, макрофагів і дендритних клітин, входять і «непрофесійні» АПК, до яких належать, перш за все, епітеліоретикулоцити коркової і мозкової речовини тимуса [16, 33]. Крім того, отримані результати добре узгоджуються з нашими попередніми дослідженнями, згідно з якими розвиток експериментального цукрового діабету супроводжується зниженням щільності популяції АПК як в корковій, так і в мозковій речовині тимуса [16, 33]. Тому логічно припустити, що одними з головних причин дефекту негативної селекції β -клітинних автореактивних клонів в тимусі можуть бути або слабке представництво антигенів β -клітин в доступній формі в тимусі (внутрішньотимічна пересадка панкреатичних острівців або внутрішньоорганне введення розчинної GAD запобігає розвитку ЦД), або зміна числа і морфофункціональних властивостей АПК. Таким чином, одержані в роботі дані дозволяють думати про важливу роль зниження кількості інсулін-експресуючих клітин в тимусі як про один з чинників ризику розвитку ЦД у нащадків щурів з ЕГД.

Висновки

1. Популяція інсулін-експресуючих клітин тимуса сформована вже на 1 місяці постнатального життя і з віком не тільки не зменшується, а навпаки, зокрема в корі, збільшується і зберігається до дорослого віку. Це дозволяє вважати, що формування імунних механізмів розвитку толерантності до інсуліну потребує постійного синтезу інсуліну тимічного походження.

2. Розвиток ЕГД супроводжується вірогідним зниженням кількості інсулін-імунопозитивних клітин у нащадків як в корковій, так і в мозковій речовині тимуса в усі досліджувані вікові періоди у порівнянні з контрольними тваринами, що може бути одним з чинників ризику розвитку у них ЦД.

Література

1. Johnstone F.D. Gestational diabetes // *Curr. Obstet. Gynaecol.* 1999, 9, 23-28.
2. Van Assche F.A., Holemans K., Aerts L. Long-term consequences for offspring of diabetes during pregnancy // *Brit. Med. Bull.* 2001, 60, 173-182.
3. Камышный А.М., Колесник Ю.М., Абрамов А.В. Экстрапанкреатическая секреция инсулина при сахарном диабете // *Запорожский медицинский журн.* 2006, № 6, 5-11.
4. Chentoufi A., Palumbo M., Polychronakos C. Proinsulin expression by Hassall's corpuscles in the mouse thymus // *Diabetes.* 2004, 53, 354-359.
5. Gerozissis K. Brain insulin and feeding: a bi-directional communication // *Eur. J. Pharmacol.* 2004, 490, 59-70.
6. Kojima H., Fujimiya M., Matsumura K. et al. Extrapancreatic insulin-producing cells in multiple organs in diabetes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004, 101, 2458-2463.
7. Камышный А.М. Изучение процессов дифференцировки лимфоцитов тимуса и выраженности инсулита у крыс с экспериментальным сахарным диабетом // *Вісник проблем біології і медицини.* 2006, № 2, 99-101.
8. Geenen V., Brilot F., Louis C. et al. Importance of a thymus dysfunction in the pathophysiology of type 1 diabetes // *Rev. Med. Liege.* 2005, 60, N 5-6, 291-296.
9. Heath V., Moore N., Parnell S., Mason D. Intrathymic expression of genes involved in organ specific autoimmune disease // *J. Autoimmun.* 1998, 11, 309-318.

10. Jamieson B.D., Douek D.C., Killian S. et al. Generation of functional thymocytes in the human adult // *Immunity*. 1999, **10**, N 5, 569-575.
11. Pugliese A. Central and peripheral autoantigen presentation in immune tolerance // *Immunology*. 2004, **111**, 138-146.
12. Throsby M., Homo-Delarche F., Chevenne D. et al. Pancreatic hormone expression in the murine thymus: localization in dendritic cells and macrophages // *Endocrinology*. 1998, **139**, 2399-2406.
13. Колесник Ю.М., Абрамов А.В., Бленічев І.Ф. та ін. Спосіб моделювання гестаційного діабету у щурів лінії Вістар для вивчення його наслідків для нащадків. Деклараційний патент на корисну модель – 15.09.2006. Бюл. № 9, №17281.
14. Абрамов А.В., Колесник Ю.М., Любомирська В.А., Камишний О.М. Алгоритм автоматичного аналізу лімфоїдної популяції тимуса // *Вісник морфології*. 2002, № 2, 261-262.
15. Derbinski J., Gabler J., Kyewski B. Promiscuous gene expression in thymic epithelial cells is regulated at multiple levels // *J. Exp. Med.* 2005, **202**, 33-45.
16. Колесник Ю.М., Камышний А.М., Абрамов А.В., Калиниченко Н.А. Морфо-функциональная характеристика эпителиоретикулоцитов тимуса у потомства крыс с экспериментальным гестационным диабетом // *Патологія*. 2006, **3**, № 2, 32-37.
17. Jolicœur C., Yanahan D., Smith K. T-cell tolerance toward a trasgenic beta-cell antigen and transcription of endogenous pancreatic genes in thymus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1994, **91**, 6707-6711.
18. Lomedico P., Rosenthal N., Efstratidasis A., Tizard R. The structure and evolution of the two nonallelic rat preproinsulin genes // *Cell*. 1979, **18**, 545-558.
19. Wentworth B., Rhodes C., Schnetzler B. et al. The ratio of mouse insulin I:Insulin II does not reflect that of the corresponding preproinsulin mRNAs // *Mol. Cell. Endocrinol.* 1992, **86**, 177-186.
20. Leroux L., Desbois P., Joshi R. Compensatory responses in mice carrying a null mutation for Ins1 or Ins2 // *Diabetes*. 2001, **50**, Suppl. 1, S150-S153.
21. Pleau J., Esling A., Geutkens S. et al. Pancreatic hormone and glutamic acid decarboxylase expression in the mouse thymus: a real-time PCR study // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001, **283**, 843-848.
22. Thebault-Baumont K., Halbout P., Vallon-Geoffroy K. et al. Acceleration of type 1 diabetes mellitus in proinsulin 2-deficient NOD mice // *J. Clin. Invest.* 2003, **111**, 851-857.
23. Nakayama M., Eisenbarth G. Prime role for an insulin epitope in the development of type 1 diabetes in NOD mice // *Nature*. 2005, **435**, 220-223.
24. Polychronakos C., Kukuvtis A., Giannoukakis N., Colle E. Parental imprinting effect at the INS-1GF2 diabetes susceptibility locus // *Diabetologia*. 1995, **38**, 715-719.
25. Vafiadis P., Bennett S., Todd J. et al. Insulin expression in human thymus is modulated by INS VNTR alleles at the IDDM2 locus // *Nat. Genet.* 1997, **15**, 289-292.
26. Homo-Delarche F. Neuroendocrine immuno-ontogeny of the pathogenesis of autoimmune diabetes in the nonobese diabetic (NOD) mouse // *ILAR Journal*. 2004, **45**, N 3, 237-258.
27. Bui M., Luo D., She J. et al. Paternally transmitted IDDM2 influences diabetes susceptibility despite biallelic expression of the insulin gene in human pancreas // *J. Autoimmun.* 1996, **9**, 97-103.
28. Smith K., Olson D., Hirose R., Hanahan D. Pancreatic gene expression in rare cells of thymic medulla: evidence for functional contribution to T cell tolerance // *Int. Immunol.* 1997, **9**, 1355-1365.
29. Feili-Hariri M., Dong X., Alber S.M. et al. Immunotherapy of NOD mice with bone marrow-derived dendritic cells // *Diabetes*. 1999, **48**, N 12, 2300-2308.
30. Shinomiya M., Fasle Akbar S., Shinomiya H., Onji M. Transfer of dendritic cells (DC) ex vivo stimulated with interferon-gamma (IFN-gamma) down-modulates autoimmune diabetes in non-obese diabetic (NOD) mice // *Clin. Exp. Immunol.* 1999, **117**, 38-43.
31. Palumbo M., Levi D., Chentoufi A., Polychronakos C. Isolation and characterization of proinsulin-producing medullary thymic epithelial cell clones // *Diabetes*. 2006, **55**, 2595-2601.

32. Garcia C., Prabakar K., Diez J., Hanahan D., Pugliese A. Dendritic cells in human thymus and periphery display a proinsulin epitope in a transcription-dependent, capture-independent fashion // *J. Immunol.* 2005, **175**, 2111-2122.
33. Колесник Ю.М., Камышный А.М., Абрамов А.В. Влияние экспериментального сахарного диабета на морфофункциональное состояние антигенпредставляющих клеток тимуса // *Запорожский медицинский журн.* 2006, № 5, 5-8.

Характеристика инсулин-экспрессирующих клеток тимуса у потомства крыс с экспериментальным гестационным диабетом

Ю.М. Колесник, А.М. Камышный, А.В. Абрамов

Запорожский государственный медицинский университет, 69035 Запорожье, Украина

Целью работы было изучить особенности экспрессии инсулина в тимусе у потомства крыс с экспериментальным гестационным диабетом. Для выявления инсулин-экспрессирующих клеток тимуса использовался иммуногистохимический метод непрямой иммунофлюоресценции с применением моноклональных антител к инсулину крысы. Установлено, что развитие экспериментального гестационного диабета сопровождается достоверным снижением количества инсулин-иммунопозитивных клеток у потомства как в корковом, так и в мозговом веществе тимуса во все исследованные возрастные периоды по сравнению с контрольными животными.

Ключевые слова: инсулин, тимус, гестационный диабет.

The study of insulin-expressing thymus cell in the descendants of rats with experimental gestational diabetes

Yu.M.Kolesnik, A.M.Kamyshny, A.V.Abramov

Zaporizhsky State Medical University, 69035 Zaporizhzhya, Ukraine

The aim of the investigation was to study the characteristics of thymic insulin expression in rats with experimental gestational diabetes. To reveal insulin-expressing cells the immunohistochemical method of indirect immune fluorescence with rat insulin monoclonal antibodies was used. It was established that experimental gestational diabetes development is accompanied by a reliable decrease of insulin-immune-positive cells both in the cortical and medullar thymus substance of the descendants. This is true to all studied ages in comparison with control animals.

Key words: insulin, thymus, gestational diabetes.

(Надійшла 6.12.2006)

ВПЛИВ КОРОТКОЧАСНОЇ ГІПОКІНЕЗІЇ НА ПОКАЗНИКИ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ У НАЩАДКІВ МАТЕРІВ З ГЕСТАЦІЙНИМ ДІАБЕТОМ ТА СОЦІАЛЬНО-ЕМОЦІЙНИМ СТРЕСОМ ПІД ЧАС ВАГІТНОСТІ

Ж.А. Лещенко*

*Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського
АМН України, 61002 Харків, Україна*

У дослідженні на 45-денних щурах лінії Вістар – нащадках першої генерації від матерів з експериментальним гестаційним діабетом та/або соціально-емоційним стресом під час вагітності доведено розвиток інсулінорезистентності, що була верифікована за гіперінсулінемією, інтолерантністю до глюкози, посиленням ліполізу та глікогенолізу. Крім того, отримані результати свідчать про те, що сполучення діабетичного стану з раннім пренатальним стресом під час вагітності матері потенціє підвищену чутливість організму нащадків до додаткових стресуючих чинників психогенної природи – короткочасної гіпокінезії. Виявлено статевий диморфізм реакції, а саме – більш виразні зміни у нащадків-самців.

Ключові слова: інсулінорезистентність, гестаційний діабет, материнський соціально-емоційний стрес, гіпокінезія, нащадки.

Відомо, що внутрішньоутробні зміни гормонального балансу, секреції та метаболізму гормонів в організмах матері і плода, незалежно від їх внутрішнього або зовнішнього походження, здатні викликати мікроструктурні та функціональні порушення у нащадків шляхом модифікації генетично запрограмованого розвитку [1]. Довготривалі наслідки імпринтингу реалізуються у нащадків через зміну рівня експресії генів, що відповідають за диференціацію клітин, синтез ферментів, рецепторів, а також за формування певного рівня чутливості та гормональної адаптації до фізіологічних подразників. Вважають, що фізіологічно активна речовина або антиген під час первинного контакту з комплементарною недиференційованою клітиною програмує шляхом репресії/депресії геному рівень її майбутньої функціональної відповіді на той же самий подразник [2]. У нашому попередньому дослідженні, проведеному на нащадках щурів з гестаційним діабетом (ГД), який було індуковано стрептозотоцином, крім порушеної толерантності до глюкози, виявили підвищену чутливість до його адіабетогенної дози (тобто такої, що не викликала змін глюкозного гомеостазу у контрольних тварин) [3]. Тому, метою даної роботи було дослідження чутливості та адаптаційних можливостей нащадків від матерів з інсуліновою недостатністю та стресом під час вагітності до короткочасної гіпокінезії, як стресогенного чинника, що спричиняє функціональне напруження інсулінпродукуючого апарату підшлункової залози та провокує зниження чутливості печінки, м'язів та жирової тканини до гіпоглікемічної дії інсуліну.

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

Таблиця 1. Показники глюкозного гомеостазу та чутливості до інсуліну у нащадків віком 45 днів до- та після короткочасного гіпокінезійного стресу, $M \pm m$

Група	Інтегральна глікемія під час ВЧТТГ, ммоль/л		ІР-НОМА		Базальний рівень ІРІ, ммоль/л	
	самці (n=7)	самиці (n=6)	самці (n=7)	самиці (n=6)	самці (n=7)	самиці (n=6)
1. Контроль	22,47±0,73	23,84±0,48	2,07±0,14	1,98±0,15	71,40±3,94	64,80±1,93
2. СЕС	25,97±0,25 $P_1 < 0,05$	24,35±0,47	3,30±0,23 $P_1 < 0,01$	2,17±0,10	100,67±5,41 $P_1 < 0,01$	63,17±1,97
3. ГД	31,09±0,31 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,01$	30,72±0,75 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$	7,96±0,25 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	2,78±0,16 $P_1 < 0,001$	230,29±4,26 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,01$	95,29±3,76 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,01$
4. ГД+СЕС	37,29±1,44 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,01$	28,98±0,81 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$	9,70±0,12 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,05$	3,03±0,18 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	257,75±12,40 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,05$	104,83±4,38 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
5. Контроль+ГКС	27,18±0,28 $P_1 < 0,05$	29,37±0,72 $P_1 < 0,05$	2,76±0,19	2,64±0,22 $P_1 < 0,05$	64,40±3,71 $P_1 < 0,05$	59,60±2,73
6. СЕС+ГКС	30,38±0,60 $P_5 < 0,05$ $P_2 < 0,05$	28,91±0,66 $P_2 < 0,05$	4,17±0,29 $P_5 < 0,05$	3,07±0,22 $P_2 < 0,05$	96,83±5,68 $P_5 < 0,05$	67,80±2,46 $P_5 < 0,05$
7. ГД+ГКС	35,13±1,21 $P_5 < 0,01$ $P_3 < 0,05$	36,96±1,10 $P_5 < 0,01$ $P_3 < 0,01$	10,07±0,30 $P_3 < 0,05$ $P_5 < 0,01$	3,76±0,15 $P_3 < 0,01$ $P_5 < 0,001$	227,71±4,65 $P_5 < 0,01$	82,60±4,27 $P_3 < 0,01$ $P_5 < 0,001$
8. (ГД+СЕС)+ГКС	40,66±1,72 $P_5 < 0,001$ $P_4 < 0,05$ $P_6 < 0,05$ $P_7 < 0,01$	34,83±1,45 $P_5 < 0,01$ $P_4 < 0,01$ $P_6 < 0,01$	13,64±0,40 $P_5 < 0,001$ $P_4 < 0,001$ $P_6 < 0,001$ $P_7 < 0,001$	4,88±0,29 $P_4 < 0,001$ $P_5 < 0,001$ $P_6 < 0,01$	297,67±2,52 $P_5 < 0,001$ $P_4 < 0,001$ $P_6 < 0,001$ $P_7 < 0,001$	106,20±14,66 $P_5 < 0,001$ $P_6 < 0,05$

Примітка: Тут і в табл. 2: P_n – вірогідність розбіжностей у порівнянні до вказаної групи (n – номер групи).

($P < 0,001$) підвищувало показники ІР у статевонезрілих самців груп із гіперглікемією в період ембріогенезу (див. табл. 1), а СЕС у сполученні з ГД проявляв суттєвий потенціюючий вплив щодо посилення ІР (підвищення індексу ІР-НОМА у відповідь на ГКС становило 23,33% в контролі, 26,36% – в групі СЕС, 26,51% – в групі ГД та 40,62% – в групі ГД+СЕС). У самиць рівні ІРІ та індекс ІР-НОМА у відповідь на ГКС були значно вищими в групах ГД та ГД+СЕС і не мали між собою вірогідних розбіжностей, що вказує на відсутність впливу пренатального соціально-емоційного стресування на реактивність самиць до гіпокінезії (див. табл. 1). Крім того, слід зазначити, що виявлена підвищена реактивність статевонезрілих самиць щодо ГКС була менш виразною, ніж у самців.

Одним із важливих показників інсулінорезистентності є зниження вмісту глікогену в печінці на тлі гіперінсулінемії та порушеної толерантності до глюкози. Це зниження може виникати внаслідок дисбалансу між швидкістю глікогенотворення та глікогенолізу, оскільки ці процеси інсулінозалежні [10]. Гестаційна інсулінова недостатність, за наявності або відсутності пренатального стресування, спричиняла вірогідне ($P < 0,001$) зниження базальної концентрації глікогену в печінці самців, на відміну від самиць, у яких цей показник не відрізнявся від контрольного рівня. Додаткова короткочасна іммобілізація вірогідно ($P < 0,001$) знижувала вміст глікогену в гепатоцитах тварин усіх піддослідних груп, що повністю співпадає з даними літератури. Це дозволило виявити наявність печінкової інсулінорезистентності в групі самиць від матерів з гестаційною гіперглікемією ($21,78 \pm 0,54$ мг/г в групі ГД проти $25,99 \pm 0,48$ мг/г в контролі, $P < 0,01$).

Зменшення вмісту м'язового глікогену у нащадків обох статей під впливом ГКС було вірогідним в усіх досліджуваних групах ($P < 0,001$), проте у самців із комбінацією ГД та СЕС в період вагітності матері воно було значнішим й підтвердило наявність у них м'язової інсулінорезистентності (ГД: $2,43 \pm 0,07$ мг/г, СЕС: $2,55 \pm 0,20$ мг/г, ГД+СЕС: $1,32 \pm 0,17$ мг/г проти $2,58 \pm 0,23$ мг/г у контролі, $P < 0,01$).

Як відомо, Гл-6-Фаза каталізує гідроліз Гл-6-Ф до вільної глюкози (тільки у такому вигляді глюкоза може вийти з клітини) та є ферментом, що відповідає за кінцевий етап глюконеогенезу і глікогенолізу у печінці, тобто відіграє дуже важливу роль в регуляції глюкозного гомеостазу [11]. Базальна активність Гл-6-Фази вірогідно зростала лише у групі самців ГД+СЕС ($P < 0,001$). Під впливом ГКС активність Гл-6-Фази вірогідно підвищилась у нащадків обох статей усіх експериментальних груп, але у самців груп ГД та ГД+СЕС і самиць групи ГД+СЕС це підвищення було вираженішим (самці: ГД – $12,66 \pm 0,15$ мкмоль/г·хв⁻¹, ГД+СЕС – $14,26 \pm 0,14$ мкмоль/г·хв⁻¹ проти $9,22 \pm 0,25$ мкмоль/г·хв⁻¹ у контролі; самиці: ГД+СЕС – $8,93 \pm 0,15$ мкмоль/г·хв⁻¹ проти $7,43 \pm 0,16$ мкмоль/г·хв⁻¹ у контролі, $P < 0,01$), що свідчить про підвищену чутливість цих нащадків до діабетогенного впливу ГКС.

Тепер доведено, що підвищений рівень НЕЖК пригнічує утилізацію глюкози периферичними тканинами і сприяє розвитку інсулінорезистентності, їх надмірна концентрація стимулює глюконеогенез в печінці та погіршує її чутливість до інсуліну за рахунок гальмування передачі сигналу при зв'язуванні гормону з рецептором [12]. Гестаційна гіперглікемія, як окремо, так і у поєднанні з СЕС, підвищувала рівень НЕЖК у нащадків обох статей, але слід зазначити, що у самиць групи ГД цей показник був помітно вищим (табл. 2) порівняно до групи з комбінованою гестаційною патологією ($P < 0,01$), можливо тому, що СЕС на тлі гестаційної інсулінової недостатності матері активує деякі адаптаційні механізми у нащадків-самиць та

Таблиця 2. Показники ліпідного обміну у нащадків віком 45 днів до- та після короточасного гіпокінезійного стресу, $M \pm m$

Група	НЕЖК, ммоль/л		ТГ, ммоль/л	
	самці (n=7)	самиці (n=6)	самці (n=7)	самиці (n=6)
1. Контроль	$0,38 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,01$	$0,73 \pm 0,06$	$0,66 \pm 0,05$
2. СЕС	$0,67 \pm 0,01$ $P_1 < 0,05$	$0,38 \pm 0,04$	$1,64 \pm 0,05$ $P_1 < 0,001$	$0,62 \pm 0,04$
3. ГД	$1,74 \pm 0,10$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	$1,34 \pm 0,12$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	$2,47 \pm 0,06$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	$1,59 \pm 0,08$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
4. ГД+СЕС	$1,83 \pm 0,09$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$	$0,89 \pm 0,03$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,05$	$2,92 \pm 0,05$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,05$	$1,38 \pm 0,05$ $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 < 0,05$
5. Контроль+ГКС	$1,42 \pm 0,06$ $P_1 < 0,001$	$0,80 \pm 0,05$ $P_1 < 0,01$	$1,66 \pm 0,10$ $P_1 < 0,001$	$1,22 \pm 0,04$ $P_1 < 0,001$
6. СЕС+ГКС	$1,25 \pm 0,07$ $P_2 < 0,001$	$0,65 \pm 0,03$ $P_2 < 0,01$	$2,39 \pm 0,08$ $P_2 < 0,001$ $P_5 < 0,01$	$1,30 \pm 0,05$ $P_2 < 0,001$
7. ГД+ГКС	$2,46 \pm 0,03$ $P_3 < 0,001$ $P_5 < 0,001$ $P_6 < 0,001$	$2,51 \pm 0,03$ $P_3 < 0,001$ $P_5 < 0,001$ $P_6 < 0,001$	$2,83 \pm 0,05$ $P_3 < 0,01$ $P_5 < 0,001$ $P_6 < 0,01$	$2,36 \pm 0,03$ $P_3 < 0,001$ $P_5 < 0,001$ $P_6 < 0,001$
8. (ГД+СЕС)+ГКС	$2,60 \pm 0,04$ $P_4 < 0,001$ $P_5 < 0,001$ $P_6 < 0,001$ $P_7 < 0,05$	$2,31 \pm 0,04$ $P_4 < 0,001$ $P_5 < 0,001$ $P_6 < 0,001$ $P_7 < 0,05$	$3,75 \pm 0,10$ $P_4 < 0,001$ $P_5 < 0,001$ $P_6 < 0,001$ $P_7 < 0,001$	$2,07 \pm 0,03$ $P_4 < 0,001$ $P_5 < 0,001$ $P_6 < 0,001$ $P_7 < 0,05$

негативно впливає на самців. Після короткострокового гіпокінезійного стресу рівень НЕЖК суттєво підвищився в усіх групах експериментальних тварин, проте у самців групи ГД+СЕС він був значно вищим, ніж в групі ГД, що свідчить про можливий кумулятивний вплив ГД та стресу на розвиток інсулінорезистентності (див. табл. 2). Підвищена секреція інсуліну у сполученні з відносною інсуліновою недостатністю, що знайшла своє відображення у порушеній толерантності до глюкози, посиленому ліполізі (підвищення рівня НЕЖК) та підвищеному показнику інсулінорезистентності за НОМА-алгоритмом, засвідчує зниження загальної чутливості до інсуліну у нащадків-самців груп ГД, СЕС та ГД+СЕС, а також у самиць груп ГД та ГД+СЕС.

Відомо, що жирні кислоти зберігаються в організмі у формі ТГ, більшість яких локалізована в адипоцитах й вивільняється з них в результаті ліполізу. Тривале підвищення базального рівня ТГ є підтвердженням наявності дисліпідемії, а зміна їх рівня у крові характеризує адаптивність організму до стресових навантажень різного генезу. Як показано в табл. 2, короткостроковий гіпокінезійний стрес викликав суттєве підвищення базального рівня ТГ в усіх групах нащадків. Підвищена реактивність жирової тканини на додаткове стресування була виявлена у груп нащадків обох статей від матерів з ГД, але сполучення ГД з СЕС в період вагітності матері, на відміну від ізолюваного впливу гіперглікемії, виявляло виразний потенціюючий вплив на розвиток гіпертригліцеридемії у нащадків-самців та адаптаційний – у самиць.

Висновки

1. У нащадків першого покоління, отриманих від матерів з гестаційним діабетом та соціально-емоційним стресом під час вагітності, доведено розвиток загальної інсулінорезистентності, що була верифікована за гіперінсулінемією, інтолерантністю до глюкози, посиленням ліполізу та глікогенолізу.

2. Отримані результати свідчать про те, що сполучення діабетичного стану з раннім пренатальним стресом під час вагітності матері потенціює підвищену чутливість організму нащадків до додаткових стресуючих чинників психогенної природи (короткочасна гіпокінезія). Виявлено статевий диморфізм реакції (більш виразні зміни у нащадків-самців).

Література

1. Armitage J., Taylor P., Poston L. Experimental models of developmental programming: consequence of exposure to an energy rich diet during development // *J. Physiol.* 2005, 565, 3-8.
2. Резников А.Г. Перинатальная модификация развития нейроэндокринной системы: феномены и механизмы // *Пробл. эндокринол.* 2004, 50, № 4, 42-48.
3. Lementa Zh., Poltorack V., Sergienko L. Nicotinamide protect from heightened sensitivity to streptozotocin in offspring of diabetic mice // *Diabetologia.* 1995, 38, A97.
4. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // *Ендокринологія.* 2003, 8, № 1, 142-145.
5. Dorner G., Kohler E. Increased cell-mediated cytotoxicity against beta-cell in streptozotocin-treated offspring of mother animals with gestational hyperglycemia // *Exp. Clin. Endocrinol.* 1990, 95, N 1, 4-10.
6. Pratt N., Lisk R. D. Effect of social stress during early pregnancy on litter, size and sex ratio in golden hamster // *J. Reprod. Fert.* 1989, 87, 763-769.
7. Аршавский И. А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития. М.: Наука, 1982, 270 с.
8. Matthews D., Hosker J., Rudenski A. 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.
9. Стефанов О.В. (ред.) Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. К.: Авіцена, 2001, с. 399.
10. Berman N., O'Doherty R., Anderson P. et al. Overexpression of protein targeting to glycogen in rat hepatocytes causes profound activation of glycogen synthesis independent of normal hormone- and substrat-mediated regulatory mechanism // *J. Biol. Chem.* 1998, 273, N 9, 26421-26425.
11. Chen R., Meseck M., McEvoy R. Glucose-stimulated and self-limiting insulin production by glucose-6-phosphatase promoter driven insulin expression in hepatoma cells // *Gene. Ther.* 2000, 7, N 11, P. 1802-1809.
12. Lelliot C., Vidal-Puig A. Lipotoxicity, an imbalance between lipogenesis de novo and free fatty acid oxidation // *Intern. J. Obes.* 2004, 28, 22-28.

Влияние кратковременной гипокинезии на показатели инсулинорезистентности у потомков матерей с гестационным диабетом и социально-эмоциональным стрессом во время беременности

Ж.А. Лещенко

Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины, 61002 Харьков, Украина

В исследовании на 45-дневных крысах линии Вистар – потомках первого поколения от матерей с экспериментальным гестационным диабетом и/или социально-эмоциональным стрессом во время беременности доказано развитие инсулинорезистентности, которая была верифицирована по наличию гиперинсулинемии, интолерантности

к глюкозе, усилению липолиза и гликогенолиза. Кроме того, полученные результаты свидетельствуют о том, что сочетание диабетического состояния с ранним пренатальным стрессом во время беременности матери потенцирует повышенную чувствительность организма потомков к дополнительным стрессирующим факторам психогенной природы – кратковременной гипокинезии. Обнаружен половой диморфизм реакции, а именно – более выразительные изменения у потомков-самцов.

Ключевые слова: инсулинорезистентность, гестационный диабет, материнский социально-эмоциональный стресс, гипокинезия, потомки.

Effect of short-term motion restriction on insulin resistance parameters in offspring of mothers with gestational diabetes and social-emotional stress during pregnancy

Zh. A. Leshchenko

V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of AMS, 61002 Kharkiv, Ukraine

Insulin resistance development was proved in 45-daily first generation Wistar rats offspring of mothers with experimental gestational diabetes and/or social-emotional stress during pregnancy. The presence of hyperinsulinaemia, glucose intolerance, lypolysis and glycogenolysis increase were shown. Our results evidence that the combination of the mother diabetic state with early prenatal stress during pregnancy induces the increased sensitivity of the offspring to the additional psychogenic stress factor (short-term motion restriction). The gender dimorphism of offspring reaction, in particular more expressive changes in males were revealed.

Key words: insulin resistance, gestational diabetes, maternal social-emotional stress, motion restriction, offspring.

(Надійшла 1.12.2006)

РЕТРОСПЕКТИВНИЙ АНАЛІЗ ПЕРЕБІГУ ВАГІТНОСТІ ТА ПОЛОГІВ У ЖІНОК З ОЖИРІННЯМ

Л.П. Шелестова*

Донецький державний медичний університет ім. М. Горького МОЗ України,
83003 Донецьк, Україна

З метою вивчення особливостей перебігу вагітності та пологів у жінок з ожирінням проведений детальний ретроспективний аналіз 134 історій пологів і амбулаторних карт жінок з ожирінням. Результати проведених досліджень свідчать про те, що ожиріння і вагітність є взаємообтяжуючими чинниками, які різко збільшують ризик розвитку високого відсотка ускладнень вагітності. Багато ускладнень, які виникають під час вагітності, стають показаннями для акушерських операцій, що призводять до збільшення пологового травматизму матері та плода. В той же час треба зазначити, що на перебіг вагітності та пологів у жінок з ожирінням несприятливо впливає екстрагенітальна патологія, яка зустрічається у різних поєднаннях. Все це дозволяє зробити висновок, що пацієнтки з ожирінням відносяться до групи високого ризику з розвитку ускладнень вагітності, пологів та післяпологового періоду.

Ключові слова: жінка, ожиріння, вагітність, пологи, новонароджений.

Проблема ожиріння у вагітних є однією з актуальних та мало вивчених у сучасному акушерстві. Ожиріння негативно впливає на функції різних органів та систем, створює умови для розвитку гіпертонічної хвороби, інфаркту міокарда, жовчнокам'яної хвороби, порушень мозкового кровообігу, цукрового діабету, атеросклерозу, варикозного розширення вен та інших патологічних станів і захворювань. У вагітної жінки ризик виникнення таких патологічних станів є найвищим і небезпечним, оскільки виникає загроза не лише організму матері, а й плода [1].

Згідно з даними літератури, ожиріння у вагітних відмічається в 7-41% випадків [2-4].

Метою роботи було вивчення особливостей перебігу вагітності та пологів у жінок з ожирінням.

Матеріали та методи

Проаналізовано 1200 історій пологів та амбулаторних карт жінок. Щодо оцінки впливу ожиріння на перебіг вагітності та пологів був проведений детальний ретроспективний аналіз 134 історій пологів і амбулаторних карт жінок з ожирінням. Дослідження проведено за матеріалами Центральної міської клінічної лікарні № 6 м. Донецька.

Враховуючи, що відповідно до думки Комітету експертів ВООЗ, індекс Кетле не підходить для оцінки маси тіла вагітних та жінок, які годують грудьми [5], щодо визначення тяжкості захворювання використали таблицю ступеня ожиріння за формулою Н.С. Луценко [1].

Результати та їх обговорення

Результати дослідження показали, що ожиріння при вагітності зустрічається в 11,2% випадків.

Середній вік жінок дорівнював $28,2 \pm 0,9$ років, при цьому у віці 18-25 років було 46 осіб (34,3%), 26-30 років – 49 (36,6%) і понад 30 років – 39 (29,1%) жінок.

