

*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

2004

Том 9, №2
Volume 9, No.2

Журнал заснований у 1996 р.

Founded in 1996

Київ
Kyiv

*Засновник – Інститут ендокринології та обміну речовин
ім.В.П.Комісаренка АМН України*

Редакційна колегія:

ТРОНЬКО М.Д. (головний редактор), БЕЗВЕРХА Т.П. (відповідальний секретар), ГОРБАНЬ Є.М., ЕПШТЕЙН О.В., ЄФІМОВ А.С. (заступник головного редактора з клінічної ендокринології), КАРАЧЕНЦЕВ Ю.І., КОРПАЧОВ В.В., КРАВЧЕНКО В.І., МАРКОВ В.В., МИКОША О.С. (заступник головного редактора з експериментальної ендокринології), ОЛІЙНИК В.А., 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

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

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 24.09.2004. Підп. до друку 29.10.2004. Формат 70 x 108/16.
Офсетний друк. Ум.-друк. арк. 11,84. Наклад 380 прим.

Оригінал-макет: Андрій Бойко; Фірма "Ессе", 03142 Київ, пр-т Акад. Вернадського, 34/1

ЗМІСТ

Оригінальні дослідження

- Особливості вуглеводного обміну при гіпоталамічному синдромі в дитячому і підлітковому віці 118
О.О. Хижняк
- Стан автономної нервової системи у хворих на цукровий діабет 1 типу з різними стадіями діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії за аналізом варіабельності ритму серця 126
С.М.Ткач
- Функціональний стан печінки та жовчного міхура у хворих на цукровий діабет 2 типу 134
О.А.Савич, В.М.Славнов, В.В. Марков
- Содержание лептина в сыворотке крови больных сахарным диабетом 2 типа с разной массой тела 140
О.В.Тузова, Б.Н.Маньковский
- Особливості рецепції тестостерону моноядерними лейкоцитами у чоловіків, хворих на цукровий діабет 2 типу, з нормальною чутливістю до інсуліну 147
О.В. Корпачева-Зінич, Т.І.Корпачева
- Дослідження ранозагоювальної активності нового інсулін-вмісного буккального препарату 155
П.Л.Старокадомський, В.А.Кордюм
- Зміни толерантності до глюкози у тварин при довгостроковому аліментарному надходженні радіонуклідів та зовнішньому опроміюванні у малих дозах 162
Н.О.Карпенко, М.Ю.Алесіна, В.В.Деревиць
- Стан глюкозного гомеостазу і глюкозотолерантності у діабетичних тварин при сумісному застосуванні інсуліну та окситоцину 170
С.Д.Тржецинський
- Особливості лікування гіпотиреозу у хворих на ішемічну хворобу серця, оперованих з приводу автоімунного тиреоїдиту, у віддаленому післяопераційному періоді 177
Ю.І.Караченцев, К.В.Місюра
- Морфологічна характеристика органної культури та ксенотрансплантату аденоми прищитоподібної залози людини 182
І.П.Пастер, І.А.Балла, О.В.Люткевич, М.Д.Тронько
- Ендокринні механізми впливу чинників епіфіза на циркадіанний ритм функції тимуса у людей похилого віку 191
І.Ф.Лабунець, Л.В.Магдич, В.В.Шатило
- Огляди
- Діагностика і клінічні ознаки первинного гіперпаратиреозу у дітей 199
Г.А.Дерев'янка, І.Ю.Шевченко, О.В.Большова, Д.І.Дерев'янка
- Фармакотерапія адренокортикального раку 207
А.М.Кваченюк

Метформин и розиглітазон – перспективи совместного применения в лечении сахарного диабета 2 типа (миниобзор литературы) 215
Н.А.Зуева

Білки, що зв'язують інсулін, та контррецепторні білки сироватки крові хворих на цукровий діабет і здорових людей 221
В.В.Корпачев, Н.М.Гуріна, С.В.Мельниченко, Р.Г.Лукашова, А.А.Шупрович

Короткі повідомлення

Особливості хірургічної техніки гемітиреоїдектомії при фолікулярних новоутвореннях щитоподібної залози 236
Г.В.Комісаренко, А.С.Коваленко, О.В.Люткевич

Зв'язок між функціональною активністю щитоподібної залози, ліпідами сперми та чоловічою неплідністю 239
В.М.Маргітич, Н.М.Гула, М.Д.Тронько, Є.В.Луцицький, С.К.Коб'яков, Т.М.Горідько

Застосування біопрепарату із бацил для корекції імунної відповіді та функціональних порушень тиреоїдного статусу організму за умов експериментального гіпотиреозу 243
Н.В. Бойко, М.В. Кривцова, З.Й. Фабрі

Реакція кортикотропоцитів аденогіпофіза на хронічну дію нітратів 248
І.М. Рожков, В.М. Гордієнко

Некролог

Пам'яті Щербака Олександра Вікторовича 252

Інформація про післядипломну освіту

Розклад циклів кафедри ендокринології Київської медичної академії післядипломної освіти на 2005 рік

ОСОБЛИВОСТІ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ ПРИ ГІПОТАЛАМІЧНОМУ СИНДРОМІ В ДИТЯЧОМУ І ПІДЛІТКОВОМУ ВІЦІ

О.О. Хижняк*

*Інститут охорони здоров'я дітей і підлітків АМН України, 61153 Харків,
Україна*

Досліджували базальний та стимульований рівень глікемії при проведенні стандартного тесту толерантності до глюкози (ТТГ) у 220 хлопчиків 10-17 років, хворих на гіпоталамічний синдром пубертатного періоду, вміст імунореактивного інсуліну, розраховували індекс інсулінорезистентності НОМА_{IR} . У хворих виявлено порушення вуглеводного обміну, характер яких залежав від клінічного варіанту захворювання, типу та ступеня ожиріння, рівня артеріального тиску. У 8,64 % випадків зареєстровано ізолюване підвищення рівня глікемії натще, у 34,55 % хворих при проведенні ТТГ виявлена плоска глікемічна крива, у 10,91 % хлопців діагностовано порушення толерантності до глюкози. У хворих з типовим варіантом гіпоталамічного синдрому пубертатного періоду і в групі з провідним симптомом артеріальної гіпертензії вірогідно частіше ($P < 0,05$) виявлене підвищення в крові базального рівня імунореактивного інсуліну та індексу інсулінорезистентності НОМА_{IR} .

Ключові слова: гіпоталамічний синдром пубертатного періоду, хлопці-підлітки, вуглеводний обмін, інсулінорезистентність, гіперінсулінемія, ожиріння.

В даний час гіпоталамічний синдром пубертатного періоду (ГСПП) описують як захворювання, що характеризується ожирінням, артеріальною гіпертензією, порушеннями статевого дозрівання, обумовленими гормональною дисфункцією різного ступеня вираженості [1, 2]. Досить часто вже в дитячому і підлітковому віці при цьому захворюванні можна виявити інсулінорезистентність і гіперінсулінізм [3], які характерні для метаболічного синдрому X (МС) дорослих, вивченню якого у світі за останні роки присвячена величезна кількість досліджень. Одним із складових синдрому інсулінорезистентності є абдомінальне ожиріння, що і при ГСПП, за нашими даними, у хлопчиків зустрічається у 55,88 % хворих. Вивчення віддалених наслідків андройдного ожиріння у дітей і підлітків свідчить про високий ризик розвитку у таких пацієнтів в дорослому віці цукрового діабету 2 типу, атеросклерозу і зв'язаних з ним захворювань серцево-судинної системи [4, 5].

Тому рання діагностика навіть функціональної інсулінорезистентності в дитячому віці дозволить проводити необхідну медикаментозну корекцію для профілактики цих захворювань у дорослих.

Матеріали і методи

Стан вуглеводного обміну досліджували у 220 хлопчиків 11-17 років, що знаходилися на лікуванні в ендокринологічному відділенні Інституту охорони здоров'я дітей та підлітків АМН України з приводу гіпоталамічного синдрому пубертатного періоду. Рівень глікемії визначали глюкозооксидантним методом, нормальними значеннями вважали 3,3-5,5 ммоль/л. Усім хворим проведений стандартний тест толерантності до глюкози, рівень глікемії досліджували натще, через 30, 60, 90 і 120 хвилин після навантаження глюкозою (1,75 г/кг).

*Адреса для листування (Correspondence): Інститут охорони здоров'я дітей і підлітків АМН України, просп. 50-річчя ВЛКСМ, 52А, 61153 Харків, Україна

Разом з тим, у 67 хворих для оцінки секреторної активності β -клітин підшлункової залози радіоімунологічним методом визначали вміст імунореактивного інсуліну (ІРІ) у сироватці крові. Дослідження робили з використанням стандартних наборів фірми "ХОПВОХ" (Беларусь) і приладу Гамма-800 "Наркотест".

Для оцінки чутливості до інсуліну розраховували індекс інсулінорезистентності НОМА_{IR} (Homeostasis Model Assessment) [6, 7]. Підвищення рівня базальної інсулінемії розцінювалось як ознака явного гіперінсулінізму. Інсулінорезистентність у хворих діагностували, коли індекс НОМА перевищував 6,5 [8].

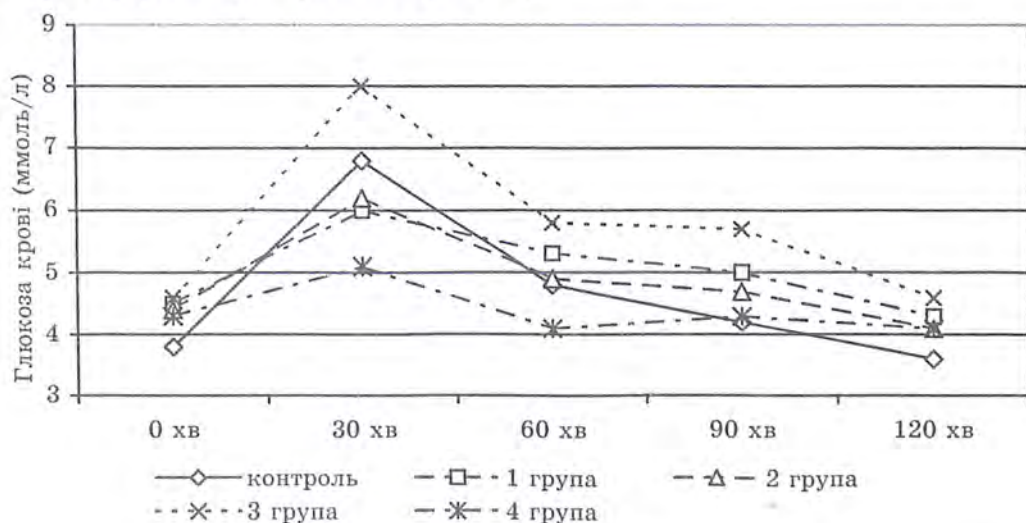
При об'єктивному огляді хворих оцінювали рівень фізичного розвитку, визначали індекс маси тіла (ІМТ , $\text{кг}/\text{м}^2$), індекс обвід талії/обвід стегон ($\text{ОТ}/\text{ОС}$), рівень артеріального тиску (АТ). Ступінь ожиріння у хворих оцінювали за таблицями фізичного розвитку дітей різного віку [9]. При значеннях індексу $\text{ОТ}/\text{ОС} > 0,9$ діагностували абдомінальний (андроїдний) тип ожиріння. На підставі здійсненого раніше системного аналізу [10] клінічних проявів ГСПП у хлопчиків були виділені чотири варіанти ГСПП: 1 – типовий гіпоталамічний синдром, 2 – ГСПП із провідним симптомом ожиріння, 3 – ГСПП з провідним симптомом артеріальної гіпертензії, 4 – стерта форма. Як контроль були використані результати визначення показників ТТГ та ІРІ у 18 здорових однолітків, жителів м. Харкова. Статистичний аналіз отриманих результатів виконували з огляду на клінічні особливості перебігу захворювання, з використанням пакета комп'ютерних програм "Statgraphics Plus 3.0" (Manugistic Inc., США).

Результати і їх обговорення

Середній рівень базальної глікемії у всієї групи хворих на ГСПП був у межах нормальних значень і склав $4,64 \pm 0,05$ ммоль/л; при здійсненні регресійного аналізу не виявлено статистично значущої залежності рівня глюкози натще від ступеня надлишку маси тіла і клінічного варіанта ГСПП. Але у 19 хворих (8,64 %) відзначене ізольоване підвищення глікемії натще, при цьому у 12 (63,16 %) пацієнтів – у поєднанні з вираженим ожирінням 3-4 ступеня, у 13 хворих (68,42 %) – у поєднанні з артеріальною гіпертензією.

При проведенні ТТГ порушення толерантності до глюкози (ПТГ) діагностовано в 10,91 % випадків і тільки у пацієнтів з абдомінальним типом ожиріння ($\text{ОТ}/\text{ОС} > 0,9$). "Плоска" глікемічна крива виявлена у 34,55 % хворих, вірогідно частіше у пацієнтів з ожирінням 3 ступеня ($P < 0,05$).

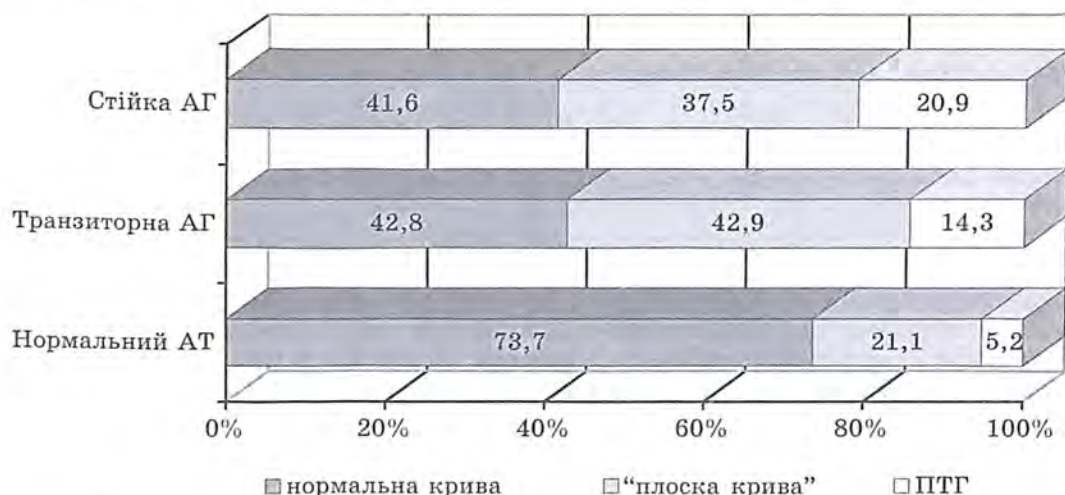
Аналіз результатів ТТГ у хворих з різними клінічними варіантами захворювання показав, що у хлопчиків із 1, 2 та 4 варіантами ГСПП виявляється зниження підйому глікемічної кривої на 30-й хв після навантаження глюкозою у порівнянні з контролем, найменший підйом був виявлений у хворих зі стертою формою захворювання (мал. 1).



Мал. 1. Характер глікемічних кривих у хлопчиків з різними варіантами ГСПП.

Проте у хворих з 3 варіантом захворювання рівень глікемії на 30-й та 60-й хв після навантаження глюкозою був вірогідно вищим від цих показників в контрольній групі ($P < 0,05$). Індивідуальний аналіз показав, що у 9,10 % хворих, переважно за типової форми, є підвищення рівня глікемії на 120-й хв після навантаження, у порівнянні з 60-ю і 90-ю хвилинами.

Також було проаналізовано стан вуглеводного обміну у хворих на ГСПП у залежності від ступеня збільшення АТ. Середній рівень базальної глікемії у хворих з підвищеним АТ був вищим у порівнянні з цим показником у хлопчиків з нормальним АТ: $4,84 \pm 0,17$ ммоль/л та $4,07 \pm 0,12$ ммоль/л, відповідно ($P < 0,05$). Встановлено пряму регресійну залежність між рівнем базальної глікемії та ступенем підвищення АТ (коефіцієнт кореляції склав $r = 0,31$, $P = 0,01$). Із зростанням артеріальної гіпертензії (АГ) у підлітків збільшується частота ПТГ на тлі проведення ТТГ (мал. 2). У хворих із транзиторною і стійкою АГ змінюється співвідношення між кількістю нормальних і "плоских" (гіперінсулінімічних) кривих, у порівнянні з групою хлопчиків, що мають нормальний АТ.

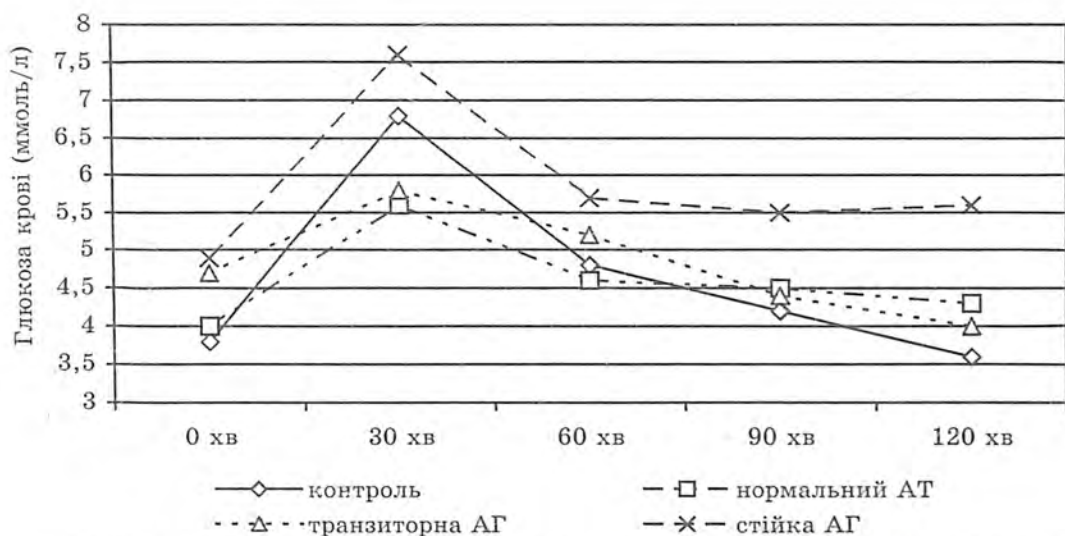


Мал. 2. Частота порушень толерантності до глюкози у хворих на ГСПП в залежності від рівня артеріального тиску.

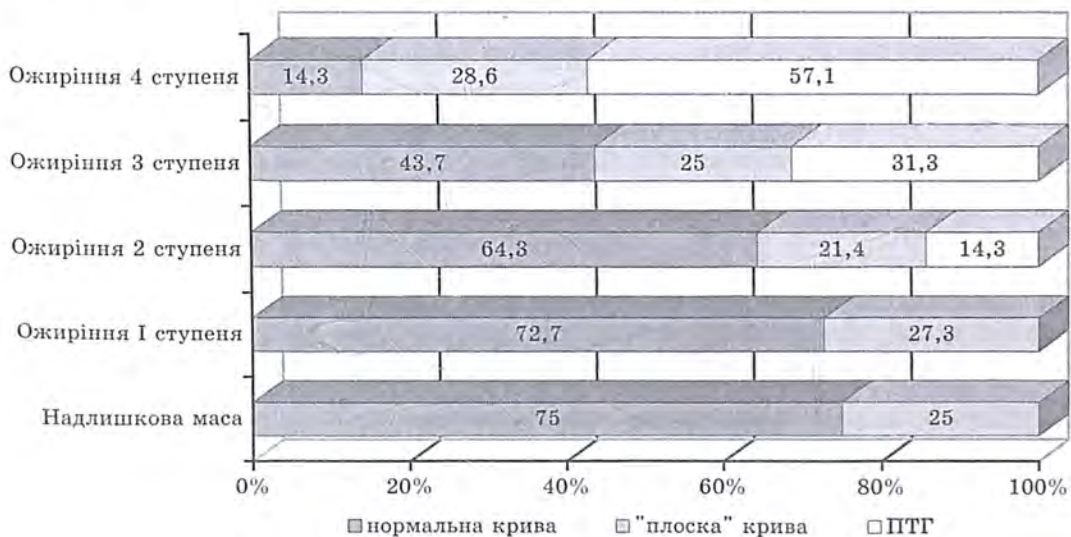
У пацієнтів зі стійкою АГ у середньому по групі виявлено вірогідне підвищення рівня глікемії на всіх етапах проведення ТТГ у порівнянні з цими показниками у хворих з нормальним і транзиторно підвищеним АТ ($P < 0,05$) (мал. 3).

Оскільки ожиріння є одним з провідних клінічних симптомів ГСПП, були проаналізовані показники базальної і стимульованої глікемії у хворих в залежності від ступеня підвищення маси тіла і характеру розподілу підшкірної жирової основи. Вірогідних розходжень у середніх показниках глікемії натще у пацієнтів з різним ступенем ожиріння не виявлено. Виконання ТТГ у хворих з тяжкою формою ожиріння (3-4 ступінь) встановило вірогідне підвищення частоти патологічних кривих ($P < 0,05$) у порівнянні з пацієнтами, у яких надлишок маси тіла був менш вираженим. В цілому, з підвищенням маси тіла і ступеня ожиріння збільшується кількість хворих, у яких виявлено ПТГ (мал. 4). Звертає на себе увагу, що у хворих з 4 ступенем ожиріння на тлі низького рівня глікемії натще відзначався підвищений вміст цукру у крові на 120-й хв ТТГ – $7,12 \pm 0,12$ ммоль/л (мал. 5). Наявність "двогорбої" кривої може бути обумовлена помірним гіперкортицизмом, який є характерним для хворих на ГСПП.

Виявлені порушення вуглеводного обміну у хлопчиків із ГСПП дають підставу припустити, що у хворих можуть мати місце приховані чи явні пору-



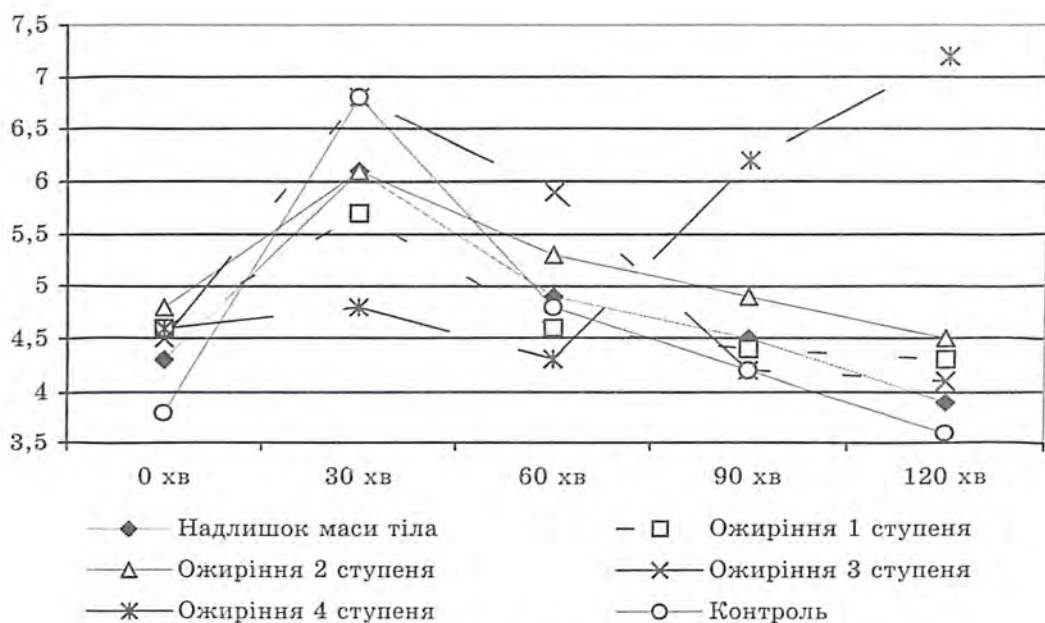
Мал. 3. Характер глікемічних кривих у хворих на ГСПП в залежності від рівня артеріального тиску.



Мал. 4. Частота порушень толерантності до глюкози у хворих на ГСПП в залежності від ступеня надлишку маси тіла.

шення секреції й утилізації інсуліну. Вивчення базального рівня ІРІ дозволили встановити високу варіабельність його вмісту у крові: від 39,0 пмоль/л до 799,0 пмоль/л. Середній показник ІРІ по групі склав $172,76 \pm 14,91$ пмоль/л, у контрольній групі – $98,40 \pm 9,65$ пмоль/л ($P < 0,05$). У 52,24 % пацієнтів рівень ІРІ був підвищений (табл. 1). З найбільшою частотою гіперінсулінізм виявлявся у хворих з типовою формою ГСПП і у групі з провідним симптомом артеріальної гіпертензії: 66,67 % і 71,43 %, відповідно.

В останні роки доведено, що "золотим стандартом" для діагностики інсулінорезистентності є розрахунок індексу НОМА_{IR} [5, 6]. У хлопчиків із ГСПП виявлено підвищення середніх значень індексу $\text{НОМА}_{\text{IR}} - 7,13 \pm 0,67$, у контрольній групі – $3,32 \pm 0,27$ ($P < 0,05$), що свідчить про наявність інсулінорезистен-



Мал. 5. Характер глікемічних кривих у хлопчиків із ГСПП в залежності від ступеня надлишку маси.

Таблиця 1. Середні значення показників інсуліну у крові та індексу НОМА ($M \pm m$) у хворих на гіпоталамічний синдром в залежності від клінічного варіанта захворювання

Клінічні варіанти захворювання	IPI (пмоль/л)	НОМА _{IR}
1. (n=27)	206,70 ± 34,04*	8,47 ± 1,30*
2. (n=10)	155,10 ± 21,86*	6,16 ± 0,85*
3. (n=10)	186,14 ± 45,51*	7,77 ± 0,19*
4. (n=20)	132,0 ± 12,62	5,38 ± 0,48*
Контрольна група (n=18)	98,40 ± 9,65	3,32 ± 0,27

Примітка: * – $P < 0,05$ стосовно контрольної групи.

тності у хворих на цю недугу. Найвищі значення індексу НОМА_{IR} відзначалися у групі хворих з типовим варіантом ГСПП ($8,47 \pm 1,30$) і у групі з провідним симптомом артеріальної гіпертензії ($7,77 \pm 1,20$). У пацієнтів із провідним симптомом ожиріння індекс НОМА_{IR} склав $6,16 \pm 0,85$, а у пацієнтів зі стертою формою захворювання цей показник був найнижчим – $5,38 \pm 0,48$, але вірогідно вищим ($P < 0,05$) у порівнянні з контролем (табл. 1). Рівень гіперінсулінемії та інсулінорезистентності зростає у залежності від ступеня збільшення маси тіла хворих. Виявлено позитивний кореляційний зв'язок вмісту IPI з індексом НОМА_{IR} ($r = 0,42$, $P < 0,05$) і ступенем ожиріння ($r = 0,47$, $P = 0,03$). При абдомінальному ожирінні у підлітків із ГСПП відзначається вірогідне ($P < 0,05$) підвищення рівня IPI та НОМА_{IR} у порівнянні з підлітками, у яких виявлений гіноїдний його тип. При цьому із зростанням ступеня ожиріння зростає і гіперінсулінемія. За гіноїдного типу високі показники IPI і НОМА_{IR} спостерігаються тільки при 4 ступені ожиріння, проте залишаються нижчими, ніж при андройдному типові розподілу підшкірної жирової основи ($P < 0,01$) (табл. 2).

Ми проаналізували також стан інкреторної функції підшлункової залози в залежності від рівня АТ. Якщо середній показник вмісту IPI у всіх обстежених хворих склав $153,04 \pm 15,92$ пмоль/л, то у пацієнтів з підвищеним АТ він

Таблиця 2. Вміст інсуліну у крові хворих на ГСПП (M±m) в залежності від ступеня надлишку маси тіла і типу розподілу жиру

Ступінь і тип ожиріння	ІРІ (пмоль/л)	НОМА _{IR}
Надлишкова маса тіла		
абдомінальний тип	133,40 ± 15,88	5,59 ± 0,59 #
гіноїдний тип	134,67 ± 19,20	4,67 ± 1,24
Ожиріння 1 ступеня		
абдомінальне	121,40 ± 26,23	8,58 ± 1,53* #
гіноїдне	116,40 ± 17,38	4,50 ± 0,65
Ожиріння 2 ступеня		
абдомінальне	173,84 ± 15,86 #	7,92 ± 0,87 #
гіноїдне	134,67 ± 39,18	6,36 ± 1,20
Ожиріння 3 ступеня		
абдомінальне	162,25 ± 17,08 #	6,71 ± 0,82 #
гіноїдне	141,14 ± 23,31	5,34 ± 1,18
Ожиріння 4 ст.		
абдомінальне	623,0 ± 17,30* #	22,80 ± 0,65* #
гіноїдне	443,83 ± 28,18 #	15,73 ± 2,91

Примітка: * – вірогідність різниці між типами ожиріння (P<0,05);

– вірогідність різниці при порівнянні з контрольною групою (P<0,05).

був вищим (173,3±20,32 пмоль/л, P<0,05), ніж у хлопців з нормальним АТ. Найвищі показники ІРІ реєструвалися у хворих зі стійкою АГ. Встановлено позитивний кореляційний зв'язок між рівнем діастолічного тиску і вмістом ІРІ у крові (r=0,38, P=0,03). В той же час частота формування інсулінорезистентності не залежала від рівня АТ: майже з однаковою частотою індекс НОМА_{IR} був високим, як у хворих з нормальним АТ, так і у хворих з артеріальною гіпертензією (38,46 % і 43,48 %, відповідно).

Таким чином, отримані результати підтверджують існуючі дані про порушення вуглеводного обміну у хворих на ГСПП [1, 2] і переконливо доводять, що характер порушень залежить від клінічного варіанта захворювання, типу і вираженості ожиріння, рівня артеріального тиску. Гіперінсулінемія, інсулінорезистентність та абдомінальне ожиріння можуть бути одними з провідних патогенетичних чинників формування артеріальної гіпертензії у хлопчиків, хворих на ГСПП.

Висновки

1. У хлопчиків із ГСПП в 8,64 % випадків зареєстровано ізольоване підвищення рівня глікемії натще, у 10,91 % – порушення толерантності до глюкози, у 34,55 % – виявлено “пласку” глікемічну криву під час проведення ТТГ.

2. При 1 (типовому) та 2 (з провідним симптомом артеріальної гіпертензії) варіантах ГСПП найчастіше (P<0,05) виявлені порушення вуглеводного обміну: підвищення у крові базального рівня ІРІ та індексу інсулінорезистентності НОМА_{IR}. Встановлено статистично значущу регресійну залежність між рівнем базальної глікемії та ступенем підвищення АТ.

3. Гіперінсулінемія найбільш характерна для хворих з абдомінальним типом ожиріння. При гіноїдному типі високі показники ІРІ і НОМА_{IR} спостерігаються тільки при 4 ступені ожиріння, проте залишаються нижчими, ніж при андройдному типові розподілу підшкірної жирової основи (P<0,01).

4. Виявлені особливості гормонального статусу диктують необхідність обов'язкового включення в алгоритм обстеження хворих на ГСПП визначення базального рівня ІРІ та індексу інсулінорезистентності НОМА_{IR}, з метою подальшого призначення патогенетично обумовленого лікування.

Література

1. Терещенко И.В. Эндокринные расстройства у юношей и девушек в пубертатном периоде. М.: Союзмединформ, 1991. 68 с.
2. Строев Ю.И., Чурилов Л.П., Бельгов А.Ю., Чернова Л.А. Ожирение у подростков. СПб: Элби-СПб, 2003. 216 с.
3. Serdula M.K., Ivery D., Cjates R.J. et al. Do obese children become obese adults? A review of the literature // *Prev. Med.* 1993, 22, 167-177.
4. Forsen T., Eriksson J., Tuomilehto J. et al. The fetal and childhood growth of persons who develop type II diabetes // *Ann. Intern. Med.* 2001, 133, 176-182.
5. Caprio S., Bronson M., Sherwin R.S. et al. Co-existence of severe insulin resistance and hyperinsulinaemia in pre-adolescent obese children // *Diabetologia.* 1996, 39, N 12, 1489-1497.
6. Maffies C., Moghetti P., Grezzani A., Clementi M. Insulin resistance and the persistence of obesity from childhood into adulthood // *J. Clin. Endocrin. Metabol.* 2002, 87, N 1, 71-76.
7. Дедов И.И., Фадеев В.В. Введение в диabetологию: Руководство для врачей. М.: Берг, 1998. 200 с.
8. De Leo M.R., Raizman H., Oasta V. et al. Insulin resistance in normoglycaemic obese children and adolescents // *Diabetes & Metabolism: 18th Intern. Diab. Federation Congress. Paris. Aug. 2003, Poster Displays: 2103.*
9. Мостовая Л.А., Петраш С.П. Ожирение у детей и подростков. К.: Здоров'я, 1982, 109-127.
10. Коренев Н.М., Хижняк О.О., Сулима Т.Н. Системный подход к анализу клинических проявлений гипоталамического синдрома пубертатного периода у мальчиков // *Вестник Харьковского Университета (серия медицина).* 2002, № 2, 94-98.

Особенности углеводного обмена при гипоталамическом синдроме в детском и подростковом возрасте

О.О. Хижняк

Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины, 61153 Харьков, Украина

Исследовали базальный и стимулированный в ходе проведения стандартного теста толерантности к глюкозе (ТТГ) уровень гликемии у 220 мальчиков 10-17 лет с гипоталамическим синдромом пубертатного периода, содержание иммунореактивного инсулина, рассчитывали индекс инсулинорезистентности $HOMA_{IR}$. У больных выявлены нарушения углеводного обмена, характер которых зависел от клинического варианта заболевания, типа и выраженности ожирения, уровня артериального давления. В 8,64 % случаях зарегистрировано изолированное повышение уровня гликемии натощак, у 34,55 % больных при проведении ТТГ выявлена плоская гликемическая кривая, у 10,91% мальчиков диагностировано нарушение толерантности к глюкозе. У больных с типичным вариантом ГСПП и в группе с ведущим симптомом артериальной гипертензии достоверно чаще ($P < 0,05$) выявлено повышение в крови базальных уровней ИРИ и индекса инсулинорезистентности $HOMA_{IR}$.

Ключевые слова: гипоталамический синдром пубертатного периода, мальчики-подростки, углеводный обмен, инсулинорезистентность, гиперинсулинемия, ожирение.

Some peculiarities of carbohydrate metabolism in hypothalamic syndrome in childhood and adolescence

O.O. Khyzhnyak

Institute of Children and Adolescents Health Protection of AMS, 61153 Kharkiv, Ukraine

Basal and stimulated glycemia levels were studied in the standard glucose tolerance test (GTT) in 220 boys with pubertal period hypothalamic syndrome (PPHS) aged 10-17 years. The levels of immunoreactive insulin (IRI) were determined and $HOMA_{IR}$ index of insulin resistance was calculated. Certain disorders of carbohydrate metabolism depending on clinical variant of the disease, the type and degree of obesity and blood pressure findings were revealed in patients. Isolated increase in glycemia basal level was registered in 8,64 % of cases, flat glycemic curve was revealed in GTT test in 34,55 % of patients and glucose tolerance disorders were established in 10,91 % of boys. In patients with typical PPHS variant and in patients with the prevailing symptom of arterial hypertension certain rise of

blood basal IRI levels as well as an increase in $HOMA_{IR}$ index were revealed significantly more often ($P < 0,05$).

Key words: pubertal period hypothalamic syndrome, teen-age boys, carbohydrate metabolism, insulinresistance, hyperinsulinemia, obesity.

(Надійшла 10.03.2004)

СТАН АВТОНОМНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 1 ТИПУ З РІЗНИМИ СТАДІЯМИ ДІАБЕТИЧНОЇ КАРДІОВАСКУЛЯРНОЇ АВТОНОМНОЇ НЕЙРОПАТІЇ ЗА АНАЛІЗОМ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ РИТМУ СЕРЦЯ

С.М.Ткач*

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

З метою вивчення стану автономної нервової системи на різних стадіях розвитку діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії обстежено 204 хворих на цукровий діабет 1 типу і 40 здорових осіб. Клінічне обстеження супроводжувалося вивченням функції автономної нервової системи за даними спектрального і статистичного аналізу варіабельності серцевого ритму, а також стандартних автономних кардіоваскулярних тестів. За результатами автономних тестів у 47,1 % хворих на цукровий діабет 1 типу спостерігалася діабетична кардіоваскулярна автономна нейропатія. Однак за результатами спектрального і статистичного аналізу варіабельності серцевого ритму, ще до появи ознак діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії, виявлялася субклінічна автономна дисфункція. З прогресуванням нейропатії спостерігалось суттєве зниження загальної спектральної потужності та її спектральних компонент, що свідчить про поступове згасання функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи, а також церебральних ерготропних систем надсегментарного рівня вегетативної регуляції. При початковій стадії діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії, яка діагностувалася за стандартними автономними тестами, функціональна активність автономної нервової системи була вже суттєво знижена (загальна спектральна потужність складала менше 15 % від показника здорових осіб). Подальшим зниженням функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділів нервової системи з порушенням симпто-парасимпатичного балансу характеризувалася наступна, очевидна, стадія діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії. Ще більш суттєве зниження загальної спектральної потужності та її компонент спостерігалось при тяжкій стадії нейропатії. Таким чином, метод спектрального аналізу серцевого ритму об'єктивно відображає стадії прогресування діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії у вигляді зниження загальної спектральної потужності, складових її спектральних компонент і порушення симпто-парасимпатичного балансу.

Ключові слова: цукровий діабет 1 типу, діабетична автономна нейропатія, варіабельність серцевого ритму.

Діабетична кардіоваскулярна автономна нейропатія є поширеним ускладненням цукрового діабету, яке спричиняє швидке порушення працездатності і у п'ять разів підвищує ризик летальності хворих [1-3].

Згідно з існуючою практикою, діагностика стадій діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії базується на результатах стандартних автономних кардіоваскулярних тестів [4]. Однак останнім часом все ширше для оцінки стану автономної нервової системи використовують спектральний та статистичний аналіз варіабельності серцевого ритму. Порівняння цього методу зі стандартними автономними кардіоваскулярними тестами встановило певний ступінь кореляції між ними [5]. Крім того, було доведено, що аналіз варіабельності ритму серця є

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

чутливішим методом, який дозволяє діагностувати діабетичну кардіоваскулярну автономну нейропатію ще у доклінічній стадії [6-8]. До того ж цей метод є інформативнішим, тому що відображає стан як сегментарних, так і надсегментарних вегетативних структур та дозволяє визначити симпато-вагальні відношення [9, 10]. Проте дотепер у хворих на цукровий діабет залишається невивченим за методом спектрального та статистичного аналізу серцевого ритму стан автономної нервової системи, характерний для кожної стадії діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії. З метою заповнення цієї прогалини проведене дослідження стану автономної нервової системи у хворих на цукровий діабет 1 типу з різними стадіями діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії.

Матеріали і методи

Під нашим спостереженням знаходилося 204 хворих з цукровим діабетом 1 типу і 40 здорових осіб того ж віку та статі. Серед хворих було 137 жінок і 67 чоловіків у віці від 17 до 58 років, з середнім віком $28,7 \pm 0,6$ років. Тривалість хвороби коливалася від 2 тиж до 44 років і становила в середньому $11,0 \pm 0,6$ років. В групи не включалися особи, в анамнезі яких спостерігалися які-небудь інші хвороби автономної нервової системи. На час обстеження хворі знаходилися у стані компенсації або субкомпенсації цукрового діабету, яка була досягнута за рахунок дієти та інсулінотерапії.