* Адреса для листування (Correspondence): Донецький державний медичний університет ім. М. Горького МОЗ України, просп. Ілліча, 16, м. Донецьк, 83003, Україна

За сімейним положенням 116 (86,6%) жінок були заміжніми, а 18 (13,4%) – незаміжні.

Під час оцінки соціального стану жінок відзначено, що найчастіше, а саме 62 (46,3%) жінки займалися домогосподарством, рідше – були службовцями – 49 (36,6%), робітницями – 18 (13,4%), студентками чи ученицями – 4 (3,0%), 1 (0,7%) жінка була інвалідом 2-ї групи.

Залежно від виразності ожиріння вагітні розподілилися на такі групи: 1-й ступінь ожиріння мали 39 (29,1%) пацієнток, 2-й – 62 (46,3%), 3-й – 27 (20,1%), 4-й – 6 (4,5%).

При аналізі репродуктивної функції встановлено, що у 49 (36,6%) жінок з ожирінням дана вагітність була першою, у 85 (63,4%) – повторною. Слід вказати, що половина жінок з ожирінням мала обтяжений акушерський анамнез. Так, аналіз завершення попередніх вагітностей показав, що у 54 (63,5%) було від 1 до 4 пологів. У кожній другій жінки, яка народжувала, пологи були патологічними. В 10 (14,5%) випадках виконано кесарів розтин, у одній жінки двоє попередніх пологів закінчилися накладанням вихідних акушерських щипців. Перинатальні втрати у жінок з ожирінням були у 2 (29,0‰) випадках.

Штучні аборти до 12 тиж вагітності у кількості від 1 до 9 мали місце у 46 (54,1%) жінок, у 3 (3,5%) – у пізній термін за медико-соціальними показаннями. Самовільне переривання вагітності у кількості від 1 до 5 відбулося у 21 (24,7%) пацієнтки, 8 (9,4%) жінок мали замерлу вагітність в анамнезі, 3 (3,5%) – позаматкову вагітність.

Аналіз гінекологічної захворюваності показав, що провідне місце займають порушення менструальної функції – у 31 (23,1%) особи. Запальні процеси (сальпінгоофорит, ендометрит) та патологія шийки матки (ерозія, ендодерміцит) спостерігалися у 28 (20,9%) випадках. Вилікуване первинне та вторинне безпліддя зареєстровано у 16 (11,9%) жінок, кісти яєчників – у 8 (6%), лейоміома матки – у 6 (4,5%).

На численні інфекційні захворювання в дитячому й підлітковому віці вказали 98 (73,1%) жінок, зокрема, гострі респіраторні вірусні інфекції мали 73 (54,5%) особи, вітряну віспу – 44 (59,0%), грип – 30 (22,4%), краснуху – 17 (12,7%), кір – 14 (10,4%), епідемічний паротит – 13 (9,7%), скарлатину – 5 (3,7%).

На різні соматичні захворювання страждали 88 (65,7%) жінок. Серед них найчастіше зустрічалися: порушення серцево-судинної системи (ревматизм, вади серця, гіпертонічна хвороба) – у 34 (25,4%), захворювання шлунково-кишкового тракту (хронічний коліт, хронічний холецистит, жовчно-кам'яна хвороба, хронічний гастрит) – у 34 (25,4%), захворювання верхніх дихальних шляхів (хронічний тонзиліт, хронічний бронхіт, риніт) – у 18 (13,4%), захворювання сечовидільної системи (хронічний пієлонефрит, сечокам'яна хвороба – у 19 (14,2%); також відмічено захворювання очей – у 23 (17,2%) жінок, патологія щитоподібної залози – у 14 (10,4%). Варикозне розширення вен нижніх кінцівок відзначали 12 (9,0%) осіб, зокрема, в одному випадку пацієнтка ним страждала з 14 років. Мало місце також виражене варикозне розширення вен таза і вульви у 4 (3,0%) жінок. Оперативне лікування геморою було зроблено 1 (0,7%) особі. Одній жінці було проведено хірургічне видалення підшкірно-жирової клітковини, 2 (1,5%) – раніше були прооперовані з приводу гриж різної локалізації, 19 (14,2%) – зроблено апендектомію, у 24 (17,9%) – виявлено схильність до алергічних реакцій.

Аналіз перебігу вагітності у жінок, які страждають на ожиріння, показав, що практично у всіх спостерігалися різні ускладнення гестаційного періоду.

За отриманими даними, в структурі акушерських ускладнень вагітності переважали пізні гестози. Преєклампсія легкого ступеня мала місце у 45 (33,6%) пацієнток, середнього – у 20 (14,9%) та тяжкого – у 5 (3,7%).

Набряки вагітних мали місце у 34 (25,4%) жінок, гіпертензія – у 34 (25,4%), протеїнурія – у 2 (1,5%). Загроза переривання вагітності за частотою ускладнень була другою, її діагностовано у 76 (56,7%) осіб. Анемія вагітних спостерігалася у 43 (32,1%) пацієнток. Гестаційний цукровий діабет був виявлений в 2 (1,5%) випадках.

Слід зазначити, що у 42 (31,3%) жінок з ожирінням зареєстровано значні та досить характерні зміни на електрокардіограмі (синусова тахікардія, ознаки гіпертрофії лівого шлуночка, порушення реполяризації міокарда).

При бактеріологічному та бактеріоскопічному дослідженнях виявлено мікрофлору в різних асоціаціях, зокрема, гриби роду *Candida* – у 43 (32,1%) вагітних, мікоплазми та уреоплазми – у 9 (6,7%), хламідії – у 4 (3,0%). У 19 (14,2%) жінок діагностовано бактеріальний вагіноз.

Гестози, загроза переривання вагітності, інфекційні захворювання під час вагітності обумовили високий перинатальний ризик для плодів та новонароджених. У 73 (64,5%) вагітних в різні терміни вагітності під час ультразвукової біометрії плода, доплерометрії, біохімічних та гормональних досліджень діагностовано фетоплацентарну недостатність. Багатоводдя спостерігалось у 19 (11,9%) випадках.

Аналіз перебігу пологів у жінок з ожирінням показав, що слабкість пологової діяльності розвинулася у кожній третій роділлі, передчасне відходження навколоплідних вод відбулося у кожній шостій жінки. Кровотечі в послідовому та ранньому післяпологовому періодах мали місце у 7 (5,2%) випадках.

Пологи в строк відбулися у 125 (93,3%)% роділь, передчасні – у 4 (3,0%), запізнili – у 2 (1,5%) жінок. Фізіологічні пологи відбулися тільки у 38 (28,4%) випадках. Пологи закінчились оперативними втручаннями у 48 (35,8%) із 134 жінок з ожирінням. Операцію кесарів розтин виконано 47 (35,1%) жінкам (у двох випадках зроблено надпихову ампутацію матки без додатків з приводу кровотечі), накладання акушерських щипців відбулося в 1 (0,7%) випадку. Головними показаннями до оперативного розродження були: непевний рубець на матці, слабкість пологової діяльності, дистрес плода, виражене варикозне розширення вен вульви, тазове передлежання плода у співпаданні із крупним плодом, тривале лікування безплідності в анамнезі.

Значна частота ускладнень вагітності та пологів призвела до порушення стану новонароджених. Асфіксію середнього ступеня зареєстровано у 21 (15,7%) новонародженого, тяжкого ступеню – у 10 (7,5%). З масою тіла більше 4000 г народилися діти у 8 (6,0%) жінок, менше 2500 г – у 2 (1,5%).

Діти, народжені жінками з ожирінням, у 39 (29,1%) випадках мали різну патологію при народженні. Так, морфофункціональну незрілість спостерігали у 26 (19,4%) немовлят, гіпотрофію – у 3 (2,2%), затримку внутрішньоутробного розвитку – у 5 (3,7%), синдром дихальних розладів – у 8 (6,0%), пологові травми (кефалогематома, перелом ключиці) мали місце у 6 (4,5%) випадках, у 3 (2,2%) виявлялась наявність стигм дизембріогенезу, у 2 (1,5%) – діабетична фетопатія, в одному (0,7%) випадку – вади розвитку новонародженого.

Такий стан як обвиття пуповиною навколо ший спостерігався у 34 (25,4%) новонароджених, зокрема, справжній вузол пуповини – у 2 (1,5%) випадках, що вказує на порушення просторової орієнтації плода.

Підсумок

Таким чином, проведений ретроспективний аналіз показав, що перебіг вагітності та пологів у жінок з ожирінням характеризується великою кількістю ускладнень, серед яких превалює преєклампсія різного ступеня тяжкості та слабкість пологової діяльності.

Результати проведених досліджень свідчать про те, що ожиріння і вагітність є взаємнообтяжуючими чинниками, які різко збільшують ризик

розвитку високого відсотка ускладнень вагітності. Багато ускладнень, які виникають під час вагітності, стають показаннями для акушерських операцій, що призводять до збільшення пологового травматизму матері та плода. В той же час треба зазначити, що на перебіг вагітності та пологів у жінок з ожирінням несприятливо впливає екстрагенітальна патологія, яка зустрічається у різних поєднаннях.

Все це дозволяє зробити висновок, що пацієнтки з ожирінням відносяться до групи високого ризику з розвитку ускладнень під час вагітності, пологів та в післяпологовому періоді, у зв'язку з чим у цих жінок повинна бути проведена підготовка до вагітності, спрямована на зменшення ваги тіла. Усе зазначене вказує на необхідність розробки ефективних лікувально-профілактичних заходів для жінок з ожирінням.

Література

1. Луценко Н.С. Беременность и роды у женщин с ожирением. К.: Здоров'я, 1986. 112 с.
2. Годлевська Н.А., Камінський В.В., Жук С.І. Застосування вобензиму у вагітних з різними ступенями ожиріння // ПАГ. 1998, № 6, 116-118.
3. Паращук Ю.С., Сафонов Р.А. Стан системи гемостазу у вагітних з аліментарно-конституціональним ожирінням // Вісник наукових досліджень. 2004, № 2, 234-236.
4. Цапенко Т.В. Профілактика ускладнень перебігу вагітності та пологів у жінок з аліментарно-конституційним ожирінням: Автореф. дис. канд. мед. наук. К., 2003. 19 с.
5. Лебедева М. Индекс массы тела // Врач. 2004, № 9, 66-67.

Ретроспективный анализ течения беременности и родов у женщин с ожирением

Л.П. Шелестова

Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького МЗ Украины, 83003 Донецк, Украина

С целью изучения особенностей течения беременности и родов у женщин с ожирением проведен детальный ретроспективный анализ 134 историй родов и амбулаторных карт женщин с ожирением. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что ожирение и беременность являются взаимоотягощающими факторами, значительно увеличивающими риск развития высокого процента осложнений беременности. Часто осложнения, возникающие во время беременности, становятся показаниями для акушерских операций, что приводит к увеличению родового травматизма матери и плода. В то же время необходимо указать, что на течение беременности и родов у женщин с ожирением неблагоприятно влияет экстрагенитальная патология, которая встречается в различных сочетаниях. Все это позволяет сделать вывод, что пациентки с ожирением относятся к группе высокого риска по развитию осложнений в течение беременности, родов и в послеродовом периоде.

Ключевые слова: женщина, ожирение, беременность, роды, новорожденный.

The retrospective analysis of pregnancy and delivery in pregnant women with obesity

L.P. Shelestova

M. Gorky Donetsk State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, 83003 Donetsk, Ukraine

The retrospective analysis of 134 case histories in delivery and in outpatient cards was carried out with the purpose of studying peculiarities of pregnancy and delivery in females with obesity. The research proves that obesity and pregnancy are mutually aggravating factors. They increase considerably the risk of pregnancy complications. Most complications appearing during the gestation become indications for obstetrical operations which lead to the increased labor traumatism of a woman and her fetus. At the same time it should be emphasized that extragenital pathology has negative effect on gestation and delivery of females with obesity. There are different types of extragenital pathology. All this allows a conclusion that pregnant females with obesity and their neonates are a group of high risk of obstetrical and prenatal complications.

Key words: pregnancy, obesity, neonate, delivery.

(Надійшла 13.12.2006)

ОСОБЛИВОСТІ ДІАГНОСТИКИ І ЛІКУВАННЯ ГІПОПАРАТИРЕОЗУ У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ

Г.А. Дерев'янка*, Д.І. Дерев'янка, О.В. Большова

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

Передумовою виконання даної роботи стали існуючі труднощі в підборі патогенетичної терапії і досягненні компенсації гіпопаратиреозу у дітей. Здійснене комплексне клініко-лабораторне обстеження 46 хворих з ідіопатичним гіпопаратиреозом, псевдогіпопаратиреозом, автоімунним поліендокринним захворюванням 1 типу. Визначалися показники кальцієво-фосфорного метаболізму, проводилися клінічні і функціональні дослідження. Отримані результати свідчать про відмінності у характері перебігу гіпопаратиреозу в залежності від етіології захворювання, віку появи і тривалості хвороби. Вивчені розбіжності в ступені компенсації хвороби в залежності від комбінації препаратів, що використовувалися при лікуванні (препарати кальцію, препарати вітаміну D). Показники кальцієво-фосфорного метаболізму були найближчими до норми у дітей, які отримували терапію двома активними метаболітами вітаміну D – тахістином і альфа-Д3 Тева.

Ключові слова: гіпопаратиреоз, прищитовидні залози, псевдогіпопаратиреоз, вітамін D.

Гіпопаратиреоз – доволі рідкісна патологія у дітей, однак важкий перебіг цієї групи захворювань, який у більшості випадків призводить до інвалідизації хворих, зумовлює велику медичну і соціальну значущість боротьби з цією проблемою.

Термін «гіпопаратиреоз» вживається стосовно різноманітних станів, що характеризуються зниженням деяких або всіх ефектів паратгормону (ПТГ), кінцевим результатом якого, якщо не лікувати, є гіпокальціємія [1]. Було запропоновано багато класифікацій гіпопаратиреозу. Більшість авторів згоджується з поділом захворювання на набуті і природжені форми [1, 2].

Набутий гіпопаратиреоз ділять на такі види: автоімунний; ізольований; післяопераційний (транзиторний і постійний); пострадіаційний; гіпопаратиреоз, який розвинувся внаслідок інфільтративних захворювань (саркоїдоз, хвороба Вільсона, гемохроматоз, метастатична карцинома) [3]. Найчастіше гіпопаратиреоз виникає у дітей, які були прооперовані з приводу захворювань щитоподібної залози [4]. Гіпопаратиреоз – одне із найчастіших ускладнень при тиреоїдектіомії.

Детально вивчено генетичні основи виникнення природженого гіпопаратиреозу як ізольованого, так і тоді, коли гіпопаратиреоз є складовою частиною природженого синдрому. Природжений гіпопаратиреоз може бути наслідком аплазії прищитоподібних залоз при синдромі Ді-Джоржа [5]. При цій комплексній природженій патології спостерігається також агенезія загрудинної залози [5], порушення клітинного імунітету та аномалії великих судин. Гіпопаратиреоз може бути частиною автоімунної полігландулярної хвороби 1 типу [3, 5]. Більш поширені форми вродженого гіпопаратиреозу – це ідіопатичний і псевдогіпопаратиреоз. Гіпопаратиреоз може розвинути-ся як одинична ендокринопатія, і тоді він називається ізольованим або ідіопатичним гіпопаратиреозом. Описані сімейні випадки ізольованого

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

гіпопаратиреозу. Встановлено, що можливе автосомно-домінантне, автосомно-рецесивне і Х-зчеплене успадкування цього захворювання [5]. При ідіопатичному гіпопаратиреозі спостерігається зменшення продукції паратгормону, що призводить до зниження реабсорбції кальцію безпосередньо в нирках і до опосередкованого зменшення його всмоктування в кишечнику, яке здійснюється за рахунок зменшення утворення $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [2].

Псевдогіпопаратиреоз (ПГПТ) – це синдром або група синдромів, при яких спостерігається нечутливість тканин до дії ПТГ [1]. Резистентність до паратгормону може бути тимчасовою (наприклад, у недоношених малюків, за недостатності в організмі магнію) або постійною, як при псевдогіпопаратиреозі [1, 5].

Для діагностики гіпопаратиреозу використовується визначення рівня кальцію та фосфору сироватки, визначення рівня паратиреоїдного гормону, кальцію та фосфору сечі. Низький або невизначуваний рівень паратиреоїдного гормону, низький рівень загального та іонізованого кальцію, високий рівень фосфору спостерігаються у всіх пацієнтів з гіпопаратиреозом і зазвичай є достатніми критеріями для постановки діагнозу [1].

Слід наголосити необхідність визначення як загального, так і іонізованого кальцію сироватки, оскільки зміни цих показників не завжди відбуваються паралельно. Скажімо, при гіпоальбумінемії, рівень іонізованого кальцію не знижується, а зменшується кількість загального кальцію сироватки. Алкалоз збільшує зв'язування кальцію з білками, знижується кількість активної іонізованої форми кальцію і гіпокальціємічні судоми можуть спостерігатися при нормальному і високому кальції сироватки [3].

Пацієнти з псевдогіпопаратиреозом мають підвищений рівень паратиреоїдного гормону, інколи 120-150 нг/мл при нормі 12-62 нг/мл, але таке компенсаторне підвищення його рівня, однак, не призводить до нормального вмісту кальцію у сироватці і зниження рівня фосфору до нормальних величин [1, 3].

Основною патогенетичною ланкою гіпопаратиреозу, яка відповідає за все різноманіття проявів гіпопаратиреозу, є гіпокальціємія.

Р.М. Reber зі співав. [6] виділяє такі прояви гіпокальціємії (табл. 1).

Таблиця 1. Основні прояви гіпокальціємії (Р. М. Reber та співавт., 1995)

Нервова система	Парестезія, фасцикуляція, м'язовий спазм, симптоми Хвостека і Труссо, тетанія, мозкові та мозочкові кальцифікати і кальцифікати базальних гангліїв, збудливість, порушення руху, судоми, синдром органічного пошкодження мозку, психоз
Зір	Катаракта, неврит очного нерва, папіледема
Легені	Бронхоспазм
Серцево-судинна система	Аритмії, гіпер- або гіпотензія, серцева недостатність
Система травлення	Дисфагія, біль у животі, печінкова коліка
Сечостатева система	Передчасні пологи

Різнманітність проявів і ускладнень гіпопаратиреозу часто спричиняє помилки при встановленні діагнозу. Більшість хворих, які мають судоми, досить довго отримують лікування з приводу неврологічних захворювань, бо рівень кальцію у них не визначають. Після встановлення діагнозу «гіпопаратиреоз» пацієнт має проходити комплексне обстеження для виявлення всіх можливих ускладнень і їх своєчасної терапії.

Лікування всіх видів гіпопаратиреозу направлене на усунення гіпокальціємії. Для лікування гіпопаратиреозу використовують різні форми вітаміну D, препарати кальцію [6, 7]. Для лікування легких форм

гіпопаратиреозу, особливо транзитного, інколи буває достатнім використання препаратів кальцію карбонату. Якщо не вдається досягнути задовільного рівня кальціємії, призначають препарати вітаміну D.

Численними публікаціями було доведено, що активні метаболіти вітаміну D, такі, як $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – кальцитріол (рокалтрол) або 1-альфа-ОНD₃-альфакальцидол (альфа-D3-Тева) з їх відносно коротким біологічним періодом напіврозпаду, дають кращий ефект при лікуванні пацієнтів з гіпопаратиреозом, ніж ергокальциферол (вітамін D₂) [8].

Дигідротахистерол (тахістин, АТ-10) – це бічний продукт фотоактивації 7-дигідрохолестерину до вітаміну D. Він, подібно до альфакальцидолу, вимагає тільки гідроксилування в 25-й позиції, щоб набутися повної біологічної активності. 25-гідроксилування відбувається в печінці незалежно від рівня ПТГ і фосфату.

Традиційним є призначення препаратів кальцію пацієнтам, що отримують фармакологічні дози вітаміну D, щоб нівелювати коливання рівня кальцію у сироватці крові у відповідь на зміни в абсорбції кальцію, в харчуванні [6,7]. Звичайно досить забезпечити прийом елементарного кальцію у дозі 1-3 г на добу per os. З усіх наявних пероральних препаратів кальцію, карбонат кальцію має найвищий вміст елементарного кальцію – 40 % і добре переноситься більшістю пацієнтів. Цитрат кальцію, який містить 21 % елементарного кальцію, є можливою альтернативою карбонату кальцію у пацієнтів з атрофічним гастритом. Можна використовувати глюконат і лактат кальцію, які через нижчий вміст елементарного кальцію (відповідно 9 і 13 %) треба призначати в більших дозах, ніж кальцію карбонат.

Існуючі розбіжності в підходах до лікування різних видів гіпопаратиреозу, наявність у літературі різних, а часто і суперечливих, схем і методів лікування цієї тяжкої хронічної хвороби свідчать про необхідність подальшого її поглибленого вивчення.

Матеріал і методи дослідження

Були обстежені 46 пацієнтів у віці від 5 до 16 років з діагнозом гіпопаратиреоз, які перебували на стаціонарному лікуванні в дитячому відділенні Інституту ендокринології та обміну речовин. Термін спостереження 36 таких хворих становив від 3 до 12 років. Комплексне обстеження хворих включало аналіз анамнестичних даних, загальноприйняті клінічні і лабораторні дослідження, оцінку фізичного розвитку і статевого статусу за Танером. Ступінь компенсації кальцієво-фосфорного обміну визначали у відповідності з рівнем кальцію і фосфору сироватки. Через те, що при гіпопаратиреозі патологічні зміни стосуються багатьох органів і систем, ми пропонуємо при обстеженні пацієнтів з гіпопаратиреозом, як для встановлення діагнозу, так і контролю ефективності терапії, використовувати такі методи обстеження (табл. 2).

Таблиця 2. Комплекс обстежень пацієнтів з гіпопаратиреозом і псевдогіпопаратиреозом

Гормональні дослідження	ПТГ, АКТГ, кортизол (при підозрі на автоімунне полігландулярне захворювання 1 типу)
Біохімічні дослідження	Загальний кальцій сироватки, іонізований кальцій сироватки, фосфор сироватки, кальцій і фосфор сечі, загальний білок сироватки
Методи дослідження ЦНС та серцево-судинної системи	ЕЕГ, ЄхоЕГ, рентгенографія черепа в бічній проекції, комп'ютерна томографія мозку, ЕКГ
Консультації вузьких спеціалістів	Окуліст, дерматолог, стоматолог, невропатолог, психіатр
Інші методи обстеження	Денситометрія кісткової тканини, УЗД нирок та інше

Відповідно до встановленого діагнозу всі хворі були розділені на три групи. У 26 дітей (14 хлопчиків і 12 дівчаток) був діагностований ідіопатичний гіпопаратиреоз (1 група), у 10 хворих – псевдогіпопаратиреоз (2 група), а у 10 дітей – гіпопаратиреоз був складовою частиною полігландулярного автоімунного захворювання 1 типу. В залежності від отримуваної терапії пацієнти були розподілені на 4 групи. Хворі 4 групи отримували альфакальцидол і кальцію карбонат; 5 групи – тахістин і кальцію карбонат, 6 групи – альфакальцидол, тахістин, кальцію карбонат та додатково – глюко- і мінералокортикоїди, антимікотичні препарати для лікування інших компонентів синдрому.

Статистичний аналіз проводили у середовищі пакета Excel з використанням критерію t Стюдента. Розбіжності вважалися вірогідними при $P < 0,05$.

Результати і їх обговорення

Основним методом діагностики гіпопаратиреозу є визначення рівня паратиреоїдного гормону у сироватці крові. Рівень паратгормону у 26 пацієнтів з ідіопатичним гіпопаратиреозом (група 1) і у 10 – з гіпопаратиреозом, як складовою частиною автоімунного полігландулярного захворювання 1 типу (група 3), коливався в межах від 0 до 5,3 нг/мл. У 10 пацієнтів з псевдогіпопаратиреозом (група 2) вміст ПТГ у сироватці в декілька разів перевищував норму (12-62 нг/мл) та інколи дорівнював 120-150 нг/мл, що свідчить про правильність постановки діагнозу. Вірогідної різниці вмісту паратгормону між пацієнтами 1 і 3 групи не було.

Для діагностики гіпопаратиреозу використовується також визначення рівня кальцію та фосфору сироватки, кальцію та фосфору сечі. Низький рівень загального та іонізованого кальцію, високий рівень фосфору у сироватці крові спостерігалися у всіх пацієнтів з ідіопатичним гіпопаратиреозом і автоімунним полігландулярним захворюванням 1 типу (групи 1, 3). Рівень загального кальцію сироватки на момент встановлення діагнозу у 1 групі був $1,6 \pm 0,8$ ммоль/л, у 3 групі – $1,68 \pm 0,82$ ммоль/л. Рівень фосфору становив відповідно $2,6 \pm 1,3$ і $2,7 \pm 1,37$ ммоль/л ($P > 0,05$).

Пацієнти з псевдогіпопаратиреозом мали високий рівень паратиреоїдного гормону, але компенсаторне підвищення його рівня, усе-таки, не забезпечувало нормалізації вмісту кальцію і фосфору у сироватці крові. Рівень загального кальцію сироватки на момент встановлення діагнозу у 2 групі був $1,7 \pm 0,82$ ммоль/л, рівень фосфору становив $2,5 \pm 1,2$ ммоль/л. Вірогідної різниці у рівні кальцію і фосфору сироватки на час встановлення діагнозу між пацієнтами 1, 2 і 3 групи не спостерігалось.

З анамнезу нам стало відомо, що у переважної більшості хворих першим проявом захворювання на гіпопаратиреоз були судоми. Досить довго – від 1 до 4 років, пацієнти були на обліку у невропатологів, приймали протисудомні препарати без задовільного ефекту. На відміну від наявних в літературі [2, 5, 10] численних доказів спадкової причини виникнення гіпопаратиреозу, псевдогіпопаратиреозу та автоімунного поліендокринного захворювання 1 типу, в сімейному анамнезі хворих, що були під спостереженням, нам не вдалося виявити таких випадків захворювання.

Гіпопаратиреоз в стадії субкомпенсації і декомпенсації може викликати, поряд з тетанічним синдромом, різноманітні нервово-психічні порушення, які залежать від частоти тетанічних нападів, ступеня змін мінерального обміну і особливостей перебігу основного захворювання. Інколи неврологічні порушення (епілепсія, синдром енцефаломіопатії, лікворна гіпертензія) є єдиною ознакою недіагностованого, латентного гіпопаратиреозу [11].

Гостра і хронічна гіпокальціємія, які є основним проявом гіпопаратиреозу, вражають майже всі органи і системи, але найбільших змін зазнає нервова система. При гіпопаратиреозі різні ураження нервової системи

виявляються у 12-15 % хворих [1]. Найважчий прояв захворювання – тетанічні судоми – у хворих в динаміці спостереження проявлявся досить рідко, але відзначався у 40 (96 %) пацієнтів на час встановлення діагнозу. В позаприступний період у більшості хворих 1 і 2 групи визначалися ознаки прихованої тетанії (симптоми Хвостека, Труссо). Ці ознаки часто є відсутніми у пацієнтів з автоімунним поліендокринним захворюванням 1 типу (група 3) навіть при зниженні кальцію сироватки до 1,6-1,8 ммоль/л і їх не слід використовувати для орієнтовного визначення стану компенсації у цієї підгрупи пацієнтів.

На момент встановлення діагнозу у всіх хворих спостерігалися виразні зміни енцефалографічної кривої – характерними були зміни біотоків мозку у вигляді домінування високоамплітудної повільної активності, відсутності альфа-хвиль, що розцінювалося як судомна готовність головного мозку. В динаміці лікування такі зміни спостерігалися лише в період загострення і різкого зниження загального кальцію сироватки до 1,3-1,6 ммоль/л. Виразність цих змін залежить від ступеня компенсації і тривалості захворювання і може розцінюватись і як прогностичний чинник виникнення судом.

Серед характерних змін з боку мозку слід відзначити наявність кальцифікатів базальних гангліїв [13]. Цей прояв діагностувався у 10 хворих 1 групи та у 8 хворих 2 групи. При проведенні рентгенографії черепа в бічній проекції у пацієнтів 3 групи такі кальцифікати виявлені не були.

Найчастішим ускладненням гіпопаратиреозу є центральна або підкапсулярна катаракта [3]. Вона спостерігалася у 60 % всіх пацієнтів. Характерною була двостороння катаракта, ступінь якої коливався від поодиноких крапковидних помутнінь до дифузного затемнення кришталика. Для всіх хворих були характерні скарги на зниження гостроти зору, «мурашки», затуманення зору. Наявність катаракти і ступінь її вираженості залежали від тривалості захворювання і рівня компенсації, але у частини хворих (4 пацієнти), помутніння кришталика було виявлено уже на момент постановки діагнозу.

Значних змін при гіпопаратиреозі зазнають шкіра і її придатки. Шкіра суха, груба, нерідко спостерігаються екзематозний дерматит і ексфоліативна еритродермія [9]. Волосся часто рідке, з ділянками алопеції, нігті ламкі. Поширеність змін шкіри і придатків наведена нижче (табл. 3).

У 2 хворих при декомпенсованому гіпопаратиреозі спостерігалася тотальна алопеція, яка пройшла при нормалізації рівня кальцію сироватки. У однієї хворої прояви алопеції зберігаються, незважаючи на нормалізацію рівня кальціємії.

Найбільших змін шкіра, нігті, слизові оболонки зазнають у пацієнтів з автоімунним полігландулярним захворюванням 1 типу, у яких на пошкодження шкіри, викликані гіпопаратиреозом, нашаровуються ознаки хронічного кандидозу. Мікотичні ураження при цьому синдромі мали генералізований характер і були стійкими до дії антимікотичних препаратів. При компенсації гіпокальціємії сироватки ці зміни регресували, крім пацієнтів з автоімунним поліендокринним захворюванням, у яких нашаровувалися мікотичні ураження.

Аналіз антропометричних даних наших пацієнтів показує, що ріст пацієнтів з ідіопатичним гіпопаратиреозом був у межах від нижньої межі вікової норми до 1-2 сигмальних відхилень. Більшість хворих з псевдогіпопаратиреозом мають затримку росту, яка коливається в межах 1,5-3 сигмальних відхилень. Ці результати дослідження відповідають даним літератури [1, 9]. З усіх видів гіпопаратиреозу саме для псевдогіпопаратиреозу характерна затримка росту. Відставання у рості не супроводжується відставанням рентгенологічного віку, навпаки, у 2 хворих він на 1 рік випереджав паспортний. Ми не встановили вірогідної відмінності у показниках росту і статевого розвитку в залежності від отримуваного лікування, однак слід

зауважити, що показники росту, які часто використовували для диференційної діагностики між гіпопаратиреозом і псевдогіпопаратиреозом, можуть істотно порушуватися і при гіпопаратиреозі.

Статевий розвиток у пацієнтів з гіпопаратиреозом був нормальним або затриманим, а у декількох хворих з псевдогіпопаратиреозом випереджав норму. Статевий розвиток пацієнтів з поліендокринним автоімунним захворюванням 1 типу затриманий, що пояснюється важкістю соматичного стану, супутнім призначенням кортикостероїдів та кетоконазолу.

Зниження функції паращитовидних залоз сприяє порушенню розвитку твердих тканин зубів: гіпоплазії, порушенню формування коренів молочних і постійних зубів, затримці їх прорізування [3]. Поширеність карієсу зубів у хворих на гіпопаратиреоз сягала 100 %. Знижений функціональний стан прищитоподібних залоз є патогенетичним ланцюжком в розвитку карієсу зубів, дистрофічно-запальних захворювань пародонта і змін слизової оболонки ротової порожнини.

Пацієнти з гіпопаратиреозом звичайно мають високу щільність кісткової тканини [14]. Залишається нез'ясованим, чи це підвищення зумовлено самим захворюванням або ж лікуванням. У 20 хворих проводилося вивчення стану кісткової системи за допомогою денситометрії. Лише у 10 з них показник Т перевищував вікові норми, а у 4 – був у межах норми. Знижена продукція ПТГ, лікування вітаміном D і призначення кальцію можуть вносити свій вклад у збільшення кісткової маси, яке спостерігається у пацієнтів з гіпопаратиреозом.