Крім клінічного спостереження, у пацієнтів оцінювали стан автономної іннервації серця за стандартними автономними кардіоваскулярними тестами та за аналізом варіабельності серцевого ритму.

З метою вивчення стану сегментарних структур автономної іннервації серцево-судинної системи і діагностики стадій діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії проводили стандартні автономні кардіоваскулярні тести: глибокого дихання (б/хв), коефіцієнта 30:15, Вальсальви та ортостатичної проби (з визначенням артеріального тиску) [6, 9]. Тести виконували за допомогою електрокардіографа ЕК1Т-03М2 з подальшою математичною обробкою даних за комп'ютерною програмою аналізу серцевого ритму. Результати тестів оцінювалися за встановленими міжнародними критеріями як нормальні, граничні або патологічні. Згідно з міжнародними рекомендаціями діагноз діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії встановлювався при наявності не менш ніж двох граничних або одного патологічного показників [1, 11]. За результатами автономних тестів хворих розподіляли на групи з урахуванням існуючої класифікації стадій діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії: 1 – пацієнти без автономної нейропатії (всі тести нормальні або один граничний), 2 – пацієнти з початковою діабетичною кардіоваскулярною автономною нейропатією (один патологічний тест ритму серця або два граничні результати), 3 – пацієнти з очевидною діабетичною кардіоваскулярною автономною нейропатією (два або більше тестів ритму серця патологічні) і 4 – пацієнти з тяжкою діабетичною кардіоваскулярною автономною нейропатією (не менше двох тестів ритму серця патологічні і тест артеріального тиску патологічний) [4].

Крім того, у всіх хворих вивчали стан сегментарних та надсегментарних структур автономної нервової системи за методом спектрального і статистичного аналізу варіабельності серцевого ритму. Для цього використовували комп'ютерну програму зі статистичним методом аналізу кардіоритмограми для оцінки варіабельності ритму серця у часовій ділянці і спектральним аналізом кардіоритмограми при оцінці варіабельності серцевого ритму у частотній ділянці [12]. Параметри автономної іннервації вивчали за допомогою електрокардіографа ЕК1Т-03М2 у хворого, який лежить, після 10-хвилинного періоду адаптації. Відповідно до встановлених міжнародних стандартів, аналізували короткочасні стаціонарні ділянки кардіоритмограм з визначенням статистичних і спектральних показників. До перших увійшли: RR (середня тривалість кардіоінтервалів RR), SDNN (стандартне відхилення величин нормальних інтервалів RR), RMSSD (квадратний корінь з середнього квадрата різниць величин послідовних пар інтервалів RR), pNN50 (відсоток послідовних інтервалів RR, різниця між якими перевищує 50 мс) та AMo (амплітуда моди інтервалів RR); до других – загальна потужність спектра варіабельності серцевого ритму (TP) та потужність його складових компонент: дуже низькочастотної в діапазоні $0,003-0,040$ Гц (VLF), низькочастотної – $0,04-0,15$ Гц (LF) та високочастотної компоненти в діапазоні $0,15-0,4$ Гц (HF). Також визначалися симпато-вагальний індекс LF/HF, потужність у нормалізованих одиницях високих і низьких частот, відповідно HFn та LFn. Дані варіабельності ритму серця оцінювали на підставі сучасних уявлень про природу їх формування: RMSSD, pNN50 і HF відображують парасимпатичну активність, AMo – симпато-адреналову активність, SDNN і LF – симпато-парасимпатичну модуляцію, VLF – ступінь активації церебральних ерготропічних систем надсегментарного рівня вегетативної та гуморальної регуляції, LFn – відносну

симпатичну активність, HF_n – відносну парасимпатичну активність, LF/HF – симпатопарасимпатичний баланс [10, 13].

Дані оцінки вегетативного статусу за результатами аналізу варіабельності серцевого ритму були піддані статистичній обробці із застосуванням критерію t Стьюдента і визначенням показника вірогідності різниці (P).

Результати та їх обговорення

Клінічна симптоматика діабетичної автономної нейропатії у вигляді запаморочення голови та відчуття “потемніння” в очах при вставанні з ліжка, відчуття серцебиття, зниження толерантності до звичайних фізичних навантажень, інтенсивної загальної слабкості вранці спостерігалася у 87 хворих, в основному, у пацієнтів з тривалістю хвороби більше 10 років та лабільним її перебігом. У решти хворих специфічних скарг, зв’язаних зі станом автономної нервової системи, не відмічалася.

За даними проведених стандартних кардіоваскулярних автономних тестів у 96 з 204 обстежених хворих на цукровий діабет виявлені патологічні або більше ніж один граничний результат, що дало підставу діагностувати у них діабетичну кардіоваскулярну автономну нейропатію. У 35 хворих виявлено один патологічний тест ритму серця або два граничні результати (початкова стадія діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії), у 16 пацієнтів спостерігалася два або більше патологічних тестів ритму серця (очевидна стадія діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії) і у 45 хворих зареєстровано не менше двох патологічних тестів ритму серця і патологічний ортостатичний тест (тяжка стадія діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії). У інших 108 хворих даних за діабетичну кардіоваскулярну автономну нейропатію не виявлено – всі тести були нормальні або спостерігався один граничний показник. Слід зазначити, що тривалість хвороби і вік не відрізнялися між собою у хворих з різними стадіями автономної нейропатії, але у пацієнтів без діабетичної автономної нейропатії тривалість хвороби була суттєво меншою (7,4±0,9 років проти 16,0±1,5, 14,5±1,6 і 14,7±0,9 років, відповідно, у хворих з початковою, очевидною та тяжкою стадіями, P < 0,001).

За результатами аналізу варіабельності серцевого ритму загалом у хворих на цукровий діабет, на відміну від здорових осіб, спостерігалися суттєво нижчі показники статистичного аналізу: RR, SDNN, RMSSD, pNN50 та вища AMo. За даними спектрального аналізу серцевого ритму також відмічалися зміни основних показників. Так, зареєстровані нижчі, ніж у здорових осіб, загальна потужність (TP) і потужності дуже низькочастотних (VLF), низькочастотних (LF) та високочастотних (HF) коливань спектра (табл. 1).

Аналіз варіабельності серцевого ритму хворих з різними стадіями діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії та без автономної нейропатії показав таке (табл. 2).

У пацієнтів без автономної нейропатії, на відміну від здорових осіб, спостерігалися суттєво нижчі показники статистичного аналізу: RR, SDNN, RMSSD, pNN50 та вища AMo. За даними спектрального аналізу серцевого ритму були нижчі, ніж у здорових осіб, загальна потужність (TP) і потужності дуже низькочастотних (VLF), низькочастотних (LF) та високочастотних (HF) коливань спектра (табл. 1). Середнє значення загальної потужності склало 57,2±4,8 % відповідного показника здорових осіб. Потужності низькочастотної (LF_n) та високочастотної (HF_n) компонент спектра у нормалізованих одиницях суттєвих змін не зазнали, в той час як симпатовагальний індекс (LF/HF) був підвищений.

У пацієнтів з початковою стадією діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії, на відміну від хворих без автономної нейропатії та здорових осіб, відмічалися суттєво нижчі показники статистичного аналізу: RR, SDNN,

Таблиця 1. Варіабельність ритму серця у хворих на цукровий діабет 1 типу (M±m)

Показник	Здорові особи (n=40)	Хворі на цукровий діабет (n=204)
RR, мс	848,3±14,2	737,6±8,9***
SDNN, мс	42,3±2,3	19,8±1,1***
RMSSD, мс	37,0±2,8	16,5±1,0***
pNN50, %	13,9±2,4	3,9±0,7***
AMo, %	37,2±1,7	64,6±1,6***
TP, мс ²	1815,1±180,4	582,2±57,1***
VLF, мс ²	637,0±76,8	196,9±18,8***
LF, мс ²	549,7±760,9	191,2±23,6***
HF, мс ²	628,4±101,9	194,1±25,0***
LFn, %	49,2±2,5	48,4±1,2
HFn, %	50,8±2,5	51,5±1,2
LF/HF	1,203±0,133	1,255±0,090

Примітка: *** – P < 0,001 у порівнянні з показниками здорових осіб.

RMSSD, pNN50 та вища AMo. За даними спектрального аналізу серцевого ритму зареєстровані нижчі, ніж у згаданих осіб, загальна потужність (TP) і потужності дуже низькочастотних (VLF), низькочастотних (LF) та високочастотних (HF) коливань спектра. При цьому загальна потужність склала 6,3±0,8 % від показника здорових осіб. Потужності низькочастотної (LFn) та високочастотної (HFn) компонент спектра у нормалізованих одиницях та симпато-вагальний індекс (LF/HF) в цих групах хворих суттєво не відрізнялися.

У хворих з очевидною стадією діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії, на відміну від хворих з початковою стадією, суттєво нижчим був показник статистичного аналізу SDNN. А за даними спектрального аналізу серцевого ритму зареєстровані нижчі, ніж у згаданих осіб, загальна потужність (TP) і потужності дуже низькочастотних (VLF) та низькочастотних (LF) коливань спектра. При цьому загальна потужність склала 3,5±0,8 % від показника здорових осіб. Особливо суттєвих змін у цій групі зазнали потужності низькочастотної (LFn) та високочастотної (HFn) компонент спектра у нормалізованих одиницях та симпато-вагальний індекс (LF/HF). Так, на відміну від попередніх груп хворих та здорових осіб набагато нижчим був процент потужності низькочастотної компоненти спектра у нормалізованих одиницях (LFn), у той час як процент потужності високочастотної компоненти спектра у нормалізованих одиницях (HFn) був вищим. Симпато-вагальний індекс (LF/HF) був істотно нижчим, ніж у здорових осіб і хворих попередніх груп.

У пацієнтів з тяжкою стадією діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії, на відміну від хворих з очевидною стадією, суттєво нижчими були показник статистичного аналізу SDNN, а також дані спектрального аналізу серцевого ритму: загальна потужність (TP), яка становила 1,9±0,2 % від показника здорових осіб, і потужність дуже низькочастотних (VLF) коливань спектра. Потужності низькочастотних (LF) та високочастотних (HF) коливань спектра мали тенденцію до зниження. Зміни потужності низькочастотної (LFn) та високочастотної (HFn) компонент спектра у нормалізованих одиницях і симпато-вагальний індекс (LF/HF) у цій групі хворих залишалися такими, як і в попередній.

Отримані на підставі обстеження результати стану автономної нервової системи у хворих з цукровим діабетом 1 типу свідчать, що у 47,1 % з них (головним чином пацієнтів стаціонару) спостерігалася діабетична кардіоваскулярна автономна нейропатія (згідно з критеріями її діагностики за результатами стандартних кардіоваскулярних автономних тестів). Однак більш виразні зміни у

Таблиця 2. Варіабельність ритму серця у хворих на цукровий діабет 1 типу з різними стадіями діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії (ДСАН) (M±m)

Показник	Здорові особи (n=40)	Хворі без ДСАН (n=108)	Хворі з початковою ДСАН (n=35)	Хворі з очевидною ДСАН (n=16)	Хворі з тяжкою ДСАН (n=45)
RR, мс	848,3±14,2	802,3±11,6*	676,4±14,1 ^{a,***}	649,7±19,9 ^{a,***}	661,0±14,6 ^{a, бб, ***}
SDNN, мс	42,3±2,3	30,3±1,3***	10,5±0,7 ^{a,***}	7,9±0,8 ^{a, бб, ***}	6,0±0,3 ^{a, бб, вв, ***}
RMSSD, мс	37,0±2,8	25,5±1,4***	7,5±0,5 ^{a,***}	6,4±0,7 ^{a,***}	5,5±0,2 ^{a, бб, ***}
pNN50, %	13,9±2,4	7,4±1,2*	0,0±0,0 ^{a,***}	0,0±0,0 ^{a,***}	0,0±0,0 ^{a, бб, ***}
AMo, %	37,2±1,7	48,5±1,5***	78,3±2,6 ^{a,***}	81,4±3,9 ^{a,***}	86,8±2,3 ^{a, б, ***}
TP, мс ²	1815,1±180,4	1038,6±86,6***	114,8±13,9 ^{a,***}	64,2±13,7 ^{a, б, ***}	33,8±2,8 ^{a, бб, вв, ***}
VLF, мс ²	637,0±76,8	338,9±29,1***	64,9±8,9 ^{a,***}	36,7±9,4 ^{a, б, ***}	16,0±1,7 ^{a, бб, вв, ***}
LF, мс ²	549,7±760,9	347,5±38,8**	28,3±4,2 ^{a,***}	10,6±2,1 ^{a, бб, ***}	6,6±0,8 ^{a, бб, в, ***}
HF, мс ²	628,4±101,9	352,1±41,7*	21,6±2,7 ^{a,***}	16,9±3,0 ^{a,***}	11,2±1,1 ^{a, бб, в, ***}
LFn, %	49,2±2,5	53,3±1,7	53,6±2,4	38,2±2,0 ^{a, бб, ***}	36,7±2,2 ^{a, бб, ***}
HFn, %	50,8±2,5	46,7±1,7	46,6±2,3	61,3±2,2 ^{a, бб, ***}	63,0±2,3 ^{a, бб, ***}
LF/HF	1,203±0,133	1,613±0,151*	1,308±0,150	0,595±0,053 ^{a, бб, ***}	0,596±0,057 ^{a, бб, ***}

Примітка: * - P < 0,05, ** - P < 0,01, *** - P < 0,001 у порівнянні з показниками здорових осіб;
^a - P < 0,001 у порівнянні з показниками хворих без ДСАН,
^б - P < 0,05, ^{бб} - P < 0,001 - у порівнянні з хворими з початковою ДСАН,
^в - 0,1 > P > 0,05, ^{вв} - P < 0,05 - у порівнянні з хворими з очевидною ДСАН.

стані автономної нервової системи були встановлені за результатами спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму. Отримані дані засвідчили, що вже у групі хворих без діабетичної кардіоваскулярної нейропатії, в яких всі стандартні кардіоваскулярні автономні тести були нормальні або з одним граничним показником, реєструвались зміни варіабельності серцевого ритму, які згідно з сучасними поглядами на природу їх формування [10, 13, 14] говорять про зниження функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи, а також церебральних ерготропних систем надсегментарного рівня вегетативної регуляції. Ще глибші порушення функціонального стану автономної іннервації спостерігалися у хворих з діабетичною кардіоваскулярною автономною нейропатією, починаючи з початкової її стадії.

З прогресуванням нейропатії відбувалося суттєве зниження загальної спектральної потужності і її спектральних компонент, що свідчить про поступове згасання функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи, а також церебральних ерготропних систем надсегментарного рівня вегетативної регуляції. На тлі цього зниження подальше прогресування нейропатії призводило до суттєвого порушення симпато-парасимпатичного балансу у хворих з очевидною стадією діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії. Надалі прогресування автономної нейропатії до тяжкої стадії супроводжувалося ще більш вираженим зниженням функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи з симпато-парасимпатичним дисбалансом.

Таким чином, у хворих без клінічних даних за діабетичну кардіоваскулярну автономну нейропатію спостерігалася субклінічна автономна дисфункція у вигляді зниження функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи, а також церебральних ерготропних систем надсегментарного рівня вегетативної та гуморальної регуляції. При початковій стадії діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії, яка діагностувалася за стандартними кардіоваскулярними автономними тестами, функціональна активність автономної нервової системи була вже суттєво знижена (загальна спектральна потужність складала менше 15 % від показника здорових осіб). Подальшим зниженням функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи з порушенням симпато-парасимпатичного балансу характеризувалася наступна, очевидна, стадія діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії. Ще більш суттєве зниження загальної спектральної потужності та її компонент спостерігалося при тяжкій стадії нейропатії.

Висновки

1. Метод спектрального аналізу серцевого ритму об'єктивно відображає стадії прогресування діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії у вигляді зниження загальної спектральної потужності, складових її спектральних компонент і порушення симпато-парасимпатичного балансу, що свідчить про суттєве вгасання тону симпатичного і парасимпатичного її відділів, зниження активації церебральних ерготропних систем надсегментарного рівня вегетативної та гуморальної регуляції.

2. У 47,1 % хворих на цукровий діабет 1 типу спостерігається діабетична кардіоваскулярна автономна нейропатія.

3. У хворих на цукровий діабет 1 типу до появи ознак діабетичної кардіоваскулярної автономної нейропатії виявляється субклінічна автономна дисфункція.

Література

1. Vinik A.I., Maser R.E., Mitchell B.D., Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy // *Diabetes Care*. 2003, **26**, 1553-1579.
2. Rathman W., Ziegler D., Jahnke M. et al. Mortality in diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy // *Diabetic Medicine*. 1993, **10**, 820-824.
3. Algra A., Tijssen J.G.P., Roelandt J.R.T. et al. Heart rate variability from 24-hour electrocardiography and the 2-year risk for sudden death // *Circulation*. 1993, **88**, 180-185.
4. Ewing D.J., Boland O., Neilson J.M. et al. Autonomic neuropathy, QT interval lengthening, and unexpected deaths in male diabetic patients // *Diabetologia*. 1991, **34**, 182-185.
5. Bellavere F., Balzani I., De Masi G. et al. Power spectral analysis of heart-rate variations improves assessment of diabetic cardiac autonomic neuropathy // *Diabetes*. 1992, **41**, 633-640.
6. Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy: prognosis, diagnosis, and treatment // *Diabetes Metab. Rev.* 1994, **10**, 339-383.
7. Spallone V., Menzinger G. Diagnosis of cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes // *Diabetes*. 1997, **46**, Suppl. 2, S67-76.
8. Chessa M., Butera G., Lanza G.A. et al. Role of heart rate variability in the early diagnosis of diabetic autonomic neuropathy in children // *Herz*. 2002, **27**, 789-790.
9. Вегетативные расстройства: клиника, лечение, диагностика. Под ред. А.М.Вейна. М.: Медицинское информационное агенство, 1998. 752 с.
10. Коркушко О.В., Писарук А.В., Шатило В.Б. и др. Анализ вариабельности ритма сердца в клинической практике (возрастные аспекты). К.: Алкон, 2002. 191 с.
11. American Diabetes Association and American Academy of Neurology: Report and recommendations of the San Antonio conference on diabetic neuropathy (Consensus Statement) // *Diabetes*. 1988, **37**, 1000-1004.
12. Коркушко О.В., Шатило В.Б., Писарук А.В. и др. Методы анализа и возрастные нормы вариабельности ритма сердца (Рекомендации рабочей группы Института геронтологии по изучению вариабельности сердечного ритма) // Анализ вариабельности ритма сердца в клинической практике: Матер. I междуна. науч. конф. (Киев, 24-25 октября 2002). К.: ИПЦ "Алькон", 2002. 216 с.
13. Heart rate variability. Standart of measurement, physiological, and clinical use. Task Force of European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology // *Europ. Heart J.* 1996, **17**, 354 -381.
14. Ziegler D., Laude D., Akila F., Elghozi J.L. Time- and frequency-domain estimation of early diabetic cardiovascular autonomic neuropathy // *Clin. Auton. Res.* 2001, **11**, 369-376.

Состояние автономной нервной системы у больных сахарным диабетом 1 типа с разными стадиями диабетической кардиоваскулярной автономной нейропатии по анализу вариабельности ритма сердца

С.Н.Ткач

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

С целью изучения состояния автономной нервной системы на разных стадиях развития диабетической кардиоваскулярной автономной нейропатии обследовано 204 больных сахарным диабетом 1 типа и 40 здоровых лиц. Клиническое обследование сопровождалось изучением функции автономной нервной системы методом спектрального и статистического анализа вариабельности сердечного ритма, а также стандартных автономных кардиоваскулярных тестов. По результатам автономных тестов у 47,1 % больных сахарным диабетом 1 типа наблюдалась диабетическая кардиоваскулярная автономная нейропатия. Однако по результатам спектрального и статистического анализа вариабельности сердечного ритма еще до появления признаков диабетической кардиоваскулярной автономной нейропатии выявлялась субклиническая автономная дисфункция. По мере прогрессирования нейропатии наблюдалось существенное снижение общей спектральной мощности и ее очень низкочастотной (VLF), низкочастотной (LF) и высокочастотной (HF) компонент, что свидетельствует о постепенном угасании функциональной активности симпатического и парасимпатического отделов автономной нервной

системы, а также церебральных эрготропных систем надсегментарного уровня вегетативной регуляции. При начальной стадии диабетической кардиоваскулярной автономной нейропатии, которая диагностировалась по стандартным автономным тестам, функциональная активность автономной нервной системы была уже существенно снижена (общая спектральная мощность составляла менее 15 % от показателя здоровых лиц). Дальнейшим снижением функциональной активности симпатического и парасимпатического отделов нервной системы с нарушением симпато-парасимпатического баланса характеризовалась следующая, явная, стадия диабетической кардиоваскулярной автономной нейропатии. Еще более существенное снижение спектральной мощности и ее компонент наблюдалось при тяжелой стадии нейропатии. Таким образом, метод спектрального анализа сердечного ритма объективно отражает стадии прогрессирования диабетической кардиоваскулярной автономной нейропатии в виде снижения общей спектральной мощности, составляющих ее спектральных компонент и нарушения симпато-парасимпатического баланса.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 типа, диабетическая автономная нейропатия, вариабельность сердечного ритма.

The status of the autonomic nervous system in patients with type 1 diabetes mellitus with different stages of diabetic cardiovascular autonomic neuropathy according to the analysis of heart rate variability

S.M. Tkach

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

In order to study the state of the autonomic nervous system at different stages of development of diabetic cardiovascular autonomic neuropathy, 204 patients with type 1 diabetes mellitus and 40 healthy subjects have been examined. Clinical examination was accompanied by a study of the function of the autonomic nervous system according to the data of statistical and spectral analysis of heart rate variability, and results of standard cardiovascular autonomic tests. According to the results of autonomic tests, diabetic cardiovascular autonomic neuropathy was reported in 47.1% of patients with type 1 diabetes mellitus. However, according to the data of spectral and statistical analysis of heart rate variability, subclinical autonomic dysfunction was noted before the appearance of signs of cardiovascular autonomic neuropathy. Then, with progressing neuropathy, a significant decrease in total spectral power and its very low-frequency (VLF), low-frequency (LF), and high-frequency (HF) components was observed, which suggests a gradual impairment of functional activity of the sympathetic and parasympathetic nervous system, as well as of cerebral ergotropic systems of suprasedimentary level of vegetative regulation. At early stage of diabetic cardiovascular autonomic neuropathy, which was diagnosed using standard autonomic tests, the functional activity of the autonomic nervous system was already considerably decreased (total spectral power was less than 15% of that in healthy subjects). A further decrease in functional activity of the sympathetic and parasympathetic nervous system with disturbed sympatho-parasympathetic balance characterized the next overt stage of diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. A more significant decrease in total spectral power and its components was observed at severe stage of neuropathy. Thus, the method of spectral analysis of heart rate reflects objectively the stages of progressing of diabetic cardiovascular autonomic neuropathy in the form of a decrease in total spectral power and its spectral components, and of disturbed sympatho-parasympathetic balance.

Key words: Type 1 diabetes mellitus, diabetic autonomic neuropathy, heart rate variability.

(Надійшла 6.07.2004)

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ТА ЖОВЧНОГО МІХУРА У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ

О.А.Савич*, В.М.Славнов, В.В. Марков

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

З метою вивчення функціонального стану печінки та жовчного міхура обстежували 48 хворих на цукровий діабет 2 типу, тяжкої форми, у стадії декомпенсації і 57 практично здорових людей. Дослідження стану гепатобіліарної і макрофагальної систем печінки, її анатомо-топографічних особливостей та печінкового кровотоку виконували на сцинтиляційній гамма-камері ГКС 301-Т з використанням гепатотропних препаратів мезиди і технефіту, мічених ^{99m}-технецієм. У хворих на цукровий діабет 2 типу виявлено виражені порушення видільної функції паренхіматозних клітин печінки, концентраційної та моторної функцій жовчного міхура, гіпотонію сфінктера Одді. При дослідженні стану макрофагальної системи у хворих встановлено вірогідне збільшення коефіцієнта затримки радіофармпредпарату у печінці, а динаміка показників цієї системи мала компенсований характер. Крім того, спостерігалось виражене порушення кардіопортального та позапечінкового кровотоку за відсутності змін локального печінкового кровотоку. При сцинтиграфії печінки виявлено зниження сумарної активності правої частки печінки.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, печінка, гепатобіліарна система, макрофагальна система, печінковий кровотік, сцинтиграфія печінки.

Цукровий діабет відноситься до найбільш поширених ендокринних захворювань. У 80-85 % хворих діагностується інсулінонезалежний цукровий діабет 2 типу (ЦД-2), який є головною причиною інвалідності і смертності хворих [1, 2]. Декомпенсований ЦД супроводжується ураженням гепатобіліарної системи з порушенням функціонального стану паренхіматозних клітин, жовчоутворюючої та жовчовидільної функцій. Декомпенсація ЦД спричиняє зниження запасів глікогену в гепатоцитах, накопичення в них ліпідів, що призводить до гепатостеатозу і жирового гепатозу [1, 3, 4]. Порушення функції позапечінкових жовчних шляхів та моторики жовчного міхура у хворих на ЦД проявляється у різних формах дискінезії і супроводжується розвитком хронічного холециститу і жовчнокам'яної хвороби [1, 5]. В патогенезі відмічених змін, поряд з жировою інфільтрацією, має значення порушення внутрішньопечінкової мікроциркуляції [6].

Метою нашого дослідження стало вивчення функціонального стану гепатобіліарної і макрофагальної систем печінки, її анатомо-топографічного стану та печінкового кровотоку у хворих на ЦД 2 типу.

Матеріали і методи

Під нашим спостереженням знаходилися 48 хворих на ЦД-2, тяжкої форми, в стадії декомпенсації, віком від 40 до 65 років, з тривалістю захворювання від 0,5 до 23 років. Контрольну групу склали 57 практично здорових людей того ж віку.

Радіонуклідні дослідження стану печінки та жовчного міхура виконувалися на сцинтиляційній гамма-камері ГКС 301Т з низькоенергетичним коліматором загального призначення. Дані записували за допомогою програми "Antics" – збирання радіоді-

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

агностичної інформації (розробник "New System" на замовлення "Amcrys-H Ltd"). Отриману інформацію обробляли програмним пакетом "SpectWorks".

Для дослідження гепатобілярної системи (ГБС) використовували радіофармацевтичний препарат (РФП) "Мезида" виробництва "Радіопрепарат", змішаний за 30 хв до введення з ^{99m}Tc -пертехнетатом натрію. Обстежуваним натще внутрішньовенно вводили 1 МБк ^{99m}Tc -мезиди на 1 кг маси тіла. Програма реєстрації руху РФП передбачає безперервну фіксацію 90 кадрів з експозицією 60 с, а також прийом досліджуваним стандартного жовчогінного сніданку на 60-й хв дослідження. Одержана інформація піддається комп'ютерній обробці за стандартними програмами з визначенням зон інтересу – печінки, серця, жовчного міхура, кишечника, а також тла. Як кількісні критерії оцінки функціонального стану гепатобілярної системи використовували: час (хв) максимального накопичення (Т макс.) РФП у печінці; час (хв) початку виведення (Т поч. вивед.) препарату з печінки; час (хв) напіввиведення (Т 1/2) радіонукліда з печінки; час (хв) початку візуалізації (Т поч. візуал.) жовчного міхура; показник концентраційної функції жовчного міхура (КФЖ) – відношення кількості імп/с у зоні жовчного міхура до кількості імп/с у зоні печінки на 45-й і 60-й хв; показник моторної функції жовчного міхура (МФЖ) – відношення кількості РФП, виведеного за 30 хв після початку випорожнення (%) до максимального накопичення у зоні жовчного міхура; тривалість (хв) латентного періоду (Т лат.); час (хв) початку надходження РФП до кишечника (Т киш.); час (хв) напіввиведення (Т 1/2) препарату з жовчного міхура.

Для дослідження макрофагальної системи (МФС) печінки, печінкової гемодинаміки та морфологічних змін цього органа застосовували колоїдний РФП "Технефіт" виробництва "Радіопрепарат", який змішували за 30 хв до введення з ^{99m}Tc -пертехнетатом натрію, і вводили внутрішньовенно з розрахунку 1 МБк на 1 кг маси тіла. Програма реєстрації руху ^{99m}Tc -технефіту передбачає безперервну фіксацію на матрицю 64x64x16 спочатку 60 кадрів з експозицією 1 с (для розрахунку показників печінкового кровотоку), потім 48 кадрів з експозицією 20 с (для розрахунку кількісних показників функціонального стану МФС печінки). Для оцінки функціонального стану макрофагальної системи печінки розраховували кількісні показники у відносних одиницях (в.о.), які характеризують кінетику радіоколоїду: константу загального кліренсу (КЗК), константу печінкового кліренсу (КПК), коефіцієнт ретенції РФП у крові (КРК), коефіцієнт ретенції у печінці (КРП), індекс печінкового захоплення (ІПЗ); частку печінки і частку селезінки.

Кількісними критеріями оцінки гемодинаміки печінки були: час кардіопортального кровотоку (ЧКПК), в с; час позапечінкового кровотоку (ЧППК), в с; час швидкого печінкового кровотоку (ЧШПК), в с; час уповільненого печінкового кровотоку (ЧУПК), в с; час венозного печінкового відтоку (ЧВПВ), в с; відносна венозна ємність печінки (відношення часу венозного відтоку до часу артеріального притоку). Сцинтиграфію печінки виконували на 25-30 хв після введення РФП у передній та задній проєкціях. Кількісні показники оцінки стану МФС розраховували у відносних одиницях, що характеризують кінетику радіоколоїду [7-9].

Результати та їх обговорення

Проведені дослідження засвідчили, що у хворих на ЦД-2 відсутні зміни поглинальної функції паренхіматозних клітин за наявності виражених порушень видільної функції. На це вказують нормальні показники максимального накопичення РФП у печінці, а також значне збільшення часу напіввиведення з неї радіонукліда (табл. 1).

У хворих на ЦД 2 типу виявлено виражені порушення концентраційної функції жовчного міхура, про що свідчить значне зменшення показника КФЖ на 45-й і 60-й хв. Зміни моторної функції жовчного міхура виявлені у 6 з 11 обстежених, що вказує на наявність дискінезій. У 5 пацієнтів дискінезій жовчного міхура не спостерігалось. У 4 хворих визначено гіпомоторні дискінезії (показник МФЖ менше 35 %), а у 2 – гіпермоторні (показник МФЖ більше 55 %). У 10 з 11 обстежених спостерігалось раннє надходження РФП до кишечника, зумовлене гіпофункцією сфінктера Одді.

Радіонуклідними дослідженнями стану макрофагальної системи встановлено, що у хворих на ЦД-2 в стадії декомпенсації відмічається лише вірогідне збільшення коефіцієнта затримки РФП у печінці. Зниження КЗК, КПК, частки накопичення радіоколоїду в печінці, а також збільшення КРК, ІПЗ, частки накопичення в селезінці були статистично невірогідними (табл. 2). Це свід-

Таблиця 1. Радіонуклідні показники функціонального стану гепатобіліарної системи у хворих на цукровий діабет 2 типу

Група обстежуваних	Статист. показник	Жовчний міхур												
		Печінка (виведення)					Жовчний міхур							
		Т макс., хв	Т поч., хв	Т 1/2, хв	КФЖ		Т поч. візуал., хв	Т лат., хв	Т 1/2, хв	МФЖ, %		Т киш., хв		
Контроль (n=8)	M	16,7	19,1	37,1	6,9	12,9	11,2	10,9	77,5	<35	35-55	>55	<60	>60
	m	1,3	1,3	1,0	0,4	0,5	0,8	0,9	1,3					
Хворі на ЦД-2 (n=11)	M	20,0	28,1	55,0	2,6	3,4	18,2	11,6	76,2	n=4	n=5	n=2	n=10	n=1
	m	2,1	7,2	4,7	0,7	0,9	4,9	3,0	7,4	M=18,9	M=40,5	M=71,7	M=28,9	M=74,7
	P	>0,5	>0,2	<0,001	<0,001	<0,001	>0,1	>0,5	>0,5	m=3,0	m=2,8	m=8,1	m=5,0	

Примітка: у всіх таблицях P – вірогідність відмінності у порівнянні з контрольною групою.

Таблиця 2. Радіонуклідні показники стану МФС печінки у хворих на цукровий діабет 2 типу

Група обстежуваних	Статист. показник	КЗЖ, в.о.		Частка печінки, %		Частка селезінки, %		КПК, в.о.		КРК, в.о.		ІПЗ, в.о.	
		M	m	M	m	M	m	M	m	M	m	M	m
Контроль (n=34)	M	0,44	96,00	4,00	0,42	0,42	0,42	1,61	3,90				
	m	0,01	0,40	0,40	0,01	0,01	0,01	0,01	0,12				
Хворі на ЦД-2 (n=12)	M	0,36	95,00	5,00	0,34	0,50	1,79	4,14					
	m	0,06	1,00	1,00	0,05	0,05	0,07	0,06					
	P	>0,2	>0,5	>0,2	>0,2	>0,1	<0,02	>0,05					

Таблиця 3. Радіонуклідні показники стану печінкового кровотоку у хворих на цукровий діабет 2 типу

Група обстежуваних	Статист. показник	ЧЗПК, с	ЧШПК, с	ЧУПК, с	ЧВПВ, с	Відносна венозна емність	
							ЧЗПК, с
Контроль (n=7)	M	27,40	10,49	16,60	9,03	3,49	0,140
	m	0,69	1,39	1,25	1,89	0,42	0,020
Хворі на ЦД-2 (n=14)	M	37,60	14,36	18,05	11,47	3,52	0,118
	m	1,31	1,28	1,32	1,48	0,38	0,012
	P	<0,001	<0,05	>0,2	>0,2	>0,5	>0,2

Таблиця 4. Радіонуклідні показники сцинтиграфії печінки у хворих на цукровий діабет

Група обстежуваних	Статист. показник	Передня проекція						Задня проекція					
		Права частка печінки			Ліва частка печінки			Права частка печінки			Ліва частка печінки		
		Площа, см ²	Сумарна активність, імпл/с	Селезінка	Площа, см ²	Сумарна активність, імпл/с	Селезінка	Площа, см ²	Сумарна активність, імпл/с	Селезінка	Площа, см ²	Сумарна активність, імпл/с	Селезінка
Контроль (n=8)	M	131,87	123233,29	39,30	26999,14	6,74	1593,86	113,42	114279,71	25,31	12438,57	25,52	10632,88
	m	6,39	2472,73	4,88	2467,76	2,14	555,93	6,95	2657,17	1,93	870,04	6,66	2708,16
Хворі на ЦД-2 (n=10)	M	144,26	116950,22	44,47	30576,11	5,96	1106,22	105,11	99176,13	24,08	16425,25	28,05	11014,67
	m	13,13	3935,70	5,68	3147,24	1,01	268,97	8,19	4883,24	2,18	2164,64	4,41	2519,19
	P	>0,2	>0,1	>0,2	>0,2	>0,2	>0,2	>0,5	<0,01	>0,5	>0,2	>0,5	>0,5

чить про те, що в осіб з ЦД-2 динаміка показників МФС печінки має компенсований характер.

Дані літератури свідчать, що печінка є одним з головних регуляторів кровообігу в організмі людини, який забезпечує функції одного з великих депо крові, що виконує ряд різноманітних функцій гомеостазу. Розвиток дифузних захворювань печінки супроводжується порушенням нормальної фізіології портопечінкової судинної системи, характер змін якої залежить від тяжкості захворювання і ступеня втягнення у процес інших систем та органів [10].

У хворих на ЦД-2 в стадії декомпенсації мають місце виражені порушення кардіопортального та позапечінкового кровотоку, на це вказує збільшення часу проходження РФП магістральними судинами організму від серця до печінки та від ліктьової вени до печінки (табл. 3), що обумовлено наявністю генералізованого ураження кровоносних судин у хворих на ЦД [1]. В той же час ми не виявили вірогідних змін локального печінкового кровообігу в судинах великого та середнього калібру і капілярах печінки. У цих хворих не змінювався венозний відтік і відносна венозна ємність. Одержані дані збігаються з результатами раніше проведених досліджень, в яких не виявлено змін печінкового кровопостачання у хворих на ЦД. У цих хворих пригнічення активності гепатоцитів було більш виражене, ніж порушення кровопостачання печінки [11].

При сцинтиграфії печінки у хворих на ЦД-2 як у передній, так і у задній проекції спостерігалось зменшення сумарної активності правої частки печінки, але статистично вірогідне зниження сумарної активності виявлено лише при дослідженні в задній проекції (табл.4).

Висновки

1. У хворих на ЦД 2 типу в стадії декомпенсації виявлено виражені порушення видільної функції паренхіматозних клітин печінки, концентраційної та моторної функцій жовчного міхура, гіпотонію сфінктера Одді.

2. Встановлені виражені порушення кардіопортального кровотоку у хворих на ЦД 2 типу за відсутності змін локального печінкового кровотоку.

3. При сцинтиграфії печінки у хворих на ЦД 2 типу мало місце зменшення сумарної активності правої частки печінки.

Література

1. Ефимов А.С. Скробонская Н.А. Клиническая диабетология. К.: Здоров'я. 1998. 320 с.
2. Ефимов А.С., Тронько М.Д., Безверха Т.П., Скробонська Н.А.. Сучасні підходи до лікування хворих на цукровий діабет 2 типу пероральними цукрознижуючими засобами // Ендокринологія. 2002, 7, №2, 215-232.
3. Сердюк В.А. Новопашенная В.В. Функциональное состояние печени у больных сахарным диабетом со вторичной сульфаниламидорезистентностью (по данным динамической гепатосцинтиграфии) // Врач. дело. 1991, №11, 76-79.
4. Славнов В.М., Савич О.А., Марков В.В.. Радіонуклідні дослідження функціонального стану гепатобілярної системи у хворих на цукровий діабет // УРЖ. 2002, №4, 383-388.
5. Ткач С.М., Найда Ю.М., Клименко О.П.. Стан моторики жовчних шляхів у хворих на цукровий діабет 1 типу // Ендокринологія. 2002, 7, №2, 162-166.
6. Сидельникова М.В., Касаткин Ю.Н., Одиноква В.А., Миронов С.П. Клинико-морфологическая оценка данных сцинтиграфии печени при сахарном диабете // Сов. мед. 1977, №6, 60-65.
7. Миронов С.П. Радионуклидные исследования гепатобилиарной системы у детей. М.: Медицина, 1988. 50 с.
8. Миронов С.П., Алиев М.М., Леонтьев А.Ф. Исследование внутрипеченочного кровотока с ^{99m}Tc -коллоидом при циррозе печени у детей // Мед. радиол. 1991, №3, 12-13.

9. Танасичук-Гажієва Н.В. Стан макрофагальної системи печінки та печінкової гемодинаміки при гломерулонефриті у дітей (за даними гепатосцинтиграфії з ^{99m}Tc -колоїдом) // УРЖ . 1997, №4, 356-359.
10. Черешнева Ю.Н. Митьков В.В. Возможности визуализирующих методов в исследовании гемодинамики печени // Ультразвуковая диагностика. 2000. № 3, 103-111.
11. Мирходжаев А.Х. Радионуклидные методы оценки гепато-билиарной системы // Мед. радиол. 1973, №6, 3-12.

Функциональное состояние печени и желчного пузыря у больных сахарным диабетом 2 типа

А.А.Савич, В.Н.Славнов, В.В. Марков

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

С целью изучения функционального состояния печени и желчного пузыря обследовали 48 больных сахарным диабетом 2 типа, тяжелой формы, в стадии декомпенсации и 57 практически здоровых людей. Исследование состояния гепатобилиарной и макрофагальной систем печени, ее анатомо-топографических особенностей и печеночного кровотока выполняли на сцинтиляционной гамма-камере ГКС 301-Т с использованием гепатотропных препаратов мезиди и технефита, меченных ^{99m}Tc -технецием. У больных сахарным диабетом 2 типа выявлены выраженные нарушения выделительной функции паренхиматозных клеток печени, концентрационной и моторной функций желчного пузыря, гипотония сфинктера Одди. При исследовании состояния макрофагальной системы у этих больных установлено увеличение коэффициента ретенции радиофармпрепарата в печени, а динамика показателей этой системы имела компенсированный характер. Кроме того, наблюдалось выраженное нарушение кардиопортального и внепеченочного кровотока при отсутствии изменений локального печеночного кровотока. При сцинтиграфии печени имело место снижение суммарной активности её правой доли.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, печень, гепатобилиарная система, макрофагальная система, печеночный кровоток, сцинтиграфия печени.

Functional status of the liver and the gallbladder in patients with type 2 diabetes mellitus

A.A.Savich, V.N.Slavnov, V.V.Markov

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

With the purpose of studying functional status of the liver and the gallbladder we examined 48 patients with severe decompensated type 2 diabetes mellitus and 57 practically healthy persons. Study of a hepatobiliary, macrophagal systems of the liver, its anatomic-topographic features was carried out with scintillation gamma camera GKS 301-T using hepatotropic preparation: technetium- ^{99m}Tc -labeled-mezida and tekhnefit.

Pronounced disorders of the secretory function of hepatic parenchymatous cells, concentration and motor function of the gallbladder, hypotonia of Oddi's sphincter were shown in diabetic patients. When studying macrophagal system an increased hepatic RFP retention coefficient was shown while dynamics of MPS parameters was compensated. In addition, pronounced disorders in cardiportal and extrahepatic blood flow were described without changes of the local hepatic blood flow. At scintigraphy, a decrease of total activity of the right lobe of the liver was registered.

Key words: type 2 diabetes mellitus, liver, hepatobiliary system, macrophagal system, hepatic blood flow, scintigraphy of the liver.

(Надійшла 8.06.2004)

СОДЕРЖАНИЕ ЛЕПТИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА С РАЗНОЙ МАССОЙ ТЕЛА

О.В.Тузова^{1*}, Б.Н.Маньковский²

¹Городская поликлиника №2, 54028 Николаев; ²Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев, Украина

В последние годы большое внимание уделяется изучению гормонов, продуцируемых жировой тканью. Однако в литературе отсутствуют данные о содержании лептина в крови у больных сахарным диабетом 2 типа с разной массой тела. В статье приведены результаты сравнительного исследования содержания лептина в сыворотке крови больных сахарным диабетом с разной массой тела по сравнению с показателями у лиц без нарушений углеводного обмена с ожирением и нормальной массой тела, изучена связь между уровнем лептина и показателями липидного спектра плазмы. Обследовано 106 человек – 64 пациента с диабетом и 42 человека, не страдающих диабетом. Установлено, что у лиц с ожирением отмечаются более высокие концентрации лептина в крови по сравнению с лицами с нормальной массой тела, как в группе пациентов, страдающих сахарным диабетом, так и у лиц, не болеющих диабетом. Вероятно, это обусловлено резистентностью к эндогенно секретируемому лептину при ожирении. Патогенетическое значение роли гиперлептинемии в развитии ожирения требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, ожирение, лептин, липидный профиль.

Сахарный диабет представляет важную, постоянно растущую, медицинскую и социальную проблему. 90-95 % больных страдают сахарным диабетом 2 типа [1]. В основе развития диабета 2 типа часто лежит ожирение и сопутствующая ему инсулинорезистентность. Механизмы формирования ожирения и сахарного диабета 2 типа изучены к настоящему времени не полностью. В последние годы большое внимание исследователей уделяется изучению гормонов, продуцируемых жировой тканью, среди которых одним из основных является гормон лептин. Лептин – это циркулирующий пептидный гормон, секретируемый преимущественно висцеральными жировыми клетками, который регулирует массу тела, воздействуя на потребление и усвоение пищи [2]. Действуя на гипоталамические рецепторы в медио-базальных ядрах гипоталамуса, лептин увеличивает расход энергии путем повышения активности симпатической нервной системы и липолиза, а также воздействуя на продукцию нейропептида Y. Показано, что как дефицит лептина, так и резистентность тканей к действию лептина связаны с увеличением массы тела. Резистентность к лептину, которая является следствием гиперлептинемии, является гораздо более частым феноменом при ожирении у людей, чем дефицит лептина [3]. Установлено, что лептин играет важную роль в регулировании углеводного и жирового обменов [4]. Получены данные, что лептин подавляет секрецию инсулина и через центральный механизм действия, и прямо воздействуя на β -клетки поджелудочной железы, однако при развитии лептинорезистентности этот механизм действия гормона нарушен [5].

Вместе с тем, изменения содержания лептина в крови, развивающиеся у больных сахарным диабетом 2 типа с различной массой тела, изучены недоста-

Адреса для листування (Correspondence): Миська поліклініка № 2, вул. Космонавтів, 126, 54028 Миколаїв, Україна

точно. Исходя из вышесказанного, целью настоящей работы явилось изучение содержания лептина в сыворотке крови у больных сахарным диабетом 2 типа с ожирением и нормальной массой тела.

Материалы и методы

Обследовано 106 человек, из них – 64 больных сахарным диабетом 2 типа, из которых 37 пациентов с ожирением (индекс массы тела [ИМТ] $> 30 \text{ кг/м}^2$) и 27 – с нормальной массой тела (ИМТ $< 25 \text{ кг/м}^2$), а также 42 человека без нарушения углеводного обмена, из которых ожирение было у 21 и нормальная масса тела – у 21. Среди обследованных было 84 женщины (79 %) и 22 мужчины (21 %). Возраст обследованных составил (здесь и далее данные приведены как среднее \pm стандартная ошибка среднего) $58,4 \pm 1,31$ года в группе больных сахарным диабетом с ожирением и $59,5 \pm 1,34$ года – в группе больных сахарным диабетом с нормальной массой тела. В группе лиц с ожирением, не болеющих сахарным диабетом, возраст составил $56,2 \pm 2,43$ года, а у лиц с нормальной массой тела – $57,4 \pm 2,7$ года. Возраст обследованных лиц в разных группах достоверно не различался, $P > 0,05$.

Диагноз сахарного диабета 2 типа устанавливали в соответствии с критериями ВОЗ (1999). Длительность заболевания у больных диабетом с ожирением составила $4,9 \pm 0,9$ года и у больных с нормальной массой тела – $6,3 \pm 1,2$ года, $P > 0,05$. В группы обследования отбирались больные в состоянии хорошей и удовлетворительной компенсации сахарного диабета, которая достигалась с помощью диетотерапии, либо назначением диеты в комбинации с сахаропонижающими препаратами (СПП) – производными сульфонилмочевины или метформин. В группе больных сахарным диабетом с ожирением уровень гликозилированного гемоглобина составил $6,44 \pm 0,27$ %, а у больных сахарным диабетом с нормальной массой – $6,44 \pm 0,29$ %. При обследовании лиц в группах сравнения с целью исключения ранее недиагностированного сахарного диабета или нарушенной толерантности к глюкозе проводили стандартный тест толерантности к глюкозе. Гликемия натощак у лиц без сахарного диабета с ожирением составила $4,75 \pm 0,13$ ммоль/л и у лиц с нормальной массой тела – $4,5 \pm 0,11$ ммоль/л. В группе больных сахарным диабетом с ожирением артериальная гипертензия (АГ) диагностирована у 34 человек, среди больных сахарным диабетом с нормальной массой тела – у 20 человек. У лиц без сахарного диабета АГ была выявлена у 19 человек в группе лиц с ожирением и у 12 человек – с нормальной массой тела.

Определяли уровень общего холестерина (оХС), триглицеридов (ТГ) и холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) в крови ферментативным методом на автоматическом анализаторе "Cobas Mire". Холестерин липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) рассчитывали по формуле W.T.Friedewald [6]. Уровень лептина определяли иммуноферментным методом с помощью набора LEPTIN ELISA-KIT фирмы DRG (США) на ИФА-анализаторе "Stat-Fax-303+" (США). Статистическую обработку данных проводили методами вариационной и описательной статистики с помощью стандартного пакета анализа данных программы Microsoft Excel на персональном компьютере Athlon XP 1700+. Достоверность различия между средними величинами определяли с помощью критерия t Стьюдента. Различия считались достоверными при $P < 0,05$, а при $0,05 < P < 0,1$ отмечалась тенденция к достоверности различий. Корреляционный анализ между рядами показателей рассчитывали с помощью коэффициента Пирсона.

Результаты и их обсуждение

Нами установлено, что у больных сахарным диабетом с ожирением и с нормальной массой тела, а также у лиц с ожирением без диабета имеются выраженные изменения показателей липидного обмена по сравнению с показателями здоровых лиц, не страдающих диабетом и ожирением (таблица).

Выявлено статистически достоверное ($P < 0,05$) повышение содержания оХС, ХС ЛПНП, ТГ и снижение ХС ЛПВП у больных сахарным диабетом 2 типа с ожирением по сравнению с контрольной группой лиц, имеющих нормальную массу тела. Больные сахарным диабетом 2 типа с ожирением имели достоверно более высокий уровень ТГ и тенденцию к пониженному содержанию ХС ЛПВП ($P = 0,08$) по сравнению с группой лиц с ожирением, не болеющих сахарным диабетом. В группе больных сахарным диабетом 2 типа с нормальной массой тела уровень ТГ также был достоверно выше, чем в контрольной группе с нормальной массой тела. Также выявлено статистически значимое повышение

Таблица. Содержание липидов в плазме крови у обследованных лиц

Показатель	Больные сахарным диабетом		Лица без сахарного диабета	
	с ожирением	с нормальной массой тела	с ожирением	с нормальной массой тела
Общий холестерин (ммоль/л)	6,13±0,2 P ₁ <0,05	5,46±0,22 P ₂ <0,05	5,76±0,25	5,15±0,21
ХС ЛПВП (ммоль/л)	1,15±0,05 P ₁ <0,05	1,26±0,04	1,26±0,04	1,29±0,06
ХС ЛПНП (ммоль/л)	3,89±0,19 P ₁ <0,05	3,4±0,21	3,7±0,26	3,28±0,19
Триглицериды (ммоль/л)	2,41±0,18 P ₁ <0,05	1,76±0,12 P ₂ <0,05	1,65±0,13 P ₃ <0,05	1,25±0,16 P ₄ <0,05

Примечания. Достоверность различий между:

P₁ – группой больных сахарным диабетом с ожирением и лицами без сахарного диабета с нормальной массой тела;

P₂ – группами больных сахарным диабетом с ожирением и нормальной массой тела;

P₃ – группой больных сахарным диабетом с ожирением и лицами без сахарного диабета с ожирением;

P₄ – группой больных сахарным диабетом с нормальной массой тела и лицами без сахарного диабета с нормальной массой тела.

уровня оХС и ТГ наряду с тенденцией к снижению ХС ЛПВП (P=0,068) и повышению ХС ЛПНП (P=0,08) у больных сахарным диабетом 2 типа с ожирением по сравнению с больными сахарным диабетом с нормальной массой тела. Нами выявлена отрицательная корреляционная зависимость между уровнями ТГ и ХС ЛПВП (r=-0,29, P<0,05) в общей группе больных сахарным диабетом 2 типа, что свидетельствует о возможном наличии причинно-следственной связи гипохолестеринемии и гипертриглицеридемии при сахарном диабете.

Нами выявлено статистически достоверное (P<0,001) повышение содержания лептина в сыворотке крови у больных с ожирением по сравнению с лицами, имеющими нормальную массу тела, как в группе пациентов, страдающих сахарным диабетом, так и у лиц, не болеющих диабетом (рисунок). Отмечалась тенденция к увеличению содержания лептина в крови у лиц с ожирением, не страдающих сахарным диабетом (0,1>P>0,05), по сравнению с показателем у больных сахарным диабетом с ожирением. Содержание лептина у лиц с нормальной массой тела достоверно не различалось между группами лиц с сахарным диабетом и не болеющими сахарным диабетом, P>0,05. Так, содержание лептина в сыворотке крови составило 9,21±1,03 мкг/л у больных сахарным диабетом с ожирением, 2,67±0,44 мкг/л – у пациентов с диабетом и нормальной массой тела, 11,99±1,19 мкг/л – в группе лиц без диабета с ожирением и 2,9±0,68 мкг/л – у лиц без диабета с нормальной массой тела.

Полученные нами данные, как и результаты других исследований [7-9], свидетельствуют о том, что у лиц с ожирением отмечаются более высокие концентрации лептина в крови по сравнению с лицами с нормальной массой тела. Эти различия, возможно, можно объяснить тем, что лица с ожирением резистентны к действию эндогенно секретируемого лептина [8, 10].

При проведении корреляционного анализа в группе больных сахарным диабетом с ожирением выявлена статистически достоверная прямая корреляционная связь между содержанием лептина и ИМТ (r=0,52, P<0,05). В группе больных сахарным диабетом с нормальной массой тела наблюдалась достоверная прямая корреляционная связь между содержанием лептина и оХС (r=0,56, P<0,05), ХС ЛПНП (r=0,53, P<0,05), ТГ (r=0,47, P<0,05) и обратная корреляционная связь – между содержанием лептина и отношением окружности талии

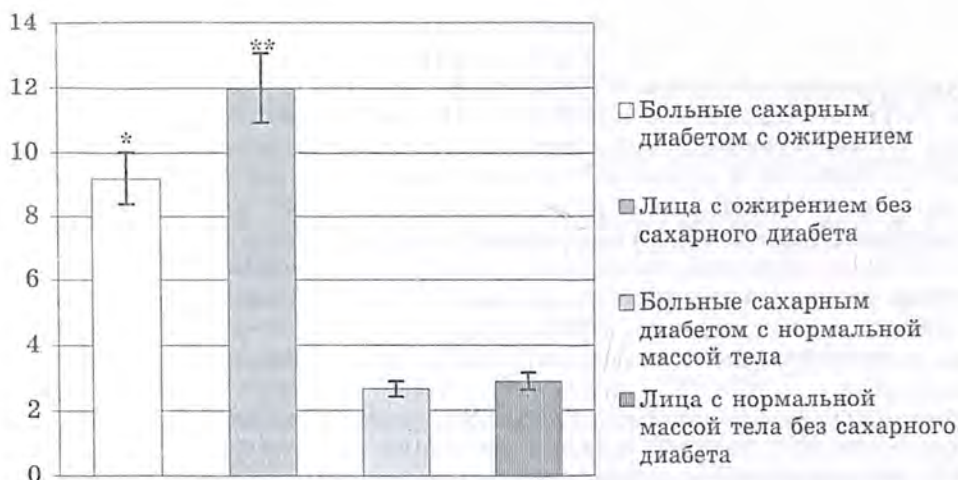


Рисунок. Содержание лептина (мкг/л) в сыворотке крови больных сахарным диабетом и лиц без сахарного диабета с разной массой тела.

Примечания. * – $P < 0,05$ – между группами больных сахарным диабетом с ожирением и нормальной массой тела;

** – $P < 0,05$ – между группами без диабета с ожирением и нормальной массой тела.

к окружности бедер (ОТ/ОБ) ($r = -0,47$, $P < 0,05$). В группе больных с ожирением без диабета выявлена достоверная прямая корреляционная связь между содержанием лептина и окружностью талии (ОТ) ($r = 0,43$, $P < 0,05$), а с ИМТ ($r = 0,44$, $P < 0,05$) корреляционная связь наблюдалась только при исключении лиц с морбидным ожирением (ИМТ > 40 кг/м²). Как было показано другими авторами, у женщин с ожирением и ИМТ менее 40 кг/м² содержание лептина в плазме было достоверно и прямо пропорционально связано с антропометрическими данными (ИМТ, относительным содержанием жира в теле и отношением ОТ/ОБ), а при анализе пациенток с ИМТ более 40 кг/м² корреляционная связь между концентрациями лептина и ИМТ, содержанием жира или биохимическими показателями не наблюдалась. Предполагается, что у женщин с морбидным ожирением концентрация лептина в плазме, хотя и увеличена, но не отражает количество жировых депо, и поэтому другие факторы, кроме ожирения, могут лежать в основе вариаций в значениях лептина у таких пациентов [11].

В контрольной группе лиц с нормальной массой тела выявлена прямая корреляционная связь между содержанием лептина и оХС ($r = 0,4$, $P < 0,05$), а также ТГ ($r = 0,62$, $P < 0,05$).

При проведении корреляционного анализа в общей группе больных сахарным диабетом 2 типа выявлена достоверная прямая корреляционная связь между содержанием лептина и ИМТ ($r = 0,67$, $P < 0,05$), а также ОТ ($r = 0,46$, $P < 0,05$). В общей группе лиц без сахарного диабета выявлена корреляционная взаимосвязь между лептином и ИМТ ($r = 0,73$, $P < 0,05$), ОТ ($r = 0,74$, $P < 0,05$), отношением ОТ/ОБ ($r = 0,54$, $P < 0,05$), уровнем АД систолического ($r = 0,46$, $P < 0,05$), АД диастолического ($r = 0,4$, $P < 0,05$), содержанием ТГ ($r = 0,49$, $P < 0,05$). При проведении корреляционного анализа в общей группе лиц с ожирением (с диабетом и без диабета) выявлена статистически достоверная прямая корреляционная связь между содержанием лептина и ИМТ ($r = 0,46$, $P < 0,05$), ОТ ($r = 0,31$, $P < 0,05$), а в группе обследованных лиц с нормальной массой тела найдена достоверная прямая корреляционная связь между лептином и содержанием оХС ($r = 0,46$, $P < 0,05$), ХС ЛПНП ($r = 0,39$, $P < 0,05$), ТГ ($r = 0,5$, $P < 0,05$).

Секреция лептина зависит от общей массы и относительного содержания жира в организме и коррелирует с антропометрическими показателями [12],

хотя некоторые авторы считают это характерным только для людей с ожирением [13]. Сопоставимые данные были получены и в нашем исследовании при изучении содержания лептина у пациентов, страдающих сахарным диабетом 2 типа. При проведении корреляционного анализа выявлена статистически достоверная прямая корреляционная связь между содержанием лептина и ИМТ, а также лептина и ОТ в группе лиц с ожирением, тогда как в группе обследованных лиц с нормальной массой тела связь лептина с ИМТ и ОТ отсутствовала.

Полученные многочисленные данные, показывающие, что лептин модулирует ключевые процессы, вовлеченные в атерогенез, предполагают роль лептина как потенциального сердечно-сосудистого фактора риска [14]. Возможно, что высокие уровни лептина, наблюдаемые у лиц с ожирением, могут вносить вклад в его неблагоприятное воздействие на состояние сердечно-сосудистой системы [15].

Мы исследовали наличие связи между уровнем лептина и показателями липидного спектра плазмы. Имеющиеся данные литературы по этому вопросу достаточно противоречивы. Так, в одном исследовании показана существенная прямая корреляционная связь уровня лептина крови с содержанием общего холестерина, ЛПНП, липопротеина (а) и аполипопротеина В и обратная связь с ХС ЛПВП [16]. Еще в нескольких исследованиях обнаружена достоверная корреляционная связь лептина с уровнем триглицеридов [17-19]. Другими же авторами было показано, что ассоциация между лептином и концентрациями липидов зависела от степени ожирения и статистическая поправка на массу жира в организме элиминировала эти связи [20-22]. Нами также отмечено, что статистически достоверная корреляционная зависимость между содержанием лептина в крови и показателями липидного обмена отмечалась только в группе больных сахарным диабетом без ожирения.

Таким образом, мы можем заключить, что выявленное нами повышение содержания лептина в сыворотке крови у лиц с ожирением по сравнению с лицами, имеющими нормальную массу тела, отмечается как в группе лиц с сахарным диабетом 2 типа, так и в группе лиц, не страдающих этим заболеванием, что возможно связано с резистентностью к эндогенно секретируемому лептину у людей с ожирением. Можно предположить, что отмеченная гиперлептинемия обусловлена именно наличием ожирения, а не сахарным диабетом. Вместе с тем, выявление особенностей биологического действия лептина при сахарном диабете требует дальнейшего изучения.

Литература

1. Класифікація, діагностика, критерії компенсації цукрового діабету. Концепція регуляції прандіальної глюкози у хворих на цукровий діабет 2 типу: Метод. реком. Укладачі: М.Д. Тронько, А.С. Сфімов, П.М. Карабун. Київ, 2002.
2. Friedman J.M., Halaas J.L. Leptin and the regulation of body weight in mammals // *Nature*. 1998, 395, 763-770.
3. Maffei M., Halaas J., Ravussin E. et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects // *Nat. Med.* 1995, 1, 1155-1161.
4. Frühbeck G., Salvador J. Relation between leptin and the regulation of glucose metabolism // *Diabetologia*. 2000, 43, 3-12.
5. Timothy J., Kieffer T., Habener J.F. The adipoinsular axis: effects of leptin on pancreatic β -cells // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2000, 278, E1-E14.
6. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge // *Clin. Chem.* 1972, 18, 499-502.
7. Nolan J.J., Olefsky J.M., Nyce M.R. et al. Effect of troglitazone on leptin production. Studies in vitro and in human subjects // *Diabetes*. 1996, 45, N 9, 1276-1278.
8. Considine R.V., Sinha M.K., Heiman M.L. et al. Serum immunoreactive-leptin

- concentrations in normal-weight and obese humans // *N. Engl. J. Med.* 1996, 334, 292-295.
9. Sinha M.K., Ohannesian J.R., Heiman M.L. et al. Nocturnal rise of leptin in lean, obese and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects // *J. Clin. Invest.* 1996, 97, N 5, 1344-1347.
 10. Caro J.F., Sinha M.K., Kolaszynski J.W. et al. Leptin: the tale of an obesity gene // *Diabetes.* 1996, 45, N 11, 1455-1462.
 11. Garcia-Lorda P., Bullo M., Vila R. et al. Leptin concentrations do not correlate with fat mass nor with metabolic risk factors in morbidly obese females // *Diabetes Nutr. Metab.* 2001, 14, N 6, 329-336.
 12. Терещенко И.В. Лептин и его роль в организме // *Пробл. эндокринолог.* 2001, 47, N 4, 40-46.
 13. Dagogo-Gack S., Fanelli C., Paramore D. Plasma leptin and insulin relationships in obese and nonobese humans // *Diabetes.* 1996, 45, N 5, 695-698.
 14. Maingrette F., Geneviève R. Leptin increases lipoprotein lipase secretion by macrophages: involvement of oxidative stress and protein kinase C // *Diabetes.* 2003, 52, 2121-2128.
 15. Cooke J.P., Oka R.K. Does leptin cause vascular disease? // *Circulation.* 2002, 106, p. 1904.
 16. Tamer L., Ercan B., Unlu A. et al. The relationship between leptin and lipids in atherosclerosis // *Indian Heart J.* 2002, 54, N 6, 692-696.
 17. Ruige J.B., Dekker J.M. Leptin and variables of body adiposity, energy balance, and insulin resistance in a population-based study: The Hoorn study // *Diabetes Care.* 1999, 22, N 7, 1097-1104.
 18. Haffner S.M., Mykkanen L., Rainwater D.L. et al. Is leptin concentration associated with the insulin resistance syndrome in nondiabetic men? // *Obes. Res.* 1999, 7, N 2, 164-169.
 19. Couillard C., Lamarche B., Mauriege P. et al. Leptinemia is not a risk factor for ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study // *Diabetes Care.* 1998, 21, N 5, 782-786.
 20. Ostlund R.E., Yang J.W., Klein S., Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996, 81, 3909-3913.
 21. Hickey M.S., Israel R.G., Gardiner S.N. Gender differences in serum leptin levels in humans // *Biochem. Molec. Med.* 1996, 59, 1-6.
 22. Couillard C., Mauriege P., Prud'homme D. et al. Plasma leptin concentrations: gender differences and associations with metabolic risk factors for cardiovascular disease // *Diabetologia.* 1997, 40, N 10, 1178-1184.

Вміст лептину у сироватці хворих на цукровий діабет 2 типу з різною масою тіла

О.В.Тузова¹, Б.М.Маньковський²

¹Міська поліклініка № 2, 54028 Миколаїв; ²Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України, 04114 Київ, Україна

Останнім часом велика увага приділяється вивченню гормонів, що виробляються жировою тканиною. Проте в літературі відсутні дані про вміст лептину у крові хворих на цукровий діабет 2 типу з різною масою тіла. У статті наведені результати порівняльного дослідження вмісту лептину у сироватці крові хворих на цукровий діабет із різною масою тіла у порівнянні з показниками в осіб без порушень вуглеводного обміну з ожирінням і нормальною масою тіла, а також вивчено зв'язок між рівнем лептину і показниками ліпідного спектру плазми. Обстежено 106 осіб – 64 пацієнти з діабетом і 42 особи, що не страждають від діабету. Встановлено, що особи з ожирінням мають вищі концентрації лептину у крові у порівнянні з особами з нормальною масою тіла, як у групі хворих на цукровий діабет, так і в осіб, які не мають діабету, що ймовірно обумовлено резистентністю до ендогенного лептину при ожирінні. Патогенетичне значення ролі гіперлептинемії у розвитку ожиріння вимагає подальшого вивчення.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, ожиріння, лептин, ліпідний профіль.

Serum leptin levels in patients with type 2 diabetes mellitus with and without obesity

O.V. Tuzova¹, B.N.Mankovsky²

¹City polyclinic N 2, 54028 Mykolaiv; ²V.P.Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 04114 Kyiv, Ukraine

The biological role of the hormones produced by adipose cells is actively discussed in the literature. However, there has been no comparison of serum leptin levels in obese and lean patients with type 2 diabetes mellitus. We studied serum leptin levels in patients with type 2 diabetes mellitus with and without obesity compared to subjects without diabetes with and without obesity. The relationship between serum leptin and lipid levels was investigated. One hundred six subjects were enrolled into the study – 64 patients with diabetes and 42 without diabetes. We found that serum leptin levels were significantly higher in subjects with obesity compared to lean persons either in the group of patients with diabetes or in those without diabetes, which could be attributed to the tissue resistance to leptin action. The role of revealed hyperleptinemia in the pathogenesis of obesity requires further investigations.

Key words: type 2 diabetes mellitus, obesity, leptin, lipid profile.

(Надійшла 30.06.2004)

ОСОБЛИВОСТІ РЕЦЕПЦІЇ ТЕСТОСТЕРОНУ МОНОЯДЕРНИМИ ЛЕЙКОЦИТАМИ У ЧОЛОВІКІВ, ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ, З НОРМАЛЬНОЮ ЧУТЛИВІСТЮ ДО ІНСУЛІНУ

О.В. Корпачева-Зінч, Т.І.Корпачева

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

У чоловіків, хворих на цукровий діабет 2 типу, з незміненою чутливістю до інсуліну було відмічено підвищення кількості зв'язуючих місць (V_{max}) до тестостерону на поверхні моноядерних лейкоцитів. Виділено дві групи хворих: з "незначним" (у кілька разів) і "значним" (у десятки разів) збільшенням V_{max} у порівнянні з контрольною групою. Зафіксовані зміни не залежали від віку хворих, ступеня компенсації захворювання, інсулінемії, вмісту тестостерону та тестостерон-естрадіол-зв'язуючого глобуліну в крові. "Незначне" підвищення V_{max} супроводжувалось зменшенням показників константи дисоціації (K_d). При вищих значеннях V_{max} показники K_d дещо підвищувались або не відрізнялись від значень контрольної групи. З огляду на те, що інсулін та андрогени проявляють конкурентні взаємовідносини при дії на клітинні мішені, можна припустити, що збільшення кількості зв'язуючих місць до тестостерону на поверхні моноядерних лейкоцитів може бути обумовлене розвитком довготривалої резистентності клітин до інсуліну і зсувом цих конкурентних взаємовідносин у бік зв'язування тестостерону.

Ключові слова: рецептори андрогенів, цукровий діабет 2 типу, інсулінорезистентність, тестостерон, моноядерні лейкоцити, індекс вільного тестостерону, тестостерон-естрадіол-зв'язуючий глобулін.

Відомо, що з віком знижується чутливість до інсуліну [1,2] і збільшується кількість хворих на цукровий діабет [3]. "Європейською групою з інсулінорезистентності" продемонстровано, що інсулінозалежне засвоєння глюкози у здорових людей знижується з віком і залежить від ожиріння та центрального розподілу жиру [4]. В той же час у багатьох перехресно-групових дослідженнях було встановлено, що рівень тестостерону (Т) плазми крові у чоловіків обернено пропорційно пов'язаний з деякими чинниками розвитку цукрового діабету 2 типу (ЦД-2), зокрема, ожирінням [5], центральним розподілом жиру [6-11] та підвищеною концентрацією глюкози натще [5, 9, 12]. Результати проспективних досліджень продемонстрували, що низькі рівні тестостерону [13] та тестостерон-естрадіол-зв'язуючого глобуліну (ТЕЗГ) передвіщають розвиток цукрового діабету 2 типу серед чоловіків старшого віку [14-16], а гіперінсулінемія знижує концентрацію ТЕЗГ у жінок із синдромом полікістозу яєчників [17]. Низький рівень тестостерону у плазмі крові асоціюється й з іншими ускладненнями цукрового діабету – серцево-судинними захворюваннями та гіпертензією [18].

Однак до останнього часу залишається невідомим механізм взаємозв'язку між концентрацією тестостерону у плазмі крові і розвитком цукрового діабету 2 типу та інсулінорезистентності. Можна припустити, що інсулін регулює секрецію тестостерону, тому що блокада його секреції діазоксидом за тривалого застосування знижує рівень загального та вільного тестостерону і підвищує концентрацію ТЕЗГ у здорових людей з нормальним індексом маси тіла та ожирінням [19]. І, навпаки, призначення тестостерону чоловікам з ожирінням поліпшує чутливість до інсуліну [20, 21]. Вміст ТЕЗГ також позитивно асоціюється з інсу-

ліночутливістю [22] та негативно корелює з інсулінорезистентністю [9], рівнем інсуліну [7, 8] і глюкози [8].

В окремих дослідженнях зафіксовані знижені рівні тестостерону [6, 13, 23, 24] і ТЕЗГ [13, 24] у чоловіків із цукровим діабетом. Але ці результати отримані на незначній кількості обстежуваних [20, 21] та були обмежені віком [15].

Цих недоліків вдалося уникнути у проспективному дослідженні "The Massachusetts male aging study" при обстеженні 1709 чоловіків похилого віку протягом 7-10 років. Було встановлено, що низькі рівні вільного тестостерону та ТЕЗГ є передвісниками розвитку цукрового діабету у чоловіків [25].

Веручи до уваги той факт, що при цукровому діабеті 2 типу спостерігається порушення функціонального стану плазматичних мембран багатьох клітин організму, можна припустити, що при цьому захворюванні може також змінюватись андроген-рецепторна взаємодія, яка визначає ефекти чоловічих статевих гормонів у периферичних тканинах. Відомо, що рівень тестостерону в крові не завжди корелює з клінічними проявами гіпогонадізму.

Попередньо одержані нами дані дозволили виділити дві групи чоловіків, хворих на ЦД-2, – інсуліночутливих та інсулінорезистентних. В першій групі показник індексу вільного тестостерону (ІВТ) був вищим, ніж у відповідній віковій групі контрольних чоловіків, або у групі інсулінорезистентних хворих. Це дозволяє розглядати кожну групу окремо при вивченні порушень андрогенної функції та виборі відповідного лікування. Ми поставили за мету вивчити особливості рецепції тестостерону у хворих на ЦД-2 з непорушеною чутливістю до інсуліну і не зниженим рівнем тестостерону.

Матеріали і методи дослідження

Ми підібрали групу чоловіків (14 осіб), хворих на цукровий діабет 2 типу, віком від 50 до 70 років, з низькими показниками інсулінорезистентності НОМА-ІР (Homeostasis model assessment) та FІRІ (Fasting insulin resistance index) і відносно високими значеннями інсуліночутливості QUICKІ (Quantitative insulin sensitivity check index) та індексу Рейнауда для дослідження в них особливостей рецепції андрогенів. Майже у всіх хворих спостерігалися низькі показники відсотку функціонуючих β-клітин.

Діагноз ЦД-2 встановлювали згідно з критеріями ВООЗ (1999) – при рівні глюкози крові натще 7,0 ммоль/л та/або 11,1 ммоль/л – при випадковому визначенні на тлі прийому їжі. Хворі госпіталізувалися у відділення в стані суб- та декомпенсації. Контрольну групу складала 8 здорових чоловіків (донорів-добровольців). Всім обстежуваним особам проводили антропометричні виміри – визначали ріст, масу тіла, обвід талії й стегон. Ступінь ожиріння визначали за розрахунком індексу маси тіла (ІМТ) – показник, який допомагає оцінити масу тіла в залежності від росту. Цей показник розраховували за формулою: маса тіла/ріст² (кг/м²). У обстежених осіб з ЦД-2 ІМТ становив більше ніж 30 кг/м².

Концентрацію глюкози визначали в капілярній крові обстежуваних натще за допомогою ортотолуїдинового методу. Крім того, вивчали глікемічний профіль протягом дня.

Вміст загального імунореактивного інсуліну визначали за допомогою наборів "Insulin IRMA kit", в яких виключена можливість перехресної реакції з проінсуліном і С-пептидом, а також можливість визначення комплексу інсулін-антитіло.

Для оцінки інсулінорезистентності використовували показники: НОМА-ІР, FІRІ, QUICKІ та індекс Рейнауда.

Відсоток функціонуючих β-клітин оцінювали за формулою, виходячи із значень глікемії натще та інсулінорезистентності:

$$\% = \frac{20 \times \text{Інсулін натще (мкОд/мл)}}{\text{Глюкоза натще (ммоль/л)} - 3,5}$$

Нормальні значення цього показника коливаються в межах від 100 % до 240 %.

Зниження цього показника свідчить про деструктивні процеси у підшлунковій залозі.

Діагноз артеріальної гіпертензії встановлювали при підвищенні артеріального тиску більше 140/90 мм рт. ст. або при нормальних показниках артеріального тиску на тлі прийому антигіпертензивних препаратів. Ні один з обстежуваних хворих не отримав гормональних препаратів.

В усіх осіб було зібрано анамнез, проведено об'єктивне обстеження та загальнообстежені лабораторні аналізи.

З літератури відомий метод вивчення андроген-зв'язуючих сайтів у класичних клітинах-мішенях андрогенів, наприклад, фібробластах шкіри геніталій [26, 27] та у тканинах додаткових статевих органів чоловіків [28, 29]. Вдалося також виділити та описати високоафінні андроген-зв'язуючі сайти у периферичних моноядерних лейкоцитах (ПМЛ) і довести, що циркулюючі імунокомпетентні клітини є мішенями для андрогенів [30]. Ці дані пояснюють механізм моделювання статевими стероїдами імунологічних процесів [31]. Для визначення специфічності андроген-зв'язуючих сайтів у ПМЛ автори проводили конкурентне зв'язування з різними стероїдними гормонами. При цьому Т і дигідротестостерон (DHT) зв'язувалися майже однаково (97 %). Потім йшли 17 β -естрадіол (12 %) і прогестерон (6 %) та інші гормони. 17-гідроксипрогестерон та кортизол зв'язувалися з афінністю, що становила менше 0,001 % Т. Афінність Т до андроген-зв'язуючих сайтів у ПМЛ була порівнянна з іншими тканинами організму людини [32, 33]. На відміну від фібробластів шкіри геніталій, які характеризуються високою афінністю до DHT, ніж до Т, зв'язуюча афінність у рецепторів андрогенів ПМЛ була майже однаковою до Т і DHT. Це вказує на можливість того, що рецептори андрогенів у ПМЛ дещо відрізняються від рецепторів андрогенів у фібробластах шкіри геніталій.

На основі аналізу одержаних результатів автори прийшли до висновку, що цей метод являє собою неінвазивний спосіб дослідження андроген-зв'язуючих сайтів. На відміну від інших методів дослідження він зводить до мінімуму вплив, який справляє гомогенізація тканини й тривале культивування клітин. Коефіцієнт коливання в межах методу менший, ніж для фібробластів шкіри геніталій [34]. Висока афінність, насичуюча здатність та обмежена специфічність андроген-зв'язуючих сайтів відповідають критеріям специфічних рецепторів гормонів. Описаний метод дозволяє визначати андроген-зв'язуючу здатність у різних фізіологічних і клінічних дослідженнях.

Проби крові (10-15 мл) брали натще о 9 год ранку в перший день госпіталізації. Моноядерні лейкоцити людини виділяли з периферичної крові у градієнті щільності фікол-верографін шляхом центрифугування. Шар моноядерних клітин виділяли і промивали 3 рази сольовим розчином (0,15 М NaCl, рН 7,2) при кімнатній температурі. Отримана суспензія клітин була вільна від гранулоцитів. Співвідношення ПМЛ і тромбоцитів становило 2:1, що не заважало специфічному зв'язуванню, оскільки було встановлено, що тромбоцити не зв'язують андрогени. Співвідношення лімфоцитів і моноцитів становило близько 10:1. Життєздатність клітин, яку визначали за допомогою забарвлення трипановим синім, становила 98 % до і після інкубації.

Аліквоти суспензії клітин по 500 мкл (2 \times 10⁶ клітин) інкубували з міченим тестостероном (кінцеві концентрації в діапазоні 1,0-13,0 нМ) протягом 90 хв при 37 °С, після чого реакцію зв'язування зупиняли додаванням 2 мл холодного фосфатного буферу (рН 7,2). Потім суспензію центрифугували 3 хв при 600 g, супернатант вилучали. Клітини промивали 2 мл того ж буферного розчину, ресуспендували в 200 мкл 0,15 М NaCl і переносили в кювети зі сцинтиляційною рідиною для наступного виміру радіоактивності на лічильнику Mark-III ("Tracor Analytic", США).

У дослідженнях використовували 1,2-³H-тестостерон ("Amersham", Англія). Питома активність становила 2,2 \times 10¹⁴ Бк/ммоль. Радіохімічну чистоту міченого гормону перевіряли методом хроматографії на колонці з сефадексом LH-20 у системі толуол-метанол (85:15).

Специфічне зв'язування визначали як різницю між загальним і неспецифічним зв'язуванням. Для визначення рівня неспецифічного зв'язування ³H-тестостерону в інкубаційне середовище додавали 400-кратний надлишок відповідного неміченого гормону ("Sigma", Англія).

Характеристики андроген-зв'язуючих сайтів визначали за допомогою графіків Скетчарда. Результати розраховували як число зв'язуючих сайтів на клітину, визначаючи кількість зв'язаного ³H-тестостерону на аліквоту, що містить відоме число клітин.