У частини хворих з гіпопаратиреозом було проведено патопсихологічне дослідження [15]. Умовно пацієнтів, які його пройшли, було розділено на дві групи: в першу увійшли діти без ознак загального психічного недорозвинення (7 осіб), в другу – з синдромом загального психічного недорозвинення (3 особи).

Особливості інтелектуальної діяльності дітей першої групи характеризувалися уповільненням темпів мислення, а в окремих випадках – і порушенням його динаміки, нестійкістю уваги, уповільненням або нерівномірністю темпів сенсомоторних реакцій. Також відмічались окремі розлади праксису.

Для хворих другої групи були характерні непродуктивність в контакті, непосидючість, нецілеспрямованість діяльності, порушення мови (моторна, сенсорна афазія), її погана граматична оформленість, несформованість, різке обмеження словникового запасу. Виконання низки експериментальних проб виявилось недоступним. Працездатність теж страждала через порушення ретенційної здатності пам'яті і нестійкості активної уваги.

Отже, нам вдалося з'ясувати, що навіть пацієнти без виражених порушень інтелектуальної функції мали цілу низку особливостей процесів мислення і, як наслідок, вимагають психотерапевтичної допомоги. Стосовно пацієнтів 2 групи, слід зауважити наявність у них значного інтелектуального дефіциту. Вони вимагають індивідуальної розвиваючої програми занять.

Найтипівіші відмінності в перебігу гіпопаратиреозу, які ми спостерігали у пацієнтів, підсумовані у табл. 3.

Таким чином, комплекс обстеження, яких був застосований, дозволив виявити значні відмінності в перебігу захворювання в залежності від етіології. Відмінності, які ми спостерігали, описані і в літературі, але рідко підсумовані і систематизовані.

Незважаючи на велику різноманітність клінічних проявів, при всіх видах гіпопаратиреозу через відсутність відповідної концентрації паратгормону або його ефекту, спостерігається гіпокальціємія. Підходи до лікування гіпокальціємії практично не відрізняються при різних видах гіпопаратиреозу. Показники кальцієво-фосфорного обміну у пацієнтів 1, 2 і 3 груп зазначені у табл. 4.

Таблиця 3. Клінічні особливості, виявлені при обстеженні пацієнтів з різними видами гіпопаратиреозу у дітей

Характеристика обстежених	Група 1	Група 2	Група 3
Діагноз	Гіпопаратиреоз	Псевдогіпопаратиреоз	Автоімунне поліендокринне захворювання 1 типу
Загальна кількість пацієнтів і стать (х/д)	26 (15/11)	10 (6/4)	10 (7/3)
Клінічні ознаки	Кількість пацієнтів, які мали цю ознаку		
Тетанія, судоми, парестезії, карпопедальний спазм, ознаки Хвостека і Руссо	26	10	10
Суха і груба шкіра, екзематозний дерматит	24	10	8
Тонке, посічене волосся, алопеція	24	8	5
Тонкі ламкі нігті	26	8	1
Кандидоз шкіри та слизових оболонок, оніхокандидоз			6
Гіоплазія зубів і емалі	26	10	10
Низький ріст, кремезна будова, округле обличчя, коротка шия	–	8	–
Короткі пальці, вкорочення метакарпальних кісток, особливо 3 і 4		8	–
Підшкірні кальцифікати м'яких тканин, особливо кінцівок	10	8	–
Затримка розумового розвитку	10	8	2
Білатеральна катаракта	20	8	8
Ознаки надниркової недостатності	–	–	10

Таблиця 4. Рівень кальцію і фосфору сироватки крові у пацієнтів з гіпопаратиреозом і псевдогіпопаратиреозом

Номер групи	Група 1	Група 2	Група 3
Число обстежених	26	10	10
Загальний кальцій сироватки в динаміці лікування (ммоль/л)	1,93 ± 0,6	1,90 ± 0,54	1,7 ± 0,4*
Іонізований кальцій сироватки в динаміці лікування (ммоль/л)	0,91 ± 0,12	0,90 ± 0,1	0,6 ± 0,08
Фосфор сироватки (ммоль/л)	1,90 ± 0,3	1,91 ± 0,28	1,8 ± 0,21

Примітка: *P<0,05 – вірогідна відмінність між показниками групи пацієнтів з автоімунним поліендокринним захворюванням (група 3) і групами 1 і 2.

Слід зауважити набагато важчий перебіг гіпарпаратиреозу у пацієнтів групи 3. Складнощі, які виникали при лікуванні, були зумовлені супутнім синдромом мальабсорбції, хронічною недостатністю надниркових залоз і загальним важким станом пацієнтів.

Розподіл пацієнтів за групами терапії було здійснено ретроспективно, на підставі аналізу історій хвороби і амбулаторних карт. В кожну з груп – 4, 5, 6 – були віднесені пацієнти як з гіпарпаратиреозом, так і з псевдогіпарпаратиреозом. В окрему групу – група 7 – виокремили пацієнтів з автоімунним поліендокринним захворюванням 1 типу, які додатково отримували препарати глюко- і мінералокортикоїдів, антимікотичні препарати та іншу терапію.

Таблиця 5. Порівняльна характеристика пацієнтів в залежності від виду отримуваної терапії

Клініко-лабораторні показники	Група 4	Група 5	Група 6	Група 7
Кількість пацієнтів	10	10	16	10
Отримувана терапія	Альфакальцидол, кальцію карбонат	Тахістин, кальцію карбонат	Альфакальцидол, тахістин, кальцію карбонат	Альфакальцидол, тахістин, кальцію карбонат, глюко- і мінералокортикоїди, антимікотичні препарати
Тривалість спостереження (роки)	4,5±0,6	4,3 ± 0,8	5,3 ± 0,64	6,5 ± 4,2
ПТГ, нг/мл	12,6±1,2	14,5±1,5	12,7 ± 1,3	4,3 ± 0,6*
Загальний кальцій сироватки в динаміці лікування (ммоль/л)	1,83 ±0,3	1,85 ± 0,4	2,1 ± 0,4**	1,9 ± 0,21
Іонізований кальцій сироватки в динаміці лікування (ммоль/л)	0,90±0,12	0,91 ±0,11	1,0±0,1	0,87± 0,11
Фосфор сироватки (ммоль/л)	1,9± 0,3	1,8±0,2	1,8±0,21	1,8 ±0,2

Примітка: *P<0,05 – вірогідна відмінність між показниками пацієнтів 7 групи і груп 4, 5 та 6; **P<0,05 – вірогідна відмінність між показниками пацієнтів 6 групи і 4, 5 та 7.

При лікуванні хворих всіх груп ми намагалися досягнути головної мети терапії при гіпарпаратиреозі та псевдогіпарпаратиреозі – контролю гіпокальціємії. Супутнє завдання – уникнути будь-яких епізодів гіперкальціємії. Ми не спостерігали клінічних ознак гіперкальціємії у наших пацієнтів. У 3 випадках підвищення рівня кальцію до 2,5-2,6 ммоль/л вносилися відповідні корективи у терапію. Вірогідно кращих показників кальціємії вдавалося досягнути у групі 6. Подібну схему лікування використовували і інші автори [7, 9]. Слід зауважити, що через відсутність відповідних препаратів у більшості пацієнтів були перерви у лікуванні і, як наслідок – гостра гіпокальція. Лікування фармакологічними дозами препаратів вітаміну D може призвести до гіперкальціємії. У пацієнтів, що лікувалися препаратами вітаміну D, контрольне визначення вмісту кальцію робили спочатку з інтервалом у тиждень. Після встановлення адекватної дози препарату, контрольне дослідження здійснювали з інтервалами 3-6 тижнів.

Безпечним є підтримувати рівень кальцію сироватки в межах нижньої межі норми (2,1-2,2 ммоль/л) для того, щоб запобігти серйозним ушкодженням

нервової системи та нефрокальцинозу [8, 11]. Один раз на півроку – один раз на рік слід проводили оцінку функції нирок та визначення тиску крові. Збільшення рівня креатинину сироватки в динаміці лікування не спостерігалось при використанні жодної схеми терапії. Низький артеріальний тиск спостерігався у 3 пацієнтів 7 групи при недостатній компенсації гіпокортицизму. Рівень фосфору сироватки, який зазвичай перевищував 2,4 ммоль/л на момент постановки діагнозу, знижувався до нормального рівня (1-2 ммоль/л) при всіх схемах лікування і залишався у межах норми, окрім випадків різкої декомпенсації і зниження загального кальцію сироватки до 1,4-1,6 ммоль/л.

Висновки

1. Гіпопаратиреоз, хоча і зустрічається доволі рідко у дітей, зазвичай має важкий перебіг і велику різноманітність клінічних проявів, багато з яких може призводити до інвалідизації і погіршення якості життя пацієнтів.

2. Розроблений комплекс обстежень при гіпопаратиреозі і псевдогіпопаратиреозі дозволяє своєчасно виявляти і, як наслідок, коригувати виявлені порушення зі сторони різних органів і систем.

3. Лікування пацієнтів з гіпопаратиреозом слід розпочинати рано і проводити з використанням препаратів кальцію і активних форм вітаміну D, добиваючись досягнення максимально можливої компенсації кальцієво-фосфорного обміну. Кращих показників компенсації вдається досягнути у пацієнтів, які отримують дигідротакистерол, альфакальцидол і карбонат кальцію.

Література

1. Ковалев Д.И. Регуляция обмена кальция // Пробл. эндокринол. 1991, 37, №6, 61-66.
2. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Пер. с англ. М.: Медицина. 1989. 567 с.
3. Root F.W., Diamond F.B. Disorders of calcium and phosphorus metabolism in adolescents // Endocrinol. Metabol. Clin. N. Amer. 1993, 22, N 3, 573-591.
4. Boher T., Pasteur L., Lyutkevich O. et al. Permanent hypoparathyroidism due to thyroid cancer surgical procedures in patients exposed to radiation in the Chernobyl, Ukraine, nuclear reactor accident // DMW. 2005, 130, N 44, 2501-2506.
5. Gertner J.M. Genetic and metabolic bone diseases // A current review of pediatric endocrinology. The Hyatt Regency, Washington, 1993, 223-231.
6. Reber H.M., Heath H.III. Hypocalcemic emergencies // Med. Clin. N. Amer. 1995, 79, N 1, 93-106.
7. Downs Jr. R. W. Hypocalcemia and hypoparathyroidism // Current therapy in endocrinology and metabolism. 4th ed. C.Wayne Bardin (ed.). B.C.Decker inc., Philadelphia, 1991, 440-444.
8. Mallette L.E. Pseudohypoparathyroidism // Current therapy in endocrinology and metabolism. 4th ed. C.Wayne Bardin (ed.). B.C.Decker inc., Philadelphia, 1991, 467-468.
9. Цариковская М.Г., Спужак М.И. Заболевания паращитовидных желез у детей. Харьков: Факт, 1999. 192 с.
10. Basset J.H.D., Thakker R.V. Molecular genetics of disorders of calcium homeostasis // Bailliere's Clin. Endocrinol. Metabol. 1995, 9, N 3, 581- 600.
11. Halabe A., Arie R., Mimran D. et al. Hypoparathyroidism – a long term follow-up experience with 1-alfa-vitamin D3 therapy // Clin. Endocrinol. 1994, 40, 303-307.
12. Дривотинов Б.В., Клебанов М.З. Поражения нервной системы при эндокринных заболеваниях. Минск: Беларусь, 1989. 208 с.
13. Goel A., Bhatuagar M.K., Vashishta A.Verma N.P. Hypoparathyroidism with extensive intracranial calcification: a case report // Postgrad. Med. J. 1994, 70, N 830, 913-915.
14. Abugassa S., Nordenstrom J., Eriksson S., Sjoden G. Bone mineral density in patients with chronic hypoparathyroidism // J. Clin. Endocrinol. Metabol. 1993, 76, N 6, 1617-1621.
15. Дерев'янюк А.А., Психосоматичні особливості перебігу гіпопаратиреозу у дітей // Ендокринологія. 2004, 8, N 1, 82-84.

Особенности диагностики и лечения гипопаратиреоза у детей и подростков

А.А. Деревянко, Д.И. Деревянко, Е.В. Большова

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

Предпосылкой выполнения данной работы стали существующие трудности в подборе патогенетической терапии и достижения компенсации гипопаратиреоза у детей. Было проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 46 больных с идиопатическим гипопаратиреозом, псевдогипопаратиреозом, аутоиммунным полиэндокринным заболеванием 1 типа. Определяли показатели кальциево-фосфорного обмена, использовали клинические и функциональные методы обследования. Полученные результаты свидетельствуют об отличиях в течении гипопаратиреоза в зависимости от этнологии заболевания, возраста на момент установления диагноза и длительности течения. Были изучены различия в течении гипопаратиреоза в зависимости от комбинации препаратов, которые были использованы при лечении (препараты кальция, препараты витамина D). Показатели кальциево-фосфорного метаболизма были ближе всего к норме у детей, получающих терапию двумя активными метаболитами витамина D – тахистином и альфакальцидолом.

Ключевые слова: гипопаратиреоз, паращитовидные железы, псевдогипопаратиреоз, витамин D.

Peculiarities of diagnostics and treatment of hypoparathyroidism in children and adolescents

G.A.Derevyanko, D.I. Derevyanko, O.V.Bolshova

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

As a rationale for the work served the existing difficulties in the selecting of the appropriate therapy and achieving the compensation of hypoparathyroidism in children. Complex clinical-laboratory investigation of the 46 patients with idiopathic hypoparathyroidism, pseudohypoparathyroidism, type 1 autoimmune polyendocrine disease was carried out. Indices of calcium-phosphorus metabolism were studied, clinical and functional investigations were conducted. Results obtained evidence differences in the clinical course of hypoparathyroidism related to its etiology, age of manifestation and duration of the disease. Differences in the degree of compensation obtained using different modes of treatment: calcium preparations, vitamin D were studied. Indices of calcium metabolism were closer to normal level when children were treated with two active metabolites of vitamin D: tachistin, Alfa-D3-Teva.

Key words: hypoparathyroidism, parathyroid glands, pseudohypoparathyroidism, vitamin D.

(Надійшла 19.02.2007)

ВПЛИВ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ АПОПТОЗУ В ПУХЛИННИХ ТКАНИНАХ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ЛЮДИНИ

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

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

Вивчали вплив N-стеароїлетаноламіну (NAE 18:0) на апоптозні процеси в післяопераційній адренокортикальній пухлинній тканині людини *in vitro*. Проведено порівняльне дослідження дії різних концентрацій NAE на ступінь фрагментації ДНК в двох типах пухлинних тканин кори надниркових залоз. Показано, що присутність NAE в інкубаційному середовищі помітно посилювала апоптозні процеси у пухлинній тканині кортикостероми, порівняно з контролем, де фрагментація ДНК була практично відсутньою. Дія високої концентрації NAE (10^{-4} М) в пухлинній тканині альдостероми призводить до деградації ДНК, характерної для некрозу.

Зроблені висновки, що NAE посилює апоптозні та некротичні процеси в пухлинних тканинах кори надниркових залоз людини, причому ефект NAE визначається концентрацією сполуки та типом пухлинної тканини. Обговорюються можливі механізми індукованого NAE апоптозу. Висловлюється гіпотеза, що збільшення кількості NAE, яке спостерігається при пошкодженні деяких тканин, може бути не наслідком, а причиною такого пошкодження.

Ключові слова: NAE, N-стеароїлетаноламін, апоптоз, фрагментація ДНК, некроз, пухлини кори надниркових залоз людини.

В останні 20 років значна увага дослідників приділяється вивченню властивостей та фармакологічних і біохімічних ефектів N-ацилетаноламінів (NAE). NAE – клас біологічно активних сполук ліпідної природи, які в значній кількості утворюються при пошкодженні багатьох тканин і, в першу чергу, нервової тканини та серцевого м'яза [1, 2], виконуючи захисну функцію щодо пошкодженої тканини. Вважається, що стабілізуючі ефекти NAE щодо травмованих тканин можуть бути пов'язані з їх протекторним впливом на клітинні мембрани. Нашу увагу NAE привернули такими ефектами, як здатність викликати, посилювати апоптоз та пригнічувати проліферацію у різних типах тканин [3-6], в тому числі і в пухлинній тканині надниркових залоз людини [7]. Проте, незважаючи на проведені дослідження, антипроліферативний та проапоптозний ефекти NAE в різноманітних пухлинах кори надниркових залоз вивчені ще недостатньо.

Метою роботи було визначення залежності ступеня фрагментації ДНК в деяких пухлинних тканинах надниркових залоз людини від вмісту NAE в інкубаційному середовищі.

Матеріали і методи

На проведення робіт було одержано дозвіл комітету Інституту з біоетики.

У роботі використовували післяопераційну пухлинну тканину надниркових залоз людини, яку одержували з хірургічного відділення Інституту. Зрізи тканини інкубували протягом 3 год при 37 °С в 1 мл буфера наступного складу: 10 mM Na_2HPO_4 , 1 mM NaH_2PO_4 , 130 mM NaCl , 1,27 mM MgSO_4 , 2 mM CaCl_2 , 20 mM HEPES (pH 7,4), 2 мг/мл

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

БСА. До середовища інкубації додавали спиртовий розчин NAE (N-стеароїлетаноламін 18:0, Інститут біохімії НАН України) у кінцевій концентрації 10^{-8} - 10^{-4} М. Контрольні проби містили розчинник у відповідній концентрації. Концентрація розчинника в суміші не перевищувала 1%. Після 3 год інкубації проби швидко охолоджували, тканину гомогенізували і виділяли ДНК за методикою, що описана раніше [7].

ДНК розділяли методом електрофорезу в 1,7% агарозі, приготованій на буфері, що містив: 40 мМ трис-НСІ (рН 8,5), 2 мМ Na_2EDTA . У гель додавали бромистий етидид до концентрації 1 мкг/мл. Проби готували, змішуючи розчин ДНК з розчином бромфенолового синього та сахарози (відповідно 0,025% та 45%). Загальний об'єм проби не перевищував 20 мкл. В роботі використовували маркер ДНК широкого діапазону – 100-1000 пар основ (п.о.). Тривалість електрофорезу становила 1,5-2 год при струмі 100 мА. Після електрофорезу гелі фотографували цифровою відеокамерою в транслюмінаторі і сканували за допомогою програми «Photo Capt Mw». Інтенсивність фрагментації (деградації) ДНК визначали за процентним співвідношенням фрагментованої ДНК щодо загальної кількості ДНК в агарозному гелі, яку приймали за 100%.

Реактиви. Усі солі, NaOH – кваліфікації о.с.ч. та ч.д.а. фірми «Merck»; HEPES, EDTA, протеїназа К, БСА (V фракція, вміст жирних кислот менше 0,1%) – фірми «Serva»; агароза, трис – фірми «Sigma». Решта реактивів вітчизняного виробництва. Усі розчинники додатково очищували перегонкою.

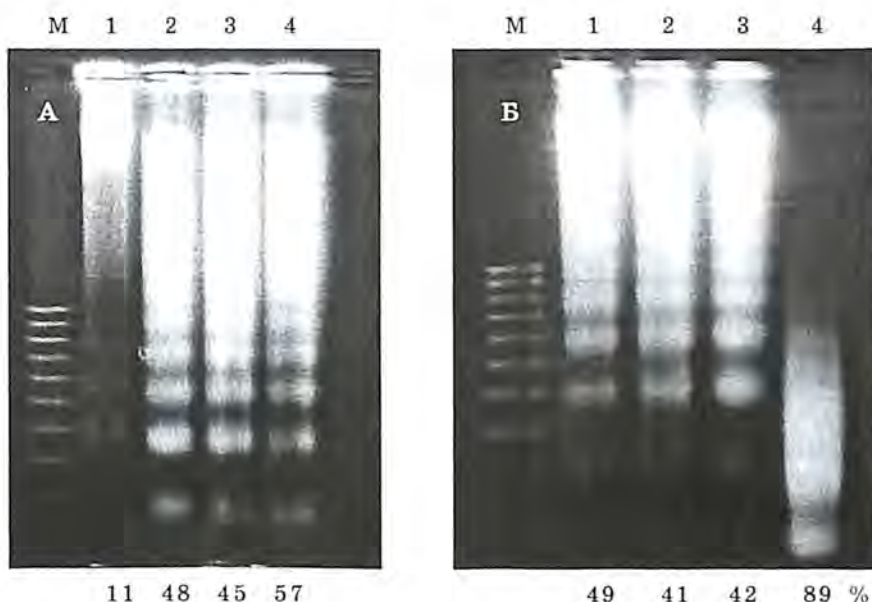
Результати та їх обговорення

Проявами апоптозу в клітині є інверсія клітинної мембрани, активація каспаз, розщеплення субстратів каспаз і, нарешті, фрагментація ДНК. Розщеплення ДНК ендонуклеазою G на фрагменти фіксованого розміру (190 п.о.) є досить надійним свідомством апоптозних змін в клітині і свідчить про початок завершальних стадій апоптозу. Ми використали фрагментацію ДНК як тестову систему для визначення інтенсивності апоптозних процесів в клітинах пухлинних тканин надниркових залоз людини.

На мал. А представлена електрофореграма геля, в якому була розділена ДНК, виділена з кортикостероми, після інкубації тканини у присутності 10^{-8} - 10^{-4} М NAE. З електрофореграми видно, що передінкубація зрізів кори надниркових залоз людини з NAE викликає фрагментацію ДНК, починаючи з найнижчих концентрацій сполуки. Вірогідної різниці між дією різних концентрацій NAE не спостерігалось. В контролі фрагментація ДНК була практично відсутньою (мал. А, трек 1). На відміну від кортикостероми, в пухлинній тканині альдостероми при високій концентрації NAE (10^{-4} М) спостерігали деградацію ДНК, характерну для некрозу (мал. Б, трек 4). Крім того, пухлинна тканина кортикостероми виявилась більш стійкою до апоптозних стимулів, ніж альдостерома (мал. А, Б, трек 1).

Таким чином, на основі проведених нами досліджень можна зробити висновки про те, що N-стеароїлетаноламін посилює апоптозні або некротичні процеси в пухлинах кори надниркових залоз людини. Конкретний ефект сполуки залежить від її концентрації та типу пухлинної тканини.

Щодо механізмів індукованого NAE апоптозу, то тут ще багато неясного. NAE можуть проявляти свої біологічні ефекти як через канабіноїдні рецептори [8], TPRV1 тип ванілоїдних рецепторів [9], так і нерелевантним шляхом [10]. За деякими даними, анандамід (NAE 20:4) індукує апоптоз саме через ванілоїдні рецептори [11]. За іншими повідомленнями, NAE з насиченими жирними кислотами не здатні зв'язуватися з канабіноїдними рецепторами [10], а отже здійснюють свої ефекти через нерелевантні механізми. Так, NAE здатні стимулювати фосфорилування ERK1/2 без участі G-білків [10]. Можливо, що дія N-стеароїлетаноламіну в клітинах-мішенях опосередковується саме цими сигнальними механізмами. Цікаво, що NAE стимулюють фосфорилування ERK1/2, але не JNK і p38MAPK [10], з активацією яких зазвичай пов'язують індукцію апоптозу в клітині, в той час, як



Малюнок. А. Електрофореграма ДНК, одержаної з пухлинної тканини кортикостероми. Б. Електрофореграма ДНК, одержаної з пухлинної тканини альдостероми. Наведено результати одного типового досліду з двох для кожного типу пухлини.

М – ДНК-маркер (100-1000 п.о.), 1 – контроль, 2 – NAE (10^{-8} М), 3 – NAE (10^{-6} М), 4 – NAE (10^{-4} М). Цифрами під електрофореграмою позначено інтенсивність фрагментації (деградації) ДНК, яку визначали за процентним співвідношенням фрагментованої ДНК щодо загальної кількості ДНК в агарозному гелі, прийняту за 100%.

фосфорилювання ERK1/2 здебільшого призводить до активації шляхів, що ведуть до виживання клітин, їх проліферації. За іншими даними, NAE здатні активувати також JNK і р38MAPK з наступною активацією транскрипційних чинників c-fos та c-jun, які входять до складу транскрипційного фактора AP-1 [12]. Нерецепторні шляхи індукції апоптозу ще можуть бути зв'язані з ефектами NAE на калієві та кальцієві канали [12], що обумовлює зміни концентрації цих іонів в клітині. Відомо, що вміст іонів калію та кальцію в клітині є надзвичайно важливим для її нормального функціонування і відхилення їх концентрації від норми може ініціювати апоптотні процеси [13, 14]. Іншим, можливо найімовірнішим механізмом ініційованого NAE апоптозу або, швидше, некрозу, може бути утворення, внаслідок переривання ланцюга передачі електронів в мітохондріях, перекисних сполук (ROS), що пошкоджують клітинні структури [15].

Таким чином, N-стеароїлетаноламін, суміш NAE з насиченими та ненасиченими залишками жирних кислот [7], анандамід [11], інші NAE [6] здатні викликати апоптоз або некроз в різних тканинах. Їх кількість в пошкоджених тканинах значно зростає [15]. Більшість дослідників вважає, що NAE здійснюють в таких тканинах захисну функцію. Проте можливо, що в такій оцінці функції NAE сталася підміна причини наслідком. Ґрунтуючись на наведених вище даних, цілком імовірно припустити, що саме NAE є причиною пошкодження тканин, а їх утворення в значних кількостях – є реакцією організму, метою якої є утилізація решток ураженої тканини.

Подяка. Автори висловлюють щирю подяку чл.-кор. НАН України Гулій Н.М. за люб'язно надані препарати NAE.

Література

1. Hansen H.S., Moesgaard B., Hansen H.H., Petersen G. N-acylethanolamines and precursor phospholipids – relation to cell injury // *Chem. Phys. Lipids*. 2000. 108, N 1-2, 135-150.
2. Lepicier P., Bouchard J.F., Lagneux C., Lamontagne D. Endocannabinoids protect the rat isolated heart against ischaemia // *Br. J. Pharmacol.* 2003, 139, N 4, 805-815.
3. Гула Н.М., Хмель Т.О., Клімашевський В.М. та ін. N-стеароїлетаноламін гальмує ріст і метастазування карциноми Льюїс та модулює ліпідний склад легенів у мишей за туморогенезу // *Укр. біохім. журн.* 2006, 78, № 1, 135-142.
4. Maccarrone M., Pauselli R., Di Rienzo M., Finazzi-Agro A. Binding, degradation and apoptotic activity of stearyl ethanolamide in rat C6 glioma cells // *Biochem. J.* 2002, 366, Pt. 1, 137-144.
5. Sarker K.P., Obara S., Nakata M. et al. Anandamide induces apoptosis of PC-12 cells: involvement of superoxide and caspase-3 // *FEBS Lett.* 2000, 472, N 1, 39-44.
6. De Petrocellis L., Orlando P., Di Marzo V. Effect on cancer cell proliferation of palmitoylethanolamide, a fatty acid amide interacting with both the cannabinoid and vanilloid signalling systems // *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2002, 16, N 4, 297-302.
7. Kostyuchenko N., Pushkarev V., Kashevarov G. et al. Effects of N-acylethanolamines and various antimitotic agents on apoptotic DNA fragmentation in conventionally normal and tumor tissue of human adrenals // *Exp. Oncol.* 2005, 27, N 3, 215-219.
8. Brizzi A. Design, synthesis, and binding studies of new potent ligands of cannabinoid receptors // *J. Med. Chem.* 2005, 48, N 23, 7343-7350.
9. Movahed P., Jonsson B.A., Birnir B. et al. Endogenous unsaturated C18 N-acylethanolamines are vanilloid receptor (TRPV1) agonists // *J. Biol. Chem.* 2005, 280, N 46, 38496-38504.
10. Berdyshev E.V., Schmid P.C., Krebsbach R.J. et al. Cannabinoid-receptor-independent cell signalling by N-acylethanolamines // *Biochem. J.* 2001, 360, 67-75.
11. Maccarrone M., Lorenzon T., Bari M. et al. Anandamide induced apoptosis in human cells via vanilloid receptors // *J. Biol. Chem.* 2000, 275, N 41, 31938-31945.
12. Pagotto U., Marsicano G., Cota D. et al. The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance // *Endocr. Rev.* 2006, 27, N 1, 73-100.
13. Yu S.P. Regulation and critical role of potassium homeostasis in apoptosis // *Prog. Neurobiol.* 2003, 70, N 4, 363-386.
14. Pan Z., Bhat M.B., Nieminen A.-L., Ma J. Synergistic movements of Ca^{2+} and Bax in cells undergoing apoptosis // *J. Biol. Chem.* 2001, 276, N 34, 32257-32263.
15. Wasilewski M., Wojtczak L. Effects of N-acylethanolamines on the respiratory chain and production of reactive oxygen species in heart mitochondria // *FEBS Lett.* 2005, 579, N 21, 4724-4728.

Влияние N-стеароилэтанолamina на интенсивность апоптоза в опухолевых тканях надпочечников человека

Н.И.Левчук, Е.И.Ковзун, Н.Д.Тронько, В.М.Пушкарев

Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев, Украина; E-mail: endo@i.kiev.ua

Изучали влияние N-стеароилэтанолamina (NAE 18:0) на апоптотические процессы в послеоперационной адренокортикальной опухолевой ткани человека *in vitro*. Проведено сравнительное исследование влияния различных концентраций NAE на степень фрагментации ДНК в двух типах опухолевых тканей коры надпочечников. Показано, что присутствие NAE в инкубационной среде существенно усиливало апоптотические процессы в опухолевой ткани кортикостеромы в сравнении с контролем, где фрагментация ДНК практически отсутствовала. Высокая концентрация NAE (10^{-4} М) в опухолевой ткани альдостеромы вызывает деградацию ДНК, характерную для некроза. Сделаны выводы, что NAE усиливает апоптотические и некротические процессы в опухолевых тканях коры надпочечников человека, причём эффект NAE определяется концентрацией соединения и типом опухолевой ткани. Обсуждаются возможные механизмы

индуцированного NAE апоптоза. Выдвигается гипотеза, что увеличение количества NAE, которое наблюдается при повреждении некоторых тканей, может быть не следствием, а причиной такого повреждения.

Ключевые слова: NAE, N-стеароилэтаноламин, апоптоз, фрагментация ДНК, некроз, опухоли коры надпочечников человека.

Effect of N-stearoylethanolamine on the apoptosis intensity in tumor tissues of human adrenals

N.I. Levchuk, O.I. Kovzun, M.D. Tron'ko, V.M. Pushkarev

V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 04114 Kyiv, Ukraine; E-mail: endo@i.kiev.ua

The influence of N-stearoylethanolamine (NAE 18:0) on the apoptotic processes in human adrenal cortex in vitro was studied. The comparative investigation of different NAE concentrations effect upon the DNA laddering extent in two types of human adrenocortical tumor tissue was carried out. It has been shown that addition of NAE into the incubation medium significantly enhanced the apoptotic processes in tumor tissue of corticosteroma comparing to conventionally normal tissue, where DNA fragmentation was essentially absent. Effect of high NAE concentration (10^{-4} M) on tumor tissue of aldosteroma caused the necrosis-like DNA degradation.

The conclusions were suggested that NAE enhanced apoptotic and necrotic processes in tumor tissue of human adrenal cortex, and NAE effect depended on concentration of the compound and tumor tissue type. The possible mechanisms of NAE-induced apoptosis were discussed. The hypothesis is suggested that increased NAE content observed in some damaged tissues can be not the consequence but the cause of such damage.

Key words: NAE, N-stearoylethanolamine, apoptosis, DNA fragmentation, necrosis, human adrenal cortex tumors.

(Надійшла 5.01.2007)

ПОРУШЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ ТА МЕТАБОЛІЧНИЙ СИНДРОМ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

О.А. Півоварова*, Б.М. Маньковський¹

Луганський державний медичний університет, 91045 Луганськ;
¹Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка
АМН України, 04114 Київ, Україна

В огляді літератури показано, що розвиток хронічних неспецифічних захворювань легень при порушенні вуглеводного обміну супроводжується рестриктивним типом дихальної недостатності, котра переходить у обструктивну при збільшенні маси тіла й тісно пов'язана з процесами запалення й імунопатології. Разом із цими змінами у хворих відбувається порушення гемодинаміки малого кола кровообігу у вигляді наростання тиску в системі легеневих судин, що поєднується з ознаками зниження внутрішньоклітинного синтезу сурфактанту, а також з артеріальною гіпоксією, підвищенням артеріовенозної різниці щодо кисню, що свідчить про тканинну гіпоксію. До найважливіших патогенетичних механізмів розвитку хронічних неспецифічних захворювань легень відносять порушення в системі місцевого захисту бронхів і легень, зміну їх сурфактантних властивостей, порушення мікрогемодинаміки. При поєднанні цукрового діабету та бронхолегеневого запалення відбувається надмірне утворення метаболітів оксиду азоту (пероксинітриту, пероксинітратного аніона), які виявляються потужними оксидантами й здатні ушкоджувати клітинні мембрани.