Концентрацію тестостерону у плазмі крові досліджували радіоімунологічним методом за допомогою стандартних наборів. Рівень ТЕЗГ в плазмі крові визначали шляхом радіонуклідного сатураційного аналізу з використанням ³H-5 α -дигідротестостерону (³H-DHT). Для вилучення ендогенних стероїдів до плазми (0,5 мл) додавали активованій вуглець Norit A (50 мг/мл) та інкубували 30 хв на водяній бані з періодичним перемішуванням при 37 °С. Після дворазового центрифугування при 2000 об/хв плазму розводили у 10 разів трис-НСІ буфером, рН 7,4, який містив 0,1 М ЕДТА та 0,001 М азиду натрію [35].

Індекс вільного Т (ІВТ) обчислювали як відношення вмісту загального Т до ТЕЗГ, помножене на 100 [36].

Статистичний аналіз здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel на комп'ютері Pentium III з використанням t-критерію Стьюдента та визначенням показника вірогідності різниці "Р". Різниця вважалась вірогідною за Р<0,05.

Результати та їх обговорення

Аналіз одержаних даних показує, що у всіх хворих не визначалась виражена гіпоандрогенія (рівень тестостерону нижче 12 нмоль/л), незважаючи на те, що згідно з даними літератури у 30 % хворих на ЦД-2 спостерігається зниження рівня тестостерону. Індекс вільного тестостерону також був достатньо високим, що характерно для інсуліночутливих чоловіків, хворих на цукровий діабет 2 типу, і узгоджується з нашими попередніми даними (табл.).

Слід зазначити, що у всіх чоловіків, хворих на ЦД-2, відмічалось підвищення кількості зв'язуючих місць до тестостерону (V_{max}) у порівнянні з контрольною групою здорових осіб. При цьому можна виділити 2 групи чоловіків – із “незначним” зростанням (в кілька разів) та із “значним” збільшенням (в десятки разів). Зафіксоване збільшення кількості зв'язуючих місць на поверхні моноядерних лейкоцитів не залежало від віку хворих, ступеня компенсації захворювання, інсулінемії, вмісту тестостерону та ТЕЗГ у крові.

Зазначені зміни супроводжувались підвищенням або відсутністю змін показників константи дисоціації (K_d) у кожного з хворих із значним підвищенням V_{max} . У той же час у чоловіків із незначним зростанням V_{max} показники K_d були нижчими (в деяких випадках значно нижчими), ніж у контрольній групі.

Отримані результати дають підставу припустити, що зміни в рецепції андрогенів, які спостерігаються у чоловіків, хворих на ЦД-2, не визначаються показниками порушення вуглеводного обміну при цьому захворюванні і не залежать від рівня андрогенної забезпеченості організму, а опосередковуються іншими чинниками, які, мабуть, лежать в патогенетичній основі розвитку цукрового діабету.

Слід зазначити, що у фізіологічних умовах діапазон концентрації рецепторів стероїдних гормонів в клітинах-мішенях може значно перевищувати діапазон концентрації відповідного гормону у циркулюючій крові. Тому на цитоплазматичній поверхні майже завжди є певний надлишок рецепторів. Фізіологічне значення такої ситуації пояснюють необхідністю забезпечення високих швидкостей гормон-рецепторної взаємодії, частковою компенсацією зниження рівня цитоплазматичних рецепторів під час фази транслокації та елімінації рецепторів під час їх робочого циклу. Це попереджує повну ареактивність клітин до нових порцій гормонів [37].

Доведено, що може існувати подвійний контроль регуляції рецепції не тільки гормоном-лігандом, а також іншим гормоном, який також має рецептори на цитоплазматичній мембрані відповідних клітин. Відомо, що інсулін та андрогени проявляють конкурентні взаємовідношення при дії на клітини-мішені. Встановлено, що на моноядерних клітинах крові визначаються два типи рецепторів до інсуліну: I тип – високоафінні з кількістю 645 на клітину та II тип – низькоафінні з кількістю 6750 на клітину. Ступінь зниження концентрації рецепторів залежить від рівня гіперінсулінемії та ожиріння. Так, при гіперінсулінемії 30 мкОд/мл та ожирінні 134 % від нормальної ваги кількість рецепторів зменшується до 2606 [38].

Враховуючи, що у всіх хворих спостерігалось значне зниження відсотка функціонуючих β -клітин, а також те, що виснаження β -клітин спостерігається вторинно, після довготривалої інсулінорезистентності та гіперінсулінемії, можна припустити, що досліджувані хворі “пройшли” стадію підвищення концентрації інсуліну в крові. Така ситуація може спонукати до значного збільшення кількості зв'язуючих місць андрогенів на поверхні мембран для підвищення їх впливу на клітинні біохімічні процеси. Крім того, В.Б.Розен та А.Н.Смирнов зазначали, що “можна думати, що рівень андрогенних рецепторів залежить не стільки від концентрації андрогенів, скільки від активності андрогензалежних ростових процесів в тканинах” [37]. Отже, з'ясування ме-

Таблиця. Показники рецепції тестостерону моноядерними лейкоцитами чоловіків, хворих на цукровий діабет 2 типу (M±m)

Група обстежених	Досліджувані показники											
	Глюкоза, ммоль/л	Інсулін, мкОд/мл	НОМА-IR	FIRI	QUICKI	Індекс Рейнауда	Рецепція		Т, нмоль/л	ТЕЗГ, нмоль/л	ІВТ	% функ. β-клітин
							V _{max}	K _d				
Хворі на ЦД-2 1 група (n=7)	8,4±0,77	7,8±2,32	2,5±0,5	2,3 ±0,47	0,34 ±0,01	8,4±2,5	28266±5745 P=0,003	13,3±5,25 P=0,09	15,9 ±1,2	10,9 ±0,5	1,4 ±0,009	66,±4
2 група (n=7)	7,1±1,12	13,6±5,1	5,7±3,31	5,17 ±2,9	0,33 ±0,02	5,84±2,1	4169,7±651 P=0,02	2,37±0,85 P=0,02	14,3 ±1,1	13,3 ±2,3	1,4 ±0,05	81±21
Контроль (n=8)	4,6±0,19	23,7±4,65	4,7±0,86	4,3 ±0,78	0,3 ±0,007	2,1±0,36	2646 ±111	4,4±0,08	13,1 ±2,5	17,7 ±2,48	0,8 ±0,18	150±12

Примітка: P – вірогідність різниці по відношенню до показників контрольної групи чоловіків.

ханізмів регуляції рецепції андрогенів при цукровому діабеті 2 типу потребує подальшого дослідження.

Висновки

1. У чоловіків, хворих на цукровий діабет 2 типу, з незміненою чутливістю до інсуліну відмічається підвищення кількості зв'язуючих місць (V_{\max}) до тестостерону у порівнянні з контрольною групою досліджуваних.

2. Зафіксоване збільшення V_{\max} не залежить від віку хворих, ступеня компенсації захворювання, інсулінемії, вмісту тестостерону та ТЕЗГ у крові.

3. У хворих на цукровий діабет зі значним підвищенням V_{\max} показники константи дисоціації (K_d) не змінюються. При менш значному зростанні V_{\max} показники K_d були нижчими, ніж у контрольній групі хворих.

Література

1. Jackson R. Mechanism of age-related glucose intolerance // *Diabetes Care*. 1999, 13, 9-19.
2. Paolisso G., Scheen A.S., Lefebvre P.J. Glucose handling, diabetes and aging // *Horm. Res.* 1995, 34, 52-57.
3. Shimokata H., Muller D.C., Fleg J.L. et al. Age as independent determinant of glucose tolerance // *Diabetes*. 1991, 40, 44-51.
4. Ferrannini E., Vichi S., Beck-Nielsen H. et al. Insulin action and age // *Diabetes*. 1996, 54, 947-956.
5. Barrett-Conor E., Khaw K.T. Endogenous sex hormone levels and cardiovascular disease in men: a prospective population based study // *Circulation*. 1988, 78, 539-545.
6. Chang T.C., Tung C.C., Hsiao Y.L. Hormonal changes in elderly men with non-insulin dependent diabetes mellitus and the hormonal relationships to abdominal adiposity // *Gerontology*. 1994, 40, 260-267.
7. Vermeulen A., Kauf J.M., Giagulli V.A. Influence of some biological indexes on sex hormone-binding globulin and androgen levels in aging or obese men // *J. Clin. Endocrin. Metabol.* 1996, 1, 1821-1826.
8. Haffner S.M., Karhapaa P., Mykkanen L., Laakso M. Insulin resistance, body fat distribution and sex hormones in men // *Diabetes*. 1994, 43, 212-219.
9. Seidell J.C., Bjorntorp P., Sjostrom L. et al. Visceral fat accumulation in men is positively associated with insulin, glucose, and C-peptide levels, but negatively with testosterone levels // *Metabolism*. 1990, 39, 897-901.
10. Haffner S.M., Valdez R.A. Stern M.P., Katz M.S. Obesity, body fat distribution and sex hormones in men // *Int. J. Obes.* 1993, 7, 642-649.
11. Khaw K.T., Chir M.B.B., Barrett-Connor E. Lower endogenous androgens predict central adiposity in men // *Ann. Epidemiol.* 1992, 2, 675-682.
12. Haffner S.M. Sex hormone-binding protein, hyperinsulinemia, and insulin resistance and non-insulin dependent diabetes // *Horm. Res.* 1966, 45, 233-237.
13. Tibblin G., Adlerberth A., Lindstedt G., Bjorntorp P. The pituitary-gonadal axis and health in elderly men: study of men born in 1913 // *Diabetes*. 1996, 45, 1605-1609.
14. Simon D., Prexiosi P., Barrett-Connor E. et al. Interrelation between plasma testosterone and plasma insulin in healthy adult men: the Telecom study // *Diabetologia*. 1992, 35, 173-177.
15. Haffner S.M., Shaten J., Stern M.P. et al. Low levels of sex hormone-binding globulin and testosterone predict the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus in men // *Am. J. Epidemiol.* 1996, 43, 889-897.
16. Nestler J.E., Powers L.P., Matt D.W. et al. A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome // *J. Clin. Endocrin. Metabol.* 1991, 72, 83-89.
17. Lichtenstein M.J., Yarnell J.W., Elwood P.C. et al. Sex hormones, insulin, lipids, and prevalent ischemic heart disease // *Am. J. Epidemiol.* 1987, 126, 647-657.
18. Pasquali R., Macor C., Vicennati V. et al. Effects of acute hyperinsulinemia on

- testosterone serum concentrations in adult obese and normal-weight men // *Metabolism*. 1997, 46, 526-527.
19. Marin P. Testosterone and regional fat distribution // *Obese Res*. 1995, 3, 609-621.
 20. Marin P. Hormang S., Jonsson L. et al. The effects of testosterone treatment on body composition and metabolism in middle-aged obese men // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord*. 1992, 16, 991-992.
 21. Bikeland K.L., Hanssen K.F., Torjesen P.A., Vaaler S. Level of sex hormone-binding globulin is positively correlated with insulin sensitivity in men with type 2 diabetes // *J. Clin. Endocrin. Metabol*. 1993, 76, 275-278.
 22. Anderson B., Vermeulen A., Marin P. et al. Testosterone concentrations in women and men with NIDDM // *Diabetes Care*. 1994, 17, 405-411.
 23. Haffner S.M., Khaw K.T., Yen S.S. Endogenous sex hormone levels in older adult men with diabetes mellitus // *Am. J. Epidemiol*. 1990, 32, 895-901.
 24. Haffner S.M., Lower endogenous androgen and dyslipidemia in men with non-insulin-dependent diabetes mellitus // *Ann. Intern. Med*. 1992, 17, 807-811.
 25. Stellato R.E., Feldman H.A., Hamdy O. et al. Testosterone, sex hormone-binding globulin, dependent of type 2 diabetes in middle aged men: prospective results from the Massachusetts male aging study // *Diabetes Care*. 2000, 23, 490-494.
 26. Kaufman M., Pinsky L. The dissociation of testosterone- and 5α -dihydrotestosterone-receptor complexes formed within cultured human genital skin fibroblasts // *J. Steroid. Biochem*. 1983, 18, 121-125.
 27. Pinsky L., Kaufman M., Gil-Esteban C., Sumbulian D. Regulation of the androgen receptor in human genital skin fibroblasts, with a review of sex steroid receptor regulation by homologous and heterologous steroids // *Can. J. Biochem. Cell. Biol*. 1983, 61, 770-778.
 28. Wilbert D.M., Griffin J.E., Wilson J.D. Characterization of the cytosol androgen receptor of the human prostate // *J. Clin. Endocrin. Metabol*. 1983, 56, 113-120.
 29. Winters S.J., Troen P. Evidence for an androgen receptor in the seminiferous tubules of the human testis // *J. Steroid Biochem*. 1984, 31, 315-320.
 30. Kuhnle U., Lindl U. Keller U. et al. Androgen binding sites in peripheral human mononuclear leukocytes of healthy males and females // *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol*. 1994, 48, N 4, 403-408.
 31. Schuurs A.H.W.M., Verheul H.A.M. Effects of gender and sex steroids on the immune response // *J. Steroid Biochem*. 1990, 35, 157-172.
 32. Danel L., Martin P., Escrich E. et al. Androgen, estrogen and progestin binding sites in human leukemic cells // *Int. J. Cancer*. 1981, 27, 733-741.
 33. Kovacs W.J., Olsen N.J. Androgen receptors in human thymocytes // *J. Immun*. 1987, 139, 490-493.
 34. Brown T.R., Spinola-Castro A., Berkovitz G.D., Migeon C.J. Androgen receptor in cultured human testicular fibroblasts // *J. Clin. Endocrin. Metabol*. 1985, 61, 134-141.
 35. Тарасенко Л.В., Чайковська Л.В. Метод визначення вмісту тестостерон-естрадіол-зв'язуючого глобуліну в плазмі крові // *Лабор. діагностика*. 2001, №4, 32-34.
 36. Clark A.F., Marcellus S., deLory B., Bird C.E. Plasma testosterone free index: A better indicator of plasma androgen activity? // *Fertil. Steril*. 1975, 26, 1001.
 37. Розен В.В., Смирнов А.Н. Рецепторы и стероидные гормоны. М.: Из-во Московского Университета, 1981. 307 с.
 38. Dalimunthe D.A. A clinical study on insulin receptors of mononuclear cells in diabetes // *Hiroshima J. Med. Sci*. 1980, 29, 203-218.

Особенности рецепции тестостерона моноядерными лейкоцитами у мужчин, больных сахарным диабетом 2 типа, с нормальной чувствительностью к инсулину
О.В. Корпачёва-Зинич, Т.И. Корпачёва
Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АМН Украины,
04114 Киев, Украина

У мужчин, больных сахарным диабетом 2 типа, с неизменной чувствительностью к инсулину отмечено повышение количества связывающих мест (B_{max}) к тестостерону на поверхности моноядерных лейкоцитов. Выделено две группы больных: с "незначительным" (в несколько раз) и "значительным" (в десятки раз) повышением B_{max} в сравнении с контрольной группой. Зафиксированные изменения не зависели от возраста больных, степени компенсации заболевания, инсулинемии, содержания тестостерона и тестостерон-эстрадиол-связывающего глобулина в крови. "Незначительное" повышение сопровождалось уменьшением показателей константы диссоциации (K_d). При более высоких значениях B_{max} показатели K_d несколько увеличивались или не отличались от значений контрольной группы. Учитывая то, что инсулин и андрогены проявляют конкурентные взаимоотношения при действии на клетки-мишени, можно предположить, что увеличение количества связывающих мест к тестостерону на поверхности моноядерных лейкоцитов может быть обусловлено развитием длительной резистентности к инсулину со смещением этих конкурентных взаимоотношений в сторону связывания тестостерона.
Ключевые слова: рецепторы андрогенов, сахарный диабет 2 типа, инсулинорезистентность, тестостерон, моноядерные лейкоциты, индекс свободного тестостерона, тестостерон-эстрадиол-связывающий глобулин.

Reception of testosterone in mononuclear leucocytes of male type 2 diabetic patients with normal insulin sensitivity

O.V. Korpacheva-Zinich, T.I. Korpacheva

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

The objective of this study was to investigate the reception of testosterone in men with type 2 diabetes mellitus. It was established that the quantity of binding sites (B_{max}) for testosterone on the surface of mononuclear leucocytes was increased. Two groups of patients were identified: one with a "moderate" (several times) and another with a "significant" (ten-fold) increase in comparison with control group of healthy men. A "moderate" increase of B_{max} was accompanied by decreased values of constant of dissociation (K_d). Higher B_{max} values corresponded to slightly higher K_d though the latter were actually the same as in control group. The obtained results did not depend on age, degree of compensation of the disease, insulinemia, level of testosterone and sex hormone-binding globulin. It is known there exist competitive relations between insulin and androgens for substrates in target organs. Therefore, we may hypothesize that the increasing quantity of binding sites on the surface of mononuclear leucocytes might be conditioned by development of long-term insulin resistance and a shift of these competitive relation towards the increased testosterone binding.

Key words: androgen receptors, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, mononuclear leucocytes, sex hormone-binding globulin, index of free testosterone.

(Надійшла 22.09.2004)

ДОСЛІДЖЕННЯ РАНОЗАГОЮВАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ НОВОГО ІНСУЛІН-ВМІСНОГО БУККАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ

П.Л.Старокадомський*, В.А.Кордюм

ВНДК "Фарм Біотек", 03143 Київ, Україна

У рамках доклінічних досліджень нового інсулін-вмісного буккального препарату для хворих на цукровий діабет було досліджено ранозагоювальну дію препарату на слизові оболонки порожнини рота щурів зі стрептозотоциновим діабетом. Результати досліджень показали, що наш препарат прискорює в 2-2,5 рази процеси загоєння травм слизової оболонки рота у тварин з діабетом. В той же час, у недіабетичних щурів прискорення процесів загоєння не спостерігалось, що дозволяє віднести розроблений препарат до групи нормалізаторів метаболізму, а не стимуляторів загоєння. Отримані результати дають підставу припустити, що у тварин з цукровим діабетом препарат прискорює процеси загоєння ран за рахунок проникнення інсуліну з композиції у тканини слизової оболонки порожнини рота.

Ключові слова: інсулін, діабет 1 типу, травматичний стоматит, слизова оболонка порожнини рота.

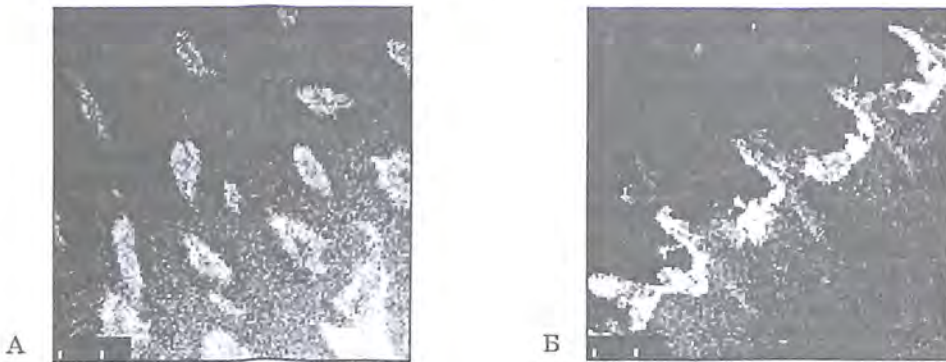
При інсулінзалежному цукровому діабеті (1 типу) виникають різноманітні порушення метаболізму, прямо чи опосередковано пов'язані з недостатньою секрецією інсуліну підшлунковою залозою. До основних проявів діабету в порожнині рота можна віднести патологію пародонту, ксеростомію, стоматит, глосит. Також відзначають зменшення загальної маси кісткових тканин пародонту, зменшення пулу остеобластів [1], порушення капілярного кровообігу у кістках та слизових оболонках [2]. Рани та пошкодження (наприклад травматичний стоматит) слизової оболонки порожнини рота (СОПР) у хворих на діабет 1 типу заживають дуже повільно і болісно. Крім того, ушкодження слизової оболонки відкриває шлях для хвороботворних мікроорганізмів, які в нормі затримуються на поверхні СОПР. Більшість ліків, які застосовуються для лікування або профілактики хвороб порожнини рота (Клотримазол, Лістерін, Імудон тощо), базуються на використанні низькомолекулярних діючих речовин. Це пояснюється тим, що низькомолекулярні сполуки легко всмоктуються у ефективних кількостях слизовою порожнини рота [3].

При цукровому діабеті внаслідок порушень метаболізму у порожнині рота виникає цілий спектр захворювань, комплексне лікування яких забирає багато часу та сил. У літературі зустрічаються дані про те, що порушення метаболізму у тканинах ротової порожнини можливо корегувати локальним уведенням інсуліну [1, 2]. Але всмоктування у СОПР високомолекулярних речовин, таких як інсулін, відбувається у мізерних кількостях [3]. За даними літератури, сухі препарати інсуліну не здатні подолати слизовий бар'єр порожнини рота. У розчиненому стані більша частина інсуліну затримується шаром слизу та ковтається, і лише незначна його частка проникає у слизову оболонку. Всмоктування інсуліну у порожнині рота можна підсилити додаванням стимуляторів всмоктування [4-12]. Тому тепер основні дослідження спрямовані на підбір оптимальних стимуляторів всмоктування, які б дозволили ефективно використовувати буккальний шлях уведення інсуліну. Так, А. al-Achi та співавт. показали, що інсулін

* Адреса для листування (Correspondence): Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, вул.Заболотного, 150, 03143 Київ, Україна; E-mail: pedro77@ukr.net

здатний всмоктуватись через СОПР щурів у кров, але у недостатніх для терапевтичних цілей кількостях [6]. С.К.Оh та співавт. вивчали вплив рН, дози інсуліну та різноманітних стимуляторів всмоктування на величину гіпоглікемічної відповіді у діабетичних кролів. Вони дослідили ефективність таких стимуляторів, як таурохолат Na, лаурилсульфат Na, дезоксихолат Na, декстраносульфат Na та ін. Максимальна проникність інсуліну людини при аплікаціях на внутрішню поверхню щоки досягала 12 % порівняно з ін'єкційною дозою [7, 8]. W.A.Ritschel та співавт. також використовували аплікації для дослідження проникності інсуліну людини через слизову оболонку щоки собак [9]. Використовуючи той самий набір стимуляторів всмоктування, що і С.К.Оh, вони отримали схожі результати – у крові було виявлено 15-16 % від уведеного інсуліну.

Починаючи з 2000 року появились спроби увести буккально інсулін на ліпідних носіях. Так, P.Venugopalan та співавт. відзначили значний гіпоглікемічний ефект у крові тварин через 7 год. після уведення інсуліну, інкапсульованого у ліпідні капсули [10]. Найсерйознішого результату вдалося досягти Y.Tian-Zhi та співавт [11]. Як носій для гормону були використані лецитин-пропандіолові ліпосоми. Гіпоглікемічний ефект композиції спостерігався протягом 4-5 годин після нанесення. Максимальний ефект композиції сягав 18-22 % у порівнянні з ін'єкційною дозою. Схожі результати отримали H.Xu та співавт [12]. Максимальний ефект композиції сягав 29,2 % від ін'єкційної дози. За допомогою електронної скануючої мікроскопії дослідники показали проникнення інсуліну, міченого ізоціанатом флуоресцеїну (ФІТЦ-інсулін), вглиб тканин СОПР (мал. 1). Мал. 1.А ілюструє розподіл міченого інсуліну, уведеного без стимуляторів всмоктування. Флуоресцентні мітки ФІТЦ-інсуліну виявляються тільки на поверхні слизової оболонки (0-0,5 мкм). При уведенні інсуліну разом із стимуляторами всмоктування (мал. 1.Б) флуоресценція ФІТЦ-інсуліну спостерігається і у глибших шарах слизової оболонки (0,5-1,0 мкм), що свідчить про його проникнення.



Мал. 1. Фотографії проникності ФІТЦ-міченого інсуліну у слизову оболонку порожнини рота, отримані за допомогою конфокальної лазерної скануючої мікроскопії, без (А) та із стимуляторами всмоктування (Б). Фотографії люб'язно надані Y.Zhu [12].

Незважаючи на перелічені досягнення, на сьогодні буккальне уведення інсуліну за ефективністю не може конкурувати з ін'єкційним способом. Однак для локального використання, наприклад у стоматології, буккальний шлях уведення інсуліну є оптимальним. Тому актуальною є задача розробити ефективний носій для інсуліну, який би стимулював всмоктування гормону у порожнині рота. Авторами розроблений інсулін-вмісний буккальний препарат, терапевтичний ефект якого полягає у нормалізуючому впливі на метаболічні процеси у тканинах порожнини рота хворих на діабет 1 типу. Метою даної роботи є дослідження ранозагоювальної дії препарату на моделі травматичного стоматиту у щурів зі стрептозотоциновим діабетом.

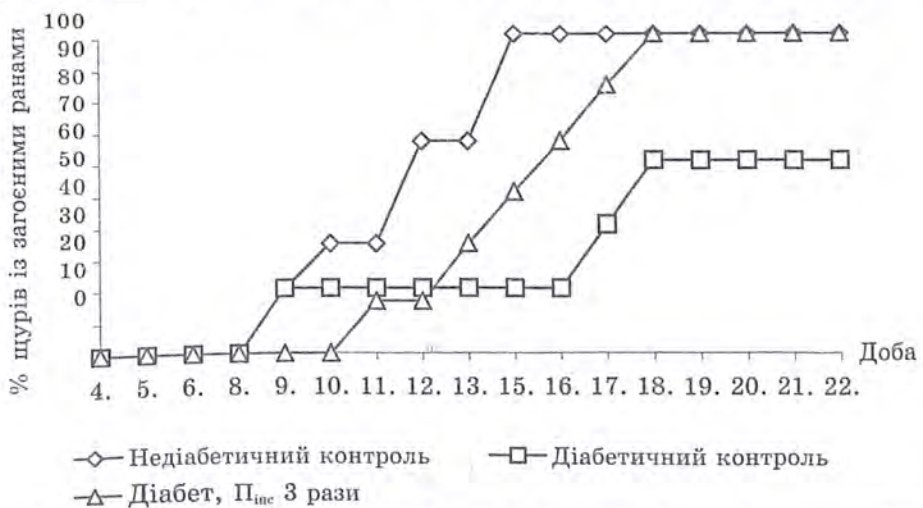
Матеріали і методи дослідження

Авторами був розроблений та запатентований препарат, який ми умовно позначили „Препарат інс” („ $\Pi_{\text{інс}}$ ”) [13]. „ $\Pi_{\text{інс}}$ ” являє собою багатокомпонентну композицію. Діюча речовина препарату – інсулін людини (виробництва ЗАТ „Індар”). До складу композиції також входить розроблений нами комплекс стимуляторів всмоктування, які підсилюють транспорт інсуліну вглиб тканин.

Ранозаговальну активність досліджували на моделях травматичного стоматиту у здорових щурів та щурів зі стрептозотоциновим діабетом, відповідно до методик, прийнятих Державним Фармакологічним центром МОЗ України для проведення експериментів з вивчення препаратів для лікування захворювань слизової оболонки порожнини рота [14]. Експеримент був проведений на 63 білих щурах-самцях 2-місячного віку лінії Вістар розведення Інституту стоматології АМН України, по 6-8 тварин в кожній групі. Діабет моделювали стрептозотоцином („Sigma”), який вводили парентерально з розрахунку 60 мг/кг за методикою, наведеною у роботі [15]. Через 10 днів недіабетичним та діабетичним тваринам під ефірним наркозом за допомогою очного трепанга наносили дозовану травму слизової оболонки щоки, моделюючи травматичний стоматит. Приблизна площа утвореної рани – 7 мм². Концентрація глюкози, визначена за допомогою глюкозооксидазного методу, у крові контрольних тварин на початку експерименту складала 4,1±0,6 ммоль/л, у контрольних діабетичних тварин – 16±3,2 ммоль/л, у діабетичних тварин, на яких випробували препарат – 18±5,1 ммоль/л. Порожнину рота тварин обробляли „ $\Pi_{\text{інс}}$ ” 2 та 3 рази на добу. Разова доза інсуліну (2 МОд/тварину, 12-20 МОд/кг) наносилась на слизову поверхню за допомогою лабораторного дозатора („Labbipette”). Експеримент тривав 22 дні. Вплив досліджуваного препарату оцінювали щодня, починаючи з 4 дня після нанесення травми. Стан рани визначали візуально, виділяючи три стадії загоєння: виразка (поверхня рани вкрита фібриновою кіркою), епітелізація (поява на краях рани молодшої грануляційної тканини) та загоєння (повне відновлення слизової поверхні). Результати досліджень опрацьовували статистичними методами [16].

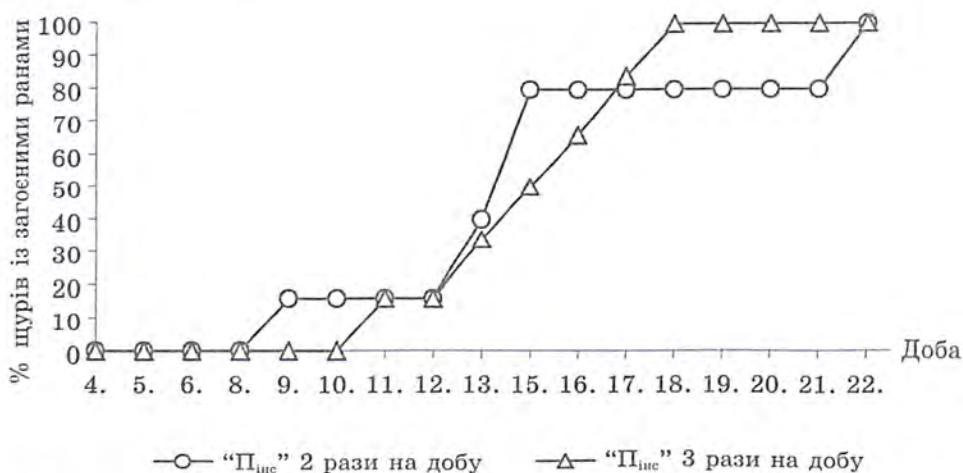
Результати

Динаміка загоєння ран в окремих групах представлена на мал. 2-4. Ми прийняли час, за який відбулося 100 % загоєння ран у контрольній недіабетичній групі, за стандартний період, з яким порівнювали ефективність процесів загоєння в інших групах (мал. 2). За час експерименту у контрольній діабетичній групі загоєння відбулося не у всіх тварин і майже у половини з них рани стали хронічними (мал. 2). Динаміка загоєння у діабетичних щурів, яких обробляли „ $\Pi_{\text{інс}}$ ”, позитивно відрізняється від динаміки загоєння, характерної для контрольних діабетичних тварин (мал. 2). Відзначена пряма залежність лікувального ефекту „ $\Pi_{\text{інс}}$ ” від величини уведеної дози. Так, у діабетичних щурів, яких

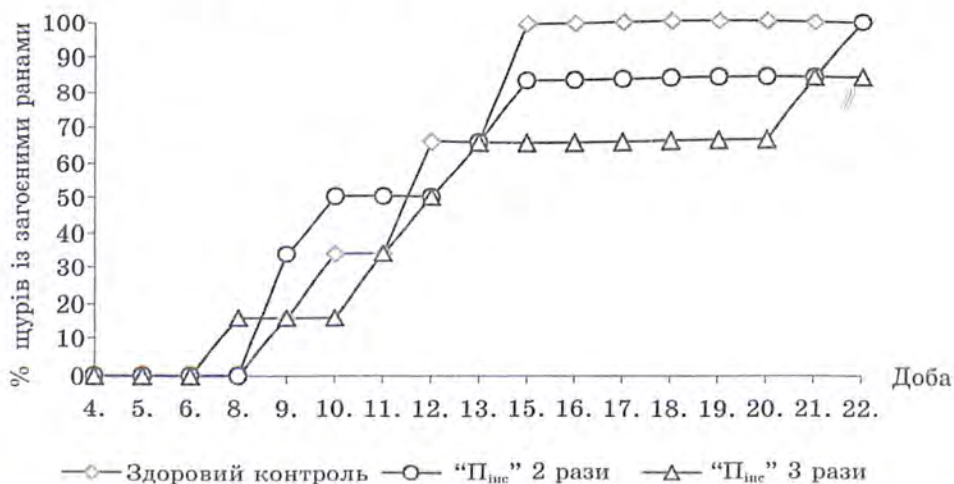


Мал. 2. Порівняння динаміки епітелізації і загоєння травм слизових оболонок порожнини рота у здорових і діабетичних контрольних щурів та в діабетичних щурів, рани яких обробляли „ $\Pi_{\text{інс}}$ ” 3 рази на добу.

обробляли „П_{инс}” 2 рази на добу, 100 % загоєння відбулось пізніше порівняно з групою, яку обробляли тричі на добу (мал. 3). Цікаво, що „П_{инс}” погіршує процеси загоєння у тварин без діабету (мал. 4). При чому тут ми спостерігали обернену залежність лікувального ефекту „П_{инс}” від величини уведеної дози – чим частіше недіабетичним щурам вводили препарат, тим повільніше проходили процеси загоєння. Так, на 15-ту добу експерименту, коли в контрольній групі було відзначено загоєння ран у 100 % тварин, у недіабетичних щурів, яких обробляли „П_{инс}” 2 та 3 рази на добу, загоєння відбулось лише у 84 % і 66 %, відповідно (мал. 4).



Мал. 3. Залежність швидкості загоєння травм на слизових оболонках порожнини рота від добової дози „П_{инс}” у щурів зі стрептозотоциновим діабетом.



Мал. 4. Залежність швидкості загоєння травм на слизових оболонках порожнини рота від добової дози „П_{инс}” у здорових щурів.

Обговорення

Той факт, що майже у половини контрольних діабетичних тварин рани слизової стали хронічними, свідчить про те, що дефіцит інсуліну викликає серйозні порушення у тканинах слизової оболонки рота. Зокрема, при нестачі інсуліну порушується тривалість клітинного циклу клітин епітелію слизової

оболонки, що призводить до подовження строку регенерації тканини, а отже і до затримки процесів загоєння. Відомо, що розвиток діабету 1 типу спричиняє збільшення тривалості наступних фаз мітозу: S-фази – на 6 %, G1-фази – на 12 %, і клітинного циклу в цілому – на 10 % порівняно з контролем; на перебіг G2- та M-фаз нестача інсуліну не впливає, і їх тривалість не відрізняється від контролю [17]. На цьому тлі позитивний вплив „П_{інс}” на процеси загоєння ран у діабетичних тварин свідчить про те, що препарат ефективно нормалізує проліферативні процеси у тканинах слизової рота. Слід зазначити, що динаміка загоєння у недіабетичних контрольних та діабетичних щурів, яких обробляли „П_{інс}”, якісно подібні. Загоєння у контрольній недіабетичній групі починалось після епітелізаційного періоду (8 діб) і продовжувалось 7 діб. Аналогічно проходить загоєння у діабетичних щурів, яких обробляли „П_{інс}” тричі на добу – після 10 діб епітелізаційного періоду загоєння проходило за 8 діб (мал. 2). Затримка епітелізаційного періоду у діабетичних щурів можливо пов'язана з тим, що потрібен певний час для накопичення інсуліну у тканинах слизової у кількостях, здатних викликати біологічну відповідь. Крім того, відсутність позитивного впливу „П_{інс}” на процеси загоєння у недіабетичних тварин свідчить про те, що препарат не є стимулятором загоєння. Вибіркова позитивна дія препарату лише на діабетичних тварин означає, що введення екзогенного інсуліну локально нормалізує процеси метаболізму, порушені при діабеті 1 типу внаслідок нестачі ендogenousного інсуліну.

На сьогодні невідомо, чому при уведенні „П_{інс}” здоровим тваринам не тільки відсутній позитивний вплив на процеси загоєння, а навіть сповільнюється швидкість загоєння пропорційно збільшенню дози уведеного препарату. Можливо, що деякі компоненти „П_{інс}”, в тому числі і надлишок екзогенного інсуліну, порушують метаболічну рівновагу у здорових тканинах. Для більш детального з'ясування механізму дії композиції на метаболізм здорових тканин нами буде проведена додаткова серія експериментів.

Висновки

1. Показана можливість використання „Препарату інс” для локальної терапії стоматологічних захворювань, викликаних розвитком діабету 1 типу. Отримані дані дозволяють припустити, що при застосуванні „Препарату інс” інсулін всмоктується і накопичується у слизовій порожнині рота у кількостях, достатніх для місцевої нормалізації процесів метаболізму, порушених внаслідок розвитку діабету 1 типу.

2. Показано, що „Препарат інс” прискорює процеси загоєння травм слизової оболонки порожнини рота у щурів зі стрептозотоциновим діабетом до рівня здорових тварин.

3. Відсутність позитивного впливу „Препарату інс” на процеси загоєння у недіабетичних тварин свідчить, що препарат не стимулює загоєння, а нормалізує у тканинах слизової оболонки рота проліферативні процеси, порушені при діабеті 1 типу. Це важливо, оскільки стимулюючі засоби при тривалому застосуванні можуть викликати функціональні виснаження окремих метаболічних ланок.

Подяка. Автори висловлюють подяку спеціалістам відділу гігієни Інституту стоматології АМН України, зокрема Терешиній Т.Г., Мозговій Н.В., Близнюк А.А., Скибі О.І., за допомогу у проведенні дослідів.

Література

1. Mishima N., Sahara N., Shirakawa M., Ozawa H. Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on alveolar bone deposition in the rat // Arch. Oral. Biol. 2002, 47, 843-849.
2. Shyng Y.C., Devlin H., Sloan P. The effect of streptozotocin-induced experimental

- diabetes mellitus on calvarial defect healing and bone turnover in the rat // *Int. J. Oral. Maxill. Surg.* 2001, 30, 70-74.
3. Старокадомский П.Л., Скиба О.И. Проницаемость слизистой оболочки полости рта для некоторых неорганических и органических молекул // *Вісник стомат.* 2003, № 3, 2-9.
 4. Марченко А.И. Исследование физиологических механизмов всасывания слизистой оболочкой полости рта и языка: Автореф. дис. д-ра мед. наук. Одесса, 1966. 27 с.
 5. Марченко А.И., Радченко В.С. Проницаемость здоровой и воспаленной слизистой оболочки рта для разных индикаторов // *Проблемы гистогематических барьеров: II совещ.* М., 1965, 84-88.
 6. al-Achi A., Greenwood R. Buccal administration of human insulin in streptozotocin-diabetic rats // *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1993, 82, N 3, 297-306.
 7. Oh C., Ritschel W. Biopharmaceutic aspects of buccal absorption of insulin // *Meth. Find. Exp. Clin. Pharm.* 1990, 12, N 3, 205-212.
 8. Oh C., Ritschel W. Absorption characteristics of insulin through the buccal mucosa // *Meth. Find. Exp. Clin. Pharm.* 1990, 12, N 4, 275-279.
 9. Ritschel W.A., Ritschel G.B., Forusz H., Kraeling M. Buccal absorption of insulin in the dog // *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1989, 63, N 1, 53 - 67.
 10. Venugopalan P., Sapre A., Venkatesan N., Vyas S.P. Pelleted bioadhesive polymeric nanoparticles for buccal delivery of insulin: preparation and characterization // *Pharmazie.* 2001, 56, N 3, 217-219.
 11. Tian-Zhi Y., Xiang-Tao W., Xue-Ying Y., Qiang Z. Phospholipid deformable vesicles for buccal delivery of insulin // *Chem. Pharm. Bull.* 2002, 50, N 6, 749—753.
 12. Xu H., Huang K., Zhu Y. et al. Hypoglycaemic effect of a novel insulin buccal formulation on rabbits // *Pharm. Res.* 2002, 46, N 5, 459-467.
 13. Деклараційний патент № 60703 А, МПК: А 61 К 9/68. Україна. Жувальний носій для лікарського засобу / Кордюм В.А., Старокадомський П.Л., Возіанов А.Ф. (Україна). Заявка № 2003020995; Опубл. 15.10.2003, Бюл. № 10. 3 с.
 14. Доклінічне вивчення засобів для лікування та профілактики захворювань слизової оболонки порожнини рота: Метод. рекомендації. Укладачі: В.Я.Скиба, К.М.Косенко, А.П.Левицький та ін. К.: Держ. Фарм. центр МОЗ України, 2002. 23 с.
 15. Титок Т.Г., Евсеенко А.А., Аджамиян Ф., Кордюм В.А.. Модели сахарного диабета, их выбор и использование в экспериментальных исследованиях // *Биоп. и клетка.* 1999, 15, № 2, 103-108.
 16. Монцевичуте-Эрингене Е.В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе // *Пат. физиол. эксперим. терапия.* 1964, № 4, 71-78.
 17. Hamilton A.I, Blackwood H.J. Insulin deficiency and cell proliferation in oral mucosal epithelium of the rat // *J. Anat.* 1977, 124, N 3, 757-763.

Исследование ранозаживляющего действия нового инсулин-содержащего буккального препарата

П.Л.Старокадомский, В.А.Кордюм
ПНИК "Фарм Биотек", 03143 Киев, Украина

В рамках доклинических испытаний нового инсулин-содержащего буккального препарата проведено исследование ранозаживляющего действия препарата на слизистую оболочку полости рта крыс со стрептозотоциновым диабетом. Результаты исследований показали, что препарат ускоряет в 2-2,5 раза процессы заживления травм слизистой полости рта у животных со стрептозотоциновым диабетом. В то же время у недиабетических животных эффект от препарата отсутствовал, что позволяет отнести разработанный препарат к нормализаторам метаболизма, а не стимуляторам заживления. Полученные данные разрешают допустить, что препарат ускоряет заживление ран слизистой оболочки полости рта за счет проникновения инсулина из композиции внутрь тканей слизистой оболочки.

Ключевые слова: инсулин, диабет 1 типа, травматический стоматит, слизистая оболочка полости рта, буккальное введение.

Investigation of wound-healing activity of new insulin-containing buccal preparation

P. L. Starokadomskij, V.A. Kordium
SPC "Pharm Biotek", 03143 Kyiv, Ukraine

A new insulin-containing buccal drug has been developed and tested. The purpose of pre-clinical study was to investigate the influence of our preparation on healing of wounds of the tunica mucosa of mouth in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. The data obtained showed 2-2,5 times acceleration of wound repair in oral cavity in diabetic rats. At the same time there was no effect in diabetic animals that allows referring the preparation to metabolism normalizers but not to healing stimulators. The data obtained suggests that the preparation promotes wound repair in the tunica mucosa of mouth due to insulin transfer from the composition into the mucous membrane.

Key words: insulin, diabetes mellitus, stomatitis, tunica mucosa of mouth, buccal administration.

(Надійшла 23.06.2004)

ЗМІНИ ТОЛЕРАНТНОСТІ ДО ГЛЮКОЗИ У ТВАРИН ПРИ ДОВГОСТРОКОВОМУ АЛІМЕНТАРНОМУ НАДХОДЖЕННІ РАДІОНУКЛІДІВ ТА ЗОВНІШНЬОМУ ОПРОМІНЮВАННІ У МАЛИХ ДОЗАХ

Н.О.Карпенко¹, М.Ю.Алесіна², В.В.Деревиць²

¹Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я Данилевського АМН України, 61002 Харків;

²Державне спеціалізоване науково-виробниче підприємство "Екоцентр" МНС України, 07270 Чорнобиль Київської області, Україна

За умов натурального експерименту при хронічному комбінованому (внутрішньому та зовнішньому) опромінюванні у малих дозах досліджено толерантність до глюкози та розвиток її порушень у тварин в залежності від рівня та терміну радіаційного навантаження. Проведені у динаміці спостереження свідчать, що при формуванні поглиненої дози 1,7 сГр за рік порушення толерантності до глюкози у щурів відсутні. Поступове зростання величини поглиненої дози з 5 до 50 сГр супроводжується змінами толерантності (зростання рівня глюкози натще, сплющення цукрової кривої), що прогресують з подовженням терміну опромінювання до 12 міс (зростання сумарної глікемії, гальмування повернення рівня глюкози до вихідних значень). Дані свідчать про дозозалежне формування зворотних та патологічних радіобіологічних ефектів в ендокринній системі за умов постійної дії низькоінтенсивної іонізуючої радіації та доповнюють картину розвитку радіаційного "дезадаптозу".

Ключові слова: внутрішнє та зовнішнє опромінювання, малі дози, толерантність до глюкози, щури.

Ендокринопатії у постраждалих внаслідок аварії на ЧАЕС посідають четверте місце після новоутворень, хвороб кровообігу та нервової системи.

Широкомасштабні обстеження вказують на збільшення з часом серед ліквідаторів аварії частки хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу [1], який займає друге місце серед інших причин інвалідності [2].

Відомі спостереження, що свідчать про взаємозв'язок між іонізуючим випромінюванням (ІВ) та порушеннями вуглеводного обміну. Так, у дорослих, які зазнали у дитинстві абдомінальної радіотерапії з приводу пухлин, відмічається інтолерантність до глюкози [3], а віддаленими наслідками використання радіоїоду для колишніх пацієнтів вважають зростання (у порівнянні зі всією популяцією) частоти неопластичних змін щитоподібної залози (у 6 разів) та частоти ЦД (у 2 рази) [4]. Треба відмітити нечисленність даних щодо хронічного впливу низькоінтенсивного внутрішнього і зовнішнього опромінення на інсулярний апарат та важливість експериментальних досліджень цього питання через труднощі виявлення перших ознак порушення вуглеводного обміну і встановлення залежності від рівня та терміну радіаційного навантаження у клінічній практиці. Але ж відомо, що у овець, що знаходились на забруднених радіонуклідами (РН) територіях, був низький рівень інсуліну, а у їх потомства відмічена низька функціональна активність β-інсулярного апарата підшлункової залози [5]. На лабораторних щурах була показана залежність вмісту інсуліну від інтенсивності зовнішнього опромінювання [6]. У той же час у собак

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

при хронічному введенні радіостронцію у малих дозах функціональні тести з інсуліном та навантаженням глюкозою не виявили неповноцінності найважливішого регулятора обміну вуглеводів [7]. Розбіжність результатів, що характеризують стан вуглеводного гомеостазу в динаміці за умов накопичення в організмі основних дозоутворюючих РН (^{137}Cs та ^{90}Sr), недостатнє висвітлення цього питання та його актуальність зумовили ціль роботи, а саме – вивчення толерантності до глюкози у тварин за умов натурального експерименту (м. Чорнобиль) при хронічному комбінованому (внутрішньому та зовнішньому) опромінюванні у малих дозах.

Матеріали та методи

Експеримент виконаний на 90 самцях щурів популяції Вістар у віці 3-3,5 міс та масою 180-220 г на початку досліду. Тварини були розподілені на 3 піддослідні (з умовними позначками Dmax, Dmid, Dmin) і контрольну групи. Гамма-тло у клітках впродовж досліду становило 40-60 мкР/год. Внутрішня компонента опромінення моделювалась за допомогою питної води, взятої з 4-го блоку ЧАЕС і розведеної до певної концентрації РН, та забруднених РН кормів (зерно, м'ясо й риба), отриманих у 30-кілометровій зоні відчуження. Контрольна група знаходилась в Інституті ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України (м. Київ) і одержувала "чисті" корми і воду, а гамма-тло у віварії становило 12-18 мкР/год.

Щурів опромінювали протягом року. Толерантність до глюкози оцінювали за базальним рівнем глюкози в периферичній крові тварин та його змінами після цукрового навантаження на початку (1,5 міс) та наприкінці (12 міс) радіаційного впливу. В оральному тесті толерантності до глюкози (ТТГ) використовували 4 г глюкози на 1 кг маси тіла [8]. Визначення концентрації глюкози проводили натще та через 30, 60 та 120 хв після цукрового навантаження у крові з хвоста щурів глюкозооксидазним методом за допомогою аналізатора "Екзан-Г" (Литва).

Розрахунок сумарної поглиненої дози (ПД) на все тіло тварин проводили з урахуванням доз, сформованих від зовнішнього та внутрішнього опромінювання (табл.). До уваги брали вміст $^{134}\text{Cs}+^{137}\text{Cs}$ та $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$, оскільки кількість трансуранових елементів у раціоні і тканинах щурів перебувала за межами чутливості приладів. Величину, розраховану на підставі фактичного надходження ізотопів з раціоном, корегували з урахуванням даних прямого вимірювання вмісту РН в органах та тканинах. Гамма-спектрометричний аналіз проб виконувався на базі напівпровідникового детектора ДГДК-140В зі спектрометричною лінійкою фірми "Nokia".

Результати виражали як середнє арифметичне (М) та його похибку ($\pm m$). Статистичну оцінку значущості відмінностей даних контрольної та піддослідних груп проводили з огляду на характер розподілу даних у вибірках методом множинних порівнянь Шеффе [9].

Результати та їх обговорення

Встановлено, що у щурів контрольної групи віком 4,5-5 міс (через 1,5 міс після початку досліду) концентрація глюкози в крові натще дорівнювала $3,68 \pm 0,23$ ммоль/л, а у тварин віком 15-15,5 міс (через 12 міс) – $3,52 \pm 0,09$ ммоль/л, тобто ці величини були достатньо стабільними (див. табл.).

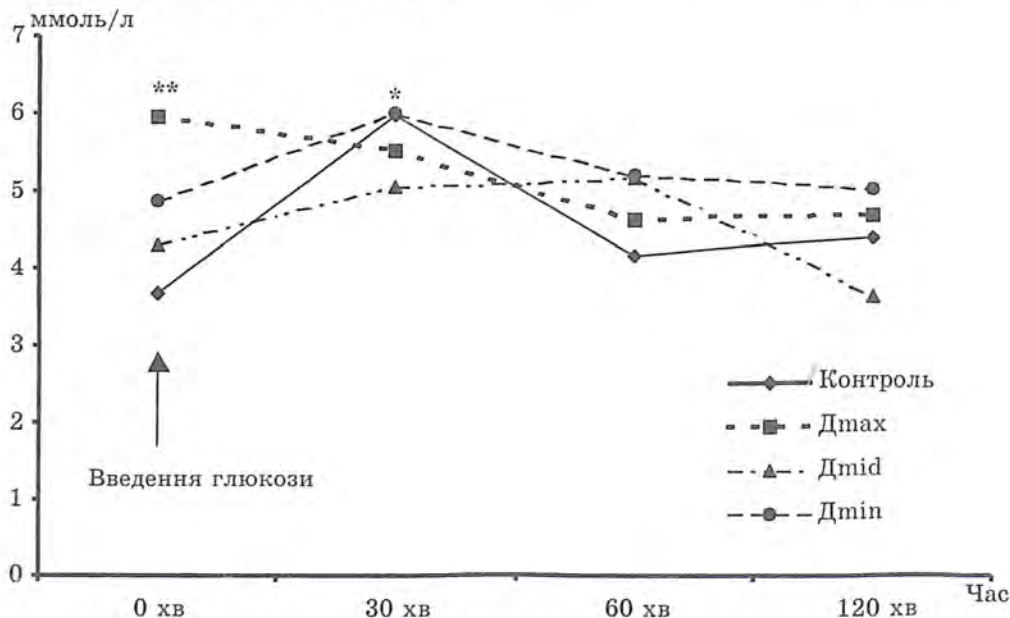
Таблиця. Сумарні поглинені дози (сГр) та базальний рівень глюкози крові (ммоль/л) у опроміненних щурів у різні строки досліду (n= 6-7)

Група тварин	Термін дослідження			
	1,5 міс		12 міс	
	Поглинені дози, сГр	Глюкоза, ммоль/л	Поглинені дози, сГр	Глюкоза, ммоль/л
Контроль	< 0,2	3,68±0,28	< 0,2	3,52±0,09
Dmax	7,3	5,93±0,62*	50,8	3,92±0,26
Dmid	0,7	4,30±0,41	5,1	4,29±0,26
Dmin	0,2	4,87±0,18	1,7	4,51±0,21

Примітка. * – вірогідні відмінності від відповідної вікової контрольної групи (P<0,05).

У опромінених тварин суттєві зміни базального рівня глюкози відбувалися лише на початку опромінювання. Так, через 1,5 міс в усіх групах її вміст у крові збільшувався, але статистичної вірогідності це зростання набувало лише при максимальному рівні радіаційного навантаження (на 61 %, група Дmax). За умов довготривалого затруєння щурів зміни базального рівня глюкози нівелювалися. Ймовірно, причиною зростання глікемії натще було зменшення рівня інсуліну. Це, поряд з гіперглікемією в крові щурів, спостерігали при одночасному надходженні малих кількостей ^{137}Cs (373 Бк/кг) та ^{90}Sr (29 Бк/кг) протягом місяця [10]. Дослідження вмісту інсуліну в крові у щурів, які одержували радіоцезій (600 Бк/добу) протягом 18 міс, свідчать про хвилеподібний характер процесу [11]. Можна припустити, що саме це пояснює дані про підвищення частоти виникнення порушень толерантності до глюкози у ліквідаторів аварії на ЧАЕС з часом [12], а сама динаміка процесу потребує подальших спостережень.

Для виявлення прихованих порушень вуглеводного обміну у щурів усіх груп проводили ТТГ. У контрольних тварин форма цукрової кривої через 1,5 міс експерименту мала типовий вигляд: через 30 хв після введення глюкози спостерігалося підвищення рівня глюкози приблизно на 62 % ($P < 0,05$), котре вже через 1 год зникало, а через 2 год вміст глюкози дорівнював вихідному або був навіть меншим за нього (мал. 1).



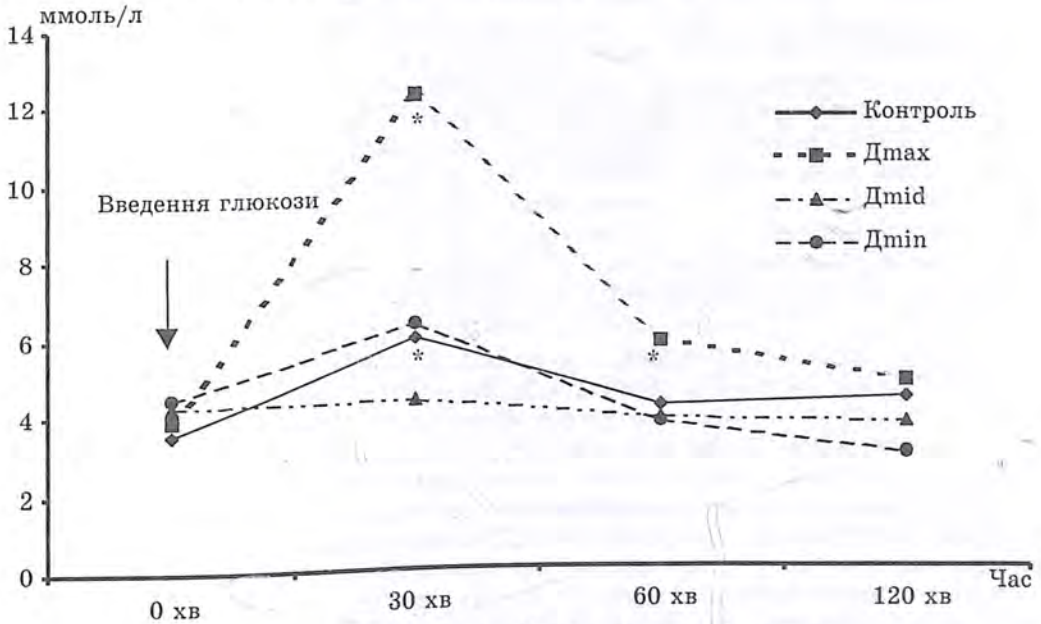
Мал. 1. Цукрові криві щурів контрольної та піддослідних груп після 1,5 міс опромінювання. Зірочками відмічені статистично вірогідні ($P < 0,05$) відмінності від контрольних показників у певний термін дослідження.

У щурів, що піддавались 1,5-міс опромінюванню, характер кривих дещо відрізнявся від контрольного. При найпотужнішому опромінюванні (група Дmax, ПД 7,3 сГр), вихідний рівень глюкози був вірогідно вищим за контрольний ($P < 0,05$), через 30 хв після введення глюкози помітного зростання її вмісту у крові не відбувалося, а через 60 та 120 хв ця величина також статистично не відрізнялася від вихідної, тобто крива була сплюснена. У групі Дmid (ПД 0,7 сГр) пік глікемії також був невиразним ($5,07 \pm 0,10$ проти $4,30 \pm 0,41$ ммоль/л натще), подовжувався до 60-ї хв ($5,14 \pm 0,30$), а через дві години вміст глюкози у крові повертався до вихідного. Велика дисперсія вибірок показників у

щурів груп Dmax та Dmid свідчить про різноманітність індивідуальних реакцій щурів цих груп на цукрове навантаження, а плоский вигляд цукрових кривих вказує на появу порушень толерантності до глюкози [8] за таких умов опромінювання.

У щурів, що одержували мінімальне за потужністю опромінювання (група Dmin), концентрація глюкози натще також була дещо вищою, ніж в інтактних тварин, але ця різниця не була статистично вірогідною. Пік глікемії на 30-й хв був не такий виразний, як у контрольних тварин (підвищення на 23 %), і зникав вже через годину після цукрового навантаження.

У інтактних тварин віком 15-15,5 міс (через 12 міс досліду) цукрова крива збігалася з тією, що спостерігали на початку дослідження: через 30 хв – підвищення вмісту глюкози у крові на 54 % ($P < 0,05$) та повернення до вихідного значення через годину після початку тесту (мал. 2) .



Мал. 2. Цукрова крива у тварин після 12 місяців опромінювання.

У самців, які протягом року одержали найбільшу дозу опромінення (ПД 50 сГр), зберігалися та посилювалися порушення толерантності до глюкози. Так, через 30 хв після цукрового навантаження відмічався виразний пік глікемії (зростання на 214 %, $P < 0,05$). Крім того, через годину рівень глюкози не повертався до базального і залишався вірогідно вищим за нього до кінця досліду (збільшення сумарної глікемії до $26,8 \pm 1,8$ ммоль/л проти $16,7 \pm 0,6$ ммоль/л у контролі, $P < 0,05$), що вказує на напруженість механізмів, які забезпечують утилізацію глюкози в тканинах.

У щурів з ПД 5,1 сГр (група Dmid) через 30 хв після цукрового навантаження помітного зростання концентрації глюкози не відбувалося. Протягом 2 год вона практично не змінювалась, тобто, цукрова крива мала плоский вигляд, що було подібним до реакції щурів групи Dmax після 1,5 міс опромінювання.

У разі найменшого дозового навантаження (група Dmin, ПД 1,7 сГр) цукрова крива була найбільш схожа на таку у інтактних тварин – зростання вмісту глюкози на 40 % через 30 хв та повернення до вихідного рівня через годину.

Отже, значущість змін толерантності до глюкози у тварин залежала не тільки від інтенсивності опромінювання, а й від його тривалості. Повільне зростання ПД у групі D_{мін} з 0,2 сГр за 1,5 міс до 1,7 сГр за 12 міс супроводжувалось не посиленням відхилень, що були відмічені на початку експерименту, а навпаки, нормалізацією цукрової кривої, що свідчить про достатність можливостей та часу для проходження компенсаторно-приспосувальних реакцій утримання гомеостазу. При поступовому накопиченні за той же час ПД від 0,7 до 5,1 сГр і від 7,3 до 50,8 сГр зафіксовані більш вагомі зміни характеру відповіді на ТТГ (сплощення цукрової кривої, більш тривале утримання гіперглікемії у групі D_{мід}, збільшення сумарної глікемії у групі D_{мак}), які свідчать про недостатність адаптаційних механізмів організму.

На цей час вже доведено, що під впливом хронічного опромінювання система утворення інсуліну у підшлунковій залозі переходить на інший рівень функціонування зі зменшенням резистентності до діабетогенних чинників і це підвищує ризик розвитку ЦД [13, 14]. За даними А.П.Дерев'янка зі співавт., при щодобовому затруєнні щурів радіоцезієм, що формує таку низьку ПД як 3 сГр за 18 міс, у структурі залози зафіксовані деструктивні та дистрофічні явища, а також ознаки зниження секреторної активності β-клітин [11, 13]. У тварин нашого дослідження величини річних ПД (у разі введення суміші РН) у групах D_{мід} і D_{мак} були значно більшими, але у тканині залози щурів груп D_{мін} та D_{мід} після 12-місячного опромінювання суттєвих змін не було, хоча виявлені незначні відхилення загальної структури однієї або двох її часток за рахунок повнокров'я, невеликого набряку, утворення в окремих ацинусах кистозних порожнин [15]. При максимальній потужності опромінювання (D_{мак}) в окремих випадках зустрічались ацинуси, клітини яких були в стані набряку та некробіозу. При цьому розміри та кількість острівців Лангерганса були неоднаковими, а в острівцях зустрічалось багато розширених кровоносних капілярів. При електронно-мікроскопічному аналізі в епітелії пошкоджених ацинусів виявлено зміни мембранних компонентів; зустрічались клітини з локальними вогнищами цитолізу і в стані некробіозу. Ці результати дають підставу для міркувань, що поява радіаційно-індукованих змін глюкозного гомеостазу у щурів може бути опосередкована оксидативним стресом та зниженням антиоксидантного захисту у опромінюваних тривалий час тварин [16]. Крім того, не можна виключити безпосереднього впливу умов опромінювання малої потужності на підшлункову залозу за механізмом апоптозу, внаслідок якого гине деяка кількість β-клітин, але це припущення потребує конкретних досліджень.

Як відомо, крім інсуліну, в регуляції різних ланок вуглеводного обміну беруть участь гормони мозкового (катехоламіни) та коркового (глюкокортикоїди) шарів надниркових залоз [7, 17], а рівень глюкози у крові вважають "індексом симпатoadреналової активності" [18]. Тому виникнення порушень толерантності до глюкози у опроміненних щурів може бути обумовлено змінами в секреції гормонів надниркових залоз. За нашими спостереженнями [19], у тварин, що піддавались найбільшому радіаційному навантаженню, посилення секреторної активності кортикотропоцитів в аденогіпофізі та адренкортикоцитів у пучковій зоні кори надниркових залоз відбувалось на першому (1,5 міс) та останньому (12 міс) етапах дослідження. На жаль, ми не маємо власних даних щодо вмісту катехоламінів при довготривалому опромінюванні, але можна припустити, що фазність змін глюकोкортикоїдної функції надниркових залоз в різні терміни опромінювання при самому інтенсивному у цьому експерименті радіаційному навантаженні неодмінно відбивалась би на співвідношенні контрінсулярних гормонів в крові й тканинах, яке обумовлює адекватність вуглеводного гомеостазу [20].

Не можна також виключити, що при довготривалому надходженні РН порушення толерантності до глюкози у тварин значною мірою пов'язані зі змінами у морфофункціональному стані печінки, де відтворюється глікоген. Саме

при найбільшому щодобовому надходженні ^{137}Cs і ^{90}Sr в організм щурів у цьому органі визначені достатньо виражені морфологічні ознаки дистрофічних процесів та некробіозу гепатоцитів [13, 15].

Зважаючи на те, що вже на ранньому етапі опромінення відмічені порушення в інших складових ендокринної системи, зокрема, нейрохімічних механізмів її регуляції, а з пролонгацією строку та збільшенням рівня дозового навантаження – посилення напруженості щитоподібної залози і системи “гіпофіз-надниркові залози” [21], можна стверджувати, що представлені результати доповнюють картину поступового розвитку “дезадаптозу”.

Висновки

1. За умов хронічного аліментарного надходження радіонуклідів та зовнішнього опромінювання толерантність до глюкози залежить від ступеня радіаційного впливу.

2. При накопиченні поглиненої дози на тіло 1,7 сГр на рік толерантність до глюкози у щурів практично не змінюється.

3. Поступове зростання величини поглиненої дози з 5 сГр за 1,5 міс до 50 сГр за 12 міс супроводжується порушеннями толерантності до глюкози, які прогресують з подовженням терміну опромінювання.

Література

1. Данилова О.І., Федірко П.А., Письменна Н.В. та ін. Цукровий діабет, діабетична ангіоретинопатія та діабетична катаракта в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС: результати клініко-епідеміологічних досліджень // *Ендокринологія*. 2000, 5, № 2, 138-145.
2. Іпатов А.В. Інвалідність внаслідок хвороб ендокринної системи: стан, тенденції та медико-соціальні проблеми // *Ендокринологія*. 2003, 8, №2, 150-157.
3. Cicognani A., Sacchiari E., Mancini A.F. et al. Abnormal insulin response to glucose following treatment for Wilms' tumor in childhood // *Eur. J. Pediatr.* 1997, 1, N 5, 371-375.
4. Боцюрко В.І. Віддалені наслідки впливу інкорпорованого радіоактивного йоду на ендокринну систему в умовах ендемічної місцевості // *Лік. справа*. 1995, № 3-4, 29-31.
5. Курбангалеев Я.М., Киришин В.А., Юсупов Р.Х. и др. Влияние радиоактивных продуктов аварийного выброса Чернобыльской АЭС на овец // *Чернобыль-94: Сб. докл. IV междунар. научн.-техн. конф. (Зеленый Мыс, 1994)*. Чернобыль, 1996, 490-494.
6. Руднев М. Характер змін інсуліну й адреналіну у експериментальних тварин в залежності від дози опромінення // *Гігієна населених місць: Сб. науч. работ. К., 2000, 37, 377-380*.
7. Бурыкина Л.Н., Невская А.И., Овдиенко Н.И., Туточкина Л.Т. Нарушение функции печени и почек у собак в отдаленные сроки хронического поражения ^{90}Sr // *Распределение и биологическое действие радиоактивных изотопов: Сб. стат. Под ред. Ю.И.Москалева. М.: Атомиздат, 1966, 301-313*.
8. Методические рекомендации по экспериментальному изучению новых пероральных гипогликемических средств. К.: Фармакол. комитет МЗ Украины, 1996, 28 с.
9. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. 2-е изд. К.: Морион, 2001. 408 с.
10. Бандажевский Ю. И. Лелевич В. В., Дедик Ю. Н. Сочетанное влияние хронического поступления алкоголя и инкорпорированных радионуклидов на показатели гликолиза у крыс линии Вистар // *Морфофункциональные аспекты действия радионуклидов на процессы антенатального и постнатального развития. Гомель: Гомельский мед.ин-т, 1996, 23-28*.
11. Дерев'яно А.П., Порохняк Л.П. Стан ендокринної системи під впливом введення цезію-137 // *Тез. доп. 2 з'їзду радіобіол. України (Дніпропетровськ, 22-24 вересня 1995)*. К.: Медекол, 1997, с. 88.

12. Зуева Н.О., Коваленко О.М., Єфімов А.С. Показники базального рівня глюкози у крові ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС при спостереженні протягом 11-12 років після аварії // *Ендокринологія*. 2001, 6, № 1, 114-116.
13. Дерев'янюк Л.П., Руднев М.І., Чеботарев Є.Ю. та ін. Стан ендокринної системи за умов хронічної дії малих доз іонізуючого випромінювання та коригування виявлених порушень // *Чорнобиль. Зона відчуження*. К.: Наукова думка, 2001, 449-470.
14. Порохняк-Гановская Л.А., Дерев'янюк Л.П., Горчакова Л.А. и др. Влияние ионизирующего излучения на морфофункциональное состояние эндокринной системы // *Медицинские последствия Чернобыльской катастрофы*. Кн. 3. Радиобиологические аспекты Чернобыльской катастрофы. К., 1999, 34-53.
15. Юрченко О.В., Трегубова Н.А., Хасцький І.К. та ін. Морфологічні зміни внутрішніх органів тварин, які в різні роки утримувались у Чорнобильській зоні відчуження // *Чорнобиль. Зона відчуження*. К.: Наукова думка, 2001, 509-521.
16. Паранич А.В., Карпенко Н.А., Алесина М.Ю., Маришина Т.А. Изучение направленности и интенсивности процессов перекисного окисления липидов, инициированных действием "чернобыльского фактора" // *Радиац. биол. радиозкол.* 1998, 38, №3, 382-86.
17. Лейбсон Л.Г. Механизмы обратной связи в системе гликемического гомеостаза // *Механизмы гормональных регуляций и роль обратных связей в явлениях развития и гомеостаза*. М.: Наука, 1981, 285-306.
18. Broqua P., Baudrie V., Laude D., Chaouloff F. Influence of the novel antidepressant tianeptine on neurochemical, neuroendocrinological, and behavioral effects of stress in rats // *Biol. Psychiatry*. 1992, 31, N 4, 391-400.
19. Алесина М.Ю. Формирование радиобиологических эффектов в организме экспериментальных животных при хроническом внешнем и внутреннем облучении в малых дозах // *Отдаленные медицинские последствия Чернобыльской катастрофы: Матер. 2 междунац. конф.* К.: Чернобыльинтеринформ, 1998, с.168.
20. Єфімов А.С., Скробонская Н.А. Некоторые стороны обмена катехоламинов у больных сахарным диабетом // *Пробл. эндокринологии*. 1978, 19, № 1, 7-12.
21. Алесина М.Ю., Архіпов М.П., Богданова Т.І. та ін. Морфофункціональна та нейрохімічна характеристика ендокринних механізмів адаптації тварин за умов хронічної дії радіаційного фактора у Чорнобильській зоні відчуження // *Чорнобиль. Зона відчуження*. К.: Наукова думка, 2001, 472-499.

Изменения толерантности к глюкозе у животных при длительном алиментарном поступлении радионуклидов и внешнем облучении в малых дозах

Н.А.Карпенко¹, М.Ю.Алесина², В.В.Деревец²

¹Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я.Данилевского АМН Украины, 61002 Харьков; ²Государственное специализированное научно-производственное предприятие "Экоцентр" МЧС Украины, 07270 Чернобыль Киевской области, Украина

В условиях натурального эксперимента при хроническом комбинированном (внутреннем и внешнем) облучении в малых дозах исследована толерантность к глюкозе и развитие ее нарушений у животных в зависимости от уровня и срока радиационной нагрузки. Проведенные в динамике исследования показали, что при формировании поглощенной дозы 1,7 сГр за год нарушения толерантности к глюкозе у крыс отсутствуют. Постепенное возрастание величины поглощенной дозы с 5 до 50 сГр сопровождается изменениями толерантности (более высокий уровень глюкозы натощак, плоская сахарная кривая), прогрессирующими с увеличением срока облучения до 12 мес (большая суммарная гликемия, замедленное возвращение уровня глюкозы к исходным значениям). Данные свидетельствуют о дозозависимом формировании обратимых и патологических радиобиологических эффектов в эндокринной системе в условиях постоянного действия ионизирующей радиации малой мощности и дополняют картину развития "дезадаптоза".

Ключевые слова: внутреннее и внешнее облучение, малые дозы, толерантность к глюкозе, крысы.

The changes of glucose tolerance in animals after a long-term alimentary intake of radionuclides and external low dose irradiation

N.A.Karpenko¹, M.Yu.Alesina², V.V.Derevetz²

¹V.Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of AMS, 61002 Kharkiv;

²Radioecological Centre, 07270 Chornobyl Kyiv region, Ukraine

Glucose tolerance and development of its changes have been studied under conditions of different power and term of chronic combined (internal and external) low dose irradiation. No changes in glucose tolerance at total absorbed dose 1,7 cGy per year were established. Gradual increase of total absorbed dose from 5 up to 50 cGy was accompanied by alterations of glucose tolerance (the higher fasting glucose levels and a "flat" glycaemic pattern of sugar curve). These disturbances (such as an increase of total glycemia, delayed return of glucose level to reference values) progressed with prolongation of irradiation period up to 12 month. The data indicates dose-dependent dynamics of formation of radiobiological effects in the endocrine system under conditions of chronic low-dose irradiation and adds to a picture of development of disadaptation.

Key words: internal and external irradiation, low doses, glucose tolerance, rats.

(Надійшла 25.06.2004)

СТАН ГЛЮКОЗНОГО ГОМЕОСТАЗУ І ГЛЮКОЗОТОЛЕРАНТНОСТІ У ДІАБЕТИЧНИХ ТВАРИН ПРИ СУМІСНОМУ ЗАСТОСУВАННІ ІНСУЛІНУ ТА ОКСИТОЦИНУ

С.Д.Тржецинський*

Запорізький державний медичний університет МОЗ України, 69035 Запоріжжя, Україна

Метою даної роботи було дослідження впливу роздільного й сумісного введення окситоцину та інсуліну на глюкозний гомеостаз і глюкозотолерантність у діабетичних тварин. Встановлено, що двотижневе введення окситоцину щурам із стрептозотоциновим діабетом сприяло зниженню рівня базальної гіперглікемії і фруктозаміемії, підвищенню толерантності до навантаження глюкозою, збільшенню чутливості тканин до дії інсуліну у порівнянні з діабетичними тваринами, які одержували плацебо. Однак введення одного окситоцину не дозволило досягти компенсації діабетичних порушень у тварин. Застосування інсуліну у поєднанні з окситоцином забезпечило стабільніші результати корекції гіперглікемії, ніж введення одного інсуліну. Сумісна дія цих препаратів запобігала розвитку гіпоглікемічних станів у діабетичних тварин та дала можливість зменшити загальну дозу екзогенного інсуліну. В основі вказаних ефектів, ймовірно, лежить явище потенціувального синергізму препаратів на глюкозний гомеостаз.

Ключові слова: цукровий діабет, окситоцин, інсулін, глюкозний гомеостаз, глюкозотолерантність.

Однією з найактуальніших проблем клінічної медицини є хвороби обміну речовин і, зокрема, цукровий діабет. У 2000 році кількість хворих цукровим діабетом досягла 177 мільйонів. За прогнозами експертів ВООЗ, до 2005 року їхня кількість зросте вдвічі. Щорічно близько 4 мільйонів хворих вмирає від ускладнень цукрового діабету, і економічні втрати від прямих та непрямих витрат на лікування цих ускладнень досягають астрономічних величин. Близько 20 % хворих мають інсулінозалежну форму цукрового діабету (1-й тип), їм призначають замісну терапію інсуліном, введення якого стає абсолютно необхідним протягом усього життя.

До найчастіших ускладнень інсулінотерапії відноситься гіпоглікемія, що у 4 % випадків є причиною смерті хворих цукровим діабетом 1-го типу [1]. Із-за небезпеки розвитку такого стану зменшують дозу інсуліну, що у кінцевому підсумку призводить до високого рівня глікемії натще і недостатньої компенсації захворювання [2]. Тому нові пропозиції, спрямовані на поліпшення результатів лікування цього контингенту хворих, є актуальними.

У попередніх дослідженнях ми встановили, що при експериментальному цукровому діабеті ряд нейропептидів виявляє здатність стимулювати синтез та секрецію ендогенного інсуліну β -клітинами підшлункової залози [3-5]. До їх числа належить й окситоцин, який має інсуліноподібні властивості і може за експериментальних умов впливати на вуглеводний обмін [6, 7]. Тому метою наших досліджень стало вивчення впливу одночасного введення інсуліну та окситоцину на глюкозний гомеостаз та глюкозотолерантність у діабетичних тварин.

*Адреса для листування (Correspondence): Запорізький державний медичний університет МОЗ України, просп. Маяковського, 26, 69035 Запоріжжя, Україна

Матеріали і методи

Дослідження проведене на 96 щурах-самцях лінії Вістар масою 250-270 г. Цукровий діабет (ЦД) моделювали одноразовим уведенням стрептозотоцину (СТЗ) у дозі 50 мг/кг внутрішньочеревинно [8]. За даними літератури, при уведенні останнього у експериментальних тварин розвивається діабет, багато в чому подібний до інсулінозалежного типу ЦД у людини [9]. В експеримент відбирали тварин, у яких до кінця третього тижня після застосування СТЗ рівень базальної глікемії складав не менше 8,5 ммоль/л. З 22-ї доби (4-й тиждень) від моменту індукції діабету починали одночасне уведення тваринам інсуліну та окситоцину, тому що вже до цього часу у тварин розвивалася деструкція острівців, гіперглікемія і гіпоінсулінемія [10]. Депо-інсулін С ("Індар", Україна) застосовували підшкірно в дозі 2 Од/кг 2 рази на добу. Окситоцин ("Біолек", Україна) теж вводили підшкірно в дозі 0,8 МОд/кг 2 рази на добу. Ефективність такого лікування оцінювали при порівнянні з групами тварин, яких окремо лікували або інсуліном, або окситоцином в аналогічному режимі. Інсулін у цих групах вводили в двох дозах: 2 Од/кг (доза 1) та 3 Од/кг (доза 2). Остання у попередніх дослідженнях знижувала рівень базальної глікемії нижче 8,5 ммоль/л. Група контрольних діабетичних щурів за аналогічною схемою одержувала фізіологічний розчин (плацебо). Усі препарати вводили протягом 2-х тижнів.

Стан глікозного гомеостазу у діабетичних тварин оцінювали за показниками базальної глікемії та внутрішньочеревинного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ) [8]. Площину під глікемічними кривими при проведенні ВЧТТГ розраховували за допомогою комп'ютерної програми "Mathlab".

Чутливість периферичних тканин до дії інсуліну визначали за допомогою "короткого інсулінового тесту" [11].

Забір крові у тварин робили під етаміналовим наркозом на тлі 8-годинного голодування. У сироватці крові визначали базальну інсулінемію (ІРІ) радіоімунологічним методом "подвійних антитіл" із використанням наборів "ріо-ІНС-ІІГ-¹²⁵I" (Білорусія), а рівень кортикостероїдів (КС) – флуориметричним методом аналізу [12]. У плазмі крові визначали вміст глюкози глюкозооксидазним методом та фруктозаміну – фотоколориметричним методом [13].

Утримання та використання лабораторних тварин відповідало "Загальним етичним принципам експериментів на тваринах".

Весь наведений цифровий матеріал оброблено методами варіаційної статистики із застосуванням параметричного критерію t Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Розвиток стрептозотоцинового діабету у тварин супроводжувався підвищенням рівня базальної глікемії (табл. 1). Так, до кінця третього тижня експерименту вміст глюкози натще збільшився на 123 % у порівнянні з контрольною групою тварин. Так само значно підвищився вміст фруктозаміну (на 139 %), що є інтегральним показником глікемії за останні 2-3 тижні і свідчить про стійке зростання середньодобового рівня глюкози у крові. До цього терміну експерименту спостерігалось і зниження толерантності до глюкози у діабетичних тварин – площа під глікемічною кривою збільшилася на 220 %, базальна інсулінемія знизилася на 49,4 %, а рівень глюкокортикоїдів підвищився на 242,9 % у порівнянні з контрольною групою тварин.

Зі збільшенням терміну діабету до 5 тижнів у групі тварин, яким протягом 2-х тижнів вводили плацебо, спостерігалось прогресивне погіршення їх стану. Так, базальна глікемія підвищилася ще на 37,7 %, рівень фруктозаміну – на 56,1 %, а площа під глікемічною кривою – на 45,6 % у порівнянні з показниками на 3-му тижні діабету. У той же час рівень базальної інсулінемії знизився на 51,2 %, а вміст кортикостероїдів – на 18,8 %. Порівняльна оцінка базальної глікемії індивідуально у кожній діабетичній тварини (табл. 2) показала, що на третьому тижні експерименту від 40 % до 60 % пацюків мали гіперглікемію вищу за 10 ммоль/л, а до кінця 5 тижня в групі тварин, яким вводили плацебо, усі 100 % мали гіперглікемію вищу за 10 ммоль/л.