Ключові слова: цукровий діабет, метаболічний синдром, легені, газовий склад крові, оксид азоту, сурфактант.

Дані сучасної наукової літератури свідчать про те, що стан здоров'я населення більшості країн європейського регіону визначають хронічні неінфекційні хвороби. Так, у 2003 році їх внесок у сумарний тягар захворюваності в Україні становив 72,8% [1].

За даними Міжнародної діабетичної федерації і Європейської асоціації з вивчення цукрового діабету (ЦД), більше 150 млн людей, або 8,2% дорослого населення світу, хворі на ЦД [2]. За даними ВООЗ, у 1994 році кількість хворих на ЦД становила 100 мільйонів чоловік, у 2000 році вона досягла 140 мільйонів і прогнозується, що до 2010 року кількість осіб, які страждають на цю хворобу, сягне 215 мільйонів [3]. В Україні на сьогоднішній день зареєстровано близько 1 млн осіб, хворих на ЦД [4]. Тому ЦД став однією з найважливіших медико-соціальних проблем сучасного суспільства, що зумовлене, з одного боку, високими показниками його поширеності, а з другого, – високою частотою розвитку хронічних інвалідизуючих ускладнень цієї недуги [5].

Частка захворюваності на ЦД 2 типу становить 85-90%, при цьому в останні роки спостерігається чітка тенденція до зростання кількості таких хворих, що дозволяє говорити про глобальну епідемію ЦД [6]. Крім того, серед

* Адреса для листування (Correspondence): Луганський державний медичний університет, Квартал 50-річчя оборони, Луганськ 91045, Україна

осіб, хворих на ЦД 2 типу, багато хто мають надмірну вагу тіла, артеріальну гіпертензію та різноманітні ознаки метаболічного синдрому (МС) [7]. У західних країнах розповсюдженість МС сягає 25-35% населення [8]. У віці понад 60 років частка осіб з МС дорівнює 42-43,5%. У цілому, у США від нього страждають приблизно 47 млн громадян. Загальна кількість дорослих, у яких були виявлені симптоми МС, була оцінена у 22%. Розповсюдження МС серед чоловіків становить 24%, серед жінок – 23,4% [9].

І хоча хворі з ЦД 2 типу та МС в значній кількості випадків схильні до простудно-запальних та інфекційно-алергічних захворювань [10], що протікають нерідко з астматичним компонентом, у сучасній літературі, яка висвітлює клініко-морфологічні особливості даної патології, недостатньо показано зв'язок специфічних уражень бронхолегеневої системи з розвитком основного захворювання – ЦД 2 типу та МС. У дослідженнях G.M. Engstrom та співавт. [12] припускається думка, що порушення у респіраторному відділі легень уже наявні на момент клінічної маніфестації діабету, а на думку R. Lazarus та співавт. [13, 14] – передують виникненню інсулінорезистентності.

Поеднання серцево-судинних ускладнень, пневмонії та ЦД у хворих є найчастішою причиною смерті [15]. Пневмонії у хворих на ЦД значно відрізняються як розповсюдженістю запального процесу, так і важкістю перебігу, значною схильністю до ускладнень у вигляді плевриту, абсцедування, а також затяжним перебігом і рецидуванням [16]. Деякі дослідники [17] дійшли висновку, що при глікемії понад 8,9 ммоль/л зростає ризик смертності, а збільшення глікемії на 1 ммоль/л призводить до збільшення на 15% несприятливих наслідків при загостренні хронічних обструктивних захворювань легень. На підтвердження цих даних G. Van den Berghe та співавт. [18] виявили, що ретельний контроль рівня глюкози крові у межах 4,4-6,1 ммоль/л скорочує тривалий прийом антибактеріальних препаратів, зменшує перебування хворих в стаціонарі, а також знижує ризик смертності. Частково, пневмонія є вирішальним чинником у розвитку клінічних проявів ЦД, в інших випадках її поява у хворого на ЦД призводить до декомпенсації та розвитку діабетичної прекоми або коми. У роботах M. Leinonen та співавт. [19] були визначені кореляційні взаємозв'язки між МС та виникненням хламідійної пневмонії, а публікації T. Enomoto [20] свідчать про те, що поєднання ЦД, дисліпідемії, артеріальної гіпертензії та надмірної ваги тіла призводить до розвитку ідіопатичного фіброзу легень.

Розвиток пневмонії у хворих на ЦД пов'язують із ураженнями судинного русла легень [21], що захоплюють як систему мікроциркуляції (діабетична мікроангіопатія), так і артерії середнього і крупного калібру (діабетична макроангіопатія). Макро- і мікроангіопатія при діабеті виявлена практично у всіх органах системи великого кола кровообігу. У той же час, питання, які присвячені морфологічній оцінці стану судин малого кола кровообігу при діабеті, у сучасній літературі висвітлені недостатньо. До того ж, комплекс змін з боку дихальної системи у хворих на ЦД 2 типу та МС у сучасних роботах практично не визначений. Хоча саме у хворих з порушенням вуглеводного обміну виявлена вища (в 4-10 разів) захворюваність на туберкульоз легень порівняно з хворими без діабету [22, 23]. Доцільно відмітити і більшу частоту туберкулозу (9-16%) у цих хворих [24, 25].

У пацієнтів з ЦД 2 типу та надмірною масою тіла знайдені різні зміни функції зовнішнього дихання за відсутності клінічних ознак ураження органів дихання [26]. У результаті послаблення функціональних можливостей апарату зовнішнього дихання у них спостерігаються [27]: збільшення легеневої вентиляції і зниження життєвої місткості легень, в основному, за рахунок зменшення резервного об'єму видиху при нормальному резервному

об'ємі вдиху; зниження максимальної вентиляції легенів, респіраторна синусова аритмія [28] і гіпоксія. Остання зумовлена ураженням хемо- і барорецепторів легенів [29], а також відповідних інтерорецептивних волокон, внаслідок чого знижується аферентна імпульсація, зменшується активність дихального центру, розвивається гіповентиляція легень, що призводить до ослаблення в них оксигенації крові і розвитку артеріальної гіпоксемії.

У деяких дослідженнях [30] доведено, що у хворих на ЦД 2 типу виникає зниження дифузної здатності легень для диоксида вуглецю. А на думку М. Marvisi та співавторів [31], одна із складових МС – мікроальбумінурія, є раннім маркером зниженої легеневої функції у хворих на ЦД.

У дослідженнях деяких авторів визначено [32], що патологія легень при порушеннях вуглеводного обміну супроводжується рестриктивним типом дихальної недостатності, яка переходить в обструктивний при зростанні маси тіла, і супроводжується емфізематозними змінами у легеневій тканині, фіброзом легень [33], а також склерозуванням альвеолярно-бронхіальних судин [34], що, можливо, відбувається у результаті порушення структури білків тканини внаслідок глікозилювання та окиснювального стресу [35, 36].

Раніше вивчені дані спірометрії у хворих на цукровий діабет показали взаємозв'язок між зниженими показниками спірометрії та тривалим метаболічним дисбалансом [37]. При цьому гіпервентиляція трактується як показник дихальної недостатності, яка пов'язана з погіршенням використання кисню з вентильованого повітря, тобто з утрудненням дифузії [38] його через альвеолярно-капілярні мембрани [39]. Зміни функції зовнішнього дихання у хворих з важкою формою ЦД настають уже в перші роки хвороби і посилюються у міру збільшення тривалості захворювання.

Таким чином, дослідження функції зовнішнього дихання є першим кроком для раннього виявлення та можливого попередження розвитку додаткового ускладнення порушеного вуглеводного обміну – діабетичного ураження легень.

Артеріальна гіпоксемія, що виявляється при діабеті, підвищення артеріовенозної різниці за киснем та гіпокапнія свідчать про тканинну гіпоксію. Щоб організм хворого цукровим діабетом достатньо забезпечувався киснем і підтримував нормальний рівень насичення ним артеріальної крові, необхідна значна напруженість легеневої вентиляції. Однак у більшості хворих компенсаторна напруженість системи вентиляції не ліквідує кисневу недостатність.

Підвищення артеріовенозної різниці за киснем (на 7-14%) є компенсаторною реакцією при артеріальній гіпоксемії. Гіпоксемія спостерігається як при тяжкому, так і при середньому ступені важкості діабету і свідчить про тканинну гіпоксію, і як наслідок цього – порушення обміну речовин із зменшенням утворення кінцевих продуктів обміну. Гіпоксемія та гіпокапнія поряд з іншими чинниками, мабуть, сприяють розвитку судинних ускладнень та обтяжують їх перебіг.

При порушеннях кислотно-лужного стану відмічаються значні зміни у дихальних функціях. Надмірне накопичення водневих іонів у міжклітинній рідині спричиняє зниження бікарбонатів у сироватці та витіснення іонів калію із клітин. У свою чергу, калій у клітині заміщується іонами натрію та водню. Встановлено, що при легкій формі цукрового діабету не виникає різних відхилень електролітного балансу і кислотно-лужного стану [40]. При середній та важкій формах виявлена тенденція до гіперкаліємії та гіпернатріємії з малим чи помірним збільшенням вмісту калію і натрію в еритроцитах у більшості хворих та змінами у кислотно-лужному стані у бік метаболічного ацидозу. Накопичення іонів водню викликає підвищення легеневої вентиляції за рахунок посиленого виділення вуглекислоти, що веде до зниження напруження CO_2 у крові. Регуляція виділення CO_2 досягається

зміною швидкості об'єму легеневої вентиляції, тобто, залежить від величини хвилинної альвеолярної вентиляції [41]. Підвищення хвилинної альвеолярної вентиляції призводить до зниження артеріального $p\text{CO}_2$, і навпаки [42].

Кислотно-лужний стан змінюється з наростанням тяжкості захворювання: при легкій формі цукрового діабету метаболічний ацидоз не виявляється, при середньому ступені важкості виявлявся компенсований метаболічний ацидоз, при тяжкій формі – більш виразний компенсований метаболічний ацидоз.

Зміни серцево-судинної системи, ожиріння та гіперліпідемія можуть не тільки впливати на альвеолярно-капілярну дифузію газів, але і значно погіршувати внутрішньоклітинний обмін, викликаючи таким чином внутрішньоклітинну недостатність кисню, вуглекислоти й амінокислот.

М. Sandler та співавт. [43] виявили взаємозв'язок між низькою дифузією CO_2 та зниженим об'ємом крові у легених капілярах у хворих на ЦД. У роботах М. Marvisia та співавт. [44] відзначається, що на зниження дифузії CO_2 у легенях впливає цілісність ендотелію легених капілярів, що може порушуватися при хронічному запаленні і є основою величезного числа захворювань бронхо-легеневої системи. Запальні стимули здійснюють підвищення утворення NO та його метаболітів (пероксинітриду, пероксинітритного аніона), котрі беруть участь у перекисному окисненні ліпідів. Дані речовини здатні інактивувати дихальні ферменти, пригнічувати ріст і розмноження клітин [45], а також регулювати діяльність дихальної системи [46]. Ряд спостережень підтверджують той факт, що недостатність утворення і виділення NO є переважаючим механізмом розвитку гіпертензії малого кола кровообігу та втрати легеними судинами здатності відповідати вазодилатацією на ендотеліозалежні субстанції при хронічній гіпоксії [47]. Передбачається, що за умов хронічної гіпоксії NO зменшує явища мускуляризації легених артерій, а прогресування легеневої гіпертензії знаходиться під впливом місцевої дії NO [48]. Продукція NO ендотелієм легених судин залежить і від альвеолярного парціального тиску кисню, а його недостатність блокує продукцію NO ендотелієм, посилюючи пряму вазоконстрикторну дію гіпоксії на судини легень [49]. При ЦД, унаслідок дисфункції ендотелію, утворення NO знижується, результатом чого є прискорений розвиток всіх структурних змін у судинній стінці, характерних для ангіопатій, а при поєднанні із змінами у ліпідному спектрі – для розвитку атеросклерозу [50]. Окрім того, порушення у синтезі і секреції NO судинною стінкою виникають при інсулінорезистентності, що сприяє розвитку артеріальної гіпертензії [51].

Так як розвиток хронічних неспецифічних захворювань легень при гіперглікемії тісно пов'язаний з процесами запалення та імунопатології [52-54], то у даному випадку визначену зацікавленість викликає вивчення деяких механізмів неспецифічної реактивності. До основних з них відносять фагоцитуючі клітини (альвеолярні макрофаги), від функціональної активності яких залежить ініціація, перебіг, наслідки хронічних запальних процесів в органах дихання, а також гуморальні чинники (сурфактант).

Встановлено, що поверхнево-активні властивості сурфактанту легень зазнають суттєвих змін при різних видах легеневої і позалегеневої патології, що обумовлене uszkodженням структур аерогематичного бар'єру, інактивацією сурфактантної системи легень, змінами кількісного і якісного складу сурфактанту легень і його компонентів [55-57]. Порушення сурфактантної системи легень призводить до зниження стабільності альвеол, змін перерозподілу повітряних потоків між ними, погіршення транспорту кисню через аерогематичний бар'єр в мікроциркуляторне русло, що розглядається як один з основних механізмів вентиляційних порушень [58]. Вивчення легеневого сурфактанту в клінічній практиці має велике значення, оскільки

він знижує поверхневий натяг альвеол, що перешкоджає їх спаду, захищає стінки від висихання і запобігає випоту рідини, а також є бар'єром для багатьох шкідливих речовин, сприяє розчиненню кисню при дифузії в капіляри і покращує кровообіг [59].

При експериментальному ЦД в тканині і в бронхо-альвеолярному секреті легенів у тварин змінювався кількісний і якісний склад легеневого сурфактанту [60]: порушувалися фізичні його параметри, що вказує на зниження поверхневої активності і дефіцит легеневого сурфактанту, що, у свою чергу, є несприятливим тлом при порушенні численних функцій і розвитку неспецифічних захворювань легенів. Вірогідно знижувався вміст загальних фосфоліпідів. Знижувався вміст фосфатидилхоліну – найактивнішої фракції загальних фосфоліпідів. А вміст фосфатидилетаноламіну, особливо лізофосфатидилхоліну, навпаки, збільшувався. Це вказувало на зменшення вмісту клітинного сурфактанту у результаті зниження його синтезу [61].

Наукові праці, присвячені вивченню функціонального стану сурфактантної системи легенів у хворих на ЦД, свідчать про зміни у вигляді нейтрофільної інфільтрації легенів і значного зниження бактерицидної місткості і фагоцитуючої активності альвеолярних макрофагів, що створювало сприятливе тло для хронізації запальних захворювань бронхолегеневої системи [62].

Так як інсулін є одним з важливих регуляторів синтезу і секреції легеневого сурфактанту, то дефіцит останнього можна розглядати як результат інсулінової недостатності. Дефіцит сурфактанту сприяє посиленню проліферації і збільшенню числа фібробластів, що синтезують у великій кількості колаген, сприяючи розвитку фіброзу легенів [63]. Однак є ця недостатність відносною чи абсолютною – це питання в даний час залишається поки відкритим.

Хронічна гіперглікемія ініціює розвиток змін у судинній стінці за допомогою декількох механізмів – шляхом активації поліолового шляху метаболізму глюкози, глікозилювання різних білків та окиснювального стресу [64, 65]. Роботами J. Farina, T. Matsubara та співавт. [66, 67] була виявлена легенева мікроангіопатія, що проявляється потовщенням і ущільненням стінок альвеолярних капілярів і легневих артерій, а також зниженням кровонаповнення капілярів легень. У хворих на ЦД зниження вентиляційної здатності легенів часто поєднувалося з різнолокалізованими діабетичними мікроангіопатіями [30, 42, 68, 69], що характеризувались змінами артерій еластом'язового і м'язового типів.

Механізми порушення функції бронхолегеневої системи в осіб з надмірною масою тіла досліджені багатьма авторами [70-74]. Наприклад, у деяких роботах вивчалися особливості механіки дихання і вентиляційно-перфузійних відносин в осіб з ожирінням I, II і III ступеня [75, 76]. Було встановлено, що з наростанням маси тіла бронхіальна прохідність погіршувалася на всіх рівнях бронхіального дерева, особливо на рівні середніх і мілких бронхів, що на думку деяких авторів [77-79], супроводжувалося розвитком альвеолярного гіповентиляційного синдрому і, як наслідок цього, виникненням хронічної гіпоксемії та гіперкапнії.

Згідно з даними C.S. Mantzoros [80], D.J. Chinn та співавт. [81], зниження динамічної розтяжності, збільшення еластичної тяги легенів спостерігалось паралельно збільшенню маси тіла. У своїх працях I. Rubinstein та співавт. [82], D.D. Sin та співавт. [83] довели, що із збільшенням маси тіла значно зростала робота дихання: величина загальної роботи дихання у порівнянні з аналогічним показником у здорових збільшувалася, що було пов'язане із зростанням еластичної, але більшою мірою – нееластичної фракції на видиху.

У роботах В. Stenius-Aarniala і співавт. [84] та інших дослідників [85, 86] було показано, що при зниженні маси тіла на 10% поліпшувалися показники форсованої життєвої ємності легень на 92 мл і об'єму форсованого видиху за першу секунду – на 73 мл. У стані бронхіальної прохідності найбільша позитивна динаміка простежувалася на рівні мілких бронхів. Транспульмональний тиск та еластичні властивості легенів також зазнавали зміни при зниженні маси тіла.

Накопичення CO₂ в організмі відбувалося при порушеннях вентиляційно-перфузійних відносин, які виникали в огрядних осіб внаслідок нерівномірності альвеолярної вентиляції, що призводило до регіонарної гіповентиляції альвеол [87]. Причиною такої нерівномірності в осіб з надмірною вагою тіла була механічна неоднорідність легенів, обумовлена порушенням бронхіальної прохідності, зміною еластичних властивостей легенів.

Підсумовуючи вищевикладене, ми прийшли до висновку, що взаємозв'язок порушеного вуглеводного обміну з функцією газообміну на сьогоднішній день не має чіткого визначення. Наслідком змін з боку легенів при цукровому діабеті є утруднення дифузії кисню крізь альвеоло-капілярні мембрани як наслідок ураження їх судинного русла, що відбувається у результаті глікозилювання білків, окиснювального стресу або з причини хронічного запалення. У свою чергу, запальні стимули здійснюють підвищення утворення NO та його метаболітів, що здатні регулювати діяльність дихальної системи. Спостерігається цілий комплекс змін у тканині легень, який супроводжується ушкодженням структури сурфактанту, як наслідок відносної недостатності інсуліну чи інсулінорезистентності і дисліпідемії. Також існуючий респіраторний та метаболічний ацидоз сприяє розвитку різноманітних аритмій дихання. За відсутності клінічних ознак легеневої патології визначаються значні порушення функції зовнішнього дихання. Найінформативнішими у діагностиці цих змін є показники життєвої ємності легень та об'єму форсованого видиху за першу секунду. Одна із складових МС – ожиріння, також має порушення бронхіальної прохідності, особливо на рівні середніх і мілких бронхів, що супроводжується розвитком хронічної гіпоксемії та гіперкапнії.

На нашу думку, у хворих на ЦД 2 типу та МС є актуальним подальше вивчення інтегральних механізмів розвитку хронічних неспецифічних захворювань легенів та пошук критеріїв їх діагностики.

Література

1. Коваленко В.М. (ред.). Стан здоров'я народу України у зв'язку із хворобами системи кровообігу та можливі шляхи його покращання. К.: ЗАТ «ВНПОЛ», 2004. 125 с.
2. Zachary T. Bloomgarden. European Association for the Study of Diabetes Annual Meeting, 2000: Pathogenesis of type 2 diabetes, vascular disease, and neuropathy // *Diabet. Care.* 2001, 24, 1115-1119.
3. Esler M., Rumantir M., Wiesner G., Lambert G. Epidemic diabetes mellitus in the United State // *AJN.* 2001, 14, 304S-309S.
4. Тронько М.Д. (ред.). Стандарти діагностики та лікування ендокринних захворювань. К.: Здоров'я України, 2005. 312 с.
5. Haffner S.M. Insulin resistance, inflammation, and the prediabetic state // *Am. J. Cardiol.* 2003, 92, N 4A, 18J-26J.
6. Zanobetti A., Schwartz J. Are diabetics more susceptible to the health effects of airborne particles ? // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001, 164, N 5, 831-833.
7. Маньковский Б.Н., Хаустова О.О. Метаболический синдром: распространённость, диагностика, принципы терапии // *Мистецтво лікування.* 2005, № 9, 30-33.
8. Wajchenberg B.L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome // *Endocr. Rev.* 2000, 21, N 6, 697-738.
9. Bray G.A. Etiology and natural history of obesity // *Clin. Fam. Pract.* 2002, N 2, 249-251.

10. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Geneva: WHO (Technical report series), 2000. 253 p.
11. Walter R.E., Beiser A., Givelber R.J. et al. Association between glycemic state and lung function: the Framingham Heart Study // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003, **167**, N 6, 911-916.
12. Engstrom G., Janzon L. Risk of developing diabetes is inversely related to lung function: a population-based cohort study // *Diabet Med.* 2002, **19**, N 2, 167-170.
13. Engstrom G., Hedblad B., Nilsson P. et al. Lung function, insulin resistance and incidence of cardiovascular disease: a longitudinal cohort study // *J. Intern. Med.* 2003, **253**, N 5, 574-581.
14. Lazarus R., Sparrow D., Weiss S.T. Baseline ventilatory function predicts the development of higher levels of fasting insulin and fasting insulin resistance index: the Normative Aging Study // *Eur. Respir. J.* 1998, **12**, N 3, 641-645.
15. Brandenburg S.L., Reusch J.E., Bauer T.A. et al. Effects of exercise training on oxygen uptake kinetic responses in women with type 2 diabetes // *Diabetes Care.* 1999, **22**, N 10, 1640-1646.
16. Falguera M., Pifarre R., Martin A. et al. Etiology and outcome of community-acquired pneumonia in patients with diabetes mellitus // *Chest.* 2005, **128**, N 5, 3233-3239.
17. Baker E.H., Janaway C.H., Philips B.J. et al. Hyperglycaemia is associated with poor outcomes in patients admitted to hospital with acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease // *Thorax.* 2006, **61**, N 4, 284-289.
18. Van den Berghe G., Wouters P., Weekers F. et al. Intensive insulin therapy in the critically ill patient // *N. Engl. J. Med.* 2001, **345**, N 19, 1359-1367.
19. Leinonen M., Saikku P. Interaction of Chlamydia pneumoniae infection with other risk factors of atherosclerosis // *Am. Heart J.* 1999, **138**, N 5, Pt. 2, 504-506.
20. Enomoto T., Usuki J., Azuma A. et al. Diabetes mellitus may increase risk for idiopathic pulmonary fibrosis // *Chest.* 2003, **123**, N 6, 2007-2011.
21. Асаулук И.К., Бойчак Н.П. Особенности течения пневмоний у больных сахарным диабетом // *Укр. пульм. журн.* 2000, № 3, 35-37.
22. Umut S., Tosun G.A., Yildirim N. Radiographic location of pulmonary tuberculosis in diabetic patients // *Chest.* 1994, **106**, N 1, p. 326.
23. Morris J.T., Seaworth B.J., McAllister C.K. Pulmonary tuberculosis in diabetics // *Chest.* 1992, **102**, N 2, 539-541.
24. Волошин Я. М. Хірургічне лікування туберкульозу легень у хворих на цукровий діабет // *Укр. пульм. журн.* 2000, № 2, 56-58.
25. Perez-Guzman C., Torres-Cruz A., Villarreal-Velarde H., Vargas M.H. Progressive age-related changes in pulmonary tuberculosis images and the effect of diabetes // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000, **162**, N 5, 1738-1740.
26. WHO: Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Geneva. 1999. 59 p.
27. Goldman M.D. Lung dysfunction in diabetes // *Diabetes Care.* 2003, **26**, N 6, 1915-1918.
28. Yasuma F., Hayano J. Respiratory sinus arrhythmia: why does the heartbeat synchronize with respiratory rhythm // *Chest.* 2004, **125**, N 2, 683-690.
29. Fuso L., Cotroneo P., Basso S. et al. Postural variations of pulmonary diffusing capacity in insulin-dependent diabetes mellitus // *Chest.* 1996, **110**, N 4, 1009-1013.
30. Mori H., Okubo M., Okamura M. et al. Abnormalities of pulmonary function in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus // *Intern. Med.* 1992, **31**, N 2, 189-193.
31. Arthur Chung-Wing Lau, Matthew Kwok-Wing Lo, Godwin Tat-Chi Leung et al. Altered exercise gas exchange as related to microalbuminuria in type 2 diabetic patients // *Chest.* 2004, **125**, N 4, 1292-1298.
32. Davis W.A., Knudman M., Kendall P. et al. Glycemic exposure is associated with reduced pulmonary function in type 2 diabetes: the Fremantle Diabetes Study // *Diabetes Care.* 2004, **27**, N 3, 752-757.
33. Robert E. Walter, Alexa Beiser, Rachel J. Givelber et al. Association between glycemic state and lung function: the Framingham Heart Study // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003, **167**, 911-916.
34. Georg-Christian Funk, Daniel Doberer, Ventzislav Petkov et al. Hyperglycemia, bronchial artery sclerosis, and lung function // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004, **169**, N 3, 427-429.

35. Gumieniczek A., Hopkala H., Wojtowicz Z., Wysocka M. Changes in antioxidant status of lung tissue in experimental diabetes in rabbits // Clin. Biochem. 2002, 35, N 2, 147-149.
36. Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A., Grodsky G.M. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes // Endocr. Rev. 2002, 23, N 5, 599-622.
37. Schnack C., Festa A., Schwarzmaier-D'Assie A. et al. Pulmonary dysfunction in type 1 diabetes in relation to metabolic long-term control and to incipient diabetic nephropathy // Nephron. 1996, 74, N 2, 395-400.
38. Cooper B.G., Taylor R., Alberti K.G., Gibson G.J. Lung function in patients with diabetes mellitus // Respir. Med. 1990, 84, N 3, 235-239.
39. Sandler M., Bunn A.E., Stewart R.I. Pulmonary function in young insulin-dependent diabetic subjects // Chest. 1986, 90, N 5, 670-675.
40. Абелева И.Ю. Особенности функции внешнего дыхания и кислородного обеспечения больных сахарным диабетом // Теоретические и клинические аспекты патофизиологии дыхания: Тез. докл. 1983, 154-155.
41. Minette P., Buyschaert M., Rahier J. et al. Pulmonary gas exchange in life-long non-smoking patients with diabetes mellitus // Respiration. 1999, 66, N 1, 20-24.
42. Ljubic S., Metelko Z., Car N. et al. Reduction of diffusion capacity for carbon monoxide in diabetic patients // Chest. 1998, 114, N 4, 1033-1035.
43. Sandler M. Is the lung a «target organ» in diabetes mellitus? // Arch. Intern. Med. 1990, 150, N 7, 1385-1388.
44. Marvisi M., Bartolini L., del Borrello P. et al. Pulmonary function in non-insulin-dependent diabetes mellitus // Respiration. 2001, 68, N 3, 268-272.
45. Curzen N., Archer S. Chronic lung disease and pulmonary hypertension: yes or no to NO ? // Thorax. 1997, 52, N 2, 105-106.
46. Каминская Г. О. Оксид азота – его биологическая роль и участие в патологии органов дыхания // Пробл. туберк. бол. лёгких. 2004, № 6, 3-11.
47. Незорова В.А., Майстровская Ю.В., Чкаловец И.В. и др. Исследование содержания метаболитов оксида азота, α_1 -кислого гликопротеина и его гликоформ в конденсатах выдыхаемого воздуха больных бронхиальной астмой // Пульмонология. 2003, № 6, 46-51.
48. Незорова В.А., Гельцер Б.И. Окись азота и гемодинамика лёгких // Пульмонология. 1997, № 2, 80-85.
49. Архипова Д.В., Корнев Б.М., Попова Е.А. и др. Роль некоторых нейрогуморальных факторов в развитии легочной гипертензии у больных интерстициальными болезнями лёгких // Тер. архив. 2003, № 3, 44-46.
50. Балаболкин М.И., Креминская В.М., Клебанова Е.М. Роль дисфункции эндотелия и окислительного стресса в механизме развития ангиопатий при сахарном диабете 2-го типа // Кардиология. 2004, 44, № 7, 90-97.
51. Шубина А.Т., Демидова И.Ю., Чернова Н.А., Карпов Ю.А. Метаболический синдром: возможности применения метформина: Метод. рекоменд. М.: Здоровье, 2005. 25 с.
52. Кулинич О.А. Функциональный стан судинного ендотелію, нейтрофілних гранулоцитів, моноцитів у хворих на хронічний обструктивний бронхіт: Автореф. дис. канд. мед. наук. Запоріжжя, 2003. 21 с.
53. Moller D.E. Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes // Trends Endocrinol. Metab. 2000, 11, N 6, 212-217.
54. Rodriguez-Moran M., Guerrero-Romero F. Increased levels of C-reactive protein in non-controlled type II diabetic subjects // J. Diabetes Complications. 1999, 13, N 4, 211-215.
55. Knapp H.R. Omega-3 fatty acids in respiratory diseases: a review // J. Amer. Coll. Nutr. 1995, 14, N 1, 18-23.
56. Сняченко О.В., Щербаков К.С., Степанова Н.М. и др. Влияние синглетно-кислородной терапии на физико-химические свойства конденсата влаги выдыхаемого воздуха при хроническом гломерулонефрите // Мед. реабілітація, курортол., фізіотер. 2001, 25, № 1, 34-36.
57. Островський М.М. Роль систем сурфактанту легень та інтерлейкінів в процесі формування затяжного перебігу пневмоній // Укр. пульмон. журн. 2004, № 2, 44, 23-25.
58. Гельцер Б.И., Кривенко Л.Е., Незорова В.А., Лукьянов П.А. Респираторное влаговыведение и значение его исследования в пульмонологии // Тер. архив. 2000, № 3, 46-50.