Для оцінки тяжкості функціонального напруження адаптаційних систем організму у піддослідних тварин ми використовували індекс напруження, який дорівнює відношенню відсоткових величин концентрації кортикостероїдів й

Таблиця 1. Деякі показники гормонального статусу та вуглеводного обміну у діабетичних тварин при окремому та сумісному введенні інсуліну та окситоцину (M±m)

Група тварин	Базальна інсулінемія, пмоль/л	ІІ-ОКС, мкмоль/л	Базальна глікемія, ммоль/л	Фруктозамін, ммоль/л	Площа під глікемічною кривою (x10 ² , ммоль/л·хв)	Чутливість тканин до дії інсуліну, %
Контроль	63,2±3,8	0,20±0,02	4,68±0,20	9,3±2,2	5,46±0,14	57,6±4,6
Діабетичні, 3-й тиждень	37,5±2,4 ^а	0,69±0,05 ^а	10,46±0,72 ^а	22,3±0,9 ^а	15,12±0,53 ^а	27,0±2,7 ^а
Діабетичні з введенням плацебо	18,3±2,3 ^{а,б}	0,56±0,04 ^{а,б}	14,41±0,58 ^{а,б}	34,8±3,3 ^{а,б}	22,02±0,34 ^{а,б}	18,0±1,8 ^{а,б}
Діабетичні з введенням окситоцину	34,5±1,5 ^{а,в}	0,52±0,02 ^{а,б}	9,09±0,41 ^{а,в}	25,0±1,3 ^{а,в}	13,84±0,78 ^{а,в}	31,6±2,3 ^{а,в}
Діабетичні з введенням інсуліну (доза 1)	39,6±2,5 ^{а,в}	0,50±0,03 ^{а,б,в,г}	8,64±0,52 ^{а,в}	20,6±1,3 ^{а,в,г}	12,41±0,38 ^{а,б,в}	34,5±1,6 ^{а,б,в,г}
Діабетичні з введенням інсуліну (доза 2)	49,6±2,2 ^{а,б,в,г,д}	0,30±0,02 ^{а,б,в,г,д}	5,16±0,71 ^{б,в,г,д}	16,8±1,0 ^{а,б,в,г,д}	8,65±0,14 ^{а,б,в,г,д}	41,1±4,3 ^{а,б,в,г}
Діабетичні з введенням інсуліну та окситоцину	53,5±1,6 ^{б,в,г,д,е}	0,38±0,02 ^{а,б,в,д,е}	5,55±0,37 ^{б,в,г,д}	12,3±0,6 ^{б,в,г,д}	7,84±0,18 ^{а,б,в,г,д}	49,1±3,9 ^{б,в,г,д}

Примітка: P<0,05 – вірогідність різниці параметрів по відношенню:

^а – до контрольної групи, ^б – до діабетичної групи (3-й тиждень), ^в – до діабетичної групи з введенням плацебо, ^г – до діабетичної групи з введенням окситоцину, ^д – до діабетичної групи з введенням інсуліну (доза 1), ^е – до діабетичної групи з введенням інсуліну (доза 2).

Таблиця 2. Порівняльна оцінка перебування цукрового діабету за умов окремого і сумісного введення інсуліну та окситоцину

Група тварин	Кількість щурів в групі	Базальна глікемія на 3-му тижні діабету, ммоль/л			Базальна глікемія на 5-му тижні діабету, ммоль/л		
		>10,0	8,5-10,0	<8,5	>10,0	8,5-10,0	8,5-3,5
Діабетичні з введенням плацебо	10	4	6	0	10	0	0
Діабетичні з введенням окситоцину	10	4	6	0	2	5	3
Діабетичні з введенням інсуліну (доза 1)	8	5	3	0	0	4	0
Діабетичні з введенням інсуліну (доза 2)	10	5	5	0	0	2	5
Діабетичні з введенням інсуліну та окситоцину	9	4	5	0	0	0	9

інсуліну (КС/ІРІ) [14]. Вихідний рівень гормонів у крові інтактної групи тварин приймався за 100 %. Розрахунок індексу напруження діабетичних тварин показує, що через 3 тижні після уведення стрептозоцину коефіцієнт КС/ІРІ підвищився до 5,8. При збільшенні терміну діабету, незважаючи на деяке зниження концентрації кортикостероїдів, коефіцієнт КС/ІРІ зростав до 9,6, що зв'язано з подальшим падінням концентрації ІРІ в крові. Таке стійке підвищення індексу напруження, особливо до кінця 5-го тижня діабету, свідчить про значну напругу адаптаційних можливостей організму.

Уведення окситоцину діабетичним тваринам з четвертого тижня діабету гальмувало процес прогресування захворювання. Ця дія проявлялася запобіганням подальшого росту базальної глікемії і фруктозаміемії (табл. 1). У цій групі тварин не спостерігалось і зменшення толерантності до глюкози на 5-му тижні діабету. Уведення окситоцину запобігало так само зниженню рівня базальної інсулінемії, у той час як рівень кортикостероїдів у крові зменшився на 24,6 % у порівнянні з 3-тижневим діабетом. Ці зміни призвели до зниження напруги адаптаційних систем організму і зменшення індексу напруження до 4,7. Однак уведення одного окситоцину не дозволило домогтися компенсації діабетичних порушень у тварин. Так, у цій групі тварин до кінця 5-го тижня експерименту тільки 30 % пацюків мали рівень базальної глікемії нижчий 8,5 ммоль/л, 50 % – у межах від 8,5 до 10 ммоль/л, а 20 % – вищий 10 ммоль/л.

Аналогічні зміни реєструвалися й у групі діабетичних тварин, яким вводили інсулін у дозі 2 Од/кг. У цій групі так само спостерігалось гальмування процесу прогресування діабету, що проявилось зменшенням середньогрупового рівня глікемії і фруктозаміемії. Трохи підвищився рівень базальної інсулінемії. Однак зниження глікемії нижче 8,5 ммоль/л досягнуто було тільки у 50 % тварин (табл. 2).

У групі діабетичних тварин, яким вводили інсулін у дозі 3 Од/кг, середньогруповий рівень базальної глікемії статистично не відрізнявся від цього показника в інтактних щурів (табл. 1). Рівень фруктозаміемії залишався підвищеним, а толерантність до навантаження глюкозою – трохи зниженою. Вірогідно підвищився рівень базальної інсулінемії на 43,8 % у порівнянні з тритижневим діабетом. Знизився індекс напруження до 1,9. Однак стабілізації рівня базальної глікемії в межах 3,5-8,5 ммоль/л вдалося досягти лише у 50 % тварин (табл. 2). У 20 % пацюків рівень глікемії перевищував 8,5 ммоль/л, а в 30 % – спостерігався гіпоглікемічний стан.

Однчасне уведення окситоцину й інсуліну в дозі 2 Од/кг діабетичним тваринам протягом двох тижнів призводило до зниження середньогрупової базальної глікемії і фруктозаміемії до рівнів, які статистично не відрізняються від аналогічних показників у групі інтактних тварин. Істотно підвищувалася толерантність до глюкозного навантаження – площа під глікемічною кривою зменшилася на 53,4 % у порівнянні з аналогічним показником у тварин з 3-тижневим діабетом, наблизившись до її величини в контрольній групі тварин, і була вірогідно нижчою, ніж у тварин, яким роздільно вводили окситоцин та інсулін у дозі 2 Од/кг. Також спостерігалось підвищення концентрації інсуліну в руслі крові до рівня, який статистично не відрізнявся від рівня інсуліну в контрольній групі тварин. Вміст кортикостероїдів знижувався, що призводило до зниження індексу напруженості до 2,2. Аналіз базальної глікемії індивідуально у кожного діабетичного пацюка в групі засвідчив, що глікемія стабілізувалася в межах 3,5-8,5 ммоль/л у 100 % тварин.

Дослідження чутливості тканин до дії інсуліну показало, що розвиток цукрового діабету у експериментальних тварин супроводжується зниженням цього показника (табл. 1). Так, до кінця 3-го тижня експерименту у діабетичних тварин чутливість тканин до дії інсуліну знизилася на 57,5 %. У групі діабетичних тварин, яким вводили плацебо, до кінця 5-го тижня спостерігало-

ся подальше прогресуюче зниження чутливості тканин до дії інсуліну на 30,8 %, порівняно з 3-тижневим терміном діабету. Ці ефекти обумовлені багатьма причинами, у тому числі підвищенням концентрації контрінсулярних гормонів (глюкагону, катехоламінів, глюкокортикоїдів), а також вільних жирних кислот, які мають гальмівну дію на окиснювання глюкози в тканинах і беруть участь у підтримці і посиленні стану інсулінорезистентності [15].

Уведення окситоцину діабетичним тваринам сприяло гальмуванню процесу зниження чутливості тканин до дії інсуліну. Так, у результаті введення окситоцину чутливість тканин до дії інсуліну залишилася практично на рівні 3-тижневого діабету.

На тлі уведення інсуліну в дозі 2 Од/кг також спостерігалася стабілізація чутливості тканин до дії цього гормону на рівні 3-тижневого діабету, а при уведенні інсуліну в дозі 3 Од/кг відзначалося підвищення чутливості тканин до дії інсуліну на 52 %, у порівнянні з 3-тижневим діабетом.

У той же час, у групі діабетичних тварин, яким інсулін у дозі 2 Од/кг вводили разом з окситоцином, чутливість тканин до дії інсуліну відновилася до рівня, який статистично не відрізняється від показників у контрольній групі тварин.

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що двотижнєве введення окситоцину сприяло зниженню рівня базальної гіперглікемії і фруктозаміємії, підвищенню толерантності до навантаження глюкозою, збільшенню чутливості тканин до дії інсуліну у порівнянні з групою діабетичних тварин, які одержували плацебо. Такі ефекти окситоцину ймовірно зв'язані, по-перше, зі здатністю цього октапептиду прискорювати утилізацію глюкози тканинами [16] і, зокрема, підсилювати транспорт та окиснювання глюкози в адипоцитах. По-друге, окситоцин здатний пригнічувати стимульований катехоламінами ліполіз в адипоцитах, гальмувати вихід вільних жирних кислот з них у кров [17] і, як наслідок, знижувати концентрацію вільних жирних кислот у руслі крові [18]. Ці ефекти реалізуються в результаті взаємодії гормону зі специфічними окситоциновими рецепторами, які відрізняються від інсулінових рецепторів [19]. По-третє, окситоцин, як показали проведені раніше дослідження [7], здатний гальмувати процеси деструкції панкреатичних островців підшлункової залози при діабеті і збільшувати кількість β -клітин й інсуліну в них. А інсулін і ГАМК, що разом виділяються з β -клітин, як відомо, чинять паракринну гальмуючу дію на синтез і секрецію глюкагону α -клітинами [20]. У підсумку це призводить до зменшення концентрації глюкагону, збільшення вмісту інсуліну в руслі крові і зниження гіперглікемії.

У групі діабетичних тварин, яким вводили інсулін разом з окситоцином, гіперглікемія і фруктозаміємія знизилася до величин контрольної групи тварин, а толерантність до навантаження глюкозою була вірогідно вищою відносно груп, яким вводили ці препарати роздільно, і наближалася до такого показника у контрольних тварин. У той же час, чутливість тканин до інсуліну в досліджуваних групах діабетичних тварин при сумісному уведенні інсуліну з окситоцином підвищилася до величини аналогічних показників у контрольній групі. В основі цих ефектів, очевидно, лежить явище потенціювального синергізму препаратів на глюкозний гомеостаз.

У сукупності отримані результати свідчать про те, що введення інсуліну в дозі 2 Од/кг у поєднанні з окситоцином забезпечує отримання стабільніших результатів корекції гіперглікемії, ніж один інсулін у дозі 3 Од/кг, і запобігає розвитку гіпоглікемічних станів у діабетичних тварин.

Висновки

1. Уведення окситоцину діабетичним тваринам гальмує процес подальшого порушення глюкозного гомеостазу і глюкозотолерантності.

2. Застосування інсуліну у поєднанні з окситоцином для комплексного лікування діабетичних тварин підвищує ефективність корекції гіперглікемії, запобігає розвитку гіпоглікемічних станів і дозволяє зменшити загальну дозу екзогенного інсуліну.

Література

1. Балаболкин М.И. Инсулинотерапия. М.: Медицина, 2000. 672 с.
2. Ефимов А.С., Скробонская Н.А., Ткач С.Н., Сакало Е.А. Инсулинотерапия больных сахарным диабетом. К.: Здоров'я, 2000. 246 с.
3. Тржецинский С.Д., Колесник Ю.М., Дунаев В.В., Абрамов А.В. Нейропептиды – возможная основа для создания новой группы противодиабетических лекарственных препаратов // Достижения сучасної фармації та перспективи її розвитку у новому тисячолітті: Матер. 5 Національного з'їзду фармацевтів України. Харків, 1999, с. 725.
4. Абрамов А.В., Колесник Ю.М., Тржецинский С.Д., Ганчева О.В. Бомбезин стимулирует функцию бета-клеток поджелудочной железы при хроническом введении диабетическим животным // Бюл. эксп. биол. мед. 1998, 126, № 7, 33-36.
5. Ганчева О.В., Тржецинский С.Д. Сравнительная характеристика эффектов введения окситоцина и вазопрессина на состояние α - и β -клеток островков Лангерганса у intactных и диабетических крыс // Актуальні питання фармації та медичної науки і практики. 1999, вип. 3, 92-97.
6. Тржецинский С.Д. Состояние углеводного обмена у диабетических животных при повторном введении окситоцина // Вісник фармації. 1999, № 2 (20), 130-133.
7. Колесник Ю.М., Тржецинський С.Д., Абрамов А.В., Ганчева О.В. Вплив окситоцину на стан β -клітин острівців Лангерганса і показники вуглеводного обміну у intactних щурів і щурів з діабетом // Фізіол. журн. 2000, 46, № 1, 37-43.
8. Стефанов О.В. (ред.) Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. К.: Авіцена, 2001. 528 с.
9. Полторак В.В., Блох К.С. Стрептозотоциновый и вирусный инсулинзависимый сахарный диабет (аутоиммунные аспекты) // Пробл. эндокринологии. 1989, 35, № 3, 81-87.
10. Тржецинський С.Д., Красько Н.П. Стан гормонального, вуглеводного, ліпідного обмінів та вільнорадикального окислювання у тварин з експериментальним діабетом // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія (Львів). 2001, № 2, 83-88.
11. Akinmokun A., Selby P.I., Ramaiya K., Alberty K.G.M.M. The short insulin tolerance test for determination of insulin sensitivity: a comparison with the euglycaemic clamp // Diab. Med. 1992, 9, 432-437.
12. Балашов Ю.Г. Флюориметрический микрометод определения кортикостероидов: сравнение с другими методами // Физиол. журн. СССР. 1990, 76, № 2, 280-283.
13. Викторова Л.И., Городецкий В.Н. Колориметрический метод определения неферментативного гликозилирования альбумина и гемоглобина // Лаб. дело, 1990, № 5, 15-18.
14. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. Новосибирск: Наука, 1983. 232 с.
15. Koivisto Veikko A. Yki-Sarvinen Hannele. Changes in muscle glucose metabolism in type I diabetes // Ann. Med. 1990, 22, N 3, 201-205.
16. Okabe T., Hosokawa K., Kataoka K., Matsuki S. Insulin like action of oxytocin // Nippon. Naibunpi. Gakkai Zasshi. 1985, 20, N 61 (10), 1197-1209.
17. Muchmore D. B., Little S.A., De Haen C. Mechanism of action of oxytocin in rat epididymal fat cells // J. Biol. Chem. 1981, 256, N 1, 365-372.
18. Абельсон Ю.А. Метаболическое действие нейрогипофизарных гормонов // Успехи физиол. наук. 1985, 16, № 2, 33-60.
19. Braun T., Hechter O., Rudinger J. "Insulin-like" action of oxytocin. Evidence for separate oxytocin-sensitive and insulin-sensitive systems in fat cells // Endocrinology. 1969, 85, N 6, 1092-1096.
20. Saravia-Fernandez F., Faveeuw C., Blasquer-Bulant C. et al. Localization of gamma-aminobutyric acid and glutamic acid decarboxylase in the pancreas of the nonobese diabetic mouse // Endocrinology. 1996, 137, N 8, 3497-3506.

Состояние глюкозного гомеостаза и глюкозотолерантности у диабетических животных при совместном применении инсулина и окситоцина

С.Д.Тржецинский

Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины, 69035 Запорожье, Украина

Целью настоящей работы было исследование влияния отдельного и совместного введения инсулина и окситоцина на глюкозный гомеостаз и глюкозотолерантность у диабетических животных. Установлено, что двухнедельное введение окситоцина крысам со стрептозотоциновым диабетом способствовало снижению уровня базальной гипергликемии и фруктозаминемии, повышению толерантности к нагрузке глюкозой, увеличению чувствительности тканей к действию инсулина по сравнению с диабетическими животными, которым вводили плацебо. Однако при введении одного окситоцина не удалось достичь компенсации диабетических нарушений у животных. Применение инсулина в сочетании с окситоцином позволило получить более стабильные результаты коррекции гипергликемии, чем введение одного инсулина. Сочетание этих препаратов препятствовало развитию гипогликемических состояний у диабетических животных и позволило уменьшить общую дозу экзогенного инсулина. В основе этих эффектов, вероятно, лежат явления потенцирующего синергизма препаратов на глюкозный гомеостаз.

Ключевые слова: сахарный диабет, окситоцин, инсулин, глюкозный гомеостаз, глюкозотолерантность.

Glucose homeostasis and glucose tolerance in diabetic animals during combined insulin and oxytocin administration

S.D.Trzhetsinskij

Zaporizhyya State Medical University of the Ministry of Public Health of Ukraine, 69035 Zaporizhyya, Ukraine

The purpose of the present work was the investigation of separate and combined oxytocin and insulin administration on glucose homeostasis and glucose tolerance in diabetic animals. It has been established that oxytocin administration for two weeks promoted a decrease of basal hyperglycemia and fructosaminemia level, increased glucose tolerance and tissue sensitivity to insulin action as compared to diabetic animals receiving placebo.

However, the injection of oxytocine alone failed to achieve the compensation of diabetic disorders in animals. The application of insulin in combination with oxytocin allowed to receive more stable results of hyperglycemia correction than administration of insulin alone. The combination of these two drugs prevented the development of hypoglycemic conditions in diabetic animals and allowed to reduce at total dose of exogenous insulin. These effects are probably based on the phenomena of potentiative synergism of the drugs on glucose homeostasis.

Key words: diabetes mellitus, oxytocine, insulin, glucose homeostasis, glucose tolerance.

(Надійшла 23.03.2004)

ОСОБЛИВОСТІ ЛІКУВАННЯ ГІПОТИРЕОЗУ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ, ОПЕРОВАНИХ З ПРИВОДУ АВТОІМУННОГО ТИРЕОЇДИТУ, У ВІДДАЛЕНОМУ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОМУ ПЕРІОДІ

Ю.І.Караченцев, К.В.Місюра*

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

З метою поліпшення функціональної активності щитоподібної залози при автоімунному тиреоїдиті у хворих на ішемічну хворобу серця у віддаленому післяопераційному періоді у комплексі загальноприйнятої терапії застосовано метод низькоінтенсивної лазеротерапії. Отримано позитивні результати, найбільш помітні через 3 міс після початку лікування. У строк спостереження 6 міс відмічено тенденцію до гальмування позитивного ефекту лазеротерапії, але функціональна активність щитоподібної залози у хворих дослідної групи залишалась вірогідно кращою, ніж до лікування, та у хворих контрольної групи у цей термін спостереження.

Ключові слова: автоімунний тиреоїдит, ішемічна хвороба серця, функціональна спроможність щитоподібної залози, тиреоїдні гормони.

Автоімунний тиреоїдит (АІТ) сьогодні в нашій країні є одним із найчастіших захворювань у структурі ендокринної патології [1].

Найбільш розповсюджені методи лікування АІТ – медикаментозний та хірургічний – мають низку недоліків та обмежень у застосуванні. Щодо хірургічного методу лікування, то він не є патогенетичним, оскільки не тільки не усуває провідний патогенетичний чинник – імуноагресію до тканини щитоподібної залози (ЩЗ), але й прискорює розвиток гіпотиреозу, поглиблює автоімунні порушення.

Після оперативного лікування частота гіпотиреозу зростає у 2,2 рази [2]. Але і зараз хірургічні втручання при такій патології виконуються. Показання для проведення оперативного лікування у хворих на АІТ такі: неможливість виключення онкопроцесу у вузловому новоутворенні ЩЗ та механічне стиснення прилеглих органів шій з причини великого розміру зоба [3].

Гіпотиреоз – найчастіша, після цукрового діабету, причина вторинної дисліпідемії, яка, в свою чергу, є одним з основних чинників ризику розвитку серцево-судинних захворювань [4]. Лікування гіпотиреозу при АІТ є однією з важливих проблем не тільки ендокринології, а й кардіології. Провідне місце серед медикаментозних препаратів, що застосовуються для лікування гіпотиреозу при АІТ, відводиться левотироксину (L-тироксин) [5]. Однак призначення цього препарату хворим похилого віку та пацієнтам, які мають супутню серцево-судинну патологію, особливо ішемічну хворобу серця (ІХС), небезпечно [6]. Проблема розробки комплексного комбінованого лікування гіпотиреозу у хворих на ІХС сьогодні є однією з найактуальніших проблем ендокринології. Вважається, що наявність застережень до застосування препаратів ЩЗ, або недостатня їх ефективність, – основне показання до вживання при АІТ імуномодуючих засобів [7].

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

Фармакологічні методи імунокорекції мають здатність діяти тільки на висоті прийому. Цього недоліку позбавлені фізичні методи імунокорекції. Одним з них є низькоінтенсивна лазеротерапія. Є повідомлення про ефективність її застосування для лікування і АІТ [8], і ІХС [9, 10]. Наприклад, при проведенні досліджень на кроликах з експериментальною моделлю АІТ було підтверджено, що лазерне випромінювання призводить до відновлення морфофункціонального стану як щитоподібної, так і вилочкової залоз, зупиняє аутоімунну агресію та стимулює процеси репаративної регенерації за типом реституції у ЩЗ. У ході дослідження використовувалася розроблена у нашій клініці методика, ефективність якої доведена при реабілітації хворих на АІТ після операції [8]. Ми не знайшли у літературі повідомлень про загальноприйнятую схему лікування хворих на АІТ з наявністю супутньої ІХС.

Метою дослідження стала оцінка ефективності застосування низькоінтенсивної лазеротерапії у віддаленому післяопераційному періоді для лікування функціональної спроможності ЩЗ у хворих на ІХС, оперованих з приводу АІТ.

Матеріали і методи дослідження

У ході роботи було обстежено 57 хворих віком від 45 до 73 років, яких прооперовано в клініці Інституту проблем ендокринної патології ім. В.Я.Данилевського АМН України з 1994 по 2003 рік. Операції на ЩЗ у хворих на АІТ були виконані за методикою О.В.Ніколаєва з дотриманням органозберігаючих принципів. У всіх обстежуваних АІТ підтверджено гістологічно. Наявність ІХС діагностувалася згідно з Recommendation of the Task Force of the European Society of Cardiology [11]. Вивчення функціональної активності щитоподібної залози (вміст трийодтироніну (T_3), тироксину (T_4) та тиреоїдного гормону гіпофіза (ТТГ) у всіх тематичних хворих виконано імунферментним методом за допомогою набору фірми "Хема" FK 201R Version 01/2003, FK 211R Version 01/2003, FK 212R Version 01/2003. Діапазон нормальних концентрацій ТТГ, T_4 та T_3 при застосуванні вищезазначених наборів був у межах: ТТГ – від 0,3 до 4,0 мОд/л, T_4 – 60-160 нмоль/л, а T_3 – 1,2-3,2 нмоль/л.

Серед обстежених 57 хворих на АІТ із супутньою ІХС ми виявили стенокардію напруги другого функціонального класу у 49 осіб (85,96 %), стенокардію напруги третього функціонального класу – у 8 осіб (14,04 %). Середній вік хворих на АІТ з супутньою ІХС становив $56,72 \pm 7,03$ років. Функціональна активність ЩЗ хворих на АІТ із супутньою ІХС відповідала стану гіпотиреозу: вміст T_3 дорівнював $0,97 \pm 0,13$ нмоль/л, T_4 – $49,89 \pm 5,36$ нмоль/л, ТТГ – $10,46 \pm 0,92$ мОд/л. Відсутність компенсації гіпотиреозу у хворих на АІТ з супутньою ІХС пояснюється неможливістю вживання ними достатніх доз препаратів щитоподібної залози з причини появи ознак стенокардії.

У ході нашого дослідження було застосовано метод низькоінтенсивного лазерного опромінювання проєкції щасток ЩЗ за допомогою апарату "Мустанг-био" (Росія) в інфрачервоному спектрі з довжиною хвилі 0,89 мкм, в імпульсному режимі – з частотою 80 Гц і експозицією 4 хв на кожну частку ЩЗ, а також трансдермальне надвненне опромінювання крові в ділянці ліктьової ямки у тому ж режимі. На курс лікування припадало десять процедур. Для дослідження ефективності застосування лазеротерапії було сформовано дві групи хворих кількістю 30 та 27 осіб, аналогічних за віком, статтю, функціональною спроможністю ЩЗ, показниками клітинного імунітету, класом стенокардії, наявністю артеріальної гіпертензії та ступенем виразності серцевої недостатності. Всі хворі не отримували до цього адекватного регулярного лікування ІХС. У ході дослідження хворим першої групи (дослідної), окрім загальноприйнятої терапії – L-тироксин у максимально терпимій дозі (від 25 до 75 мкг), нітрати пролонгованої дії (нітросорбіт), блокатори кальцієвих каналів (корінфар), блокатори ангіотензинперетворюючого ферменту (еналаприл), статіни (Мевакор), ацетилсаліцилова кислота, – був проведений курс лазеротерапії; хворі другої групи (контрольної) отримували тільки вищезазначену загальноприйнятую терапію.

Результати оброблені за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 2000. Статистична вірогідність отриманих даних визначалася за допомогою параметричного критерію дисперсійного аналізу t Стьюдента [12].

Результати дослідження та їх обговорення

У ході дослідження в обох групах доза левотироксину не змінювалася. Після завершення курсу низькоінтенсивної лазеротерапії більшість хворих від-

значала помітне поліпшення самопочуття: зменшилася частота виникнення нападів стенокардії, їх виразність, зникли набряки, підвищилась працездатність, зменшилася сонливість та стомлюваність. Покращення функціональної спроможності ЩЗ у хворих дослідної групи підтверджена вивченням рівнів T_3 , T_4 та ТТГ (табл.).

Таблиця. Динаміка гормональних тиреоїдних показників у групах хворих, оперованих з приводу АІТ із наявністю супутньої ІХС, які лікувалися із використанням низькоінтенсивної лазеротерапії та загальноприйнятою терапією ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Група, строк спостереження та кількість хворих	Статист. показник	Гормональний показник		
		T_3 , нмоль/л	T_4 , нмоль/л	ТТГ, мОд/л
1. Хворі на АІТ та ІХС дослідної групи до лікування (n=30)		0,94±0,06	48,37±4,36	10,99±0,64
2. Хворі на АІТ та ІХС дослідної групи після 3 міс лікування (n=30)	P_{1-2}	1,69±0,14 <0,001	99,50±6,24 <0,001	5,13±0,24 <0,001
3. Хворі на АІТ та ІХС дослідної групи після 6 міс лікування (n=29)	P_{1-3} P_{2-3}	1,66±0,08 <0,001 >0,05	84,43±3,01 <0,001 <0,001	6,58±0,24 <0,001 <0,05
4. Хворі на АІТ та ІХС контрольної групи до лікування (n=27)	P_{1-4}	1,01±0,10 >0,05	61,67±5,35 <0,05	9,14±0,76 >0,05
5. Хворі на АІТ та ІХС контрольної групи після 3 міс лікування (n=27)	P_{4-5} P_{2-5}	1,17±0,12 >0,05 <0,001	60,89±5,04 >0,05 <0,001	9,11±0,52 >0,05 <0,001
6. Хворі на АІТ та ІХС контрольної групи після 6 міс лікування (n=27)	P_{4-6} P_{5-6} P_{3-6}	1,20±0,10 <0,05 >0,05 <0,05	60,07±5,25 >0,05 >0,05 <0,001	9,89±0,48 >0,05 >0,05 <0,001

Примітка: P – вірогідність різниць груп, що порівнюються.

Через три місяці після проведеного курсу низькоінтенсивної лазеротерапії відзначено поліпшення функціональної активності ЩЗ у хворих дослідної групи. Встановлено вірогідне збільшення рівня T_3 ($P<0,001$) та T_4 ($P<0,001$), падіння вмісту ТТГ крові ($P<0,001$) у хворих цієї групи. У свою чергу, у контрольній групі мало місце тільки помітне збільшення рівня T_3 у термін спостереження 6 міс ($P<0,05$). Це, на нашу думку, пояснюється поліпшенням метаболічної ситуації в організмі на тлі проведення антиатерогенної терапії. При цьому показники рівня T_4 та ТТГ у хворих контрольної групи навіть погіршувалися ($P<0,05$).

За весь термін спостереження функціональна спроможність ЩЗ (рівні T_3 , T_4 , ТТГ) була значуще кращою у дослідній групі порівняно з контрольною. Це свідчить про недостатню ефективність замісної терапії для лікування гіпотиреозу у хворих на ІХС, оперованих з приводу АІТ.

Попередніми дослідниками висувалася теза, що лікувальний ефект курсової лазеротерапії проявляється вже через один місяць після її завершення і досягає максимального позитивного терапевтичного впливу через 3 міс [6]. Це підтверджено і нашим дослідженням. У строк спостереження 6 міс відмічено тенденцію до гальмування позитивного ефекту лазеротерапії. Рівень ТТГ зріс ($P<0,05$), рівні T_3 та T_4 знизилися у порівнянні зі строком спостереження 3 міс (відповідно $P>0,05$, $P<0,001$). Але функціональна спроможність ЩЗ у хворих дослідної гру-

пи залишалася значуще кращою, ніж до лікування та ніж у хворих контрольної групи у цей термін спостереження ($P < 0,001$). Така динаміка пояснюється гальмуванням імунокоригуючої дії лазеротерапії і тенденцією до посилення автоімунних антитиреоїдних процесів. Для обґрунтування цього твердження у нашому дослідженні проведено вивчення рівня антитиреоїдних антитіл у динаміці лікування. Але детальне обговорення їх не є метою даної статті.

Отримані нами дані підтверджують гіпотезу про тиреоїдстимулюючу дію низькоінтенсивного лазерного випромінювання та збігаються з результатами попередніх досліджень Ю.І.Караченцева і співавторів, які довели, що низькоінтенсивна лазеротерапія не тільки стимулює процеси репаративної регенерації у ЩЗ, що поліпшує її функцію, але й зупиняє або гальмує розвиток автоімунної антитиреоїдної агресії у оперованих з приводу АІТ хворих [8]. А як відомо, післяопераційний перебіг АІТ характеризується повільним згасанням функції ЩЗ внаслідок автоімунного процесу, активність якого залишається підвищеною [6].

Висновки

1. Застосування методу низькоінтенсивної лазеротерапії у складі комплексного комбінованого лікування хворих на гіпотиреоз автоімунної природи з наявністю ІХС є ефективним. Лікувальний ефект цього методу проявляється в поліпшенні клінічного стану, в нормалізації показників, що характеризують функцію щитоподібної залози.

2. Стабільність позитивних змін з боку показників функціональної спроможності ЩЗ зберігається до 6 міс після проведення курсу лазеротерапії, що вказує на тривалість ефекту.

3. Використання низькоінтенсивної лазеротерапії в комплексі із загальноприйнятою терапією для нормалізації функціональної спроможності ЩЗ є перспективним і потребує подальшого вивчення.

Література

1. Аристархов В.Г., Кириллов Ю.Б., Строев Е.А. Проблемы выбора лечения при аутоиммунных заболеваниях щитовидной железы. Рязань: Рязанское книж. изд., 1998. 121 с.
2. Конах В.М. Клінічна оцінка ефективності ербісолу у хворих на аутоімунний тиреоїдит: Автореф. дис. канд. мед. наук. К., 2001. 20 с.
3. Серпуховитин С.Ю. Хирургическое лечение аутоиммунного тиреоидита // Пробл. эндокринологии. 1992, 38, 37-38.
4. Чаляло П.П. Нарушения обмена липопротеидов. К.: Здоров'я, 1990. 184 с.
5. Боднар П.М. Ендокринологія. К.: Здоров'я, 2002. 512 с.
6. Насонова А.М., Климчук О.В. Дослідження кардіозахисної дії інгаляції ізоптину у хворих на рак щитовидної залози та аутоімунний тиреоїдит при гормонотерапії L-тироксином // Укр. радіол. журн. 1998, № 3, 323-325.
7. Калинин А.П., Кисилева Т.П. Аутоиммунный тиреоидит: Метод. рекоменд. М., 1991. 20 с.
8. Караченцев Ю.И., Гопкалова И.В., Лях И.А. и др. Лазеротерапия в комплексном лечении аутоиммунного тиреоидита // Применение лазеров в медицине и биологии: Матер. VII междунауч.-практ. конф. (Ялта, 24-30 октября 1996). Харьков, 1996, 70-71.
9. Конотоп В.Г., Дегтярь Е.Ю., Онисенко Е.С. Лазерное облучение как фактор, положительно влияющий на восстановительные процессы в органах и тканях // Применение лазеров в медицине и биологии: Матер. VI республ. науч.-практ. конф. (Харьков, 8-13 апреля 1996). Харьков, 1996, 20-21.
10. Войсков В.Л., Новиков К.Н., Сяч Н.И. Динамика изменений хемилюминесценции неразведенной крови в ходе лазеротерапии у больных ишемической болезнью сердца // Новые направления лазерной медицины: Матер. междунауч. конф. (Москва, 26-27 ноября 1996). М., 1996, 287-288.

11. Pyorala R., De Backer G., Graham J. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Recommendation of the Task Force of the European Society of Cardiology, European Atherosclerosis Society and European Society of Hypertension // *Eur. Heart J.* 1994, 15, N 1, 1300-1331.
12. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М.: Практика, 1998. 459 с.

Особенности лечения гипотиреоза у больных ишемической болезнью сердца, прооперированных по поводу аутоиммунного тиреоидита, в отдаленном послеоперационном периоде

Ю.И.Караченцев, Е.В. Мисюра

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

С целью улучшения функциональной способности щитовидной железы в отдаленном послеоперационном периоде у больных ишемической болезнью сердца, прооперированных по поводу аутоиммунного тиреоидита, в комплексе общепринятой терапии использован метод низкоинтенсивной лазеротерапии. Получены положительные результаты, которые наиболее выражены через три месяца после проведенного лечения. В срок наблюдения 6 мес обнаружена тенденция к некоторому ухудшению функциональной способности щитовидной железы, однако в исследуемой группе она оставалась достоверно лучше, чем до лечения, и у больных контрольной группы в этот срок исследования.

Ключевые слова: аутоиммунный тиреоидит, ишемическая болезнь сердца, функциональная способность щитовидной железы, тиреоидные гормоны.

Treatment of hypothyroidism in patients with ischemic heart disease, which were operated in relation to autoimmune thyroiditis, in distant postoperative period

J.I. Karachentsev, E.V. Misura

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

The method of low-intensive laser therapy was used in the complex standard therapy for the improvement of thyroid hormonal status in the distant postoperative period in patients with ischemic heart disease and autoimmune thyroiditis. Positive results have been obtained. They are most expressed three months after the given treatment. The tendency to some deterioration of the thyroid function was found at 6 months of follow-up. It remained statistically better in the group under study, than in patients of control group in this research period and the group under study before the treatment.

Key words: autoimmune thyroiditis, ischemic heart disease, thyroid function, thyroid hormones.

(Надійшла 3.08.2004)

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОРГАННОЇ КУЛЬТУРИ ТА КСЕНОТРАНСПЛАНТАТУ АДЕНОМИ ПРИЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ЛЮДИНИ

І.П.Пастер*, І.А.Балла, О.В.Люткевич, М.Д.Тронько

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

Досліджені морфофункціональні властивості органної культури та ксенотрансплантату аденоми прищитоподібної залози людини. Встановлено, що паратиреоцити зберігають життєздатність та активно секретують паратгормон протягом 5 діб органного культивування. Інкубація з надлишком хлориду кальцію призводить до пригнічення синтезу та секреції гормону, а виразність впливу зростає в процесі культивування. Після підсадки органної культури аденоми прищитоподібної залози щурам з експериментальним гіпопаратиреозом високий рівень паратгормону людини у крові тварин визначається протягом 30 діб. В ксенотрансплантаті життєздатність та функціональну активність зберігали лише головні паратиреоцити. Ксенотрансплантація вірогідно не впливає на рівні загального та вільного кальцію у крові щурів.

Ключові слова: тканина аденоми прищитоподібної залози, органна культура, ксенотрансплантат, морфологія, паратгормон, кальцій.

Найсерйознішим ускладненням радикального хірургічного втручання на щитоподібній або прищитоподібних залозах є стійкий гіпопаратиреоз [1-3], який супроводжується суттєвим погіршенням якості життя пацієнтів [4-5]. Стандартне призначення препаратів кальцію і вітаміну D не завжди здатне достатньо компенсувати захворювання та ускладнення, що пов'язані з гіпопаратиреозом [6]. Замість терапія з використанням паратгормону людини або його синтетичних аналогів знаходиться на стадії клінічного випробування [7]. До того ж, роздріблене введення гормону не може забезпечити гнучку регуляцію виникаючих при гіпопаратиреозі динамічних порушень (в першу чергу, кальцієвого гомеостазу) [8].

Все це зумовлює необхідність пошуку інших шляхів лікування стійкого гіпопаратиреозу, зокрема, за допомогою методу трансплантації прищитоподібних залоз, ефективність якого показана в дослідках на тваринах і в клінічній практиці [9-12]. Однак актуальною залишається проблема недостатньої кількості трансплантативного матеріалу. Вельми перспективним може бути використання для трансплантації тканини паратиреоїдних аденом, з приводу яких виконується переважна більшість операцій на прищитоподібних залозах. Попередити можливі негативні наслідки пересадки тканини аденоми можна за допомогою методу мікроінкапсуляції тканини. Біополімерні капсули з напівпроникними мембранами створюють імунологічний бар'єр між трансплантатом та організмом реципієнта при можливості необмеженої дифузії поживних речовин, кисню, метаболітів, месенджерів і гормонів, що забезпечує збереження функції трансплантату в ізольованому середовищі [13]. Ефективність цього методу була підтверджена при трансплантації нормальної тканини прищитоподібної залози [14-18].

Мета роботи полягала у вивченні морфофункціональної активності органної культури та ксенотрансплантату аденоми прищитоподібної залози людини

* Адреса для листування (Correspondence): Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України, вул. Вишгородська, 69, 04114 Київ, Україна; телефон: (380 44) 431-02-97, факс: (380 44) 430-36-94, E-mail: igor@pasteur.kiev.ua

для оцінки можливості її використання з певними застереженнями в якості трансплантаційного матеріалу.