59. Синяченко О.В., Казаков В.Н., Файнерман В.Б. и др. Новый метод изучения физико-химических свойств конденсата влаги выдыхаемого воздуха // Укр. пульмон. журн. 2000, 30, № 4, 32-34.
60. Нажмутдинова Д.К. Состояние сурфактантной системы лёгких при сахарном диабете // Центр.-Азиатск. мед. журн. 1999, V, № 6, 397-399.
61. Гулямов Ш.Г., Нажмутдинова Д.К. Состояние местной защиты лёгких при экспериментальном сахарном диабете // Пробл. эндокринол. 2000, 46, № 4, 30-32.
62. Engstrom G., Janzon L. Risk of developing diabetes is inversely related to lung function: a population-based cohort study // Diabet. Med. 2002, 19, N 2, 167-170.
63. Vazquez de Lara L., Becerril C., Montano M. et al. Surfactant components modulate fibroblast apoptosis and type I collagen and collagenase-1 expression // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2000, 279, N 5, 950-957.
64. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications // Nature. 2001, 414, N 6865, 813-820.
65. Oldenborg P.A., Sehlin J. Hyperglycemia in vitro attenuates insulin-stimulated chemokinesis in normal human neutrophils. Role of protein kinase C activation // J. Leukoc. Biol. 1999, 65, N 5, 635-640.
66. Farina J., Furio V., Fernandez-Acenero M.J., Muzas M.A. Nodular fibrosis of the lung in diabetes mellitus // Virchows Arch. 1995, 427, N 1, 61-63.
67. Matsubara T., Hara F. The pulmonary function and histopathological studies of the lung in diabetes mellitus // Nippon Ika Daigaku Zasshi. 1991, 58, N 5, 528-536.
68. Asanuma Y., Fujiya S., Ide H., Agishi Y. Characteristics of pulmonary function in patients with diabetes mellitus // Diabetes Res. Clin. Pract. 1985, 1, N 2, 95-101.
69. Isotani H., Nakamura Y., Kameoka K. et al. Pulmonary diffusing capacity, serum angiotensin-converting enzyme activity and the angiotensin-converting enzyme gene in Japanese non-insulin-dependent diabetes mellitus patients // Diabetes Res. Clin. Pract. 1999, 43, N 3, 173-177.
70. Ray C.S., Sue D.Y., Bray J.E. et al. Effects of obesity on respiratory function // Am. Rev. Respir. Dis. 1983, 128, N 3, 501-506.
71. Strohl K.P., Strobel R.J., Parisi R.A. Obesity and pulmonary function // In: Handbook of Obesity. G.A.Bray, C.Bouchard, W.P.T. James (eds.). Marcel Dekker Inc., New York, 1998, 725-739.
72. De Lorenzo A., Petrone-De Luca P., Sasso G.F. et al. Effects of weight loss on body composition and pulmonary function // Respiration. 1999, 66, N 5, 407-412.
73. Collins L.C., Hoberty P.D., Walker J.F. et al. The effect of body fat distribution on pulmonary function tests // Chest. 1995, 107, N 5, 1298-1302.
74. O'Donnell C.P., Schaub C.D., Haines A.S. et al. Leptin prevents respiratory depression in obesity // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999, 159, N 5, Pt. 1, 1477-1484.
75. National Task Force on the Prevention Treatment of Obesity: Overweight, Obesity, and Health Risk // Arch. Intern. Med. 2000, 160, 898-905.
76. Lazarus R., Sparrow D., Weiss S.T. Effects of obesity and fat distribution on ventilatory function: the normative aging study // Chest. 1997, 111, N 4, 891-898.
77. Morgan E.J., Zwillich C.W. The obesity-hypoventilation syndrome // West. J. Med. 1978, 129, N 5, 387-393.
78. Orlowski J.P., Herrell D.W., Moodie D.S. Narcotic antagonist therapy of the obesity hypoventilation syndrome // Crit. Care Med. 1982, 10, N 9, 604-607.
79. Zwillich C.W., Sutton F.D., Pierson D.J. et al. Decreased hypoxic ventilatory drive in the obesity-hypoventilation syndrome // Am. J. Med. 1975, 59, N 3, 343-348.
80. Mantzoros C. S. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence // Ann. Intern. Med. 1999, 130, N 8, 671-680.
81. Chinn D.J., Cotes J.E., Reed J.W. Longitudinal effects of change in body mass on measurements of ventilatory capacity // Thorax. 1996, 51, N 7, 699-704.
82. Rubinstein I., Zamel N., DuBarry L., Hoffstein V. Airflow limitation in morbidly obese, nonsmoking men // Ann. Intern. Med. 1990, 112, N 11, 828-832.
83. Sin D.D., Logan A.G., Fitzgerald F.S. et al. Effect of continuous positive airway pressure on cardiovascular outcomes in heart failure patients with and without Cheyne-Stokes respiration // Circulation. 2000, 102, N 1, 61-66.

84. Stenius-Aarniala B., Poussa T., Kvarnstrom J. et al. Immediate and long term effects of weight reduction in obese people with asthma: randomised controlled study // *BMJ*. 2000, 320, N 7238, 827-832.
85. Simard B., Turcotte H., Marceau P. et al. Asthma and sleep apnea in patients with morbid obesity: outcome after bariatric surgery // *Obes. Surg.* 2004, 14, N 10, 1381-1388.
86. Saint-Pierre P., Bourdin A., Chanez P. et al. Are overweight asthmatics more difficult to control ? // *Allergy*. 2006, 61, N 1, 79-84.
87. Weiss S. Pulmonary function as a phenotype physiologic marker of cardiovascular morbidity and mortality // *Chest*. 2001, 99, 265-266.

Нарушение функционального состояния респираторного отдела легких у больных сахарным диабетом 2 типа и метаболическим синдром (обзор литературы)

О.А.Пивоварова, Б.М.Маньковский¹

Луганский государственный медицинский университет, 91045 Луганск;

¹Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев, Украина

В обзоре литературы показано, что развитие хронических неспецифических заболеваний легких при нарушении углеводного обмена сопровождается рестриктивным типом дыхательной недостаточности, которая переходит в обструктивную при увеличении массы тела и тесно связана с процессами воспаления и иммунопатологии. Вместе с этими изменениями у больных происходит нарушение гемодинамики малого круга кровообращения в виде нарастания давления в системе легочных сосудов, которое сочетается с признаками снижения внутриклеточного синтеза сурфактанта, а также с артериальной гипоксией, повышением артериовенозной разницы по кислороду, что свидетельствует о тканевой гипоксии. К важнейшим патогенетическим механизмам развития хронических неспецифических заболеваний легких относят нарушения в системе местной защиты бронхов и легких, изменение их сурфактантных свойств, нарушение микрогемодинамики. При сочетании сахарного диабета и бронхолегочного воспаления происходит избыточное образование метаболитов оксида азота (пероксинитрита, пероксинитратного аниона), которые оказываются мощными оксидантами и способны повреждать клеточные мембраны.

Ключевые слова: сахарный диабет, метаболический синдром, легкие, газовый состав крови, оксид азота, сурфактант.

Disorder of the functional state of respiratory zone of the lungs in patients with type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome (review of literature)

O.A.Pivovarova, B.N.Mankovskiy¹

Lugansk State Medical University, 91045 Lugansk;

¹V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, Kyiv, Ukraine

In the literature review it is shown that the development of chronic non-specific diseases of the lungs under the disorder of carbohydrate metabolism is accompanied by the restrictive type of respiratory failure which passes to the obstructive one at the increase of body mass and is closely associated with the processes of inflammation and immunopathology. Together with these changes, patients have hemodynamic disorder of lesser circulation manifested as increased resistance of pressure in the system of pulmonary vessels, which is combines with the signs of lowering the intracellular synthesis of surfactant, and also with arterial hypoxia and an increase of arteriovenous difference in oxygen, that testifies to tissue hypoxia. The major pathogenesis mechanisms of the development of chronic non-specific diseases of the lungs include disorder in the system of local defence of bronchial tubes and the lungs, change of their surfactant properties, and abnormal hymphodynamics. There is an excessive formation of nitrogen oxide metabolites (peroxynitrite, peroxynitrate anion) in combination of diabetes mellitus with bronchopulmonary inflammation, which appear to be powerful oxidants able to damage cellular membranes.

Key words: diabetes mellitus, metabolic syndrome, lungs, gas composition of blood, nitrogen oxide, surfactant.

МЕДУЛЯРНИЙ РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ: КЛІНІКА, ДІАГНОСТИКА, ЛІКУВАННЯ, ПРОГНОЗ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ТА ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ)

О.А. Тонковид*, А.Є. Коваленко¹

Київська міська клінічна лікарня № 16, 03110 Київ;

¹Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка
АМН України, 04114 Київ, Україна

В огляді літератури висвітлені сучасні погляди на питання діагностики, патогенезу, клінічних проявів, тактику лікування і результати лікування медулярного раку щитоподібної залози.

За останні 6 років у Київській міській клінічній лікарні № 16 кількість хворих на медулярний рак щитоподібної залози зросла з 1,5% до 3%. Хворі у до- та післяопераційному періоді були комплексно обстежені: ультразвукове, рентгенологічне, радіологічне дослідження, визначення рівня кальцитоніну у крові. Сцинтиграфічне дослідження з ^{99m}Tc-MIBI було виконане у 9 хворих. У 8 з 9 випадків були виявлені метастази медулярного раку щитоподібної залози, що підтверджує високу ефективність використання ^{99m}Tc-MIBI для виявлення метастазів і надійного планування об'єму оперативного втручання.

Ключові слова: медулярний рак щитоподібної залози, клініка, діагностика, кальцитонін, радіоізотопна діагностика метастазів, тактика лікування, прогноз.

Медулярний рак щитоподібної залози (МРЩЗ) становить від 3 до 12% всіх злоякісних новоутворень цієї локалізації [1, 2]. Медулярний рак є особливим різновидом епітеліальних злоякісних пухлин щитоподібної залози (ЩЗ), що розвивається в результаті онкогенної трансформації С-клітин. Вони відрізняються від фолікулярних клітин ЩЗ за походженням, розташуванням в тканині ЩЗ, тинкторіальними властивостями та імуноцитохімічними характеристиками. Найістотношою особливістю С-клітин є функція, яку вони виконують. Вони секретиують кальцитонін – гормон, що бере участь у регуляції мінерального обміну. С-клітини продукують також і інші, близькі до кальцитоніну пептиди, – гастрин-рилізінг-фактор і соматостатин [1-4]. С-клітини є також продуцентами серотоніну та інших біологічно активних сполук.

На відміну від А-тиреоцитів, що походять з ендодерми з зябрової дуги, С-клітини – це похідні нейроектодерми. Вони характеризуються більшими, ніж А-тиреоцити, розмірами, світлою цитоплазмою і позитивною імуноцитохімічною реакцією на кальцитонін, соматостатин і гастрин-рилізінг фактор [1, 5]. Ультраструктурна організація С-клітин також має характерні риси. У їхній цитоплазмі розташовані осміюфільні гранули, що містять кальцитонін та частково серотонін [1-4].

У безхребетних і нижчих хребетних клітини, що синтезують кальцитонін, об'єднані в спеціалізовані органи – ультимобронхіальні тільця. Останні просторово відокремлені від ЩЗ і, на відміну від неї, беруть участь у регуляції мінерального обміну. У вищих хребетних С-клітини «вкраплені» у тканину ЩЗ. Однак вони не зовсім можуть бути віднесені до клітинних компонентів тиреоїдної паренхіми, а входять до складу так званої АПУД-системи [1-5].

* Адреса для листування (Correspondence): Київська міська клінічна лікарня №16, вул. Рейтарська, 22, Київ, 03110, Україна; E-mail: tonk@svitonline.com

Розрізняють спорадичну і спадкову форми МРЩЗ. У 70% випадків пухлини з С-клітин ЩЗ виникають спорадично. В інших випадках МРЩЗ розвивається внаслідок спадкових аномалій, що уражають і інші органи ендокринної системи. Виділяють, принаймні, три клінічних синдроми, що часто зустрічаються у близьких родичів, при яких МРЩЗ діагностується на тлі інших ендокринопатій. Так, у 15-20% випадків МРЩЗ являє собою один із проявів множинної ендокринної неоплазії 2-А типу (МЕН-2А). При цьому спадковому захворюванні розвиток МРЩЗ сполучається з двосторонніми феохромоцитомами наднирників і різко вираженою гіперфункцією прищитоподібних залоз. У 10-15% випадків МРЩЗ діагностується у хворих із множинною ендокринною неоплазією 2-В типу (МЕН-2В). Ця спадкова аномалія характеризується двобічними феохромоцитомами наднирників, множинними гангліоневриномами слизової кишківника і двобічною гіперплазією зорових нервів. Нарешті, до спадкових захворювань ендокринної системи відноситься і поєднання МРЩЗ із рідкісним клінічним синдромом – дифузною гіперплазією С-клітин. У цих випадках зкупчення пухлинних С-клітин спостерігається в обох частках ЩЗ, а також у слизовій кишківника, де розташовані острівці клітин АПУД-системи, генетично близьких С-клітинам ЩЗ [1, 2, 3].

Морфологічна характеристика медулярного раку щитоподібної залози

Гістологічна картина МРЩЗ дуже неоднорідна. В одних випадках пухлина представлена полями чи гніздами пухлинних клітин, що оточені фіброзною стромою, яка містить аморфні маси амілоїду. Включення амілоїду як в первинній пухлині, так і в метастазах різноманітні, але в більшості випадків амілоїд займає великі ділянки, які виявляються і серед пухлинних клітин. Клітини переважно дрібні, округлі чи витягнуті, з гіперхромним ядром, але можуть зустрічатися і веретеноподібні клітини. Нерідко зустрічаються мітози. Некрози, як правило, не зустрічаються. Частіше в пухлині переважає один тип клітин, вона може бути побудована майже повністю з круглих чи витягнутих клітин. Рідше зустрічаються поліморфні клітини. Іноді переважає веретеноподібна будова. Слід підкреслити важкість діагностики медулярного раку ЩЗ. Для диференційної діагностики МРЩЗ необхідне проведення імуногістохімічних реакцій з антитілами до кальцитоніну і тиреоглобуліну [6].

Звичайно спостерігається солідний ріст пухлинних клітин. Іноді вони формуються в невеликі гнізда чи тяжі, розташовані серед фіброзної сполучної тканини. В одних випадках строма превалює над паренхімою пухлини, тоді комплекси пухлинних клітин розкидані серед фіброзної сполучної тканини і утворюють скірозний тип будови. В інших випадках фіброзна тканина зустрічається лише у вигляді невеликих прошарків серед солідних розростань пухлинних клітин – утворюється медулярний тип пухлини. Іноді пухлинні клітини утворюють псевдозалозисті чи псевдопапілярні структури. Включення амілоїду можуть бути розташовані як в стромі, так і між пухлинними клітинами. В цих випадках амілоїд, оточений пухлинними клітинами, створює видимість фолікулів, що містять колоїд. Амілоїд може бути відсутнім в медулярному раку ЩЗ, тому на сучасному етапі використовується імуногістохімія [6].

При гістологічному дослідженні наявність амілоїду вважалась патогномонічною ознакою медулярного раку. Але виявилось, що амілоїд не завжди присутній в цій пухлині. Виявлення амілоїду в інших пухлинах, що гістогенетично пов'язані з клітинами АПУД-системи, значно знижує цінність даного критерію. Яку роль відіграє амілоїд при МРЩЗ до теперішнього часу

остаточно не з'ясовано. Раніше передбачалося, що амілоїд в цих пухлинах є видозміненим тиреоглобуліном, що секретується в строму. Багато дослідників вважають, що амілоїд в пухлинах є продуктом ракових клітин, проте деякі автори підкреслюють роль стромальних клітин в продукції амілоїду [1, 7, 8].

Медулярні карциноми, що не містять амілоїд, становлять 18% і є прихованими первинними пухлинами. Відсутність амілоїду в медулярних карциномах часто пов'язана з гіршим прогнозом. В стромальній тканині можуть визначатися відкладення кальцію, іноді пов'язані з амілоїдом. Інвазія в лімфатичні судини більш характерна, ніж в кровоносні [8].

Класифікація ВООЗ 2004 року виділяє такі варіанти МРЩЗ [9]:

1. Папілярний.
2. Фолікулярний або тубулярний.
3. Гігантоклітинний.
4. Веретенноклітинний.
5. Дрібноклітинний.
6. Парагангліомоподібний.
7. Оксифільноклітинний (онкоцитарний).
8. Світлоклітинний.
9. Ангіосаркомоподібний.
10. Сквамозноклітинний.
11. Меланінпродукуючий.
12. Кальцитонін-муцинпродукуючий.
13. Змішана карцинома, що представлена С-клітинами та фолікулярними клітинами.

В медулярних карциномах можуть визначатися ділянки залозистої, папілярної, гігантоклітинної, дрібноклітинної, оксифільноклітинної і світлоклітинної будови, іноді виявляються ділянки плоскоклітинної метapлазії, а також меланін- чи муцинпродукуючі клітини. В низькодиференційованих медулярних карциномах посилюються ознаки клітинної атипії, мітотичної активності. В них визначаються окремі кальцитонін-реактивні клітини і дифузна реакція на раковий ембріональний антиген, некрози, в стромі часто відсутній амілоїд. Такі пухлини мають більш несприятливі прогнози [8].

Змішані медулярно-фолікулярні карциноми характеризуються гістологічними ознаками медулярної і фолікулярної карцином з наявністю фолікулярних і солідних ділянок. Пухлини містять тиреоглобулінпозитивні клітини і колоїд; клітини, що містять пептидні гормони, включаючи кальцитонін, соматостатин і нейротензин, а також клітини з одночасним вмістом тиреоглобуліну і кальцитоніну. Враховуючи наявність таких ознак, більшість авторів використовують по відношенню до цих пухлин термін «проміжна тиреоїдна карцинома». Навколо пухлини часто визначаються відкладення муцину і ділянки С-клітинної гіперплазії. Найвірогіднішим методом, що використовується в диференційній діагностиці медулярно-фолікулярних карцином, є метод *in situ* гібридизації. Ультрaструктурно виявляються два типи неопластичних клітин з ознаками фолікулярного і С-клітинного диференціювання, відповідно, а також наявність амілоїду в стромі пухлин і оксифільні клітини, багаті на мітохондрії [6, 8].

Електронномікроскопічні дослідження також допомагають діагностувати медулярні карциноми. Пухлинні С-клітини характеризуються наявністю електроннощільних, обмежених мембранами, секреторних гранул, що містять кальцитонін, хромогранін А та інші пептиди. В стромі пухлини і в неопластичних клітинах визначається амілоїд, що дає позитивне забарвлення на кальцитонін. При електронній мікроскопії в МРЩЗ, незалежно від

його гістологічного варіанту, виявляються дві групи клітин: ультраструктурно диференційовані (з цитоспецифічними ознаками С-клітинного диференціювання) і недиференційовані (без цих ознак). При МРЩЗ немає співпадання між гістологічною будовою пухлини і ступенем її ультраструктурного диференціювання. Прогноз захворювання тим кращий, чим більше в пухлині міститься ультраструктурно диференційованих клітин, більш розвинуті десмосоми, і чим менше темних клітин [7, 8].

Молекулярна генетика

Етіологічним чинником захворювань з синдромами множинної ендокринної неоплазії і сімейного МРЩЗ є спадкові мутації в протоонкогені RET. В організмі людини ген RET експресується в нормальних і пухлинних тканинах нейроендокринного диференціювання, включаючи парафолікулярні С-клітини і МРЩЗ, мозковий шар наднирників і феохромоцитому, нейробластому, периферичні нерви і їх пухлини. Генетична причина синдромів типу МЕН-2 була вперше описана в 1993 році. Вона полягає в мутаціях протоонкогену RET в перичентромерній ділянці хромосоми 10. Цей ген кодує тирозинкіназний рецептор і виявлені точкові мутації сполучають його експресію з конститутивним промотором, що зумовлює постійну активацію тирозинкінази. Такі спадкові мутації можна визначити в 95% уражених сімей; вони схожі зі спорадичними мутаціями, що знайдені в деяких випадках папілярного раку і нагадують інактивуючі мутації протоонкогена RET, які асоціюються з хворобою Гіршпрунга [10].

На основі комплексного клініко-генеалогічного, генетико-біологічного і молекулярно-генетичного вивчення сімей з МРЩЗ розроблені фенотипові критерії, що дозволяють ідентифікувати спадкові варіанти. В групу ризику відносять родичів хворих з наявністю:

1. Марфаноподібного фенотипу, феохромоцитомі чи інших ендокринопатій.
2. Підвищеного вмісту кальцитоніну і ракового ембріонального антигену у сироватці крові.
3. Мутацій протоонкогена RET.

Проведені таким чином дослідження дозволяють діагностувати схильність родичів до розвитку МРЩЗ і включати їх в групи так званого генетичного ризику для динамічного спостереження і вирішення питання про профілактичну тиреоїдектомію [7].

Клінічні дані

Медулярний рак ЩЗ характеризується відносно повільним перебігом. Від появи перших ознак захворювання до звернення до лікаря може проходити від місяця до декількох років. Найчастішою скаргою хворих є наявність пухлинного вузла в ділянці ший. Слід відмітити, що збільшення ЩЗ не завжди визначається на початкових стадіях розвитку медулярного раку. Лише у 58,6% хворих першим симптомом є наявність вузлів в ЩЗ. Для цієї форми пухлини ЩЗ характерна висока частота регіонарного метастазування. В момент звертання і обстеження метастази виявлені у 76% хворих. Виявлено, що залежності частоти ураження лімфатичних вузлів від розмірів пухлини в ЩЗ немає. В 17,9% випадків спостерігалось метастазування в лімфатичні вузли ший з обох сторін чи середостіння.

Встановлено, що для медулярного раку, як і для диференційованих форм пухлин ЩЗ, можлива наявність так званої прихованої форми, що складає 13,7% від всіх випадків [7]. Виявлення пухлинних вузлів на боковій поверхні ший, особливо в її верхніх відділах при первинній пухлині, що не

пальпується, представляє значні труднощі для встановлення не тільки клінічного діагнозу медулярного раку, але і раку ЩЗ взагалі. Причиною цього може бути відсутність характерних для даної форми пухлини клінічних симптомів і схожість за цитологічною картиною з хемодиктомою, парагангліомою, карциноїдом. Тому необхідно проводити імуногістохімічні дослідження з антитілами до кальцитоніну.

МРЩЗ є гормонально активною пухлиною. Клінічно це проявляється яскравими симптомами. Діарея відмічається у 14% хворих. Після радикального видалення пухлини вона звичайно проходить і може відновитись тільки при рецидиві захворювання. Симптом вазомоторної реакції, що супроводжується раптовим почервонінням обличчя, відчуттям жару, частішанням пульсу і підвищенням артеріального тиску, спостерігається у 6,7% пацієнтів [7].

Для спадкової фроми цього захворювання характерні також специфічні шкірні прояви [11]. Найчастіше в міжлопаточній ділянці шкіри можуть визначатися ділянки гіперпігментування. Це відкладання аморфноподібного амілоїду між дермою і епідермісом.

Діагностика

У літературі широко обговорюється питання про раннє виявлення і диференціальну діагностику МРЩЗ [12-19]. Методи діагностики містять у собі клінічні, лабораторні, біохімічні, радіологічні дослідження, що відрізняються між собою чутливістю і специфічністю в рішенні поставленої задачі. Найпростішим є ультразвукове дослідження ЩЗ.

При ультразвуковому дослідженні (УЗД) вогнища медулярного раку, на відміну від інших злоякісних епітеліальних пухлин ЩЗ, візуалізуються як гіпоехогенні зони різного розміру і форми з осередками різко підвищеної акустичної щільності. Вважають, що гіперехогенні ділянки в розташуванні ракової тканини у хворих з МРЩЗ обумовлені появою зон, що містять амілоїд. Відкладення амілоїду в МРЩЗ є наслідком підвищеної секреторної активності С-клітин. Збільшення інтенсивності відображення ехосигналів ділянками тканини МРЩЗ пов'язують також і з реактивним фіброзом, появою осередків окостеніння, відкладенням кальцифікатів та ін.

Зростання акустичної щільності ЩЗ при медулярному раку, а також поява гіперехогенних зон у шийних лімфатичних вузлах представляють діагностичний інтерес. Як відомо, злоякісні пухлини ЩЗ, що походять з А-клітин фолікулярного епітелію, на ультрасонограмах звичайно візуалізуються як гіпоехогенні чи ізоехогенні утворення. Осередки кальцифікації, характерні для папілярного і фолікулярного раку ЩЗ, також візуалізуються на ультрасонограмах як гіперехогенні ділянки. Однак вони ідентифікуються як дрібні включення. Відмінною рисою медулярного раку є великі за площею гіперехогенні ділянки.

Ультразвукове сканування у хворих МРЩЗ дозволяє одержати важливу додаткову інформацію. На підставі вивчення співвідношень між гіпоехогенними зонами і ділянками з різко підвищеною інтенсивністю ехосигналів можна визначити стадію розвитку МРЩЗ. Ультразвукове дослідження рекомендують застосовувати і як метод скринінгу при обстеженні родичів хворих з медулярним раком, враховуючи можливість спадкової форми хвороби. Можливість розпізнавання ранніх змін у тиреоїдній паренхімі визначає доцільність використання ультрасонографії для скринінгу МРЩЗ у найближчих родичів хворого.

Таким чином, за допомогою ультрасонографії можна одержати додаткову діагностичну інформацію при обстеженні пацієнтів з МРЩЗ. Для цієї пухлини характерна поява великих зон з підвищеною акустичною

ехогенністю в ділянках розвитку первинного пухлинного вузла, ці гіперехогенні зони мають велику площу. Крім того, розвиток метастазів папілярного раку ЩЗ супроводжується зниженням ехогенності збільшених у розмірах лімфатичних вузлів шиї. На відміну від цього, метастази МРЩЗ у шийних лімфатичних вузлах візуалізуються як гіперехогенні локуси без чітких границь [20].

На сучасному етапі у всіх випадках ультразвукове дослідження необхідно доповнювати застосуванням тонкоіголкової аспіраційної пункційної біопсії (ТАПБ) з подальшим цитологічним дослідженням. За умови використання імуногістохімічних досліджень це дозволяє визначати наявність МРЩЗ до операції.

ТАПБ у практиці почали використовувати недавно. Вперше у 1987 році С. Kaufmann почав проводити пункцію ЩЗ троакаром та досліджувати отриману тканину гістологічно [4]. Поступово, з часом, дана методика була модифікована та удосконалена. Простота, доступність, точність та швидкість отримання результатів принесли цьому методу величезну популярність. Правильний діагноз встановлюється в 90-92% випадків папілярної карциноми, що робить цю методику однією з найінформативніших та найефективніших [17, 21-26]. За даними літератури, загальна точність ТАПБ коливається від 70 до 97% [27, 28]. В.Ж. Бржезовський зі співавторами [7] встановили, що діагноз медулярного раку ЩЗ за допомогою ТАПБ з подальшим цитологічним дослідженням можна встановити лише у 32%.

В даний час усі дослідники схильні використовувати також відносно простий і досить ефективний спосіб діагностики медулярного раку визначенням рівня кальцитоніну у сироватці крові пацієнтів, виходячи з біологічних особливостей даної пухлини [15-19, 29, 30]. Більш патогномічним симптомом цієї рідкісної форми пухлини є різке зростання кальцитоніну у крові [31].

Кальцитонін (Кт) є специфічним та чутливим маркером для медулярного раку ЩЗ, особливо для його сімейної форми [31]. За результатами проведених досліджень, частота підвищеного рівня кальцитоніну з підтвердженням у подальшому медулярним раком ЩЗ зустрічається в 0,57-0,84% випадків вузлової патології ЩЗ [23, 32]. Автори цих двох широкомасштабних робіт (469 та 1385 обстежених хворих з нодулярною патологією) прийшли до висновку про необхідність рутинного дослідження кальцитоніну серед пацієнтів з нодулярною патологією. І це незважаючи на те, що МРЩЗ досить нечасто зустрічається серед всіх випадків тиреоїдного раку. Тому питання про впровадження в практику вимірювання рівня кальцитоніну серед хворих з вузловою патологією для раннього виявлення МРЩЗ – постійно дискутується. Ці автори вважають рутинне дослідження кальцитоніну доцільним, так як це призводить до значного покращення прогнозу хворих з медулярним раком, що виявлений на ранній стадії, та економічно вигідним (рутинне дослідження кальцитоніну є дешевшим, ніж лікування ускладнень та рецидивів у хворих з МРЩЗ). Кальцитонін є чутливим маркером для МРЩЗ та С-клітинної гіперплазії. В останньому випадку УЗД не є інформативним [33]. Хоча для хворих з солітарним вузлом досить високу ефективність можна отримати за допомогою ТАПБ. У випадках наявності багатовузлового зоба ефективність ТАПБ знижується і визначення рівня кальцитоніну може допомогти в діагностиці МРЩЗ незначних розмірів.

За наявності випадків медулярного раку чи синдрому МЕН в сім'ї визначення кальцитоніну є обов'язковим діагностичним кроком. Обов'язковому обстеженню підлягають родичі хворого, у якого випадково був діагностований МРЩЗ. Але необхідно пам'ятати, що підвищений рівень кальцитоніну може мати місце при С-клітинній гіперплазії, карциноїдному синдромі,

деяких пухлинах легень, нейроендокринних пухлинах, нирковій недостатності [34]. Крім того, не всі випадки МР діагностуються з допомогою визначення кальцитоніну. Більш вірогідним вважається рівень стимульованого кальцитоніну. У здорових осіб рівень базального гормону менший 10 пг/мл [34]. Після введення пентагастріну рівень кальцитоніну нижчий 30 пг/мл мають 96% здорових людей та від 30 до 50 пг/мл – 4% здорових людей. Результат 30-100 пг/мл є сумнівним, що може свідчити на користь С-клітинної гіперплазії та МРЩЗ, а рівень кальцитоніну понад 100 пг/мл свідчить на користь МРЩЗ [34, 35].

Значну діагностичну та прогностичну цінність має визначення кальцитоніну у хворих, у яких МР верифіковано цитологічно. По-перше, це виявлення можливості пухлини синтезувати кальцитонін для подальшого моніторингу хворого у післяопераційному періоді. По-друге, показники кальцитоніну до операції корисні для визначення прогнозу захворювання.

В.Ж. Бржезовський із співавт. [7] виявив, що високий вміст кальцитоніну у сироватці хворих відмічається у 97% випадків. Цей показник повернувся до норми після оперативного лікування лише у 37,5% хворих, у 62,5% – залишався підвищеним. Серед останньої групи хворих у подальшому рецидив захворювання діагностований в 54,3% випадків і 45,7% хворих спостерігались без ознак пухлинного процесу у строки від 5 до 10 років.

Р. Cohen та співавт. [31] відкрили закономірність кореляції доопераційного рівня кальцитоніну та розміру МРЩЗ, причому ця залежність більше виражена для сімейного медулярного раку, ніж спорадичного. Рівень кальцитоніну вищий за 1000 пг/мл відповідає середньому розміру пухлини 25 мм. Рівень кальцитоніну менший за 1000 пг/мл мають пухлини середнього розміру 7 мм, а при його рівні до 100 пг/мл – 3 мм.

Високий вміст кальцитоніну (більше 1000 пг/мл) асоціюється з наявністю віддалених метастазів в 10,5% випадків. Доопераційний рівень кальцитоніну менший 50 пг/мл є предиктором його нормалізації в післяопераційному періоді, а значить – курабельності захворювання (в 98% випадків) [31]. При доопераційному вмісті кальцитоніну більшому ніж 50 пг/мл нормалізація його після операції траплялась лише в 41,7% випадків.

До недавнього часу єдиним методом виявлення хворих серед членів родин зі спадковим сімейним МРЩЗ залишався біохімічний скринінг з щорічним проведенням пентагастрінової проби і визначенням рівня кальцитоніну у сироватці. Такий спосіб давав як неправдиво позитивні (що призводило до невиправданої тиреоїдектомії), так і неправдиво негативні результати, в силу чого не вдавалось попередити метастазування пухлини. У теперішній час існують лабораторії, де є можливість секвенувати протоонкоген RET та ідентифікувати його мутації з використанням крові чи букальних мазків пробанда. Визначення мутацій значно спрощує скринінг інших членів родини. Такий підхід ефективніший і менше коштує, ніж повторні визначення кальцитоніну, та дозволяє профілактично проводити тиреоїдектомію для попередження розвитку раку. Генетичне тестування рекомендується проводити всім хворим на МРЩЗ, так як сімейний анамнез і морфологія пухлини не завжди дозволяють відрізнити сімейні випадки захворювання. Якщо ж мутації RET в таких випадках виявити не вдалось, то слід подовжити скринінг з аналізом зчеплення [10].

Комп'ютерна томографія (КТ) має чудові діагностичні характеристики, так як може зафіксувати різницю у щільності тканин в 0,5%, що значно більше у порівнянні з рентгенівськими технологіями (5-10%) [1]. Тиреоїдний об'єм з допомогою КТ можна визначити з точністю 88% [36]. Перевагою над УЗД є можливість дослідити тканину ЩЗ, що знаходиться ретростернально, інтраторакально та ретротрахеально; можливість одноментно оцінити оточуючі щитоподібну залозу тканини (лімфатичні вузли,

стравохід, хребці, трахею); можливість відразу дослідити ділянки голови, шиї, грудної клітки.

Недоліками КТ є висока ціна, довгий час дослідження, можливість артефактів, спричинених ковтанням та диханням, опромінення (1-4 рад), недостатня контрастність в ділянці шиї та середостіння [37-40]. КТ, так як і УЗД, не може диференціювати доброякісні вузли від злоякісних [37-40]. Пункційна біопсія під контролем КТ можлива, але процедура складніша, ніж при використанні УЗ-керованої ТАПБ [41]. ЩЗ добре візуалізується на КТ, так як містить велику кількість йоду, і щільність ЩЗ на КТ корелює із вмістом йоду, що може використовуватись для оцінки кількості йоду [42]. Використання контрастування при КТ ЩЗ є проблемним питанням у зв'язку з можливим виникненням йод-індукованого тиреотоксикозу та впливу на подальшу сцинтиграфію [41, 43].