Матеріали та методи

У хірургічному відділі Інституту ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН України отримували фрагменти аденом прищитоподібної залози людини, які в асептичних умовах очищали від сполучної тканини, промивали 2-3 рази охолодженим середовищем 199 (Інститут поліомієліту, Росія) з антибіотиками (по 100 Од натрієвої солі бензилпеніциліну і 100 мкг сульфату стрептоміцину на 1 мл середовища) та подрібнювали на шматочки, розміром менші 1 мм³. Культивування паратиреоїдної тканини проводили у флаконах з середовищем 199, яке містило 10 % інактивованої ембріональної телячої сироватки ("Сангва", Україна) та антибіотики, при 28-32 °С і постійному обертанні [19]. У частину проб додатково вносили 2,0 ммоль/л хлориду кальцію ("Sigma", США). Зміну середовища робили у перші 3 доби через кожні 12 год, а потім – один раз на добу. Термін культивування не перевищував п'яти днів, оскільки саме в цей строк культури тканини або клітин прищитоподібної залози використовують у трансплантації [10, 12, 14-18].

Для створення моделі гіпопаратиреозу прищитоподібні залози щурів-самців масою 150-180 г видаляли разом з прилеглою частиною щитоподібної залози [16, 20], що пов'язане з анатомічними особливостями розташування цих залоз і найбільш повно відповідає клінічній практиці розвитку сталого гіпопаратиреозу, як одного з можливих ускладнень радикальної операції на щитоподібній залозі [1, 2]. В якості реципієнтів використовували тільки тих щурів, в яких рівень загального кальцію у сироватці крові після тотальної паратиреоїдектомії та при перебуванні на стандартній дієті залишався нижчим, ніж 1,9 ммоль/л [18]. Через 14-18 днів після паратиреоїдектомії здійснювали трансплантацію органної культури прищитоподібної залози в підшкірну жирову основу черевної стінки тварин.

Були проведені гістологічні дослідження 3- та 5-добових органних культур 12 аденом прищитоподібної залози та 10-добового ксенотрансплантату 5-добової органної культури однієї з аденом. Січену тканину аденом, їх органні культури та вилучені ксенотрансплантати фіксували у рідині Буена та фіксаторі Бродського. Парафінові зрізи товщиною 4 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином, вміст РНК у цитоплазмі паратиреоцитів визначали методом Ейнарсона. За допомогою гвинтового окуляр-мікрометра в аденомах, їх органних культурах та ксенотрансплантатах вимірювали діаметр головних секреторних клітин (n=100) і найбільший та найменший діаметри їх ядер для визначення об'єму згідно з формулою:

$$V = 1/6 \times \pi \times D \times d^2,$$

де π – (3,14159...);

D – найбільший діаметр ядра паратиреоцита;

d – найменший діаметр ядра паратиреоцита.

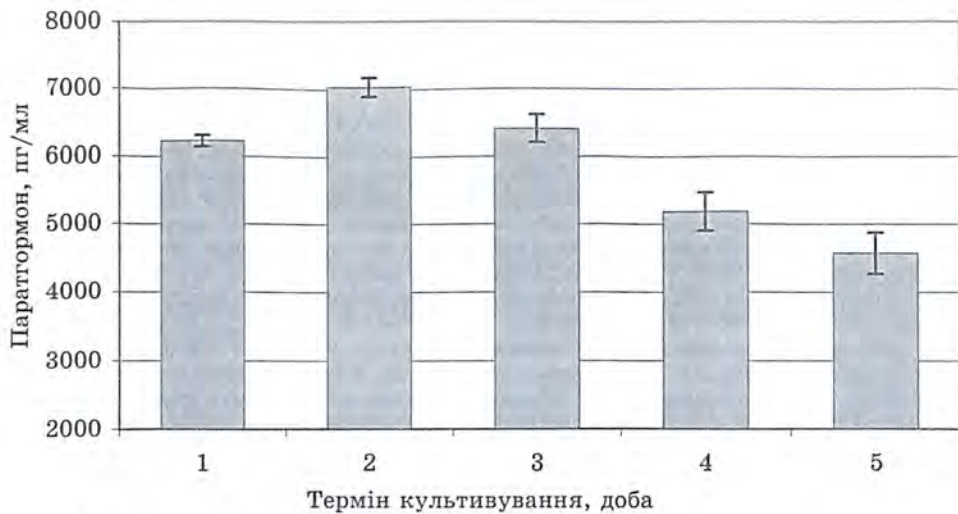
Кількісне визначення паратгормону у середовищі культивування паратиреоїдної тканини і сироватці крові щурів робили за допомогою імуноферментного методу з використанням набору реактивів "Active I-PTH ELISA" ("Diagnostic Systems Laboratories, Inc.", США) та підрахунок поглинання на лічильнику "Multiskan EX" ("Labsystems", Фінляндія), кількісне визначення загального кальцію та білка (для розрахунку вільного кальцію) у сироватці крові тварин – за допомогою кольорової реакції з о-крезолфта-лейн-комплексом та біуретової реакції, відповідно.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням критерію t Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Базальний рівень паратгормону у середовищі культивування тканини аденоми прищитоподібної залози людини має певну залежність від терміну культивування: на другу добу його значення зростає на 13,2 %, після чого впродовж наступних трьох днів рівень гормону поступово знижується до 73,6 % порівняно з показником за першу добу (мал. 1). Враховуючи високі абсолютні значення гормональної активності тканини аденоми за умов *in vitro* (зокрема, середнє значення рівня паратгормону у середовищі культивування паратиреоїдної тканини трьох пацієнтів становить 5811±234 пг/мл), цього достатньо для ефективного використання тканини аденоми прищитоподібної залози для трансплантації.

Проведені гістологічні дослідження показали, що відповідно до гістологічної класифікації [21], 9 з 12 досліджених аденом належали до пухлин з головних секреторних клітин і складались із світлих паратиреоцитів з мілкою базофіль-



Мал. 1. Базальна секреція паратгормону органною культурою аденоми прищитоподібної залози людини.

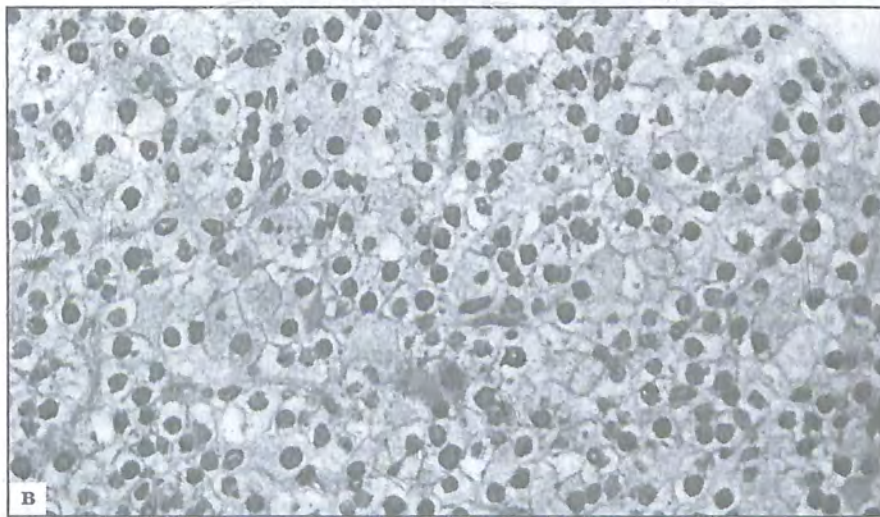
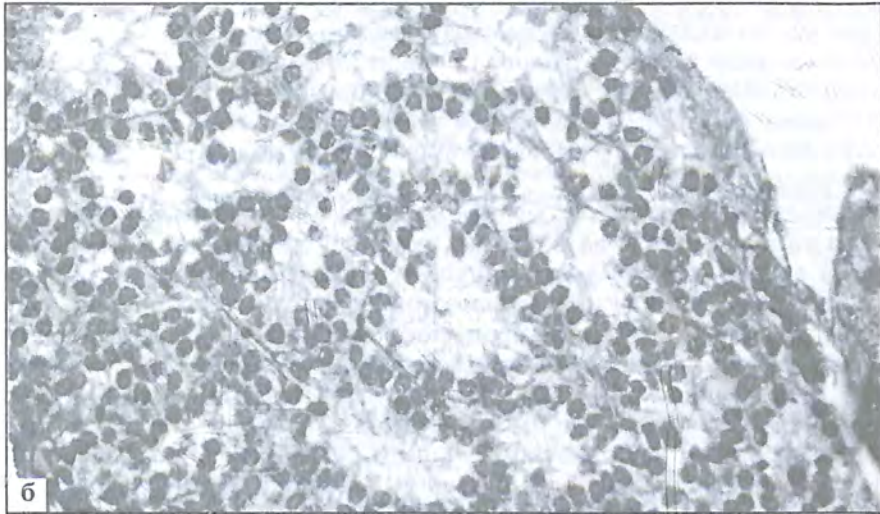
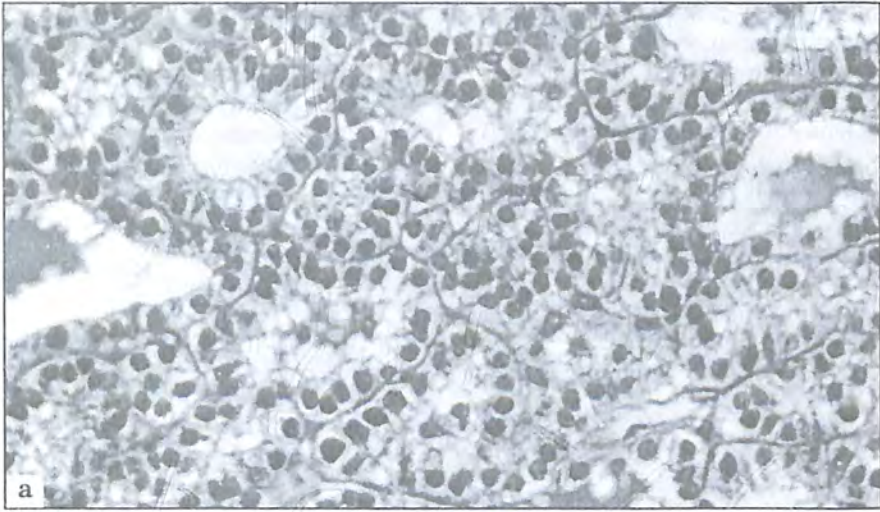
ною зернистістю та вакуолями в цитоплазмі. В 6 аденомах, із зазначених 9, клітини (діаметром 15-17 мкм) характеризувались полігональною формою і утворювали солідні структури. В 3 випадках пухлини мали фолікулярну та залозисту будову. Паратиреоцити були кубічної та трапецієподібної форми і утворювали фолікулоподібні та залозисті структури з порожниною, яка інколи була заповнена прозорою еозинофільною рідиною (мал. 2а). У більшості аденом зустрічались зони водянисто-світлих або блискучих паратиреоцитів з ексцентрично розташованими ядрами. Інколи в аденомах зустрічалась невелика кількість так званих "щільних" паратиреоцитів з щільною еозинофільною цитоплазмою та невеликими гіперхромними ядрами.

Три аденоми, згідно класифікації, за клітинним складом відносились до змішаних. Вони складались з головних світлих паратиреоцитів і значної кількості атипових оксифільних клітин полігональної або круглястої форми з поліморфними гіперхромними, нормохромними або прозорими всередині ядрами та комкуватим хроматином, зосередженим біля ядерної мембрани.

Гістологічна структура 5-добових органних культур аденом з головних світлих клітин майже не зазнавала змін порівняно із некультивованою тканиною і складалась здебільшого з життєздатної залозистої паренхіми із незначними зонами деструкції. В культурах аденом солідної будови контури паратиреоцитів були більш хвилястими, в культурах аденом фолікулярної та залозистої будови клітини мали видовжену, іноді майже веретеноподібну форму, а порожнини "фолікулів" значно зменшувались або зовсім не визначались (мал. 2б). Окремі фрагменти культури містили зони світлих блискучих клітин з базально розташованими ядрами, хвилястими контурами та чіткими межами. "Щільні" паратиреоцити в досліджених нами культурах не спостерігались.

В органних культурах змішаних аденом життєздатність зберігали головні секреторні клітини та частина оксифільних клітин (мал. 2в). Решта оксифільних клітин зазнавала деструктивних змін, проявом яких були ознаки пікнотичної ядер та нечіткість клітинних меж.

Таким чином, протягом 5 діб культивування у всіх досліджених аденомах зберігають життєздатність головні світлі секреторні клітини. Відомо, що саме паратиреоцити із світлою прозорою цитоплазмою, яка містить великі вакуолі, відповідають стану найбільш інтенсивного виведення гормону [22]. Натомість



Мал. 2. Аденома прищитоподібної залози людини: нативна тканина (а) і 5-добова органна культура (б, в). Забарвлення гематоксиліном-еозином. Об.20, ок.10.

оксифільним клітинам аденом прищитоподібної залози здебільшого притаманна низька секреція гормону.

Органне культивування тканини аденоми з надлишковою концентрацією хлориду кальцію (2,0 ммоль/л) на 3-5 добу призводить до зниження рівня паратгормону в середовищі на 7,4-34,4 % (табл. 1). Виразність впливу кальцію зростає в динаміці культивування, а в останній термін дослідження стає вірогідною ($P < 0,05$).

Таблиця 1. Вплив вільного кальцію на рівень секреції паратиреоїдного гормону (пг/мл) органною культурою аденоми прищитоподібної залози людини ($M \pm m$, $n=3$)

Доба культивування	Контроль	Кальцій	Відсоток зниження
3	6411,0 \pm 207,0	5936,0 \pm 167,0	7,4
4	5190,7 \pm 284,2	4181,3 \pm 563,1	19,4
5	4575,3 \pm 303,1	3004,3 \pm 452,7	34,4*

Примітка: * – $P < 0,05$ – вірогідний вплив кальцію.

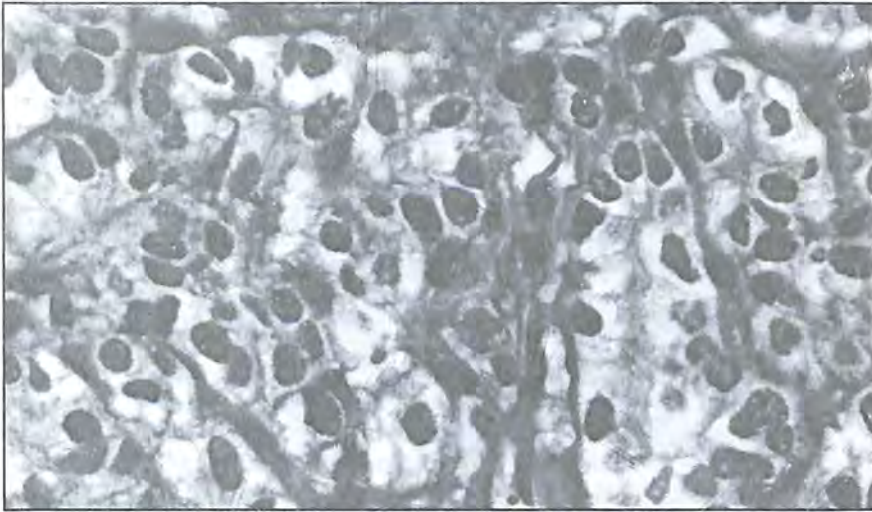
Відомо, що на плазматичній мембрані клітин прищитоподібної залози знаходяться рецептори кальцію, головна роль яких полягає в безперервному контролі секреції паратгормону через активацію протеїнкінази С залежно від концентрації позаклітинного іонізованого кальцію [23]. При тривалих термінах дії кальцію його рецептори відіграють також суттєву роль в регуляції проліферації паратиреоцитів [24].

На нашу думку, відсутність ефекту кальцію в ранні строки культивування пов'язана з використанням патологічної тканини, однією з характерних особливостей якої є нечутливість до зміни рівня позаклітинного кальцію внаслідок порушень передачі сигналу на пострецепторному рівні та неконтрольована секреція паратгормону [25]. Однак в процесі культивування здатність паратиреоїдної тканини реагувати на вплив кальцію поступово відновлюється, що свідчить на користь застосування при трансплантації саме культури тканини. Крім цього, органне культивування є одним із методичних підходів для подолання реакції відторгнення при трансплантації тканини прищитоподібної залози [26].

За даними морфологічного дослідження, на 3 добу культивування тканини аденоми прищитоподібної залози з підвищеною концентрацією кальцію в середовищі (2,0 ммоль/л), інтенсивність забарвлення цитоплазми галоціаніном була меншою у паратиреоцитах досліджуваних культур, ніж у паратиреоцитах контрольних культур, що може свідчити про менший вміст цитоплазматичної РНК, а отже і зменшення функціональної активності клітин. Крім того, відмічались ознаки посилення вакуолізації цитоплазми головних секреторних клітин порівняно з контролем (мал. 3).

Ксенотрансплантація тканини аденоми прищитоподібної залози супроводжується появою паратгормону людини у крові щурів, рівень якого на 8 добу становить 114,87 \pm 38,94 пг/мл ($n=6$) і на 30 – 48,55 \pm 23,35 пг/мл ($n=3$). Враховуючи короткий напівперіод біологічного розпаду паратгормону людини, ці дані свідчать про високу функціональну активність трансплантату аденоми прищитоподібної залози людини в організмі щурів-реципієнтів протягом 30 діб спостереження. Для порівняння, за даними гістологічного дослідження та визначення кальцію в крові реципієнта, життєздатність сингенного трансплантату прищитоподібної залози щурів становить близько 60 діб та аlogenного – 8-20 діб [27].

Ксенотрансплантація тканини аденоми прищитоподібної залози людини не призводить до нормалізації рівнів загального та вільного кальцію в крові щурів, значення яких сягають тільки 86,5-88,8 % порівняно з контролем (табл. 2). Причиною цього може бути як видова специфічність паратгормону, так і



Мал. 3. Вплив кальцію на 3-добову органну культуру аденоми прищитоподібної залози людини. Забарвлення по Ейнарсону. Об.40, ок.10.

Таблиця 2. Вплив ксенотрансплантації органної культури аденоми прищитоподібної залози людини на рівень загального та вільного кальцію (нмоль/л) у сироватці крові щурів з експериментальним гіпаратиреозом ($M \pm m$, $n=4$)

Група тварин	Загальний кальцій	Вільний кальцій
Контроль	$2,29 \pm 0,12$	$1,16 \pm 0,03$
Паратиреоїдектомія	$1,62 \pm 0,04^{**}$	$0,83 \pm 0,03^*$
Ксенотрансплантація	$1,98 \pm 0,18$	$1,03 \pm 0,12$

Примітка: * – $P < 0,001$ і ** – $P < 0,01$ – вірогідний вплив паратиреоїдектомії.

виразна імунологічна реакція організму реципієнта на ксенотрансплантацію доброякісної пухлини, що призводить до суттєвого зниження функціональної активності трансплантату [28-30].

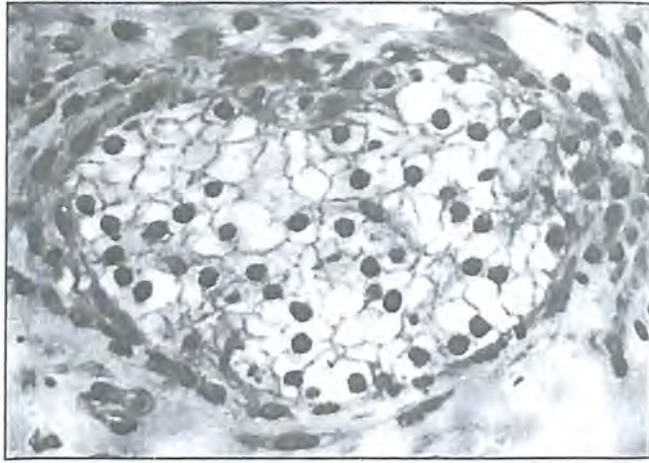
У наших дослідженнях для ксенотрансплантації була використана 5-добова органна культура аденоми прищитоподібної залози людини, яка за клітинним складом належала до змішаних і складалася з світлих клітин полігональної та округлої форми діаметром $8,1 \pm 0,5$ мкм і середнім об'ємом ядер – $42,7 \pm 5,2$ мкм³, та поліморфних оксифільних паратиреоцитів.

10-добовий ксенотрансплантат був представлений досить крупними паратиреоцитами діаметром $11,8 \pm 1,8$ мкм із світлою вакуолізованою цитоплазмою, розташованими невеликими групами по 5-15 клітин або острівцями діаметром до 300 мкм (мал. 4). Клітини тісно прилягали одна до одної, їх межі були досить чіткі. Ядра мали круглясту форму, були дещо гіперхромні, часто з ядерцями. Середній об'єм ядер паратиреоцитів у трансплантанті становив $58,7 \pm 4,5$ мкм³. Оксифільні клітини не визначались.

Висновки

1. Органна культура аденоми прищитоподібної залози людини та її ксенотрансплантат зберігають основні функціональні властивості паратиреоїдної тканини протягом тривалого часу.

2. За умов органного культивування аденоми прищитоподібної залози людини відновлюється чутливість паратиреоїдної тканини до зміни рівня позаклітинного кальцію.



Мал. 4. 10-добовий ксенотрансплантат органної культури аденоми прищитоподібної залози людини. Забарвлення гематоксилином-еозином. Об.20, ок.10.

3. Головні секреторні клітини аденоми прищитоподібної залози людини зберігають основні морфофункціональні властивості за умов органного культивування та після ксенотрансплантації.

4. Тканина аденоми прищитоподібної залози людини (в першу чергу, тканина аденоми з головних клітин) за певних умов може бути використана в якості трансплантаційного матеріалу.

Література

1. Pallotti F., Seregni E., Ferrari L. et al. Diagnostic and therapeutic aspects of iatrogenic hypoparathyroidism // *Tumori*. 2003, 89, N 5, 547-549.
2. Thomusch O., Machens A., Sekulla C. et al. The impact of surgical technique on postoperative hypoparathyroidism in bilateral thyroid surgery: a multivariate analysis of 5846 consecutive patients // *Surgery*. 2003, 133, N 2, 180-185.
3. Rosato L., Avenia N., Bernante P. et al. Complications of thyroid surgery: analysis of a multicentric study on 14,934 patients operated on in Italy over 5 years // *World. J. Surg.* 2004, 28, N 3, 271-276.
4. Hasse C., Sitter H., Brune M. et al. Quality of life and patient satisfaction after reoperation for primary hyperparathyroidism: analysis of long-term results // *World. J. Surg.* 2002, 26, N 8, 1029-1036.
5. Bohrer T., Pasteur I.P., Lyutkevych O.V. et al. Permanent postoperative hypoparathyroidism – an epidemiological clinical study using a new questionnaire instrument // *Журнал АМН України*. 2003, 9, N 3, 476-494.
6. Arlt W., Fremerey C., Callies F. et al. Well-being, mood and calcium homeostasis in patients with hypoparathyroidism receiving standard treatment with calcium and vitamin D // *Eur. J. Endocrinol.* 2002, 146, N 2, 215-222.
7. Winer K.K., Ko C.W., Reynolds J.C. et al. Long-term treatment of hypoparathyroidism: a randomized controlled study comparing parathyroid hormone-(1-34) versus calcitriol and calcium // *J. Clin. Endocrin. Metabol.* 2003, 88, N 9, 4214-4220.
8. Clement B. Parathyroid pathophysiology // *Semin. Perioper. Nurs.* 1998, 7, N 3, 186-192.
9. Tanaka Y., Funahashi H., Imai T. et al. Functional and morphometric study of cryopreserved human parathyroid tissue transplanted into nude mice // *World. J. Surg.* 1996, 20, N 6, 692-699.
10. Tolloczko T., Woniewicz B., Sawicki A. et al. Clinical results of human cultured parathyroid cell allotransplantation in the treatment of surgical hypoparathyroidism // *Transplant. Proc.* 1996, 28, N 6, 3545-3546.
11. Niimi M., Takashina M., Takami H. et al. Experimental parathyroid transplantation: human parathyroid grafts survived and functioned in mice treated with anti-CD4 monoclonal antibody // *Biomed. Pharmacother.* 2000, 54, Suppl. 1, 80-82.

12. Song C., Song Y., Wu L. et al. Allograft transplantation of cultured fetal parathyroid gland cells in treating patients with hypoparathyroidism // *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 2000, 38, N 9, 690-692.
13. Zimmermann U., Mimietz S., Zimmermann H. et al. Hydrogel-based non-autologous cell and tissue therapy // *BioTechniques*. 2000, 29, N 3, 564-581.
14. Hasse C., Schrezenmeir J., Stinner B. et al. Successful allotransplantation of microencapsulated parathyroids in rats // *World J. Surg.* 1994, 18, N 4, 630-634.
15. Hasse C., Klöck G., Schlosser A. et al. Parathyroid allotransplantation without immunosuppression // *Lancet*. 1997, 350, N 9087, 1296-1297.
16. Hasse C., Bohrer T., Barth P. et al. Parathyroid xenotransplantation without immunosuppression in experimental hypoparathyroidism: long-term in vivo function following microencapsulation with a clinically suitable alginate // *World. J. Surg.* 2000, 24, N 11, 1361-1366.
17. Gaumann A., Laudes M., Jacob B. et al. Xenotransplantation of parathyroids in rats using barium-alginate and polyacrylic acid multilayer microcapsules // *Exp. Toxicol. Pathol.* 2001, 53, N 1, 35-43.
18. Lin L., Song Y., Song C. et al. Successful xenotransplantation of microencapsulated newborn pig parathyroid cells in the treatment of hypoparathyroidism in rats // *Chin. Med. J. (Engl)*. 2003, 116, N 8, 1161-1165.
19. Патент № 41736 UA, МПК7 C12N5/00. Спосіб одержання органної культури прищитоподібних залоз / Координаційний центр трансплантації органів, тканин і клітин МОЗ України; Турчин І.С., Дроздович І.І., Бугаєв В.М., Сидоренко Л.М., Україна. З. №449756; Заявл. 01.03.2001; Опубл. 17.09.2001, БД ФГК.
20. Тронько М.Д., Доніч С.Ф., Наумчук Н.С. та ін. Експериментальне дослідження залежності ефекту алотрансплантації прищитоподібної залози від кількості трансплантованої тканини // Проблеми клітинної та тканинної трансплантології: Матер. міжнар. наук.-практ. конф. Івано-Франківськ-Яремча, 3-4 вересня 2003 року. Трансплантологія. 2003, 4, N 1, 110-112.
21. Гистологическая классификация опухолей эндокринной системы. ВОЗ, Женева, 1983. 86 с.
22. Oka T., Onoe K., Matsumiya K. et al. Light microscopical immunohistochemical study on parathyroid adenoma in primary hyperparathyroidism // *Urol. Int.* 1994. 52, N 3, 121-125.
23. Brown E.M. and MacLeod R.J. Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling // *Physiol. Rev.* 2001, 81, N 1, 239-297.
24. Liu W., Ridefelt P., Akerstrom G., Hellman P. Differentiation of human parathyroid cells in culture // *J. Endocrinol.* 2001, 168, N 3, 417-425.
25. Garner S.C., Hinson T.K., McCarty K.S. et al. Quantitative analysis of the calcium-sensing receptor messenger RNA in parathyroid adenomas // *Surgery*. 1997, 122, N 6, 1166-1175.
26. Decker G.A., Stark J.H., Botha J.R. et al. Allograft transplantation of parathyroid cells // *Lancet*. 1995, 345, N 8945, p.124.
27. Timm S., Hamelmann W., Otto C. et al. Influence of donor MHC class I antigen expression on graft survival after rat parathyroid allotransplantation // *Langenbecks Arch. Surg.* 2001, 386, N 6, 430-433.
28. Samstein B., Platt J.L. Xenotransplantation and tolerance // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2001, 356, N 1409, 749-758.
29. Cooper D.K., Gollackner B., Knosalla C., Teranishi K. Xenotransplantation – how far have we come? // *Transpl. Immunol.* 2002, 9, N 2-4, 251-256.
30. Knosalla C., Cooper D.K. Xenotransplantation and tolerance // *Front. Biosci.* 2002, 7, 1280-1287.

Морфофункциональная характеристика органной культуры и ксенотрансплантата аденомы паращитовидной железы человека

И.П.Пастер, И.А.Балла, А.В.Люткевич, Н.Д.Тронько

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

Изучены морфофункциональные свойства органной культуры и ксенотрансплантата аденомы паращитовидной железы человека. Показано, что паратиреоциты сохраняют жизнеспособность и активно секретируют паратгормон на протяжении 5 суток органного культивирования. Инкубация с избытком хлорида кальция приводит к угнетению синтеза и секреции гормона, а выраженность влияния возрастает в процессе культивирования. После подсадки органной культуры аденомы паращитовидной железы крысам с экспериментальным гипопаратиреозом высокий уровень паратгормона человека в крови животных определяется на протяжении 30 суток. В ксенотрансплантате жизнеспособность и функциональную активность сохраняют только главные паратиреоциты. Ксенотрансплантация не оказывает выраженного влияния на уровни общего и свободного кальция в крови крыс.

Ключевые слова: ткань аденомы паращитовидной железы, органная культура, ксенотрансплантат, морфология, паратгормон, кальций.

Morphofunctional characteristics of organ culture and xenograft of human parathyroid adenoma tissue

I.P.Pasteur, I.A.Balla, O.V.Lyutkevych, M.D.Tronko

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

The authors have studied the morphofunctional features of organ culture and xenograft of human parathyroid adenoma. It has been shown that parathyrocytes remain viable and actively secrete parathormone during 5 days. Incubation with excess of calcium chloride results in depressed hormone synthesis and secretion, and reaction intensity grows in the cultivation process. A high level of human parathormone in the blood of rats with experimental hypoparathyroidism is determined during 30 days after transplantation of organ culture of parathyroid adenoma tissue. Only chief parathyrocytes remain viable and functionally active in xenografts. Xenotransplantation has no marked influence on the levels of total and free calcium in rat blood.

Key words: parathyroid adenoma tissue, organ culture, xenograft, morphology, parathormone, calcium.

(Надійшла 4.06.2004)

ЕНДОКРИННІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ ЧИННИКІВ ЕПІФІЗА НА ЦИРКАДІАННИЙ РИТМ ФУНКЦІЇ ТИМУСА У ЛЮДЕЙ ПОХИЛОГО ВІКУ

І.Ф.Лабунець*, Л.В.Магдич, В.Б.Шатило

Інститут геронтології АМН України, 04114 Київ, Україна

Досліджено вплив курсу мелатоніну (добова доза 3 мг, щоденно, за 30 хв перед сном, впродовж 2 тиж) і епіталаміну (5 ін'єкцій, вранці, інтервал 3 доби, разова доза 10 мг) на циркадіанні ритми титру тимічного сироваткового фактора (ТСФ), концентрації мелатоніну, кортизолу і тестостерону у периферичній крові людей похилого віку (60-79 років). Встановлено, що препарати чинили модулюючий вплив на ритм титру ТСФ, а саме: сприяли появі нічного піку показника у разі його відсутності і зберігали існуючий нічний пік. Зростання титру ТСФ вночі співпадало із підвищенням концентрації мелатоніну у крові і зменшенням його акрофази на 3.00, а також із падінням рівня тестостерону і особливо виразно – кортизолу. У людей із збереженим нічним піком титру ТСФ концентрація мелатоніну вночі була високою і не змінилась після прийому чинників епіфіза. Після лікування характер ритмічності титру ТСФ, концентрації мелатоніну, кортизолу і тестостерону, а також значення коефіцієнта кореляційного відношення "η" між цими показниками нагадували такі, що були у молодих людей.

Ключові слова: біоритми, вік, тимічний сироватковий фактор, мелатонін, епіталамін, кортизол, тестостерон.

Порушення біоритмічної активності імунної системи є характерною рисою старіючого організму [1, 2]. Існує думка, що ритми периферичної ланки системи імунітету і ендокринної функції її центрального органа тимуса синхронізовані [3, 4]. При старінні як у людини, так і у тварин функція тимуса слабшає і змінюється її циркадіанний ритм [5, 6]. Тому є обґрунтованим пошук патогенетичних підходів до відновлення останнього при старінні.

Відомо, що імунна система знаходиться під регулюючим впливом нейроендокринної системи, серед утворень якої особливе місце посідає епіфіз [3, 7-9]. В ньому синтезуються біологічно активні чинники індольної та пептидної природи [8, 9]. Характерно, що пептиди залози, а саме епіталамін, підвищують концентрацію мелатоніну в організмі старих тварин [10]. В експериментальних та клінічних дослідженнях показано, що введення мелатоніну і епіталаміну позитивно впливає на стан тимуса і периферичної ланки імунної системи [8, 11-13]. Ми встановили, що у старих тварин епіфізарні чинники здатні також поліпшити циркадіанний ритм ендокринної функції тимуса [6]. Разом з тим, питання про таку можливість у людей похилого віку залишається недостатньо дослідженим.

Беручи до уваги регуляцію епіфізом функціонального стану кори надниркових і статевих залоз, які, в свою чергу, пов'язані із функцією тиміко-лімфатичної системи [7, 14, 15], можливо припустити участь цих залоз у реалізації впливу чинників епіфіза на ритм ендокринної активності тимуса у людей похилого віку. При старінні циркадіанні ритми функції надниркових і статевих залоз змінюються [15, 16].

Мета роботи – дослідити роль мелатонінутворюючої функції епіфіза, глюкокортикоїдів і статевих гормонів у впливі мелатоніну і епіталаміну на вікові

*Адреса для листування (Correspondence): Інститут геронтології АМН України, вул. Вишгородська, 67, 04114 Київ, Україна; e-mail: admin@geront.kiev.ua

зміни циркадіанних коливань ендокринної функції тимуса у людей похилого віку.

Матеріали та методи

Циркадіанні ритми показників вивчені у 26 практично здорових чоловіків і жінок похилого віку (60-79 років), які знаходились в клініці Інституту геронтології АМН України. Від усіх обстежених була отримана згода на проведення відповідних досліджень.

Кров для досліджень брали із ліктьової вени з інтервалом 6 год – о 9.00, 15.00, 21.00 і 3.00. У темний період доби взяття крові здійснювали при червоному світлі. Період обстеження людей – вересень-квітень. Плазму зберігали при -20°C не більше двох місяців.

Пацієнти похилого віку отримували перорально “віта-мелатонін” (ВАТ “Київський вітамінний завод”) у добовій дозі 3 мг, щоденно, за 30 хв перед сном, упродовж 2 тижнів. Така схема забезпечує підтримку в крові концентрації мелатоніну на достатньо високому і стабільному рівні [15]. Епіталамін призначали людям похилого віку за розробленою нами схемою, яка враховувала вікову чутливість імунної системи до його впливу [11]. Курс складався із 5 внутрішньом’язових ін’єкцій, з інтервалом 3 доби, разова доза – 10 мг, курсова – 50 мг. Препарат вводили вранці, оскільки такі ін’єкції призводять до зростання нічної концентрації мелатоніну в епіфізах і крові [10]. Людей обстежували до лікування, а також через 1-2 доби після завершення курсу мелатоніну і епіталаміну.

Ендокринну функцію тимуса оцінювали за титром тимічного сироваткового фактора (ТСФ), який є одним із істинних гормонів залози і визначається рівною мірою як у сироватці, так і у плазмі крові [17, 18]. Результати наводили у вигляді \log_2 титру.

Концентрацію мелатоніну і тестостерону у плазмі крові визначали радіоімунним методом, використовуючи відповідно набори фірми “DPC” (США) та фірми “Белорис” (Білорусія).

Концентрацію кортизолу в плазмі досліджували імуоферментним методом за допомогою наборів фірми “Хема” (Росія).

Статистичну обробку результатів здійснювали відповідно до рекомендацій Г.Ф.Лакіна [19]. Ступінь взаємозв’язку показників вимірювали за величиною коефіцієнта кореляційного відношення “ η ”, особливістю якого є можливість оцінки будь-якої форми кореляційного зв’язку. При цьому керувались тим, що величини $0,3 < \eta < 0,5$ вказували на помірний зв’язок між показниками, $0,5 < \eta < 0,7$ – на значну кореляцію, $0,7 < \eta < 0,9$ – на сильну.

Результати та їх обговорення

Ми раніше встановили, що у молодих людей (20-29 років) о 9.00, 15.00, 21.00 і 3.00 год титр ТСФ склав відповідно $4,3 \pm 0,3$, $3,6 \pm 0,9$, $6,9 \pm 0,7$ і $7,3 \pm 0,9$ [20]. Показники о 21.00 і 3.00 були вищими, ніж о 9.00 та 15.00 ($P < 0,05$). Результати досліджень циркадіанного ритму титру ТСФ у людей похилого віку та його зміни під впливом препаратів епіфіза наведені в табл. 1. У людей до лікування титр ТСФ вдень та вночі не відрізнявся. Причому вночі показник був нижчим, ніж у молодих людей ($P < 0,05$). Після лікування мелатоніном і епіталаміном титр ТСФ значно підвищився о 9.00 та 21.00, але без суттєвої різниці між його значеннями у ці години доби ($P > 0,05$).

Таблиця 1. Титр ТСФ у людей похилого віку в залежності від часу доби і його зміни після курсу мелатоніну та епіталаміну, \log_2

Час доби, год	Мелатонін (n = 9)		Епіталамін (n = 12)	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
9.00	$3,7 \pm 0,5$	$5,3 \pm 0,7^*$	$4,1 \pm 0,6$	$6,0 \pm 0,6^*$
15.00	$2,3 \pm 0,9$	$3,5 \pm 1,4$	$4,4 \pm 0,5$	$4,2 \pm 0,9$
21.00	$4,1 \pm 0,6$	$6,7 \pm 0,8^*$	$4,2 \pm 0,4$	$6,3 \pm 0,8^*$
3.00	$4,1 \pm 0,7$	$5,7 \pm 0,6$	$4,5 \pm 0,5$	$5,8 \pm 0,4$

Примітка: * – $P < 0,05$ у порівнянні з показником до лікування; у дужках – число обстежених людей.

Оскільки для чинників епіфіза властива модулююча дія на імунну та ендокринну системи [11, 21], ми оцінили їх вплив на титр ТСФ в залежності від особливостей його ритму. Так, у 12 із 21 обстежених людей титр ТСФ вночі не зростав (монотонність або інверсія ритму); у інших 9 осіб ми реєстрували підвищення значень показника вночі порівняно із його ранковими величинами від двох до чотирьох разів (відповідно низький і високий піки). В табл. 2 наведені результати впливу препаратів епіфіза на титр ТСФ у тих пацієнтів, у яких до лікування нічний пік показника був відсутній. У цих осіб після курсу мелатоніну і епіталаміну титр ТСФ суттєво виріс о 21.00 і 3.00 та при цьому був вищим значень показника о 9.00 та 15.00 ($P < 0,05$). Після лікування титр ТСФ у людей похилого віку о 21.00 нагадував такий, що характерний для молодих людей ($P > 0,05$).