КТ-характеристики медулярного раку ЩЗ не є абсолютними, так як і при УЗД. Звичайно, це виглядає як гіпоехогенне утворення з кальцифікатами, що зустрічаються рідше, ніж при папілярному раку ЩЗ. С-клітинна гіперплазія не візуалізується при КТ [22]. Отже, КТ не може диференціювати злоякісну та доброякісну патологію ЩЗ, як і УЗД ЩЗ. При запущеній формі онкопроцесу КТ дозволяє встановити необхідний об'єм оперативного втручання та післяопераційного лікування [43].

Магнітно-резонансна томографія (МРТ) має практично такі ж переваги та недоліки, як і КТ. Висока точність при визначенні анатомічних структур, найбільша контрастність тканин, можливість дослідити зони, що недоступні при УЗД та неспецифічність щодо диференційної діагностики доброякісних і злоякісних утворень в ЩЗ [1, 44]. При застосуванні МРТ можливе використання контрастної речовини (гадоліній), що дозволяє візуалізувати васкуляризацію пухлини [45]. Крім вищезгаданих для КТ недоліків (висока ціна, довгий час дослідження), для МРТ також характерні інші: проблема даного дослідження для хворих з клаустрофобією (5-10%) та необхідність седації в деяких випадках (особливо для дітей) [46]. Якість дослідження падає при будь-яких рухах (наприклад, ковтанні) і кальцифікати краще помітні при КТ [47, 48]. Метод МРТ не дає можливості диференціювати лімфаденопатію запального та метастатичного генезу; збільшити ефективність може введення гадолінію [45].

Крім того, МРТ не може використовуватися при наявності у хворого кардіостимулятора, післяопераційних кліпс на аневризмах, кохлеарних імплантатів, феромагнетичних очних фрагментів. Дрібні металеві фрагменти зменшують якість, але не перешкоджають дослідженню [1].

Злоякісні пухлини на МРТ виглядають як гіперінтенсивні утворення на T1 та T2 зважених зображеннях (33). Але при цьому наявність ізо- чи гіпоінтенсивного зображення на T1 33 не виключає вірогідність карциноми. Що стосується переваг МРТ, то це можливість оцінки розповсюдженості процесу і залучення в процес сусідніх структур та органів. Чутливість МРТ у виявленні регіонарного метастазування сягає 80% [43]. Розмір лімфатичних вузлів, що візуалізується з допомогою МРТ, 2-3 мм. Гіперінтенсивний сигнал на T1 та T2 33 в зоні лімфатичних вузлів збільшує вірогідність наявності в них метастазів. Пухлинна інфільтрація проявляється на T2 33 гіперінтенсивним сигналом. T1 33 допомагають в диференційній діагностиці пухлинної тканини та запальної.

Отже, серед інструментальних методів дослідження, враховуючи всі переваги та недоліки, УЗД ЩЗ є ефективним та доступним методом у порівнянні з КТ чи МРТ. Останні методи дослідження доцільно застосовувати при підозрі на загрудинне розміщення вузла, для дослідження розповсюдженості раку ЩЗ (залучення лімфовузлів середостіння чи локалізації віддалених метастазів).

Особливий розвиток в останні роки одержали методи візуалізації пухлини за допомогою Тl-хлориду-201, 131-I-MIBG, 123-I-MIBG, 111-In-октреотиду [12, 14-17]. Однак ці методи використовуються більше для виявлення рецидивів захворювання і метастазів.

Для первинної діагностики пухлини, а також для спостереження за розвитком МРЩЗ використовується комбінація метаболічних (99-м-Tc(V)-DMSA) і рецепторних (111-In-DTPA-[D-Phe1-I-pentetreotide]) радіофармпрепаратів, одержання зображень з яких є чутливішим для візуалізації пухлин, ніж використання цих РФП поодиночі [17]. Однак проблеми діагностики не є цілком вирішеними, у зв'язку з чим залишається досить високим відсоток виявлення МРЩЗ на етапах місцевого поширення пухлини і віддаленого метастазування [30].

Лікування

У літературі ведеться активне обговорення питання про лікування хворих МРЩЗ, методи якого обумовлені функціональною характеристикою пухлини, можливостями ранньої діагностики пухлини, наявністю регіонарних і віддалених метастазів, рецидивів пухлини, що визначає прогноз для життя хворих.

Основним методом лікування МРЩЗ є хірургічний (тотальна тиреоїдектомія). Необхідність настільки радикального підходу до хірургічного лікування МРЩЗ практично при будь-якій величині первинної пухлини пояснюють дуже частим багатофокусним пухлинним ростом [48]. При наявності метастазів у шийні лимфовузли рекомендується одно- чи двостороння шийна дисекція [12-16, 49]. Ряд дослідників пропонують проводити превентивну лімфаденектомію в зв'язку з ранньою і високою частотою метастазування в лимфовузли ший [16, 49].

Однак в останні роки був опублікований ряд наукових праць (це стосується пострадянського простору), у яких автори наводять дані про те, що в ряді випадків (диференційовані варіанти медулярного раку щитоподібної залози, розміри пухлини до 2 см, молодий вік хворих, жіноча стать) можна виконувати більш щадні об'єми хірургічного лікування – гемітиреоїдектомію з резекцією перешийка. При подальшому динамічному спостереженні за такими хворими не було виявлено жодного випадку рецидиву, а протягом 5 років від генералізації процесу загинули 13% хворих. При розмірах пухлини від 2 до 4 см виконувалася субтотальна резекція залози, при цьому рецидиви були виявлені в 8,7% випадків [7, 50].

Інші методи лікування – дистанційна гамма-терапія, хіміотерапія при МРЩЗ малоефективні і не роблять істотного впливу на виживаність хворих та тривалість безрецидивного перебігу.

Агресивний характер захворювання обумовлює застосування хіміотерапевтичних препаратів і дистанційної гамма-терапії, особливо при розповсюджених формах захворювання, генералізації процесу з поширенням на кістки, легені і печінку і неможливості проведення хірургічного лікування [51, 52, 53-55], хоча ефективність цих методів дуже обмежена [54, 55].

У деяких випадках хіміотерапія має значний протипухлинний ефект, однак частіше це супроводжується великою токсичністю препаратів і не призводить до значущого збільшення тривалості життя хворих. Необхідно відзначити, що токсичність хіміопрепаратів, дискомфорт, зв'язаний з лікуванням, а також їхню велику вартість відчувають на собі і більшість хворих, у яких пухлина виявилася нечутливою до фармакотерапії.

Донедавна, коли ефективність окремих протипухлинних препаратів не перевищувала 15-20% [56-59], більшість лікарів відносилися стримано і скоріше негативно до призначення цитостатиків при місцево розповсюдженому і дисемінованому МРЩЗ. Показано, що комбінована хіміотерапія має

переваги у порівнянні з використанням одного препарату, наприклад, доксорубіцину [60, 61, 62-65]. З впровадженням у практику комбінацій препаратів, що включають похідні платини, антрацикліни, етопозид, активність лікарів щодо застосування хіміотерапевтичних препаратів значно зросла. Стандартні комбінації цисплатина чи карбоплатина з етопозидом і адриабластином, що стали застосовуватися протягом останнього десятиліття, дають позитивний ефект у 15-30% [60, 61, 62-65], хоча деякі дослідники оцінюють ефективність комбінованої хіміотерапії МРЩЗ у 60% [65, 66]. Впровадження у практику протягом останніх років принципово нових хіміопрепаратів, що мають протипухлинну активність у відношенні МРЩЗ, таких як таксони, викликало нову хвилю зацікавленості до застосування цитостатиків при лікуванні розповсюджених форм МРЩЗ [66, 67].

У 80-х роках минулого сторіччя був розроблений і вперше застосований радіофармацевтичний препарат – 131-I-метайодбензилгуанідин (131-I-MIBG) – аналог гуанітидина, тропний до пухлин, що беруть свій початок з невального гребінця.

Для пухлин, що розвиваються з ембріональної нервової тканини, характерне активне захоплення 131-I-MIBG клітинною мембраною і цитоплазматичною гранулою, здатних накопичувати й утримувати цей радіофармацевтичний препарат.

Ефективність застосування 131-I-MIBG при лікуванні медулярного раку становить 30-38%, паліативний ефект досягається в 50-60% випадків [1]. Крім того, 131-I-MIBG можна застосовувати за наявності метастазів цих пухлин у кістках і печінці. Основною побічною дією 131-I-MIBG є нудота, зрідка можливі мієлодепресія і тромбоцитопенія. Побічні реакції з боку слинних залоз, міокарда і печінки відсутні.

Методи діагностики рецидиву та метастазів МРЩЗ

За допомогою методу ультразвукового сканування можна робити пошук локальних рецидивів медулярного раку у хворих після тиреоїдектомії [20], а також розпізнавати лімфогенні метастази медулярного раку щитоподібної залози. Метастази МРЩЗ у шийних лімфатичних вузлах візуалізуються як гіперехогенні локуси без чітких меж [20].

Сцинтиграфія з ^{99m}Tc -МІБІ має високу чутливість у визначенні метастатичних уражень, особливо в лімфатичних вузлах (47-81%). Описують високу інформативність методу при виявленні метастазів МРЩЗ [68-71]. Важливість даної методики пояснюється тим, що у хворих з МРЩЗ необхідно вчасно виявити розвиток, локалізацію, розміри та розповсюдженість метастазів для своєчасного обрання найефективнішої схеми їх лікування, що в подальшому значно впливає на прогноз життя.

Виявлення метастазів МРЩЗ з допомогою ^{99m}Tc -МІБІ є ефективним додатковим засобом для планування об'єму оперативного втручання [68-71].

Віддалені результати

10-річна виживаність, за даними M. Schlumberger, становить 65% [5]. На прогноз захворювання впливає багато чинників, а саме: стадія хвороби, розмір пухлини, наявність шийних метастазів, віддалених метастазів, вік та стать хворого, тип МРЩЗ (спорадичний чи спадковий).

В.Ж. Бржезовський зі співат. відмічають, що при III стадії захворювання 5-річна виживаність після комбінованого лікування дорівнює 60%, а 10-річна – 48,6% [7].

На сьогоднішній день залишається багато дискусійних відкритих питань, що стосуються МРЩЗ. Ці питання стосуються клініки, діагностики та лікування даної патології. Так, нерозв'язане питання – це тактика

хірургічного лікування пацієнтів з медулярним раком ЩЗ. Об'єми операції коливаються від гемітиреоїдектомії до тотального видалення ЩЗ з профілактичною дисекцією ший. Інша проблема стосується тактики післяопераційного ведення хворих з даною патологією, що пов'язано з низькою чутливістю медулярного раку до відомих радіоізотопів.

Власні спостереження

За даними клініки Київської міської лікарні № 16, кількість хворих на МРЩЗ за останні 6 років зросла з 1,5% до 3%. Всім хворим з МРЩЗ було виконано тотальне видалення ЩЗ з центральною та боковою (при необхідності) дисекціями ший. Всі вони у до- та післяопераційному періоді були комплексно обстежені.

Сцинтиграфія з ^{99m}Tc -МІБІ для діагностики захворювань щитоподібної і прищитоподібних залоз застосовується в нашій клініці з 2000 року. За цей час ми виконали 147 досліджень, з них 130 – при патології ЩЗ. Пацієнту внутрішньовенно вводили 555-740 MBq радіофармпрепарату з реєстрацією ранньої фази (через 10 хв) та пізньої фази (через 120 хв) його розподілу в організмі. Після чого проводилась візуальна оцінка всіх отриманих зображень з урахуванням особливостей ступеня накопичення і розподілу даного радіофармпрепарату.

З групи хворих на МРЩЗ методом сцинтиграфії з ^{99m}Tc -МІБІ обстежено 9 осіб. Строки спостереження після операції в даній групі були від 6 міс до 18 років. Всі хворі після операції отримали променеву терапію та замісну гормональну терапію (L-тироксином). При спостереженні за цими пацієнтами були використані такі дослідження: визначення рівня кальцитоніну крові, ультразвукове дослідження ший, ТАПБ вогнищевого утворення (при можливості виконання), комп'ютерна томографія (при необхідності).

За результатами лабораторних досліджень рівень кальцитоніну крові у них коливався в межах від 10,5 до 1044 нг/л (при нормі 0,07-12,97 нг/л). У 5 хворих з групи обстежуваних він був підвищеним, а у 4 хворих знаходився у межах встановленої норми, що могло б свідчити про відсутність рецидиву захворювання. Однак методом сцинтиграфії з ^{99m}Tc -МІБІ у 8 з 9 пацієнтів були виявлені метастази медулярного раку щитоподібної залози. Всі ці 8 пацієнтів згодом були прооперовані. Діагноз метастазів МРЩЗ був підтверджений при інтраопераційному експрес-гістологічному та остаточному патогістологічному дослідженнях.

Приклад 1. Хвора Б., 1940 р. н. В 1986 році прооперована, виконано розширену резекцію ЩЗ з приводу медулярного раку. Після операції пройшла курс променевої терапії. В лютому 2004 р. виявили рівень кальцитоніну 1144,0 нг/л. За УЗД виявили множинні лімфатичні вузли ший справа. Для уточнення характеру процесу вирішено провести сцинтиграфію з ^{99m}Tc -МІБІ, при якій відмітили накопичення радіофармпрепарату в проекції як правої частки ЩЗ, так і вогнищеве накопичення в проекції верхнього полюса лівої частки, що свідчить про наявність метастазів медулярного раку. 26.03.2004 року виконано видалення культі лівої долі ЩЗ, видалення лімфовузлів судинно-нервового пучка ший справа. За даними патогістологічного дослідження діагноз метастазів МРЩЗ підтвердився.

Приклад 2. Хвора Т., 1955 р. н. Оперована 24.12.1996 р. – тотальне екстрафасціальне видалення ЩЗ, видалення лімфовузла ший зліва. Патогістологічне дослідження – медулярний рак правої частки ($d = 3$ см) ЩЗ; метастаз у ліву частку ЩЗ та лімфовузол ший зліва. Після операції пройшла курс променевої терапії. 5.08.1997 виконано видалення лімфовузла ший справа. Патогістологічним дослідженням підтверджено метастази медулярного раку ЩЗ в лімфатичні вузли ший. Отримала ще один курс проме-

невої терапії. В 2002 році виявили, за даними ультразвукового дослідження, збільшені лімфовузли шийї справа. Рівень кальцитоніну – 15,2 нг/л. За даними тонкоголкової аспіраційної пункційної біопсії в досліджених вогнищевих утвореннях шийї справа метастазів не знайдено. Додатково призначили сцинтиграфію ділянки ЩЗ з ^{99m}Tc -МІБІ, при цьому відмітили незначне накопичення радіофармпрепарату в проекції правої частки ЩЗ, вимивання індикатора рівномірне, повне. Також виявили наявність вогнищевого накопичення радіофармпрепарату в проекції грудних лімфатичних вузлів справа, вимивання з вузла неповне. Ці дані свідчать про наявність метастатичних вогнищ МРЩЗ. Проведене оперативне лікування. Подальше патогістологічне дослідження підтвердило наявність метастазів.

Основна проблема медулярного раку – це часті рецидиви захворювання. Ця форма раку ЩЗ дуже часто дає метастази, в першу чергу, в лімфатичні вузли шийї, а також віддалені метастази. Метастазування може бути як в ранні, так і пізні строки. Тому дуже важливий пошук методів ранньої діагностики рецидивів захворювання. Діагностика метастазів МРЩЗ є складним процесом.

Враховуючи дані нашого дослідження, можна сказати, що виявлення метастазів МРЩЗ з допомогою ^{99m}Tc -МІБІ є ефективним додатковим засобом для планування об'єму оперативного втручання.

Література

1. Braverman L., Utiger R. The thyroid: a fundamental and clinical text. Philadelphia.: Lippincott, 2000, 930-941.
2. Пачес А.И., Пропп Р.М. Рак щитовидной железы. М.: Медицина, 1995. 320 с.
3. Clark O., Noguchi S. Thyroid cancer: diagnosis and treatment. St. Louis: Quality medical publishing, 2000, 279-304.
4. American association of clinical endocrinologists. AACE clinical practice guidelines for the management of thyroid carcinoma // Endocrinol. practice. 1997, N 1, 64-70.
5. Schlumberger M., Pacini F. Thyroid tumors. Paris: Nucleon, 1999, 267-293.
6. Богданова Т.И., Козырицкий В.Г., Тронько Н.Д. Патология щитовидной железы у детей: Атлас. К.: Чернобыльинтеринформ, 2000, 113-126.
7. Бржезовский В.Ж., Шенталь В.В., Любаев В.Л. и др. Современное состояние проблемы диагностики и лечения медулярного рака щитовидной железы // Современ. онкология. 2002, 4, № 3, 23-26.
8. Тронько Н.Д., Богданова Т.И. Рак щитовидной железы у детей Украины (последствия Чернобыльской катастрофы). К.: Чернобыльинтеринформ, 1997, 34-48.
9. De Lellis R., Lloyd R., Heitz Ph. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. WHO classification of tumours. Lyon: IARC Press, 2004. 320 p.
10. Браверман Л.И. Болезни щитовидной железы. М.: Медицина, 2000, 256-347.
11. Abdullah F., Udelsman R. Cutaneous lichen amyloidosis in a family with familial medullary thyroid cancer // Surgery. 2004, 135, N 5, 563-565.
12. Skinner M., Wells S. Medullary carcinoma of the thyroid gland and the MEN-2 syndromes // Semin. Pediatr. Surg. 1997, 3, N 6, 134-140.
13. Lallier M., St-Vil D., Giroux M. et al. Prophylactic thyroidectomy for medullary thyroid carcinoma in gene carriers of MEN-2 syndrome // J. Pediatr. Surg. 1998, 33, N 6, 846-854.
14. Ткаченко Г.И. Медулярный рак щитовидной железы // УРЖ. 1997, 1, № 5, 81-86.
15. Khurana K., Labrador E., Izquierdo R. et al. The role of fine-needle aspiration biopsy in the management of thyroid nodules in children, adolescents, and young adults: a multiinstitutional study // Thyroid. 1999, 9, N 4, 383-386.
16. Adams S., Baum R., Hertel A. et al. Comparison of metabolic and receptor imaging in recurrent medullary thyroid carcinoma with histopathological findings // Eur. J. Nucl. Med. 1998, 25, N 9, 1277-1283.

17. Grauer A., Blind E. Tumor markers for medullary thyroid carcinoma // *Recent. Results Cancer Res.* 1992, N 125, 55-89.
18. Zagar I., Todorovic-Tirnanic M., Refic R. et al. Tc-99m-DMSA scintigraphy for deduction of medullary thyroid carcinomas and malidnances from single solid masses in lung // *Nucl. Med. Rev.* 2002, 2, N 5, 183-185.
19. Smith S., Al-Nahhas A., Vivian G. Value of I-123-MIBG as part of multimodality imaging in screening, families with multiple endocrine neoplasia type 2 syndrome // *World J. Nucl. Med.* 2002, N 1, 61-67.
20. Цыб А.Ф., Паршин В.С., Нестайго Г.В. и соавт. Ультразвуковая диагностика заболеваний щитовидной железы. М.: Медицина, 1997, 253-260.
21. Stoffer S., Van Dyke D., Bach J. Familial papillary carcinoma of the thyroid // *Am. J. Med. Genet.* 1986, 25, N 4, 775-782.
22. Wells S., Donis-Keller H. Current perspectives on the diagnosis and management of patients with multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 1994, 23, N 1, 215-228.
23. Pacini F., Fontanelli M., Fugazzola L., Romei C. Routine measurement of serum calcitonin in nodular thyroid diseases allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994, 78, N 4, 826-829.
24. Feldt-Rasmussen U. Management of Thyroid Carcinoma. Rotterdam.: Merck KGaA, 1999, 12-18.
25. Lucas A., Llatjos M., Salinas I. et al. Fine-needle aspiration cytology of nodular thyroid disease. Value of re-aspiration // *Eur. J. Endocrinol.* 1995, 132, N 6, 677-680.
26. Rallison M., Brown M. Natural history of thyroid abnormalities: prevalence, incidence, and regression of thyroid diseases in adolescents and young adults // *Am. J. Med.* 1991, 91, N 4, 363-370.
27. Clark O., Duh Q.-Y. Textbook of Endocrine Surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997. 688 p.
28. Аветисян К.Л., Самойлов А.А., Гульчий Н.В., Яровой А.О. Аспирационная биопсия щитовидной железы: клинические аспекты цитологических исследований // *Укр. мед. часопис.* 2002, 29, № 3, 121-126.
29. Yeh S.D., La Quaglia M.P. 131-I-therapy for pediatric thyroid cancer // *Semin. Pediatr. Surg.* 1997, 6, N 3, 128-133.
30. Ильин А.А., Румянцев П.О. Диагностика и лечение семейного варианта медуллярного рака щитовидной железы // *Пробл. эндокринол.* 2000, 46, № 4, 19-22.
31. Cohen R., Campos J.-M., Salaun C. The Groupe d'Etude des Tumeurs a Calcitonine (GETC). Preoperative calcitonin levels are predictive of tumor size and postoperative calcitonin normalization in medullary thyroid carcinoma // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000, 85, N 2, 919-921.
32. Rieu M., Lame M., Richard A., Lissak B. Prevalance of sporadic medullary carcinoma: the importance of routine measurement of serum calcitonin in the diagnostic evaluation of thyroid nodules // *Clin. Endocrinol.* 1995, 42, N 5, 453-460.
33. Sheppard M. Should serum calcitonin be measured routinely in all patients with nodular thyroid disease? // *Clin. Endocrinol.* 1995, 42, N 5, 451-452.
34. Iacobone M., Niccoli-Sire P., Sebag F., De Micco C. Can sporadic medullary thyroid carcinoma be biochemically predicted? Prospective analysis of 66 operated patients with elevated serum calcitonin levels // *World J. Surg.* 2002, 26, N 8, 886-890.
35. Barbot N., Calmettes C., Schuffenecker I. et al. Pentagastrin stimulation test and early diagnosis of medullary thyroid carcinoma using an immunoradiometric assay of calcitonin: comparison with genetic screening in hereditary medullary thyroid carcinoma // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994, 78, N 1, 114-120.
36. Hermans R., Bouillon R., Laga K. et al. Estimation of thyroid gland volume by spiral computer tomography // *Eur. Radiol.* 1997, 7, N 2, 214-216.
37. Yousem D., Scheff A. Thyroid and parathyroid gland pathology. Role of imagine // *Otolaryngol. Clin. North Am.* 1995, 28, N 3, 621-649.
38. Hopkins C., Reading C. Thyroid and parathyroid imaging // *Semin. Ultrasound CT MR.* 1995, 16, N 4, 279-295.
39. Loevner L. Imaging of the thyroid gland // *Semin. Ultrasound CT MR.* 1996, 17, N 6, 539-562.
40. Naik K., Bury R. Imaging of the thyroid // *Clin. Radiol.* 1998, 53, N 9, 630-639.

41. Shimura H., Takazawa K., Endo T. et al. T-4 thyroid storm after CT-scan with iodinated contrast medium // *J. Endocrinol. Invest.* 1990, 13, N 1, 73-76.
42. Iida Y., Konishi J., Harioka T. et al. Thyroid CT number and its relationship to iodine concentration // *Radiology.* 1983, 147, N 3, 793-795.
43. Пинский С.Б., Дворниченко В.В., Белобородов В.А. Опухоли щитовидной железы. Иркутск.: Полиграфический центр «РиЭЛ», 1999. 320 с.
44. Brown L., Aughenbaugh G. Masses of the anterior mediastinum: CT and MR imaging // *Am. J. Roentgenol.* 1991, 157, N 6, 1171-1180.
45. Crawford S., Harnsberg H., Lufkin R. et al. The role of gadolinium – DTPA in the evaluation of extra cranial head and neck mass lesions // *Radiol. Clin. North Am.* 1989, 27, N 2, 219-242.
46. Geffer W., Spritzer C., Eisenberg B. et al. Thyroid imaging with high-field strength surface-coil MR // *Radiology.* 1987, 164, N 2, 483-490.
47. Baker H., Berquist T., Kispert D. et al. Magnetic resonans imaging in a routine clinical setting // *Mayo Clin. Proc.* 1985, 60, N 2, 75-90.
48. Stark D., Clark O., Moss A. Magnetic resonance imaging of the thyroid, thymus, and parathyroid glands // *Surgery.* 1984, 96, N 6, 1083-1091.
49. Donovan D.T., Gagel R.F. *Thyroid Diseases: endocrinology, surgery, nuclear medicine and radiotherapy.* Philadelphia.: Lippincott-Raven. 1997, 619-644.
50. Подвязников С.О. Рак щитовидной железы. Современные подходы в лечении данной патологии // *Соврем. онкология. Матер. II межрег. онколог. конф.* 2004, 6, № 2, 13-18.
51. Лавин Н. Эндокринология. Пер. с англ. М.: Практика. 1999. 1128 с.
52. Nagy R., Sweet K., Eng C. Highly penetrant hereditary cancer syndromes // *Oncogene.* 2004, 23, N 38, 6445-6470.
53. Vitale G., Cascone E., Lupoli G. et al. New developments in the treatment of medullary thyroid carcinoma // *Minerva Endocrinol.* 1998, 23, N 4, 121-128.
54. O'Doherty M., Coakley A. Drug therapy alternatives in the treatment of thyroid cancer // *Drugs.* 1998, 55, N 6, 801-812.
55. Guliana J. Role of non surgical therapeutics in the treatment of patients with medullary cancer of the thyroid // *Am. Endocrinol.* 1996, 57, N 1, 33-40.
56. Змеул В.К., Кустов В.И., Воросова Е.Ф. Синхронный медуллярный рак щитовидной железы // *Хирургия.* 1983, № 11, с. 135.
57. Pigny P., Bauters C., Wemeau J. et al. 9-base pair duplication in RET exon 8 in familial medullary thyroid carcinoma // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999, 84, N 5, 1700-1704.
58. Scherubl H., Raue F., Delisle M. et al. Combination chemotherapy of advanced medullary and differentiated thyroid cancer, phase II study // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1990, 116, N 1, 21-23.
59. Porter A., Ostrowski M. Medullary carcinoma of the thyroid treated by low-dose adriamycin // *Br. J. Clin. Pract.* 1990, 44, N 11, 517-518.
60. Втюрин Б.М., Ильин А.А., Руменцев П.О. и др. Семейный медуллярный рак щитовидной железы // *Росс. онколог. журнал.* 2000, № 2, 53-54.
61. Austin J., Naggar A., Goepfert H. Thyroid cancers: medullary, anaplastic, lymphoma, sarcoma, squamous cell // *Otolaryngol. Clin. North Am.* 1996, 29, N 4, 611-627.
62. Shimaoka K., Schoenfeld D., DeWys W. et al. A randomized trial of doxorubicin versus doxorubicin plus cisplatin in patients with advanced thyroid carcinoma // *Cancer.* 1985, 56, N 9, 2155-2160.
63. De Besi P., Busnardo B., Toso S. et al. Combined chemotherapy with bleomycin, adriamycin, and platinum in advanced thyroid cancer // *J. Endocrinol. Invest.* 1991, 14, N 6, 475-480.
64. Wu L., Averbuch S., Ball D. et al. Treatment of advanced medullary thyroid carcinoma with a combination of cyclophosphamide, vincristine, and dacarbazine // *Cancer.* 1994, 73, N 2, 432-436.
65. Orlandi F., Caraci P., Berruti A. et al. Chemotherapy with dacarbazine and 5-fluorouracil in advanced medullary thyroid cancer // *Ann. Oncology.* 1994, 5, N 8, 763-765.
66. Stein R., Juweid M., Zhang C. Assessment of combined radioimmunotherapy and chemotherapy for treatment of medullary thyroid cancer // *Clin. Cancer Res.* 1999, 5, N 10, 3199-3206.

67. Ольшанский В.О., Воронецкий И.Б., Чуприна В.П. Медуллярный рак щитовидной железы // Хирургия. 1987, № 9, 116-118.
68. Learoyd D., Roach P., Briggs G et al. Technetium-99m-sestamibi scanning in recurrent medullary thyroid carcinoma // J. Nucl. Med. 1997, 38, N 2, 227-230.
69. Guilloteau D., Perdrisot R., Calmettes C. et al. Diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid (MCT) by calcitonin assay using monoclonal antibodies: criteria for the pentagastrin stimulation Test in hereditary MCT // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1999, 71, N 4, 1064-1067.
70. Shih W., Rastogi A., Stipp V. et al. ^{99m}Tc -MIBI thoracic SPECT for the detection of intrathoracic tumor masses // Clin. Nucl. Med. 1998, 23, N 9, 594-600.
71. Adalet I., Kocak M., Oguz H. et al. Determination of medullary carcinoma metastases by ^{201}Tl , ^{99m}Tc (V) DMSA, ^{99m}Tc -MIBI and ^{99m}Tc -tetrofosmin // Nucl. Med. Commun. 1999, 20, N 4, 353-359.

Медуллярный рак щитовидной железы: клиника, диагностика, лечение, прогноз (обзор литературы и собственные наблюдения)

О.А. Тонковид, А.Е. Коваленко¹

Киевская городская клиническая больница № 16, 03110 Киев; ¹Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев, Украина

В обзоре литературы освещены современные взгляды на вопросы диагностики, патогенеза, клинических проявлений, тактику лечения и результаты лечения медуллярного рака щитовидной железы.

За последние 6 лет в Киевской городской клинической больнице № 16 количество больных с медуллярным раком щитовидной железы возросло с 1,5% до 3%. Больные в до- и послеоперационном периоде были комплексно обследованы: ультразвуковое, рентгенологическое, радиологическое исследование, определение уровня кальцитонина в крови. Сцинтиграфическое исследование с ^{99m}Tc -МИБИ было выполнено у 9 больных. В 8 из 9 случаев были выявлены метастазы медуллярного рака щитовидной железы, что подтверждает высокую эффективность ^{99m}Tc -МИБИ в выявлении метастазов и надежности планирования объема оперативного вмешательства.

Ключевые слова: медуллярный рак щитовидной железы, клиника, диагностика, лечение, прогноз, кальцитонин, радиоизотопная диагностика метастазов.

Medullary thyroid cancer: clinical characteristics, diagnosis, treatment, prognosis (review of literature and own observations)

О.А. Tonkovyd, A.Y. Kovalenko¹

Kyiv City Hospital N 16, 03110 Kyiv; ¹V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 04114 Kyiv, Ukraine

The modern views on diagnostics, pathogenesis, clinical manifestations, tactics and results of treatment are considered in the literature review.

For the last 6 years a number of patients with thyroid medullary cancer was increased from 1,5% to 3% in the Kyiv city hospital N 16. Patients were taken the complex survey before and after operation period: ultrasonic, radiological, x-ray examination, determination of blood calcitonin level. Scintigraphy examination with ^{99m}Tc -MIBI was made in 9 patients. Metastases of medullary cancer were revealed in 8 of 9 cases that is an evidence of high efficacy of ^{99m}Tc -MIBI and its reliability as an additional agent for planning the extent of surgery.

Key words: medullary thyroid cancer, clinical characteristics, diagnosis, calcitonin, radioisotope diagnosis of metastases, treatment schemes, prognosis.

(Надійшла 9.01. 2007)

РІВЕНЬ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ (ІНТЕРЛЕЙКІНУ-6 ТА ФАКТОРА НЕКРОЗУ ПУХЛИН-АЛЬФА) У КРОВІ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 1 ТИПУ, УСКЛАДНЕНИЙ РЕТИНОПАТІЄЮ

*К.М. Тронько**

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

Останніми роботами встановлено, що в патогенезі цукрового діабету як 1, так і 2 типів суттєву роль відіграють різні види цитокінів [1, 2]. В той же час більшість досліджень, що стосуються цього питання, виконані на тваринах зі спонтанним автоімунним цукровим діабетом [3], дані яких не завжди можливо повністю екстраполювати на аналогічне захворювання у людини. Дослідження ж рівня та продукції цитокінів при цукровому діабеті у людини надто обмежені та неоднозначні [2]. Недостатня інформація існує щодо рівня та продукції цитокінів при різних ускладненнях, особливо діабетичній ретинопатії – одному з надто тяжких та поширених ускладнень. Вивченню ролі цитокінів, в основному прозапальних – інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) і фактора некрозу пухлин-альфа (ФНП α), в патогенезі та розвитку ретинопатії присвячені тільки окремі роботи [4, 5]. Однак односпайної думки в цьому питанні ще немає. У зв'язку з цим, основною ціллю даної роботи стало вивчення вмісту циркулюючих інтерлейкіну-6 та фактора некрозу пухлин альфа в периферичній крові хворих на цукровий діабет 1 типу (ЦД-1) з непроліферативною і проліферативною формами ретинопатії.

Матеріал та методи дослідження

Дослідження проведені на 37 хворих обох статей віком від 10 до 18 років. З них у 22 осіб був вперше виявлений, ще нелікований, ЦД-1 без ретинопатії та у 15 хворих – ЦД-1 з ретинопатією. Контрольна група включала в себе 24 здорових дітей і підлітків того ж віку з нормальним рівнем глюкози у крові. Діагноз ЦД-1 встановлювався згідно з класифікацією та вимогами експертів ВООЗ [report of WHO, Geneva, 1999]. Діагноз ретинопатії та її форма визначалися на основі офтальмологічного дослідження дна ока: офтальмоскопія, огляд очного дна з лінзою Гольдмана.

Стадії діабетичної ретинопатії оцінювалися за класифікацією Kohnner Porta (1989).

Для визначення вмісту ІЛ-6 та ФНП α у сироватці крові був застосований імуноферментний метод (ELISA) за допомогою наборів реагентів фірми «Diacclone» (Франція) та використанням планшетного імуноферментного аналізатора Stat fax 3200 (США).

Результати та їх обговорення

Як видно з малюнка А, вміст циркулюючого ІЛ-6 у 13 з 17 здорових осіб зовсім не виявлявся у периферичній крові. У 4 осіб він коливався від 1,0 до 2,0 пг/мл.

У 12 з 24 хворих на ЦД-1 без ретинопатії рівень ІЛ-6 у крові також дорівнював нулю. Однак у двох осіб він становив 6,0 пг/мл, а в одній хворій сягав 12,0 пг/мл. У хворих на ЦД-1 з ретинопатією відмічалось дуже значне

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

підвищення показників вмісту ІЛ-6 у периферичній крові порівняно з хворими на ЦД-1 без ретинопатії і здорових осіб. Так, тільки у одного хворого рівень ІЛ-6 зовсім не визначався, а у трьох дорівнював 1,9, 3,2 і 4,5 пг/мл. У останніх 11 хворих рівень ІЛ-6 коливався від 6 до 95 пг/мл. Причому слід відмітити, що у трьох хворих з найвищим рівнем ІЛ-6 у крові (23,0, 84,0, 95,0 пг/мл) діагностувалася проліферативна форма ретинопатії. Таким чином, отримані нами результати не підтверджують повідомлення [6], що при діабетичній ретинопатії не має суттєвих змін рівня ІЛ-6 у крові. Разом з тим, вони повністю узгоджуються з недавніми даними програми EURODIAB [4], одержаними на великому клінічному матеріалі (543 хворих).

При дослідженні вмісту циркулюючого ФНП α у сироватці периферичної крові здорових людей (малюнок Б) він зовсім не визначався у 13 з 24 осіб. У 4 осіб контрольної групи рівень ФНП α був 1,0 пг/мл, тобто знаходився на нижній границі чутливості цього методу вимірювання. У 5 обстежених він коливався в межах низьких цифр – від 1,5 до 2,5 пг/мл. У хворих на ЦД-1 без ретинопатії нульове значення ФНП α спостерігалось у 10 з 22 хворих. У чотирьох осіб вміст ФНП α дорівнював 0,5-1,0 пг/мл, тобто був на межі чутливості методу. У решти, 7 хворих на ЦД-1 без ретинопатії, рівень ФНП α був вірогідно підвищений у порівнянні з контрольною групою осіб і коливався в межах 2,1- 4,0 пг/мл, а у одного пацієнта навіть досягав 11 пг/мл. Особливо висока частота підвищення рівня ФНП α у крові відмічалась серед хворих з діабетичною ретинопатією, причому величина вмісту цього цитокіну у крові більшості таких хворих значно перевищувала межу коливань не тільки у здорових людей, а й хворих на ЦД-1 без мікросудинних ускладнень. Так, нульове значення вмісту ФНП α у периферичній крові було тільки у 2 з 15 хворих на діабетичну ретинопатію. У 9 хворих вміст цього цитокіну у крові коливався від 2,0 до 15 пг/мл і у 2 пацієнтів з проліферативною діабетичною ретинопатією навіть досягав таких значних цифр як 18,6 і 128,0 пг/мл.

Одержані нами дані повністю узгоджуються з недавніми роботами [4, 5, 7], в яких досліджувався вміст ФНП α у сироватці крові хворих на ЦД-1, як без ретинопатії, так і, особливо, з ретинопатією. У зв'язку з цим можна погодитися з думкою [8], що розробка нових препаратів для лікування діабетичної ретинопатії повинна бути спрямована на одержання сполук, які б блокували дію ФНП α чи ферментів, які беруть участь в механізмі його дії.

Література

1. Rabinovitch A. Immunoregulation by cytokines in autoimmune diabetes // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003, **520**, 159-193.
2. Зак К.П., Попова В.В. Цитокины и сахарный диабет 1-го типа у человека // *Укр. мед. часопис.* 2006, **51**, № 1, 78-88.
3. Roep B.O., Atkinson M. Animal models have little to teach us about type 1 diabetes. In support of this proposal // *Diabetologia.* 2004, **47**, N 10, 1650-1656.
4. Schram M.T., Chaturvedi N., Schalkwijk C.G. et al. Markers of inflammation are cross-sectionally associated with microvascular complications and cardiovascular disease in type 1 diabetes – the EURODIAB Prospective Complications Study // *Diabetologia.* 2005, **48**, N 2, 370-378.
5. Ben-Mahmud B.M., Chan W.H., Abdulahad R.M. et al. Clinical validation of a link between TNF-alpha and the glycosylation enzyme core 2 GlcNAc-T and the relationship of this link to diabetic retinopathy // *Diabetologia.* 2006, **49**, N 9, 2185-2191.
6. Doganay S., Evereklioglu C., Er H. et al. Comparison of serum NO, TNF-alpha, IL-1 beta, sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus // *Eye.* 2002, **16**, N 2, 163-170.
7. Попова В.В., Мельниченко С.В., Лукашова Р.Г. и др. Уровень цитокинов в крови детей с впервые выявленным сахарным диабетом 1-го типа // *Доп. НАН України.* 2004, № 5, 190-193.

(Надійшла 20. 11.2006)

ЧОЛОВІЧИЙ ГІПОГОНАДИЗМ: СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ

Є.В. Лучицький*, В.О. Бондаренко¹

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

*¹Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського
АМН України, 61002 Харків, Україна*

Гіпогонадізм – це неадекватна функція статевих залоз, яка проявляється недостатністю гаметогенезу та/або секреції статевих гормонів (за визначенням Американської асоціації клінічних ендокринологів, 2002).

Розрізняють 3 типи гіпогонадних станів у чоловіків:

- чоловіки з гіпергонадотропним гіпогонадізмом, або первинним, зумовленим первинною тестикулярною недостатністю;
- чоловіки з гіпогонадотропним гіпогонадізмом, або вторинним, зумовленим дисфункцією гіпоталамо-гіпофізарної системи та гонадотропіноювою недостатністю;
- чоловіки літнього віку з симптомами відносної тестостеронової недостатності – пізній гіпогонадізм (Late onset hypogonadism).

Крім того, виокремлюють гіпогонадізм як результат резистентності до андрогенів.

Ми вважаємо, що необхідно виділяти також нормогонадотропний гіпогонадізм, який характеризується пониженими рівнями тестостерону в крові на тлі нормальних рівнів гонадотропних гормонів.

Симптоми гіпогонадізму залежать головним чином від віку пацієнта, в якому розвинувся патологічний стан, що зумовив розвиток андрогенного дефіциту. В залежності від цього гіпогонадізм може бути препубертатним та постпубертатним.

Гіпогонадізм у хлопців пубертатного віку діагностується при відсутності ознак статевого дозрівання. Основними його симптомами є:

- малі яєчки, статевий член, передміхурова залоза;
- бідне (мізерне) оволосіння на лобку та в пахвинній ділянці;
- відповідні морфотипові зміни (свнухоїдність, гіноїдність або інфантильність скелету;
- гінекомастія;
- голос високої тональності (тембру).

Постпубертатний гіпогонадізм, який розвивається внаслідок зниження функції яєчок у дорослому віці, призводить до розвитку наступних клінічних симптомів та ознак:

- прогресивного зниження м'язової сили;
- ослаблення лібідо;
- еректильної дисфункції;
- олігозооспермії або азооспермії;
- раптових приливів жару менопаузального типу (у випадках гострого початку гіпогонадізму);
- зниження здатності до зосередженості (концентрації уваги).

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

У таких пацієнтів є підвищеним ризик розвитку остеопорозу та перелому кісток. Досить часто постпубертатний гіпогонадізм діагностується у чоловіків під час обстеження з приводу неплідності.

Метою терапії препубертатного гіпогонадізму є формування вторинних статевих ознак, статевих органів, чоловічої будови тіла, диференціації скелету, а в подальшому – підтримуюча гормональна терапія для забезпечення статевої функції та поведінки. Метою лікування гіпогонадізму, який діагностований в постпубертатному періоді, є підтримання рівня тестостерону в фізіологічному діапазоні для забезпечення статевої функції та поведінки, попередження розвитку клінічних проявів андрогенної недостатності та можливих ризиків для здоров'я, пов'язаних з гіпогонадізмом.

Терапія первинного гіпогонадізму залежить від ступеня ураження яєчок (ступеня гіполейдегізму). Незалежно від варіанту захворювання передбачається призначення замісної андрогенотерапії.

Препарати тестостерону для замісної терапії включають пероральні таблетки та капсули, ін'єкційні препарати короткої та тривалої дії, підшкірні імплантанти, трансдермальні пластирі, нашкірні гелі (табл. 1). Лікарі, які призначають препарати тестостерону, повинні бути ознайомлені з лікарськими формами, їх перевагами та недоліками, щоб проінформувати пацієнтів.

Таблиця 1. Препарати тестостерону, які найчастіше застосовуються для андрогензамісної терапії

Спосіб введення	Генерична назва	Торгова назва	Доза
Пероральний	Тестостерон-ундеканоат	Андріол	80-160 мг на добу
	Местеролон	Провірон Вістінон	25-75 мг на добу
Ін'єкційний (внутрішньо-м'язовий)	Тестостерон-пропіонат	Тестостерон-пропіонат	100-150 мг на тиждень
	Тестостерон-енантат	Тестенон Тестовірон	200-400 мг кожних 2-4 тижні
	Тестостерон- ципіонат	Депо-тестостерон ципіонат	200-400 мг кожних 3-4 тижні
	Суміш ефірів тестостерону	Сустанон-250 Омнадрен-250	250 мг кожних 3-4 тижні
	Тестостерон-ундеканоат	Небідо	1000 мг кожних 3 місяці
Підшкірний	Тестостеронові імплантанти	—	1200 мг кожних 6 місяців
Трансдермальний	Тестостеронові пластирі	Андродерм Тестодерм	2,5-7,5 мг на добу 10,0-15,0 мг на добу
	Тестостероновий гель	Андрогель	5,0-10,0 г

Для перорального прийому використовуються ефіри тестостерону на основі немодифікованих (натуральних) молекул тестостерону. Тестостерону ундеканат (андріол) є ефіром тестостерону з високою ліпофільністю та тропністю до лімфатичної системи, розчинний в олеїновій кислоті та інкапсульований. Добова доза складає 80-160 мг (2-4 капсули) і ділиться на два прийоми (ранком і в другій половині дня). Показаний при андрогенній недостатності середньої тяжкості.

Местеролон (провірон) є хімічно модифікованим аналогом дигідротестостерону, інактивується в печінці достатньо повільно, не піддається ароматизації, тобто не трансформується в естрадіол, тому не має повного спектру біологічних ефектів тестостерону та достатньої ефективності. Не подавляє секрецію гонадотропінів та сперматогенез. Приймають по 25-75 мг на добу

(1-3 таблетки). Оскільки андрогенна дія слабка, застосовується при відносно легких формах андрогенної недостатності.

Ін'єкційні препарати вводяться внутрішньом'язово. Короткодійчі препарати для андрогензамісної терапії при клімактеричному синдромі практично не використовуються. Препарати тривалої дії (тестостерону енантат, тестостерону ципіонат, сустанон-250) є недорогими та безпечними, але мають ряд недоліків – глибокі внутрішньом'язеві ін'єкції, супрафізіологічні рівні в крові на початку введення та подальше падіння до низького рівня перед наступною ін'єкцією, неможливість швидкої відміни, неможливість забезпечення циркадного ритму.

Тестостерон енантат вводять внутрішньом'язово в дозі 75-100 мг щотижня або 150-200 мг кожних 2 тижні. Омнадрен-250 або сустанон-250 вводять внутрішньом'язово 1 раз кожних 2-4 тижні. Небідо вводиться 1 раз на 3 місяці, причому після його регулярного введення забезпечується стабільна концентрація тестостерону в крові у фізіологічному діапазоні. При необхідності (під контролем рівня тестостерону в крові) друга ін'єкція небідо може бути призначена пацієнту через 1,5-2 місяці після першої.

Підшкірні імпланти забезпечують стабільний фізіологічний рівень гормону в крові, але вони вимагають оперативного втручання кожних 6 міс, та дію препарату неможливо швидко відмінити.

Трансдермальні тестостеронові системи (трансдермальні пластирі) є простими у використанні, забезпечують стабільний фізіологічний рівень тестостерону в крові, курс лікування можна перервати в будь-який момент. Для лікування гіпогонадізму у дорослих використовують скротальні та нескротальні тестостеронові пластирі розміром 40 та 60 см² з вмістом тестостерону 4 мг і 6 мг на добу. Пластирі можуть імітувати циркадні ритми тестостерону. Недоліками являються необхідність щоденного нанесення пластирів, місцеве подразнення, супрафізіологічні концентрації дигідротестостерону в крові.

Можна застосовувати трансдермальний тестостероновий гель в пакетах, які містять 2,5 г (25 мг тестостерону) або 5 г (50 мг тестостерону). Гелі на шкірі не дають місцевого подразнення, але поки що невідомі результати тривалого їх застосування.

Таким чином, препарати короткої дії дають можливість швидко відреагувати на виникнення побічних ефектів або раптових протипоказань та неочікуваних обставин. Препарати тривалої дії вигідні нечастим введенням, а деякі з них – невеликою ціною.

Препарати повинні відповідати таким вимогам:

1. Бути ефективними і здатними до відновлення рівня тестостерону до його фізіологічних значень.

2. Не створювати супрафізіологічних рівнів тестостерону в крові та не подавляти продукцію гормонів яєчками.

3. Не чинити гепатотоксичний та гепатоканцерогенний вплив на організм.

4. Мати повний спектр андрогенної активності.

5. Бути зручними для введення в організм.

Препубертатні гіпогонадні стани з вираженою недостатністю статевого розвитку, особливо у випадках анорхії, аплазії яєчок та значної гіпоплазії яєчок, потребують застосування на перших етапах терапії ударних доз андрогенів. В таких випадках призначаються ін'єкційні форми препаратів. Вони повинні забезпечити відповідний розвиток статевих органів та вторинних ознак чоловічої статі. При цьому використовуються тетрастерон (сустанон-250, омнадрен-250) по 250 мг 1 раз на 3-4 тижні, або тестостерон-енантат по 150-200 мг 1 раз на 2-3 тижні. Лікування призначають з 14-15 років,

після того як організм пройшов пік прискорення росту. Терапія проводиться протягом 2-3 років. Враховуючи, що дія ефірів тестостерону в організмі з часом знижується (вичерпується) пропонується чергувати ін'єкції андрогенів (протягом 6 місяців) із застосуванням ретаболілу по 50 мг на місяць протягом 3 місяців.

В останні роки з'явилася ін'єкційна форма тестостерону ундеканоату, яка має торгову назву «Небідо». Наш досвід свідчить, що його можна призначати хворим з 16-18 років, коли пацієнт не має проблем з ростом, по 1000 мг раз на 10-12 тижнів. Протягом цього терміну утримується рівень тестостерону в крові в межах фізіологічних коливань. Даний препарат ефективно впливає на маскулінізацію первинних та вторинних ознак чоловічої статі у хворих на препубертатний гіпогонадизм.

В подальшому переходять на підтримуючі курси андрогенотерапії. При цьому можна використовувати тетрастерон по 250 мг 1 раз на місяць, тестостерон-енантат – по 100 мг 1 раз на 2-3 тижні, тестостерон-пропіонат – по 50 мг 1 раз на тиждень, курсами протягом 2-3 місяців, з інтервалами, тривалість яких визначається індивідуально. В якості підтримуючої терапії призначають також таблетовані форми андрогенів, таких як андріол по 80-120 мг на добу, местеролон (провірон) – по 25-75 мг на добу. Можна застосовувати й трансдермальні форми препаратів тестостерону.

У випадках констатації синдрому Клайнфельтера у частини хворих на тлі високого вмісту в крові ФСГ та підвищеного рівня ЛГ рівень тестостерону може коливатися від нормального до низького. У таких пацієнтів статевий розвиток або суттєво не відрізняється від здорових (за винятком зменшення розмірів яєчок), або може бути значно порушеним. Хворі потребують замісної андрогенотерапії тільки при констатації статевого інфантилізму та порушенні сексуальної функції, що спостерігається у випадках суттєвого зниження секреції тестостерону яєчками. В залежності від ступеня прояву клінічних ознак андрогенної недостатності лікування препаратами тестостерону може застосовуватись як ударна андрогенотерапія, або за принципом призначення підтримуючих її схем.

Необхідно зазначити, що традиційний таблетований препарат – метилтестостерон використовувати тривало і в великих дозах не бажано. Метилтестостерон має потенційні гепатотоксичні властивості. При наявності патології печінки у чоловіків 17 α -алкільовані похідні тестостерону можуть ароматизуватися в естрогени і викликати появу синдрому Сільвестріні-Корди з розвитком гінекомастії та атрофії яєчок. На даний час метилтестостерон в Україні практично не використовується.

Постпубертатні форми первинного гіпогонадизму також лікуються в залежності від ступеня гіпоандрогенемії.

Коли існує посткастраційний синдром або є суттєві ураження яєчок (травма, наслідки перенесеного двобічного орхіту та інші) з вираженим симптомокомплексом андрогенодефіциту, на перших етапах лікування хворий потребує застосування масивних доз ін'єкційних форм препаратів тестостерону. В подальшому переходять на підтримуючу андрогенотерапію з використанням не тільки ін'єкційних форм, але й пероральних, трансдермальних форм препаратів.

Лікування вторинного гіпогонадизму, коли знижена продукція ЛГ та ФСГ, регулюючих функцію яєчок, передбачає призначення стимулюючої гормональної терапії препаратами гонадотропних гормонів. Лікування починають у випадках препубертатних форм з 13-14 років. Така форма терапії передбачає збільшення розмірів яєчок та відповідно ендогенної секреції тестостерону в тих випадках, коли об'єм яєчок до початку лікування є більшим 4 мл. При цьому призначають препарати хоріонічного гонадотропіну (ХГ)

по 1500 МОд 2-3 рази на тиждень протягом 1,5-2 місяців з перервою протягом місяця. Таке лікування триває 1-2 роки. Необхідно пам'ятати, що препарати ХГ діють так само, як лютропін. До них відносяться профазі, прегніл, хорагон, хоріогонін, біогонаділ, назва яких залежить від фірми-виробника. У більшості хлопців спостерігається клінічний ефект – невеличке збільшення яєчок, збільшення статевого члена, розвиток вторинних статевих ознак, нормалізація концентрації тестостерону в крові під час введення препаратів ХГ. Однак в перервах між курсами стимулюючої терапії рівень гормону знижується. Крім того, тривале застосування препаратів ХГ може призвести до появи у хворих антитіл до ХГ, які зумовлюють резистентність до цього гормону. Тому, в перервах між курсами терапії препаратами ХГ пацієнтам необхідно призначати препарати тестостерону в малих дозах: тестостерон-енантат в дозі 50-100 мг 1 раз на 2 тижні, тетрастерон – по 125 мг 1 раз на місяць, тестостерон-пропіонат – 10-25 мг 2-3 рази на тиждень, андіол по 80 мг та провірон – по 25-50 мг на добу. До 14-річного віку в перервах застосовують анаболічні стероїди у вікових дозах. Після 17-18-річного віку ефективність терапії ХГ суттєво знижується. Тому переходять на замісну андрогенотерапію препаратами тестостерону за тією ж схемою, як при первинному гіпогонадізмі. У випадках, коли існує суттєве зниження або відсутність секреції не тільки ЛГ, а й ФСГ, проводиться комплексна терапія з використанням препаратів ХГ та ФСГ. На сьогодні існує високоочищений урофолітропін-метродин-ВЧ, в якому активність ФСГ становить 95%. Є також менопаузальний гонадотропін високого ступеня очистки, в якому частки вмісту ФСГ та ЛГ однакові. Цей препарат має торгову назву «Менопур». В 1994 р. були створені перші рекомбінантні препарати ФСГ (гонал-Ф), в яких вміст гормону становить 99%. Аналогом гоналу-Ф є препарат, що має торгову назву «Пурегон».

Для стимуляції сперматогенезу, що може відбуватися тільки при нормалізації розмірів яєчок, хворим на вторинний гіпогонадізм (при дефіциті ЛГ та ФСГ) призначають препарати ХГ в дозі 1000-2000 МОд 2-3 рази на тиждень протягом 2-3 місяців (терапія може тривати 6-12 місяців з додаванням в подальшому препаратів ФСГ у дозі 75 МОд 3 рази на тиждень. Комбінована терапія триває мінімум 6 місяців. При неефективності лікування дозу препаратів ФСГ збільшують до 150 МОд 3 рази на тиждень ще 6 місяців.

Проведені дослідження у 8 клінічних центрах Європи показали, що призначення хворим на вторинний гіпогонадізм 17-42 років профазі у дозі 2000 МОд 2 рази на тиждень протягом 3 місяців з подальшим призначенням метродину-ВЧ по 150 МОд 3 рази на тиждень протягом 18 місяців призвело до нормалізації статевого розвитку в усіх пацієнтів. У деяких хворих після лікування відмічалася нормалізація сперматогенезу.

Наш досвід терапії вторинного гіпогонадізму свідчить, що тільки тривале (9-12 місяців) застосування малих доз комбінованої терапії (прегнілу по 1500 МОд 2 рази на тиждень та пурегону по 50 МОд два рази на тиждень) призводить до суттєвого збільшення розмірів статевих органів, навіть у пацієнтів віком старших 20 років. Таку терапію гонадотропінами ми здійснювали циклами по 2 місяці з інтервалами в один місяць. В перервах хворі отримували андіол по 120 мг на добу разом з вітаміном Е по 200 мг на добу. Останній є неспецифічним стимулятором гіпоталамо-гіпофізарної системи, а також синергістом дії андрогенів.

Вторинний гіпогонадізм досить часто зумовлений ураженням гіпоталамуса. Тому в останні роки для лікування вторинного гіпогонадізму застосовують препарати гонадотропін-релізінг-гормону. Гонадорелін ацетат вводять за допомогою інфузійного насосу в пульсуючому режимі кожних

60-120 хв в дозі 3-5 мкг на добу. Рекомендують титрувати дозу гонадоліберину для кожного окремого пацієнта індивідуально, оскільки можливі варіації дози препарату від 25 до 600 нг/кг на болюс.

При довготривалій терапії препаратами гонадоліберину здійснюється моніторинг з визначенням рівнів тестостерону та гонадотропінів у крові пацієнтів щомісячно. Коли об'єм яєчок досягає 8,0 мл, регулярно проводиться аналіз сперми. Більшості пацієнтів необхідний курс лікування впродовж 2 років для забезпечення максимального росту яєчок та ініціації і підтримання сперматогенезу. Тривалість курсу залежить від об'єму яєчок на початок лікування. Дані літератури свідчать, що при застосуванні препаратів гонадоліберину спостерігається більш виражений ріст яєчок та необхідний менш тривалий період для досягнення сперматогенезу, ніж при лікуванні препаратами гонадотропінів. В той же час, необхідно відмітити, що препарати гонадотропін-релізінг-гормону можна призначати тільки пацієнтам за відсутності великих порушень в аденогіпофізі. У хворих з вираженими змінами у гіпофізі показаний прийом гонадотропінів.

Крім того, деякі ендокринологи вважають, що лікування гонадоліберином не має ніяких переваг порівняно з терапією гонадотропінами.

Лікування вторинного гіперпролактинемічного гіпогонадізму, зумовленого суттєвим зростанням продукції пролактину (як наслідок мікро- і макропролактином та інших уражень гіпоталамо-гіпофізарної системи), передбачає призначення препаратів дофаміноміметиків, які блокують надмірну продукцію пролактину (бромкриптин, парлодел, достінекс). Бромкриптин (парлодел) призначають по 1/2 таблетки (1,25 мг) перед сном, поступово збільшуючи дозу на 1,25 мг кожні 3-4 дні. Доза препарату може досягати 7,5 мг. Вона підбирається під контролем рівня пролактину в крові. Дозу більшу ніж 2,5 мг застосовують 2-3 рази на добу під час їжі. Достінекс, на відміну від парлоделу, має пролонговану дію. Початкова його доза 1/2 таблетки 2 рази на тиждень, його приймають о 20 годині разом з їжею, протягом 4 тижнів. Наступні дози достінексу збільшують на одну таблетку на тиждень (0,5 мг) з інтервалом в 4 тижні, визначаючи оптимальну дозу препарату – до нормалізації рівня пролактину в крові. Тижнева доза достінекса не повинна бути більша 4 мг. При нормалізації рівня пролактину в крові зникають лабораторні прояви гіпогонадізму (нормалізація рівнів ЛГ, ФСГ та тестостерону). У випадках постпубертатного варіанту вторинного гіпогонадізму це сприяє відновленню статевої функції у чоловіків, ліквідації гінекомастії. В деяких випадках, особливо при затримці статевого розвитку, необхідно комбінувати лікування дофаміноміметиками з призначенням препаратів ХГ або андрогенів.

Деякі автори вважають, що лікування хворих на нормогонадотропний гіпогонадізм передбачає призначення великих доз препаратів ХГ: по 3000-4000 МОд 3 рази на тиждень, іноді в комбінації з препаратами ФСГ, курсами по 2-2,5 місяці. В перервах між курсами гонадотропінів проводиться лікування препаратами тестостерону.

Наш досвід свідчить, що лікування хворих на нормогонадотропний гіпогонадізм (особливо при перинатально детермінованому його варіанті) ефективно тільки тоді, коли його починають застосовувати в період пубертату. При цьому, призначення таким хворим схеми терапії, яка спрямована на посилення реалізації дії гонадотропінів (АТФ, вітамін В₆, глутамінова кислота, метандростенолон, пентоксифілін) протягом 1-1,5 місяця, з подальшим використанням андріолу та вітаміну Е (в дозах 80 мг та 200 мг на добу, відповідно) протягом 1-2 місяців призводить до суттєвої стимуляції параметрів статевого розвитку. Таких схем лікування застосовують як мінімум дві на рік.

Велике значення при терапії гіпогонадизму надається нормалізації надлишкової ваги при ожирінні, а також адекватним фізичним вправам, що підвищує ефективність лікування гонадотропінами та андрогенами.

Необхідно також пам'ятати, що вроджені та набуті форми гіпогонадизму, які зумовлені органічними ураженнями яєчок або гіпоталамо-гіпофізарної системи, потребують регулярної (протягом усього життя) гормонотерапії для підтримання у хворих рівня тестостерону в межах фізіологічних коливань. В той же час, дана гормональна терапія повинна проводитися з відповідними перервами, термін яких визначається індивідуально. В ці перерви доцільно використовувати препарати з анаболічною дією (стероїдні та нестероїдні), які підвищують біосинтез білка в тканинах, а також вітаміни Е, С, А, групи В, які необхідні для стимуляції гіпоталамо-гіпофізарної системи, клітинної регенерації яєчка, синтезу та метаболізму тестостерону. Крім того, дані препарати сприяють реалізації дії андрогенів, що дуже важливо за умов їх дефіциту.

Загальновизнано, що у чоловіків протягом життя, починаючи з 30-40-річного віку спостерігається поступове зниження рівня андрогенів у крові, в першу чергу, тестостерону. За даними Массачусетського дослідження старіння у чоловіків, рівень загального тестостерону знижується на 0,4% за рік, вільного тестостерону – на 1,2% за рік, а тестостерону, зв'язаного з альбуміном плазми – на 1,0% за рік. Рівень біологічно активного тестостерону знижується більшою мірою, ніж рівень загального тестостерону, що зумовлено підвищенням концентрації секс-стероїдзв'язуючого глобуліну при старінні чоловіків. За даними Балтіморського дослідження старіння чоловіків, середня швидкість зміни концентрації тестостерону становить 0,124 нмоль/л за рік. Частота реєстрації нових випадків пізнього гіпогонадизму за концентрацією тестостерону становила 20% серед чоловіків старших 60 років, і досягала 50% у чоловіків після 80 років. Більше того, вважають, що біля 2,4 млн американських чоловіків у віці 40-69 років страждають на андрогенну недостатність. Вікова андрогенна недостатність, або пізній гіпогонадизм, зумовлені різноманітними патологічними станами, поширеними в популяції літніх людей, і часто асоціюється з метаболічним синдромом та його складовими – вісцеральним ожирінням, цукровим діабетом 2 типу, серцево-судинними захворюваннями, артеріальною гіпертензією, дисліпідеміями.

Пізній гіпогонадизм визначається як клінічний і біохімічний синдром, асоційований з літнім віком, що характеризується типовими симптомами та зниженим рівнем тестостерону в плазмі крові. В офіційних рекомендаціях Міжнародної асоціації з вивчення проблем старіння у чоловіків (ISSAM, 2002) дане таке визначення пізнього гіпогонадизму: біохімічний синдром, асоційований зі зростанням віку, для якого характерним є недостатність рівнів андрогенів у крові з/або без пониження геномної чутливості до андрогенів, котрий може призводити до значних змін якості життя та несприятливих ефектів на функцію багатьох органів та систем. Клінічно він проявляється множинними системними змінами в організмі: психоемоційними, вегетосудинними, обмінними, в сечостатевої системі. Підтримання рівня тестостерону в фізіологічному діапазоні може допомогти попередити розвиток клінічних проявів вікової андрогенної недостатності і, можливо, ризику для здоров'я, зв'язаного з пізнім гіпогонадизмом, а також покращити якість життя літніх чоловіків.

Лікування клімактеричного синдрому у чоловіків повинно бути комплексним з використанням засобів впливу на всі механізми його формування. Необхідний індивідуальний різносторонній підхід до кожного пацієнта, зважаючи на різну ступінь і глибину вираженості симптомів клімактеричного синдрому. Основна мета терапії – усунення прогресуючої з віком андрогенної недостатності, покращення якості життя чоловіків. Тому тестостерон-

замісна терапія клімактеричних розладів у чоловіків є патогенетичною і базисною, а лікування окремих складових клімактеричного синдрому є симптоматичним, направленим на корекцію окремих симптомів, доповнюючим патогенетичну терапію. Показанням для проведення лікування є прояви клімактеричного синдрому, підтверджені гормональними дослідженнями. В той же час, клімактеричний синдром все більше розглядається з точки зору якості життя літніх чоловіків, і терапія проводиться не тільки з лікувальною метою, але й для підтримання активного, творчого життя, фізичного, інтелектуального та сексуального здоров'я. Цілями лікування є також відновлення статеві функції (підвищення лібідо, почуття статевого задоволення), попередження або зменшення остеопорозу, вісцерального ожиріння, вегетосудинних і психологічних розладів, відновлення м'язової сили, фізичної активності.

На сьогоднішній день не описано суттєвих побічних ефектів застосування тестостеронзамісної терапії у чоловіків літнього віку. Позитивні ефекти прийому препаратів тестостерону визначаються за динамікою клінічних проявів клімактеричного синдрому та лабораторних показників:

- підвищення лібідо та сексуальної задоволеності;
- покращення загального самопочуття, зменшення подразливості, втомлюваності, депресії;
- зменшення вираженості або зникнення вегетосудинних проявів;
- зниження маси тіла, зменшення вісцеральної та підшкірної жирової основи, збільшення м'язової маси та сили; підвищення щільності кісткової тканини;

- пониження рівнів атерогенних ліпідів, підвищення чутливості до інсуліну.

Терапевтична стратегія і тактика ведення чоловіків з клімактеричним синдромом знаходиться в стадії розробки і активно дискутується в наукових журналах. Обов'язковою перед призначенням андрогензамісної терапії є наявність клінічної картини андрогендефіцитного стану, підтвердженої біохімічними дослідженнями. Вік не є лімітуючим чинником початку андрогензамісної терапії у літніх чоловіків. Необхідно ще раз відмітити, що крім явних медичних показань, для андрогензамісної терапії правомочними вважають і відносні («соціальні») показання.

Андрогензамісна терапія є базисною, вона переслідує довгострокові цілі і повинна бути ефективною.

Конкретна тактика лікування, схема андрогензамісної терапії підбираються індивідуально і залежать від вираженості симптомів клімактеричного синдрому, концентрації тестостерону в крові, поставлених цілей терапії та розвитку можливих побічних ефектів. Введені дози тестостерону повинні бути достатніми для підтримання рівнів гормону в межах фізіологічних коливань і не досягати супрафізіологічних концентрацій. Найкращим підходом при виборі лікування вважається такий, при якому добиваються та підтримують в крові пацієнтів концентрацію тестостерону в межах від середньої до нижніх коливань норми для молодих дорослих чоловіків та не досягають навіть тимчасового перевищення фізіологічного діапазону.

Схеми андрогензамісної терапії підбираються індивідуально. Найчастіше застосовують впродовж 4-8 тижнів лікувальні дози для досягнення нормальних показників концентрації тестостерону в крові і переходять на підтримуючі дози. За другою схемою андрогензамісну терапію проводять протягом 3-4 місяців з подальшою відміною препаратів на термін до 3 місяців, після чого проводять повторні курси.

Ефективність андрогензамісної терапії у літніх чоловіків визначають за динамікою клінічних симптомів та лабораторних досліджень. В табл. 2 наведені контрольні показники, які необхідно визначати з метою моніторингу ефективності андрогензамісної терапії у чоловіків літнього віку з клімактеричними розладами, оскільки прийом препаратів тестостерону може бути тривалим.

Таблиця 2. Контрольні показники при лікуванні тестостероном у дорослих чоловіків

Клінічні показники	Фізична активність
	Розумова діяльність
	Настрій
	Сексуальність (лібідо, частота ерекцій, статева активність)
Соматичні показники	Маса тіла
	Індекс маси тіла
	М'язова маса та сила
Лабораторні показники	Лютропін
	Фолітропін
	Тестостерон
	Естрадіол
	Еритропоез (гемоглобін, гематокрит)
Стан передміхурової залози	Об'єм простати
	Розмір та структура простати (пальпація, УЗД)
Стан кісткової системи	Рівні простатоспецифічного антигену в крові
	Щільність кісток

Андрогензамісна терапія у літніх чоловіків призводить до підвищення сексуальної активності, покращення настрою та загального самопочуття, пониження маси тіла, зменшення вісцеральної та підшкірної жирової основи, збільшення м'язової маси та сили, підвищення щільності кісткової тканини, пониження рівня атерогенних ліпідів, підвищення чутливості до інсуліну.

Єдиним абсолютним протипоказанням для андрогензамісної терапії є підозра або наявність у пацієнта раку передміхурової або грудної залози.

Вплив екзогенних препаратів тестостерону на передміхурову залозу є одним з найактуальніших питань андрогензамісної терапії. В рекомендаціях Ендокринної Асоціації (2006) вважають, що метастазуючий рак передміхурової залози та рак грудних залоз у чоловіків є чинниками дуже високого ризику розвитку серйозних та небезпечних наслідків андрогензамісної терапії, а чинниками помірного та високого ризику несприятливих наслідків є недіагностовані вузли та індурація передміхурової залози, незрозуміле підвищення рівня простатоспецифічного антигену (PSA) в крові, еритроцитоз (гематокрит більше 50%), виражені симптоми обструкції нижніх сечових шляхів внаслідок доброякісної гіперплазії передміхурової залози, а також виражені симптоми серцевої недостатності (клас III або IV).

Доброякісна гіперплазія передміхурової залози є частим захворюванням у літніх чоловіків, основним патогенетичним чинником розвитку якої є підвищення концентрації 5 α -дигідротестостерону в клітинах передміхурової залози. В даний час не має повідомлень про погіршення показників урофлуометрії, збільшення об'єму залози у пацієнтів, які приймали андрогензамісну терапію. Теорія про прямий вплив високих рівнів тестостерону на прогресію раку передміхурової залози від доклінічної стадії до клінічної в даний час не має підтверджень доказової медицини і залишається дискусійною. В літературі наводиться об'єднана оцінка опублікованих проспективних досліджень, присвячених замісній тестостероновій терапії, яка засвідчує, що поширеність раку передміхурової залози в групі чоловіків після лікування тестостероном становила 1,1% та не відрізнялась від показника в загальній популяції. Більше того, в порівняльному річному дослідженні у чоловіків з гіпогонадізмом та високим ступенем простатичної інтраепітеліальної неоплазії, яка розглядається як передракове захворювання, не знайдено більш високого ризику розвитку раку у порівнянні з групою чоловіків без простатичної інтраепітеліальної неоплазії. Тестостерон

не протипоказаний чоловікам з гіпогонадізмом після успішного лікування раку передміхурової залози при ретельному спостереженні за такими хворими.

Рівні PSA в крові у таких пацієнтів можуть підвищуватися, але знаходяться в межах нормальних коливань. Якщо у літнього пацієнта з клімактеричним синдромом спостерігається збільшення об'єму простати з вираженою обструктивною симптоматикою, то необхідна оцінка його стану урологом або андрологом. За наявності середньостабільних обструктивних симптомів андрогензамісну терапію можна проводити. Пацієнти, які отримують андрогензамісну терапію, повинні мінімум 2 рази на рік проходити обов'язкове скринінгове дослідження стану передміхурової залози – пальцеве дослідження залози, трансректальне УЗД та визначення рівнів PSA в крові.

Прийом екзогенних препаратів необхідно призначати з урахуванням захворювань печінки у пацієнтів.

Обов'язковий моніторинг і спостереження кардіолога необхідні у чоловіків літнього віку з серцево-судинними захворюваннями.

Дуже рідко андрогензамісна терапія може призводити до розвитку гінекомастії, яка зникає при корекції дози тестостерону.

Застосування екзогенних препаратів тестостерону може спричинити розвиток поліцитемії, тому необхідне періодичне визначення гематокриту і, якщо він перевищує 52%, пониження дози препарату.

Вважають, що андрогензамісна терапія може викликати апное (асфіксію) уві сні, але на даний час це питання є суперечним.

Рідко у чоловіків при прийомі андрогензамісної терапії спостерігається затримка рідини в організмі.

Потенційні несприятливі ефекти замісної терапії препаратами тестостерону наводяться у табл. 3 (цит. за рекомендаціями The Endocrine Society, 2006).

Таблиця 3. Потенціальні побічні ефекти замісної терапії тестостероном

А. Побічні ефекти, які доказово асоційовані з введенням тестостерону	
– еритроцитоз	
– акне та сальна шкіра	
– визначений субклінічний рак передміхурової залози	
– ріст метастазів раку передміхурової залози	
– зменшення продукції сперми та фертильності	
Б. Побічні ефекти, які зустрічаються рідко, із слабо доказаною асоціацією з введенням тестостерону	
– гінекомастія	
– чоловічий тип облісіння (сімейний)	
– погіршення симптомів доброякісної гіперплазії передміхурової залози	
– ріст раку грудних залоз	
– індукція або погіршення обструктивного апное уві сні	
В. Специфічні побічні ефекти в залежності від форми препарату	
Пероральні таблетки	
– ефекти на печінку та холестерин (метилтестостерон)	
Імплантовані шарики	
– інфекції, вихід шарика	
Внутрішньом'язові ін'єкції ефірів тестостерону	
– зміни (коливання) настрою та лібідо	
– болі в місці ін'єкції	
– надлишковий еритроцитоз (особливо у старших пацієнтів)	
Трансдермальні пластирі	
– реакція шкіри в місці аплікації	
– потенціальний ризик перенесення тестостерону партнеру	
Тестостеронові таблетки букальні	
– зміни смаку	
– подразнення десен	

Моніторинг у літніх чоловіків, які приймають андрогензамісну терапію, здійснюється протягом всього строку терапії, причому моніторування повинно бути пристосоване до показань та індивідуальних потреб пацієнта. Протягом першого року андрогензамісної терапії моніторинг здійснюється 1 раз на 3 місяці, а пізніше – 1 раз на 6 місяців.

Таблиця 4. Моніторинг чоловіків, які отримують тестостеронову терапію
(цит. за рекомендаціями The Endocrine Society, 2006)

1. Обстеження пацієнта через 3 місяці після початку лікування і потім щорічно для визначення симптомів, які розвиваються у відповідь на лікування, та будь-яких побічних ефектів.
2. Моніторинг рівнів тестостерону в крові через 2 або 3 місяці після початку лікування:
 - терапія має за мету підвищити рівні тестостерону у сироватці до середньо-нормальних рівнів.
 - Ін'єкційний тестостерону енантат або ципіонат:
 - визначення рівнів тестостерону в середині інтервалу між ін'єкціями. Якщо рівень тестостерону є більшим 700 нг/дл (24,5 нмоль/л) або меншим 350 нг/дл (12,3 нмоль/л), то регулюють дозу або частоту введення.
 - Трансдермальні пластири:
 - визначають рівні тестостерону через 3-12 годин після аплікації пластиря; регулюють дозу до досягнення рівнів тестостерону в середньонормальних межах.
 - Букальні тестостеронові біoadгезивні таблетки:
 - визначають рівні тестостерону безпосередньо до або після аплікації свіжої системи.
 - Трансдермальний гель:
 - визначають рівні тестостерону в будь-який час після лікування, наприклад, через 1 тиждень; регулюють дозу до досягнення рівнів тестостерону в середньо-нормальних межах.
 - Пероральний тестостерону ундеканат:
 - моніторинг рівнів тестостерону у сироватці крові через 3-5 годин після прийому.
 - Ін'єкційний тестостерону ундеканат:
 - визначають рівні тестостерону якраз перед кожною наступною ін'єкцією і регулюють інтервали між введенням до досягнення рівнів тестостерону в середньонормальних межах.
3. Контроль гематокриту через 3 місяці та потім щорічно. Якщо гематокрит є більшим 54%, терапія призупиняється до зниження гематокриту до безпечного рівня. Визначення у пацієнта гіпоксії та апное уві сні; реініціація терапії зі зменшенням дози.
4. Визначення мінеральної щільності поперекової частини хребта та/або шийки стегна через 1-2 роки терапії тестостероном гіпогонадних чоловіків з остеопорозом або невеликим травматичним переломом, послідовно з місцевим стандартним лікуванням.
5. Проведення пальцевого ректального дослідження та визначення рівнів PSA в крові перед початком лікування, через 3 місяці та потім згідно рекомендацій скринінгу раку передміхурової залози в залежності від віку та раси пацієнта.
6. Призначення консультації уролога, якщо є:
 - верифікована концентрація PSA в крові більше 4,0 нг/мл;
 - підвищення концентрації PSA в крові більше 1,4 нг/мл в межах будь-якого 12-місячного періоду лікування тестостероном;
 - швидкість збільшення концентрації PSA в крові більше 0,4 нг/мл щорічно, використовуючи рівні PSA після 6-місячного введення тестостерону як референтні (застосовуються лише тоді, якщо дані PSA наявні за період, який перевищує 2 роки);

- визначення ненормальностей передміхурової залози пальцевим ректальним дослідженням;
- показник AUA або IPSS симптомів передміхурової залози є більшим 19.

7. Визначення специфічних побічних ефектів під час кожного візиту

Букальні тестостеронові таблетки:

- виявлення змін смаку та дослідження подразнення слизової ротової порожнини та ясен.

Ін'єкційні ефіри тестостерону (енантат або ципіонат):

- розпитати про коливання настрою та лібідо.

Тестостеронові пластирі:

- оглянути місце аплікації для визначення реакції шкіри.

Тестостеронові гелі:

- повідомити пацієнта про необхідність закривати місця аплікації білизною (сорочкою) та мити шкіру милом і водою до отримання контакту шкіра-шкіра, тому що тестостеронові гелі залишають тестостеронові залишки на шкірі, які можуть бути перенесені жінці або дитині при близькому контакті. Рівні тестостерону у сироватці підтримуються, коли місце аплікації є поміте через 4-6 годин після аплікації тестостеронового гелю.

Асоціація сексуальної медицини Північної Америки (SMSNA) в квітні 2003 р. визначила таку позицію: «Тестостеронове заміщення є показаним у чоловіків, котрі мають ознаки та симптоми гіпогонадізму, що супроводжуються субнормальними показниками тестостерону у сироватці. Тестостеронове заміщення може забезпечити значну користь для здоров'я гіпогонадальних чоловіків. Тестостеронове заміщення повинно проводитись тільки за умов компетентного та акуратного медичного спостереження з тим, щоб ідентифікувати ранні ознаки можливих побічних ефектів. Хоч вигоди та ризики довготривалого тестостеронового заміщення все ще остаточно не визначені, не має вагомих доказів на даний час, які передбачають підвищений ризик серцевих захворювань або раку передміхурової залози при довготривалому використанні тестостерону. Тестостерон не має медичних показань у чоловіків, у котрих немає гіпогонадізму».

В резюме рекомендацій Асоціації ендокринологів (2006) щодо використання терапії тестостероном у дорослих чоловіків з синдромом андрогенної недостатності стверджується, що тестостеронова терапія рекомендується чоловікам з низькими рівнями тестостерону і пониженим лібідо для індукції та підтримання вторинних статевих ознак і поліпшення їхньої статевої функції, покращення загального стану, м'язової маси та сили, мінеральної щільності кісток. Автори передбачають, що замісна терапія тестостероном пропонується клініцистами чоловікам з низькими рівнями тестостерону та низьким лібідо для посилення лібідо, а у чоловіків з еректильною дисфункцією з підтвердженими низькими рівнями тестостерону – після визначення причин еректильної дисфункції. Замісна терапія тестостероном пропонується всім літнім чоловікам з низькими рівнями тестостерону. Призначення замісної терапії передбачається на індивідуальній основі літнім чоловікам з послідовно низькими рівнями тестостерону, з вираженими симптомами андрогенної недостатності після обговорення ризиків та успіхів терапії. Автори проти замісної терапії тестостероном у чоловіків з раком передміхурової залози та грудних залоз, з пальпаторно визначеними вузлами або індурацією передміхурової залози та рівнями PSA в крові більшими 3 нг/мл (без подальшого урологічного обстеження), еритроцитозом, нелікованим обструктивним апное уві сні, тяжкими формами нелікованої гіперплазії передміхурової залози з показниками IPSS 19 та неконтрольованою тяжкою серцевою недостатністю.

Таким чином, лікування чоловічого гіпогонадізму залежить від типу гіпогонадізму (причини), стадії статевого розвитку та вираженості андрогенної недостатності. Якщо гіпогонадізм розвинувся і діагностований у препубертатному віці, то показана терапія для стимуляції та підтримання нормальних вторинних статевих ознак, зовнішніх статевих органів, формування скелету, статевої функції та поведінки. Кінцевою метою є безпечна нормалізація фізіології статевого розвитку, підбір препарату, зручного для пацієнта, з найменшими затратами. Парентеральні препарати тестостерону (ефіри – тестостерон-енантат, сустанон-250, омнадрен-250) є ефективними, безпечними та відносно недорогими препаратами, але після їх введення спостерігаються супрафізіологічні концентрації тестостерону в крові в ранній період, що може підвищувати схильність до розвитку гінекомастії та поліцистемії порівняно з трансдермальними тестостероновими системами. Тестостерону ундеканат (небідо) має найбільш тривалу дію, не створює супрафізіологічних концентрацій, але є набагато дорожчим від інших (ефіри тестостерону) препаратів. Трансдермальна доставка тестостерону забезпечує більш фізіологічні концентрації тестостерону та естрадіолу в крові з циркадними варіаціями. Це дозволяє здійснювати моніторинг замісної терапії визначенням вмісту тестостерону в крові приблизно через 12 годин після аплікації. Але трансдермальні системи є дорожчими, ніж ефіри тестостерону. Нашкірні скротальні пластири можуть викликати подразнення шкіри частіше, ніж нескротальні, і призводять до супрафізіологічних рівнів дигідротестостерону. Пероральні препарати тестостерону спричиняють широкі коливання концентрацій тестостерону в крові, а метаболіти більшою мірою впливають на холестерин ліпідів високої щільності.

Література

1. Бондаренко В.А. Мужской гипогонадизм: современные подходы к диагностике и терапии // *Эндокринология в Украине. Организация та надання медичної допомоги: Матер. 50 щорічної наук.-практ. конф. Харків, 2006, 18-28.*
2. Демченко А.Н. Клиническая диагностика и терапия мужского препубертатного гипогонадизма: Метод. рекоменд. Харьков, 2000. 16 с.
3. Лоран О.Б., Сегал А.С. Климактерические расстройства у мужчин. М.: Изд. OGGI Prod., 1989. 88 с.
4. Луцицкий С.В. Чоловічий клімакс: патогенез, клініка, діагностика, лікування // *Ендокринология в Украине. Организация та надання медичної допомоги: Матер. 50 щорічної наук.-практ. конф. Харків, 2006, 120-130.*
5. Сметник В.П. Синдром частичного прогрессирующего дефицита андрогенов у мужчин: миф или реальность? (клиническая лекция) // *Пробл. репродуктол.* 2001, № 1, 5-10.
6. American Association of Clinical Endocrinologists. Medical Guidelines for Clinical Practice for the Evaluation and Treatment of Hypogonadism in Adult Male Patients – 2002 Update / S.M.Petak (ed.) // *Endocr. Pract.* 2002, 8, N 6, 440-456.
7. Investigation, treatment and monitoring of late-onset hypogonadism in males (Standards, Guidelines and Recommendations of ISSAM) // *Aging Male.* 2002, 5, N 7, 74-86.
8. Feldman H. A., Goldstein L., Hatzichriston D. G. et al. Impotence and its medical and psychological correlates. Results of Massachusetts Male Aging Study // *J. Urol.* 1994, N 1, 54-61.
9. Morley J.E., Chariton F., Patrick P. et al. Validation of a screening questionnaire for androgen deficiency in aging males // *Metabolism.* 2000, 49, 1239-1243.
10. PADAM // *Organon.* 2000. 52 p.
11. Standard Practice in Sexual Medicine / H.Porst, J.Buvat & the Standards Committee of ISSM (eds.) // *Blackwell Publ.* 2006, 225-286.
12. Testosterone Therapy in Adult Men with Androgen Deficiency Syndromes: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. The Endocrine Society, 2006. 29 p.
13. Vermeulen A. Some reflections on the endocrinology of the aging male // *Aging Male.* 1998, 1, 163-168.

ГАНС СЕЛЬЄ (до 100-річчя з дня народження)



26 січня 2007 р. виповнилося 100 років з дня народження Ганса Сельє (1907-1982), який увійшов в історію як видатний ендокринолог-патолог, засновник вчення про стрес. Він народився у Відні в сім'ї лікаря, який мав власну хірургічну клініку в м. Комарно (на території майбутньої Чехословаччини), вчився в університетах Праги, Парижу та Риму. Протягом 1929-1931 рр. був асистентом кафедри експериментальної патології Німецького університету (Прага). Більшу частину життя Г. Сельє працював у Канаді: спочатку в університеті МакГилла (1933-1945), а з 1945 до 1977 р. обіймав посаду директора Інституту експериментальної медицини та хірургії Монреальського університету. З 1979 р. до кінця життя був президентом Міжнародного інституту стресу.

«За своїми схильностями – я морфолог і хірург-експериментатор» – зізнавався вчений. Фактично, він був патофізіологом-ендокринологом, тому що все життя присвятив дослідженню найбільш загальних, головних закономірностей виникнення, розвитку і закінчення хвороби, а це й складає предмет патологічної фізіології. Він широко використовував методологію патофізіологічних досліджень – експериментальне моделювання і вивчення патологічних процесів. У центрі уваги Сельє закономірно опинилась ендокринна система як така, що регулює гомеостазис і забезпечує захисно-приспосувальні процеси за мінливих умов існування.

Аналітичний розум вченого завжди був схильний до великих узагальнень. Не в останню чергу завдяки Г.Сельє ендокринологія перетворилася з вузької клінічної дисципліни на сучасну медико-біологічну науку. Неабиякий письменницький дар вчений ефективно використав для поширення і популяризації своїх дослідницьких доробок і наукових поглядів. Йому належить більш як півтори тисячі публікацій, в тому числі майже 30 монографій і науково-популярних книг. Навряд чи знайдеться біолог чи медик, котрий не прочитав хоча б одну з відомих книг Сельє: «The stress of Life» (N.Y., 1956), а також перекладених на російську мову – «Очерки об адаптационном синдроме» (1960), «Профилактика некрозов сердца химическими средствами» (1961), «На уровне целого организма» (1972), «Стресс без дистресса» (1979), «От мечты к открытию» (1987).

За визнанням самого ученого, коли він у 1936 р. опублікував у британському журналі «Nature» першу статтю з проблеми стресу, то не передбачав усіх майбутніх наслідків її для розвитку медицини, психології і соціології. Ще раніше У.Кеннон звернув увагу, що першою реакцією організму на сильні подразники є активація симпатно-адреналової системи. Заслуга Г.Сельє полягає в тому, що він відкрив і детально дослідив комплексну стереотипну реакцію організму на патогенні чинники (загальний адаптаційний синдром), довів провідну роль системи гіпофіз–кора надниркових залоз,

а також обґрунтував нові наукові поняття – стрес (від англ. stress – напруга), стресор (фактор, що викликає стрес). Біологічне значення стресу полягає у напрузі захисних сил організму і формуванні неспецифічної резистентності. Фізіологічний рівень стресу (еустрес) є необхідною передумовою життя, адаптації організму до зміни чинників внутрішнього та зовнішнього середовища, які здатні порушити гомеостазис. Екстремальні стресори, тобто патогенні агенти надмірної сили, викликають стан дистресу, що є небезпечним для організму і може призвести до низки захворювань і навіть до загибелі. В експериментах на тваринах, які зазнавали травми, больових, емоційних впливів, інфекції, інтоксикації, гіпер- або гіпотермії, м'язового перенапруження та дії інших стресорів, Г. Сельє спостерігав стереотипну триаду змін: гіпертрофію кори надниркових залоз, інволюцію тиміко-лімфатичних утворень, появу геморагій та пептичних виразок шлунка. Дослідження вченого та його послідовників наповнили теорію стресу безліччю експериментальних і клінічних фактів стосовно змін на молекулярному рівні (с-fos та інші гени негайної дії, білки теплового шоку, або шаперони, інтерлейкіни), клітинному рівні (клітинний стрес), біохімічному рівні (наприклад, оксидативний стрес), системному рівні (імунна, нервова, ендокринна, насамперед, гіпоталамо-гіпофізарно-адrenalова, та інші системи). Первинними пусковими факторами стресу вважають катехоламіни та продукти перекисного окиснення ліпідів і білків.

За Сельє, загальний адаптаційний синдром розвивається у три послідовні стадії: реакція тривоги (шок і протишок), стадія резистентності, стадія виснаження (у випадку тривалого дистресу). Під час шоку спостерігають гіпотонію м'язів, артеріальну гіпотензію, зменшення температури тіла, гіпоглікемію, запустіння крові, підвищення проникливості стінок кровоносних судин. Посилюються катаболічні процеси (кататоксичні реакції): інволюція лімфоїдних тканин, гіперазотемія, азотурія, деструктивні ураження слизової оболонки шлунка. Наступна реакція – протишок – характеризується протилежними змінами: артеріальний і м'язовий гіпертонус, гіперглікемія, гіпертермія як наслідки активації симпато-адrenalової і гіпоталамо-гіпофізарно-адrenalокортикальної системи. Гіпертрофія кори надниркових залоз і посилення секреції АКТГ та глюкокортикоїдів (адаптивних гормонів) зумовлює наступну стадію – резистентності, і є головним механізмом формування захисних реакцій організму. Посилюються анаболічні процеси (синтоксична реакція), стимулюється глюконеогенез, пригнічуються процеси запалення. Важливо, що резистентність має неспецифічний характер, тобто проявляється стосовно різноманітних патогенних чинників, незалежно від первинного стресора. Наприклад, попереднє кровопускання зменшує інтенсивність запалення, що його викликає підшкірне введення тварині формаліну. Попередня м'язова напруга захищає від некрозу міокарда, що спричиняється внутрішньовенним введенням протеолітичних ферментів. Якщо адаптаційний резерв організму (адаптаційна енергія, за Сельє) виснажується, настає стадія виснаження, проявами якої є розпад білків, падіння артеріального тиску і температури тіла і, зрештою, летальний результат. Жива природа надає відповідні приклади: загибель лососевих риб після нересту внаслідок перенапруження і виснаження інтерреналових (аналогів надниркових) залоз, коли особина виконала основну біологічну функцію відтворення виду.

Суттєвим внеском в медицину стало уявлення Сельє про прозапальні та протизапальні кортикостероїди. До перших належать мінералокортикоїди (альдостерон, дезоксикортикостерон), до других – глюкокортикоїди (кортизол, кортизон). Порушення рівноваги між ними призводить до хвороб адаптації – ревматоїдного артрити, бронхіальної астми, системних колагенозів

та інших аутоімунних захворювань, нефрокальцинозу, уражень міокарда. Неабияку роль в патогенезі хвороб адаптації відіграють кондиціональні, тобто зумовлювальні, фактори – перевтома, надмірне споживання харчової солі, переохолодження. Натомість тренувальний вплив на організм стресорів помірної сили (фізичні вправи, холодні водяні процедури) підвищує секрецію адаптивних гормонів і збільшує резистентність організму.

Стрес обмежує прояви специфічної резистентності. Наприклад, головні медіатори стресу – глюкокортикоїди – пригнічують реакції клітинного і гуморального імунітету при інфекційних захворюваннях.

Сельє завжди турбувало питання про первинні медіатори стресу. Він навіть припускав, що питання треба ставити інакше, а саме, що мова має йти не обов'язково про якийсь агент на зразок токсину чи продукту розщеплення білка, а про фактор нестачі чогось, наприклад, якогось метаболіту. За сьогоднішніми уявленнями, функцію первинних медіаторів стресу в більшості випадків можуть виконувати вільнорадикальні продукти перекисного окиснення органічних субстратів.

Сучасна ендокринологія і патофізіологія значно поглибили уявлення про механізми реалізації та обмеження стресових реакцій системою гіпоталамус-гіпофіз-кора надниркових залоз як такою, що є визначальною в перебігу загального адаптаційного синдрому. До центральних стимуляторів відносять гіпоталамічні чинники – катехоламіни, кортиколіберин, вазопресин та ін., до обмежувальних чинників – опіоїди (бета-ендорфін), епіфізарний гормон мелатонін, мінерало- і глюкокортикоїдні рецептори гіпокампу, компоненти ГАМК-ергічної системи.

Успішно вивчаються генетико-еволюційні аспекти стресу, його роль у видовому та індивідуальному доборі. Біологічною основою цього явища вважають імпринтинговий вплив кортикостероїдів на індукційні ферменти метаболізму, експресію генів (завдяки здатності стероїдів здійснювати їхню активацію або репресію), на розвиток нейроендокринної системи і становлення специфічних форм поведінки, як це видно на прикладі пренатального стресу.

Вчення Г.Сельє виявилось теоретичним підґрунтям для клінічної медицини. Як приклад можна навести застосування кортизону (а в майбутньому й інших глюкокортикоїдних препаратів) для лікування ревматоїдного артриту, бронхіальної астми або застосування цих гормональних засобів у боротьбі з шокowymi станами.

Г.Сельє мав добрі наукові й особисті стосунки з вітчизняними вченими, зокрема, з академіком В.П.Комісаренком. Крізь сторінки його наукових, філософських і публіцистичних творів проглядає постать великого дослідника природи і гуманіста.

*О.Г. Резніков,
член-кореспондент НАН і АМН України*

Пам'яті ЕПШТЕЙНА ОВСІЯ ВОЛОДИМИРОВИЧА



23 грудня 2006 року смерть обірвала життя талановитого організатора і науковця, члена-кореспондента АМН України, заслуженого діяча науки і техніки України, завідувачого лабораторією функціональної діагностики Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України Епштейна Овсія Володимировича.

Він народився 25.04.1933 року в м. Бобруйську (Білорусь), в 1956 році закінчив з відзнакою Київський медичний інститут за фахом «лікувальна справа». В цьому інституті він працював старшим лаборантом кафедри хірургії санітарно-гігієнічного факультету (1956-1959), асистентом, а згодом – доцентом кафедри рентгенодіагностики (1959-1967). В 1963 р. захистив кандидатську дисертацію «Вікові особливості співвідношення функціонального стану скелетних м'язів та обміну в них макроергічних сполук» (науковий керівник – В.В.Фролькіс). З 1964 до 1966 р. Епштейн О.В. був заступником декана лікувального факультету Київсько-

го медичного інституту. За активну участь в освоєнні цілинних земель в 1958 р. він був нагороджений медаллю «За освоєние целинных земель» і знаком «За освоєние новых земель».

В 1967 р. був обраний за конкурсом на посаду старшого наукового співробітника Інституту гематології і переливання крові, а з 1968 року обіймав посаду с. н. с. лабораторії радіології та рентгенології Інституту ендокринології та обміну речовин. З 1985 року і по 2006 рік був завідувачем лабораторії функціональної діагностики. В 1982 році захистив докторську дисертацію «Гормональні механізми розвитку ожиріння». Професор зі спеціальності «ендокринологія» (1993), член-кореспондент АМН України зі спеціальності «медична радіологія» (1994).

Спочатку наукова діяльність Епштейна О.В. була зосереджена на експериментальних і клінічних аспектах медичної радіології та ендокринології (обмін ^{131}I -інсуліну при ендокринних захворюваннях, функціональний стан печінки у хворих на тиреотоксикоз, вивчення гормональних чинників у розвитку артеріальної гіпертензії, ожиріння як переддіабет, аналіз деяких гіпоталамо-гіпофізарних взаємовідношень при ожирінні), а з 1986 р. наукова та клінічна діяльність О.В.Епштейна пов'язана з його активною участю в ліквідації медичних наслідків аварії на ЧАЕС, у створенні дозиметричного реєстру дітей, у вивченні функціонального стану ендокринної системи у ліквідаторів.

За його ініціативою та безпосередньою участю в перші дні після аварії розпочали вимірювання поглинутої щитоподібною залозою (ЩЗ) дози радіоактивного йоду і визначення вмісту гормонів в крові у дітей та підлітків, новонароджених та вагітних жінок, які мешкали на забруднених радіацією територіях України, а також евакуйованих з 30-кілометрової зони. За активну участь в ліквідації медичних наслідків аварії на ЧАЕС в 1987 р. він був нагороджений орденом «Знак пошани». З його ініціативи вперше в Україні запроваджено метод тонкоігольової аспіраційної пункційної біопсії ЩЗ під контролем ехографії з наступним цитологічним, цитохімічним та імуноцитохімічним дослідженням пунктату, а в 1995-1996 рр. розпочало роботу відділення радіойодтерапії для обстеження та лікування дітей і підлітків України, прооперованих з приводу раку ЩЗ. Він активно працював у широкомасштабних міжнародних епідеміологічних дослідженнях патології ЩЗ.

Епштейн О.В. був автором понад 250 наукових праць, серед яких 4 монографії та 5 методичних рекомендацій. Був членом Наукової ради при Президії АМН України з теоретичної та профілактичної медицини і членом редколегій ряду наукових журналів.

Йому завжди були притаманні риси дійової, ініціативної людини. О.В.Епштейна глибоко поважали лікарі і хворі. До спілкування з ним тягнулися колеги, цінуючи його людські якості. Він був відданим другом, співчутливою людиною, завжди приходив на допомогу тим, хто цього потребував. Світла пам'ять про Овсія Володимировича Епштейна – талановитого організатора, людину шляхетну, чесну, глибоко порядну назавжди залишиться в серцях співробітників, пацієнтів та його учнів.