Таблиця 2. Вплив курсу мелатоніну і епіталаміну на титр ТСФ у людей похилого віку, у яких до лікування нічний пік гормону був відсутній, \log_2

Час доби, год	Мелатонін (n=6)		Епіталамін (n=6)	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
9.00	3,9 \pm 0,8	4,7 \pm 1,1	5,8 \pm 0,7	6,5 \pm 0,5
15.00	-	-	4,0 \pm 0,5	4,3 \pm 0,9
21.00	3,5 \pm 0,7	7,2 \pm 1,2*,**	3,0 \pm 0,7**	7,7 \pm 0,9*#
3.00	-	-	3,8 \pm 0,5**	5,8 \pm 0,7*

Примітка: * – $P < 0,05$ у порівнянні із показником до лікування;
 ** – $P < 0,05$ у порівнянні із 9.00; # – $P < 0,05$ у порівнянні із 15.00; у дужках – кількість обстежених людей.

У людей із низьким нічним піком титру ТСФ (n=4) епіталамін призвів до підвищення його значень вдень та вночі ($P < 0,05$) і при цьому зберіг добову різницю між показниками. Так, о 9.00 і 21.00 титр ТСФ склав до лікування 2,3 \pm 0,5 і 3,7 \pm 0,5 ($P < 0,05$), після лікування – 5,2 \pm 1,9 і 6,2 \pm 1,7, причому вночі показник був таким, як у молодих людей.

Із 5 осіб, у яких титр ТСФ вночі був високим, двоє отримували епіталамін, а троє – мелатонін. У них після лікування препаратами в основному зросли ранкові значення показника, тоді як нічні навіть зменшились у деяких осіб. Наприклад, титр ТСФ о 9.00 і 21.00 до прийому мелатоніну був 2,6 \pm 1,3 і 5,0 \pm 1,7, відповідно, після лікування – 5,3 \pm 1,3 і 3,3 \pm 1,3, відповідно.

Таким чином, у людей похилого віку біологічно активні чинники епіфіза не тільки посилили ендокринну функцію тимуса, але й чинили модулюючий вплив на її ритм (сприяли появі нічної амплітуди титру ТСФ у разі її відсутності, зберігали нічний пік показника, і в ряді випадків при високих значеннях останнього – його зменшували).

На наступному етапі роботи вивчали вплив курсового прийому чинників епіфіза на концентрацію мелатоніну, кортизолу і тестостерону у крові людей похилого віку із різним циркадіанним ритмом ендокринної функції тимуса, а саме – із наявністю і відсутністю нічного піку титру ТСФ (табл. 3, 4). Ми раніше встановили, що у молодих людей концентрація мелатоніну о 9.00, 15.00, 21.00 та 3.00 склала відповідно 112,2 \pm 32,7 пмоль/л, 169,4 \pm 33,1 пмоль/л, 273,9 \pm 55,5 пмоль/л і 553,4 \pm 162,9 пмоль/л [20]. О 21.00 показник вищий, ніж о 9.00, а о 3.00 – вищий, ніж о 9.00 і 15.00 ($P < 0,05$). Із даних табл.3 видно, що у тих людей похилого віку, у яких ми не реєстрували нічного піку титру ТСФ до лікування, порушення ритмічності концентрації мелатоніну у крові характеризувалось зниженням нічних значень показника порівняно із моло-

Таблиця 3. Концентрація мелатоніну (пмоль/л) у плазмі крові людей похилого віку до і після лікування препаратами епіфіза, у яких ритм ендокринної функції тимуса був монотонним або інвертованим

Час доби, год	Мелатонін (n=6)		Епіталамін (n=6)	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
9.00	43,9±15,9	123,4±57,6	44,3±23,2	70,1±42,6
15.00	19,8±2,6	20,6±4,2	20,2±4,9	23,2±3,0
21.00	55,5±24,9	228,7±69,4	133,3±52,4*	69,7±22,8
3.00	59,3±43,9	475,2±223,7	71,8±17,6*	251,1±105,2*

Примітка: *– P<0,05 у порівнянні із 15.00; у дужках – кількість обстежених людей.

Таблиця 4. Концентрація кортизолу і тестостерону (нмоль/л) у плазмі крові людей похилого віку в залежності від часу доби до і після курсового прийому мелатоніну

Час доби, год	Кортизол (n = 9)		Тестостерон (n = 7)	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
9.00	208±45	279±30	14,0±5,0	14,4±7,5
21.00	230±52	110±30*	14,7±5,6	8,8±2,9

Примітка: *– P<0,05 у порівнянні із показником о 9.00.

дими людьми (P<0,05), а також зміщенням акрофази на 21.00. Після прийому препарату “Мелатонін” концентрація мелатоніну у крові зросла у нічні години доби і не відрізнялась від значень у молодих людей (P>0,05). Епіталамін спричинив зростання рівня гормону о 3.00, причому останній у 4 із 6 пацієнтів відповідав значенням у молодих людей (432,6±284,6 пмоль/л, P>0,05). Характерно, що після лікування препаратами епіфіза акрофаза концентрації мелатоніну ми реєстрували о 3.00, як і у молодих людей.

У людей похилого віку, у яких був нічний пік титру ТСФ (n=5), концентрація мелатоніну о 9.00, 21.00 і 3.00 до лікування епіталаміном склала 32,3±5,6 пмоль/л, 150,1±99,8 пмоль/л і 234±100,8 пмоль/л, відповідно; після лікування – 32,7±9,0 пмоль/л, 110,5±52,0 пмоль/л і 231±83,6 пмоль/л, відповідно. Як до лікування, так і після нього концентрація гормону о 3.00 була значно вищою, ніж о 9.00 (P<0,05).

Концентрація кортизолу і тестостерону у крові вдень та вночі не відрізнялась у тих людей, у яких ритм титру ТСФ був монотонним (див. табл. 4). Після курсового прийому мелатоніну концентрація тестостерону і кортизолу вночі зменшилась, причому останнього – суттєво.

Результати визначення коефіцієнта кореляційного відношення “η” між концентрацією гормонів у крові людей похилого віку до і після лікування чинниками епіфіза наведені в табл. 5. Ми раніше встановили, що у молодих людей “η” між титром ТСФ, з одного боку, і концентрацією мелатоніну, кортизолу і тестостерону, з іншого, склав відповідно 0,86±0,06, 0,65±0,12 і 0,68±0,17 (P<0,05) [20]. У людей похилого віку кореляційний зв’язок між концентрацією мелатоніну і титром ТСФ стає меншим, ніж у молодих людей (P<0,05), послаблюється кореляція між рівнем кортизолу і титром ТСФ і посилюється – між останнім і концентрацією тестостерону. Після лікування чинниками епіфіза спостерігалось посилення зв’язку між концентрацією мелатоніну і титру ТСФ, причому після прийому мелатоніну до значень, які реєструвались у мо-

Таблиця 5. Вплив чинників епіфіза на значення коефіцієнта кореляційного відношення “ r ” між рівнями гормонів у крові людей похилого віку

Гормони	Мелатонін	Кортизол	Тестостерон
До лікування			
ТСФ	0,48±0,10*	0,38±0,20	0,81±0,11*
Після лікування мелатоніном			
ТСФ	0,94±0,03*#	0,72±0,06*	0,71±0,19*
Після лікування епіталаміном			
ТСФ	0,58±0,15*	-	-

Примітка: * – різниця між показниками статистично вірогідна ($P < 0,05$); # – $P < 0,05$ у порівнянні із показником до лікування.

лодих людей. Лікування мелатоніном призвело до появи кореляції між рівнем кортизолу і титром ТСФ.

Таким чином, у людей похилого віку чинники епіфіза поліпшили порушені циркадіанні ритми мелатонінутворюючої функції епіфіза і глюкокортикоїдної функції кори надниркових залоз. Зміни ритму концентрації статевих гормонів були менш помітними. До і після лікування препаратами концентрації мелатоніну, кортизолу і тестостерону кореляційно зв’язані із титром ТСФ.

Відомо, що мелатонін в організмі виконує роль основного сигналу, який узгоджує ритми функцій імунної та ендокринної систем із коливаннями освітлення і температури навколишнього середовища [9, 13, 14]. У обстежених нами людей похилого віку прийом препарату “віта-мелатонін” перед сном, як і ранкові ін’єкції епіталаміну, призвели до суттєвого зростання концентрації мелатоніну у периферичній крові в нічний час доби. Клінічні результати узгоджуються із експериментальними даними [10]. Оскільки вікові порушення ритмічності коливань концентрації мелатоніну передумовлюють зміни ритму титру ТСФ [2], а після лікування чинниками епіфіза напрямок змін рівня ТСФ і мелатоніну, як і кореляційний зв’язок між ними, посилюється, можна вважати, що у людей похилого віку не тільки порушення, але й поліпшення циркадіанних ритмів мелатонінутворюючої функції епіфіза і ендокринної функції тимуса взаємозв’язані. На думку P. Molinero et al. [13], мелатонін є одним із чинників, який в організмі відповідає за підвищення концентрації тимічних гормонів у крові як у тварин, так і у людини.

Механізм посилюючого впливу мелатоніну і епіталаміну на ендокринну функцію тимуса старого організму може бути безпосереднім [22]. Не виключається і опосередкований шлях дії чинників епіфіза на залозу, а саме – через гіпоталамо-гіпофізарно-надниркову систему [12, 14, 15]. Ми встановили, що у молодих людей зростання концентрації мелатоніну і титру ТСФ вночі відбувалось на тлі значного зниження концентрації кортизолу у крові [20]. Разом з тим, треба зазначити, що у дорослому організмі фазові відносини функцій тимуса та кори надниркових залоз складні і включають як пригноблюючу дію глюкокортикоїдів на рівень тимічного гормону, так і стимулюючий вплив останнього на рівень кортизолу [7, 20, 23].

При старінні порушується не тільки ритмічність коливань концентрації цих гормонів, але й фазові відносини між ними. Монотонність циркадіанного ритму концентрації кортизолу у людей похилого віку частково пов’язана із віковим порушенням центральних холінергічних і серотонінергічних шляхів регуляції, які включаються у нічну активацію АКТГ-секретуючої системи і знаходяться під регулюючим впливом епіфіза [15, 16]. У свою чергу, у людей похилого віку курсовий прийом чинників епіфіза поліпшив фазові відносини

коливань тимічного гормону і кортизолу, що частково пояснюється відновленням балансу нейромедiatorів у гіпоталамусі і чутливості рецепторів клітин тимуса до регуляторного впливу глюкокортикоїдів [12, 24].

Для молодих людей характерні циркадіанні коливання концентрації тестостерону із піком значень гормону вранці і зниженням у вечірній час доби, тоді як у людей похилого віку його ритм стає монотонним [16]. Існування рецепторів до останнього в епітеліальному компоненті тимуса [7], а також кореляційний зв'язок між титром ТСФ і концентрацією тестостерону у молодих людей, безперечно, підтверджують важливість статевих гормонів для підтримування у них циркадіанного ритму ендокринної функції тимуса. Наявність зв'язку між рівнем тимічних і статевих гормонів у людей похилого віку як до лікування, так і після нього свідчить про значущість останніх для зміни ритму ендокринної функції тимуса і в старому організмі.

Отримані результати підтверджують значення індольних і пептидних чинників епіфіза в механізмі порушень циркадіанного ритму ендокринної функції тимуса у людей похилого віку. Їх дія значною мірою опосередкована зміною ритмічності стану надниркових і статевих залоз. Результати можуть бути основою для призначення мелатоніну і епіталаміну з метою корекції порушених ритмів функціонування ендокринної та імунної систем. Використання цих чинників в експерименті підтвердило їх позитивний вплив на змінену ритмічність функцій тимуса, кори надниркових і статевих залоз старіючого організму [25].

Висновки

1. У людей похилого віку порушення циркадіанного ритму титру ТСФ характеризувались монотонністю, інверсією, зменшенням нічної амплітуди і були зв'язані із зміною ритмічності мелатонінутворюючої функції епіфіза, функції кори надниркових та статевих залоз.

2. Курсовий прийом мелатоніну і епіталаміну спричинив не тільки підвищення титру ТСФ у крові, але й зміну його циркадіанного ритму. Вплив препаратів на вміст ТСФ був модулюючим.

3. Зміни ритмічності ендокринної функції тимуса у людей похилого віку, що отримали препарати епіфіза, опосередковані змінами ритмічних коливань концентрації мелатоніну, кортизолу і тестостерону.

Література

1. Casale G., P.de Nicola. Circadian rhythms in the aged: a review // Arch. Gerontol. Geriatr. 1984, 3, 267-284.
2. Labunets I.F. Age-related biorhythmical dysfunction of the pineal gland, thymus and hypophyseal-adrenal system in healthy subjects // Aging: Immunology and Infectious Disease. 1996, 6, N 3, 167-176.
3. Труфакин В.А., Шурлыгина А.В. Циркадная организация нейроэндокринной регуляции иммунного гомеостаза // В кн.: Иммунофизиология. Под ред. Е.А. Корневой. СПб.: Наука, 1993, 465-502.
4. Лабунец І.Ф. Вікові зміни циркадних і циркануальних коливань величини імунної відповіді та числа клітин у лімфоїдних органах тварин: можливий зв'язок з факторами тимуса // Фізіол. журн. 2001, 47, № 5, 54-62.
5. Лабунец І.Ф. Возрастные особенности ритмических колебаний эндокринной функции тимуса у животных // Журн. АМН Украины. 2000, 6, № 4, 783-791.
6. Лабунец І.Ф. Вплив факторів епіфіза на ритмічні коливання ендокринної функції тимуса при старінні // Буков. мед. вісник. 2002, 6, № 3-4, 168-171.
7. Savino W., Artz E., Dardenne M. Immuno-neuroendocrine connectivity: the paradigm of the thymus-hypothalamus-pituitary axis // Neuroimmunomodulation. 1999, 6, 126-136.
8. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Пептиды эпифиза и тимуса в регуляции старения. СПб: ИКФ "Фолиант", 2001. 160 с.

9. Reiter R.J. Experimental observations related to the utility of melatonin in attenuating age-related diseases // *Успехи геронтологии*. 1999, вып.3, 121-132.
10. Бондаренко Л.А., Анисимов В.Н. Возрастные особенности влияния эпиталамина на метаболизм серотонина в шишковидной железе у крыс // *Бюл. эксперим. биол. мед.* 1992, 63, № 2, 194-195.
11. Бутенко Г.М., Коркушко О.В., Лабунец И.Ф. и др. Влияние пептидного фактора эпифиза на возрастные изменения функций иммунной системы: клинико-экспериментальное исследование // *Журн. АМН Украины*. 2002, 8, № 3, 457-471.
12. Лабунец И.Ф., Бутенко Г.М., Хавинсон В.Х. и др. Регулирующее влияние пептидов эпифиза на развитие Т-лимфоцитов у мышей линии СВА при старении: роль микроокружения органов иммунной системы и нейроэндокринных факторов // *Успехи геронтологии*. 2003, вып. 12, 111-120.
13. Molinero P., Soutto M., Benot S et al. Melatonin is responsible for the nocturnal increase observed in serum and thymus of thymosin alpha1 and thymulin concentrations in rats and in humans // *J. Neuroimmunol.* 2000, 103, N 2, 180-188.
14. Touitou Y. Human aging and melatonin. Clinical relevance // *Exp. Gerontol.* 2001, 36, N 7, 1083-1100.
15. Ferrari E., Arcaini A., Gornati R. et al. Pineal and pituitary-adrenocortical function in physiological aging and in senile dementia // *Exp. Gerontol.* 2000, 35, N 9-10, 1239-1250.
16. Touitou Y., Bogdan A., Haus E., Touitou C. Modifications of circadian and circannual rhythms with aging // *Exp. Gerontol.* 1997, 32, N 4/5, 603-614.
17. Bach J.F., Dardenne M., Bach M.A. Demonstration of a circulation thymic hormone in mouse and in man // *Transplant. Proc.* 1973, 1, N 1, 99-104.
18. Иммунобиология гормонов тимуса. Под ред. Ю.А. Гриневича, В.Ф. Чеботарева. К.: Здоров'я, 1989. 152 с.
19. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1973. 343 с.
20. Лабунец І.Ф., Шатило В.Б., Магдич Л.В. Циркадіанні взаємовідносини функцій тимуса, епіфіза та гіпофізарно-надниркової системи у молодих людей і людей похилого віку // *Ендокринологія*. 2004, 9, № 1, 70-77.
21. Анисимов В.Н. Средства профилактики преждевременного старения (геропротекторы) // *Успехи геронтологии*. 2000, вып. 4, 55-74.
22. Лабунец И.Ф., Бутенко Г.М., Драгунова В.А., Азарскова М.В. Влияние in vitro факторов эпифиза на способность тимуса к секреции гормонов и клеточный состав костного мозга взрослых и старых мышей линии СВА // *Пробл. старения и долголетия*. 2003, 12, № 4, 343-348.
23. Магдич Л.В., Лабунец И.Ф., Терешина О.П., и др. Возрастные особенности взаимодействия тимуса и коры надпочечников // *Пробл. старения и долголетия*. 2001, 10, № 4, 345-351.
24. Saintz R.M., Mayo J.C., Reiter R.J. et al. Melatonin regulates glucocorticoid receptor: an answer to its antiapoptotic action in thymus // *FASEB. J.* 1999, 13, N 12, 1547-1556.
25. Лабунец І.Ф., Магдич Л.В., Жеребицький В.О. Епіфіз і вікові порушення ритмічних коливань функції надниркових і статевих залоз у тварин // *Ендокринологія*. 2003, 8, № 1, 85-92.

Эндокринные механизмы влияния факторов эпифиза на циркадианный ритм функции тимуса у людей пожилого возраста

И.Ф.Лабунец, Л.В.Магдич, В.Б.Шатило

Институт геронтологии АМН Украины, 04114 Киев, Украина

Исследовано влияние мелатонина (суточная доза 3 мг, ежедневно, за 30 мин до сна, в течение 2 недель) и эпителина (5 инъекций, утром, интервал 3 суток, разовая доза 10 мг) на циркадианные ритмы титра тимического сывороточного фактора (ТСФ), концентрации мелатонина, кортизола и тестостерона в периферической крови людей пожилого возраста (60-79 лет). Установлено, что препараты оказали модулирующее действие на ритм титра ТСФ (способствовали появлению ночного пика показателя в случае его отсутствия и сохраняли существующий ночной пик). Увеличение титра ТСФ ночью совпадало с повышением концентрации мелатонина в крови и смещением его акрофазы на 3.00, а также с падением уровня тестостерона и особенно выражено – кортизола. У людей с сохраненным ночным пиком титра ТСФ концентрация мелатонина ночью была высокой и не изменилась после приема факторов эпифиза. После лечения характер ритмичности титра ТСФ, концентрации мелатонина, кортизола и тестостерона, а также значения коэффициента корреляционного отношения “ η ” между этими показателями напоминали таковые у молодых людей.

Ключевые слова: биоритмы, возраст, тимический сывороточный фактор, мелатонин, эпителин, кортизол, тестостерон.

The endocrine mechanisms of the pineal factors influence on circadian rhythm of the thymus function in old persons

I.F.Labunets, L.V.Magdich, V.B.Shatilo

Institute of Gerontology of AMS, 04114 Kyiv, Ukraine

The effects of melatonin (daily dose of 3 mg, every day, 30 min before sleep, during 2 weeks) and epithalamine (5 injections in the morning with a 3-day interval, a single dose of 10 mg) on circadian rhythms of the titer of thymic serum factor (TSF), concentrations of melatonin, cortisol and testosterone in peripheral blood of old persons (60-79 years of age) were investigated. It has been established that the preparations had modulating effect on the rhythm of TSF titer (they contributed to nocturnal peak, if it had not been registered before and preserved the existing one). An increase in nocturnal TSF titer was accompanied by an increased blood melatonin concentration and a shift in its acrophase to 3.00, a decrease of testosterone and especially cortisol level was also shown. In subjects with preserved nocturnal peak of TSF titer melatonin concentration at night was high and remained the same after administration of pineal factors. Following the treatment course rhythms of TSF titer, concentrations of melatonin, cortisol and testosterone as well as correlation coefficient “ η ” were close to those in young persons.

Key words: biorhythms, age, thymic serum factor, melatonin, epithalamine, cortisol, testosterone.

(Надійшла 25.03.2004)

ДІАГНОСТИКА І КЛІНІЧНІ ОЗНАКИ ПЕРВИННОГО ГІПЕРПАРАТИРЕОЗУ У ДІТЕЙ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ І ВЛАСНІ СПОСТЕРЕЖЕННЯ)

Г.А.Дерев'янку, І.Ю.Шевченко, О.В.Большова, Д.І.Дерев'янку

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

В статті обговорюються особливості перебігу первинного гіперпаратиреозу у дітей. Розглядається роль клінічних, лабораторних та інструментальних методів дослідження в ранній діагностиці гіперпаратиреозу. Особлива увага приділяється необхідності ранньої діагностики захворювання для поліпшення прогнозу і якості життя дітей з цим рідкісним захворюванням. Наведений випадок захворювання на гіперпаратиреоз у дівчинки 15 років.

Ключові слова: первинний гіперпаратиреоз, аденома прищитоподібних залоз, остеопороз, гіперкальціємія.

Етіологія та патогенез гіперпаратиреозу у дітей

Первинний гіперпаратиреоз – це хронічне ендокринно-обмінне захворювання, патобіохімічною основою якого є порушення фосфорно-кальцієвого обміну, що розвивається внаслідок надлишкової продукції паратиреоїдного гормону (ПТГ) гіперплазованими або зміненими пухлиною прищитоподібними залозами [1]. Раніше первинний гіперпаратиреоз вважався рідкісним важким захворюванням, при якому виразні біохімічні, ниркові та скелетні ознаки були наявні вже на час встановлення діагнозу. За останні десятиріччя показано, що реальна частота первинного гіперпаратиреозу (ПГПТ) доволі значна, від 25 до 28 випадків на 100 тис. населення [2].

Захворюваність на ПГПТ в загальній популяції становить 0,1-2 % [1, 3]. Первинний гіперпаратиреоз зазвичай діагностується в старших вікових групах, але зустрічається і в дитячому віці. Вітчизняні та іноземні автори не наводять точних даних стосовно частоти цього захворювання в дитячому віці. Пацієнти у віці до 30 років складають не більше 3,5 % від загальної кількості хворих на первинний гіперпаратиреоз, середній вік пацієнтів цієї вікової групи становить 23 роки [4]. В інших серіях спостережень вік хворих коливався від 9 до 19 (середній – 17 років) [5, 6]. Описані поодинокі випадки неонатального ПГПТ [7]. Рідкісність цього захворювання у дітей спричиняє проблеми у своєчасній діагностиці і, як наслідок, лікуванні.

Причиною первинного гіперпаратиреозу є аденома одної або декількох залоз, рідше – дифузна гіперплазія усіх чотирьох залоз; приблизно половина випадків з ураженням декількох залоз є проявом спадкових синдромів, зокрема МЕН-1 і МЕН-2А. Паратиреоїдна карцинома виявляється не більше ніж у 1 % хворих [2].

ПГПТ у дорослих пацієнтів часто розвивається роками і без своєчасного лікування призводить до інвалідизації, а інколи, до смерті хворих внаслідок ниркової недостатності, серцево-судинних розладів або гострого гіперпаратиреозу.

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

реозу. ПГПТ у дітей і підлітків характеризується більш виразними клінічними ознаками, біохімічними порушеннями і патоморфологічними змінами [8].

Причини гіперплазії, аденоматозу або раку прищитоподібних залоз в переважній більшості випадків залишаються невідомими. Певну роль у виникненні цього захворювання відіграють екзогенні та ендогенні чинники, такі як гостра і хронічна інтоксикація, тривалий прийом деяких ліків, несприятливі екологічні умови. Існує теорія про автоімунну природу ПГПТ, оскільки були отримані моноклональні антитіла до паратиреоїдної тканини, які здатні стимулювати продукцію ПТГ [3].

Виділяють 3 форми ПГПТ:

- 1) спорадична,
- 2) сімейна з МЕН-1 або МЕН-2,
- 3) сімейна без МЕН (сімейний ізольований).

Сімейна ізольована форма ПГПТ – доволі рідкісне захворювання, майже завжди проявляється до 10-річного віку дитини. Таких хворих часто відносять до числа пацієнтів з синдромом МЕН або у них помилково діагностують сімейну доброякісну гіпокальциуричну гіперкальціємію. ПГПТ є найчастішим проявом синдромів МЕН і спостерігається у 20-30 % пацієнтів з МЕН-2А, рідше – з МЕН-2В. При МЕН-1 ПГПТ спостерігається більше ніж у 95 % хворих, звичайно є першим проявом синдрому і до 40 років виявляється у 100 % пацієнтів [9].

Гіперпаратиреоз у немовлят надзвичайно рідкісне захворювання. Етіологічними чинниками в цьому випадку виступають або гіперплазія прищитоподібних залоз внаслідок гіпопаратиреозу у матері, або спадкова гіперплазія прищитоподібних залоз. Неонатальний сімейний гіперпаратиреоз має автосомно-рецесивний тип успадкування. У дітей старшого віку причиною ПГПТ частіше за все є аденома, і лише в 20 % випадків – дифузна гіперплазія прищитоподібних залоз [5, 10].

Ранні ознаки ПГПТ у дітей і підлітків дозволяють зробити припущення, що ці пухлини прищитоподібних залоз відрізняються за своєю будовою від пухлин, які зустрічаються у старшому віці [11].

Первинним патофізіологічним чинником ПГПТ звичайно виступає хронічна гіперсекреція ПТГ, під впливом якої знижується ниркова екскреція кальцію, підсилюється кліренс фосфату і синтез гідроксихолекальциферола – активної форми вітаміну D, який стимулює всмоктування кальцію в шлунково-кишковому тракті і, водночас, взаємодіючи з ПТГ, прискорює мобілізацію кальцію з кісток. В результаті виникає гіперкальціємія, яка є провідним патобіохімічним чинником та основною лабораторною ознакою ПГПТ. Остеотропний вплив надлишку ПТГ проявляється специфічними кістково-дистрофічними процесами, які зветься фіброзно-кістозною дисплазією, а також поширеним деформуючим остеоартрозом, системним остеопорозом або хондрокальцинозом [3].

Зміни з боку нирок на початкових етапах проявляються функціональними порушеннями з приєднанням надалі нефрокалькульоза і нефрокальциноза, ниркової недостатності.

Клінічна картина гіперпаратиреозу в дитячому віці

Клінічна картина первинного гіперпаратиреозу відрізняється поліморфністю змін з боку більшості органів і систем.

Клінічні прояви первинного гіперпаратиреозу у дітей поділяють на:

1. Гастроінтестинальні.
2. Прояви з боку ЦНС.
3. Нервово-м'язові ознаки.

4. Кісткові ознаки.

5. Ниркова симптоматика.

В залежності від переважання тих чи інших ознак виділяють кісткову, ниркову, серцево-судинну, нервово-психічну, суглобову та міопатичну форми захворювання.

У перебігу ПГПТ вирізняють асимптоматичні (доклінічні) форми. Зустрічаються також рідкісні, атипові форми: псевдомістенічна, міалгічна, шкірно-алергічна, ревматоподібна [2, 3]. Існує точка зору, що слід виділяти ще і манифестну форму хвороби, яка вражає всі “тропні” органи і системи організму, і яка характеризується злоякісним прогресуючим перебігом, швидким розвитком ускладнень гіперкальціемії і несприятливим прогнозом [1].

У більшості дітей з ПГПТ на перший план виступають неспецифічні скарги, такі як слабкість, анорексія, дратівливість, болі в животі, нудота, схуднення.

Гастроінтестинальні прояви (насамперед пов’язані зі ступенем гіперкальціемії) – це нудота, блювота, відчуття дискомфорту у шлунку і ознаки панкреатиту. Значно рідше ознакою первинного гіперпаратиреозу є виразкова хвороба шлунка і дванадцятипалої кишки, панкреатит, холецистит [12].

Ознаки з боку центральної нервової системи, які спричинені гіперкальціемією, – це порушення свідомості, галюцинації, порушення пам’яті, депресія [5, 10, 13].

Нервово-м’язові ознаки включають в себе слабкість, легку втомлюваність і атрофію м’язів (особливо проксимальних м’язів нижніх кінцівок), посмикування язика, парестезії.

Остеолітична активність ПТГ призводить до кісткових ознак, які проявляються у вигляді болю в кістках, м’язах і суглобах, численних переломів, які виникають спонтанно або в результаті невеликих ушкоджень, а також у зміні росту, зміні довжини кінцівок, у вигляді генералізованого остеопорозу. У цих хворих відмічаються деформації кінцівок, вкорочення хребта, виникнення кіфозу, що веде до зменшення росту хворого. Типовими локалізаціями остеопоротичних переломів є переломи тіл хребців (компресійні переломи), дистальних відділів променевої кістки (перелом Колліса), проксимальних відділів стегнової та плечової кісток [14].

Ниркові зміни на ранніх стадіях захворювання – це поліурія і полідипсія, які пов’язані з гіперкальціемією і збільшеною фільтрацією кальцію. На пізніх стадіях розвиваються нефролітіаз, ниркові коліки (через виникнення камінців у нирках) і рідше – нефрокальциноз, який призводить до ниркової недостатності, гіпертензії. У дітей частіше, ніж у дорослих, порушується здатність нирок до концентрації сечі, а також частіше виникають порушення функції нирок.

Основні ознаки неонатального первинного гіперпаратиреозу – це проблеми вигодовування, втрата ваги, дегідратація, гіпотонія, респіраторний дистрес через поганий розвиток реберного каркасу і анемія. Часто спостерігаються резорбція кісток, порушення епіфізального остеогенезу, переломи довгих кісток. У немовлят гіперкальціемія більш виразна і літіаз нирок зустрічається рідше, ніж у старших дітей. Часто при гіперпаратиреозі у немовлят спостерігається аміноацидурія [15]. Прогноз при цій формі захворювання несприятливий. Хвороба швидко прогресує і за відсутності адекватного лікування дитина помирає в перші 2-7 місяців життя [4].

Діагностика гіперпаратиреозу у дітей

Діагностика ПГПТ у дітей ускладнюється поліморфністю проявів, комплексом неспецифічних скарг і симптомів. При виявленні хворих з ПГПТ завжди слід враховувати можливість його розвитку в рамках синдрому МЕН. Разом з тим, лікарі повинні знати, що первинний гіперпаратиреоз може зустрічатися

у молодих пацієнтів з необтяженим сімейним анамнезом і характеризується широким спектром клінічних ознак [8].

Враховуючи вищезгадане, у дітей з сечокам'яною хворобою, остеопорозом, виразковою хворобою, пухлинами кісток, повторними переломами, хронічними закріпами, анемією, поліурією, полідипсією, артеріальною гіпертензією невизначеної етіології обов'язково треба проводити визначення рівня кальцію і фосфору у сироватці. Це обстеження слід також робити у дітей, які мають пухлини на шиї [1].

Для ПГПТ характерною є гіперкальціємія (особливо підвищення рівня іонізованого кальцію), гіпофосфатемія, підвищений рівень лужної фосфатази сироватки, гіперкальциурія, низька відносна щільність сечі [3]. Лужна фосфатаза асоціюється із кістковим формуванням і є одним з найбільш ранніх маркерів діяльності остеобластів. Зростання вмісту цього ферменту у сироватці крові спостерігається при первинному та вторинному гіперпаратиреозі і остеомаляції, а різке збільшення її рівня – при хворобі Педжета і кісткових метастазах [13].

Важливим тестом при встановленні діагнозу ПГПТ є визначення рівня паратиреоїдного гормону, який при цьому захворюванні значно перевищує норму (12-62 пг/мл).

Оскільки симптоми з боку опорно-рухового апарату нерідко домінують в клінічній картині захворювання, в клінічній практиці використовують цілий ряд методів, спрямованих на вивчення стану кісткової тканини і визначення ступеня остеопорозу. Найпоширенішим і загальноприйнятим методом діагностики остеопорозу в нашій країні є візуальна оцінка прозорості і структури кістки на рентгенограмах. Незважаючи на доступність остеоденситометричної техніки і широке використання нових остеоденситометричних технологій, класичне рентгенологічне обстеження лишається незамінним, оскільки уможливорює швидке проведення диференціального діагнозу та дозволяє поставити нозологічний діагноз [13]. Рентгенограми при ПГПТ зазвичай показують генералізовану демінералізацію кісток, субперіостальну резорбцію фаланг і ключиць, ураження черепа, тазових і довгих кісток, хондрокальциноз.

Для кількісної оцінки мінеральної щільності кісток використовують кісткову денситометрію. Найбільше поширення отримали рентгенівська і ультразвукова денситометрія та кількісна комп'ютерна томографія [13, 14].

Наявність клінічних і лабораторних ознак гіперпаратиреозу звично служить сигналом для клініциста щодо цілеспрямованого пошуку патологічних новоутворень прищитоподібних залоз [2]. Одним з методів візуалізації цих новоутворень є УЗД з високою розпізнавальною здатністю. Однак негативні результати УЗД за наявності клінічних і лабораторних ознак ПГПТ не повинні бути приводом до припинення діагностичного пошуку [16]. В складних випадках використовують комп'ютерну томографію, радіонуклідні методи (сцинтиграфію з ^{99m}Tc). За наявності патологічного утворення у ділянці прищитоподібних залоз для уточнення діагнозу застосовують пункційну біопсію [15].

ПГПТ слід диференціювати з іншими захворюваннями, що супроводжуються гіперкальціємією: мієломною хворобою, псевдогіперпаратиреозом, раком бронхів, саркоїдозом, хронічною нирковою недостатністю, проявами тривалої іммобілізації. В складних для діагностики випадках, таких як транзиторна гіперкальціємія, субклінічні ознаки ПГПТ, нормальний або не різко підвищений рівень ПТГ, рекомендується проведення функціональних проб – проби Говарда, Дента [1, 3]. В дитячому віці гіперпаратиреоз насамперед доводиться диференціювати з остеонефропатіями (нирковий рахіт, синдром де Тоні-Добре-Фанконі).

Лікування гіперпаратиреозу у дітей

Єдиним відносно безпечним і ефективним методом лікування ПГПТ є видалення патологічно змінених прищитоподібних залоз [3, 6]. При вдалому хірургічному втручанні з приводу аденоми прищитоподібної залози рівень кальцію сироватки звичайно повертається до норми через 48 годин [5]. Зазвичай, в післяопераційному періоді спостерігається нормокальціємічне збільшення рівня ПТГ, яке пов'язане з недостатньою кількістю кальцію в їжі. Через це, в післяопераційному періоді призначають діету, збагачену препаратами кальцію, препарати кальцію парентерально і *per os*, вітамін D (під контролем рівня кальцію і фосфору сироватки крові) [5, 7]. Якщо операція не дала бажаного результату і має місце рецидив ПГПТ або персистенція гіперкальціємії (за даними деяких авторів, у 15 % оперативних втручань [8]), необхідна повторна операція з попереднім точним визначенням місця знаходження патологічно зміненої прищитоподібної залози. Таким хворим показане тривале спостереження з метою своєчасної діагностики синдрому МЕН [9]. Вивчення віддалених результатів оперативного лікування ПГПТ показало, що у більшості пацієнтів не відбувається повного поновлення кісткової щільності, через це, для мінімізації незворотної втрати кісткової маси слід здійснювати лікування своєчасно [17].

Оскільки в літературі зустрічаються лише поодинокі спостереження дітей з гіперпаратиреозом, ми вирішили поділитися власним досвідом.

Хвора К., дівчинка 15 років, знаходилася у відділенні дитячої ендокринної патології з 19.06.2003 року до 18.07.2003 року. Дівчинка звернулася зі скаргами на різку слабкість, переломи обох плечових кісток, біль у суглобах, кістках, закрепи.

У лютому 2003 року перенесла грип, після чого стала скаржитися на слабкість, біль у ногах при підйомі сходами. У квітні з'явився біль у лівому плечі, який поступово підсилювався. У травні звернулася до хірурга, під час огляду відбувся перелом, накладений гіпс. В липні, при рентгенологічному дослідженні правого плеча, яке було зроблене через подібні скарги, виявлена тріщина, накладений гіпс. На контрольному знімку лівого плеча виявлена відсутність кісткової мозолі, витончення коркового шару, виражений остеопороз. З підозрою на злоякісний процес у кістці дитина була направлена в онкодиспансер, де зроблена пункційна біопсія лівої плечової кістки. Ознак малігнізації не було, в пунктаті знайдені остеобласти, значні вогнища остеопорозу. При УЗД щитоподібної залози візуалізовано вузол лівої доли. Встановлений високий рівень кальцію сироватки – 3,4 ммоль/л. З попереднім діагнозом “Гіперпаратиреоз” дитина була направлена в Інститут ендокринології та обміну речовин.

На час поступлення стан дівчинки був важким за рахунок ознак гіперкальціємії: слабкість, адинамія, біль у колінних суглобах і руках, закрепи. Обидві руки іммобілізовані гіпсовими лангетами.

Ріст – 153,8 см, маса тіла – 53,5 кг. Рентгенвік – 14 років.

Загальний кальцій сироватки становив 3,8 ммоль/л (коливався в межах 3,8-2,95 ммоль/л), іонізований кальцій – 1,97-2,13-1,47 ммоль/л (норма – 1,15-1,35 ммоль/л), фосфор – 0,88 ммоль/л.

Інші біохімічні дослідження: холестерин – 5,7 ммоль/л, білірубін – 11,9 ммоль/л, креатинін – 0,047 ммоль/л, натрій – 128 ммоль/л, калій – 3,9 ммоль/л, загальний білок – 6,6 г/л.

Гормональні дослідження:

ПТГ – 970,31 пг/мл плазми (норма – 16-62 пг/мл),

кортизол – 472,89 нмоль/л (норма – 82,77-579,39 нмоль/л),

ТТГ – 3,72 мМОд/л (норма – 0,3-3,57 мМОд/л).

вільний T_3 – 7,46 нмоль/л (норма – 7,46-45,71 нмоль/л).

Загальний аналіз крові: гемоглобін – 142 г/л, еритроцити – $4,3 \times 10^{12}$ /л, кольоровий показник – 0,99, лейкоцити – $9,1 \times 10^9$ /л, ШОЕ – 11 мм/год; юні – 0 %, палочкоядерні – 1 %, сегментоядерні – 52 %, еозинофіли – 1 %, лімфоцити – 42 %, моноцити – 1 %.

Загальний аналіз сечі: відносна щільність – 1015, реакція – кисла; білок – 0,066 г/л, глюкоза, ацетон – не виявлені, велика кількість епітелію, 1-2 лейкоцити в полі зору, невелика кількість оксалатів, слиз. Аналіз сечі по Зимницькому: коливання питомої ваги – 1004-1012, добова кількість – 2,27 л. Кальцій сечі – 5,6-3,38 ммоль/добу, фосфор – 0,66-0,89 ммоль/добу.

ЕКГ: синусова тахікардія, 116 серцевих скорочень за хвилину, горизонтальне положення електричної вісі серця; скорочення інтервалу Q-T за рахунок сегменту S-T, що може свідчити про гіперкальціємію, виразні метаболічні зміни міокарда.

Ультразвукове дослідження щитоподібної залози виявило, що вона розташована в типовому місці, збільшена за рахунок лівої долі. В лівій долі визначається утворення діаметром 27 мм, правильної форми з чіткими контурами, гіпоехогенне. Ехогенність і ехоструктура решти тканини щитоподібної залози не порушена. Печінка, жовчний міхур, підшлункова залоза, селезінка не змінені, в чашечково-лоханковому комплексі нирок – численні дрібні конкременти.

З метою візуалізації прищитоподібних залоз зроблена комп'ютерна томографія загрудинного простору, проведення якої було ускладнене через неможливість досягнення стандартного положення хворої (переломи плечей). Висновок – лімфаденопатія внутрішньогрудних лімфовузлів.

Проведена кількісна ультразвукова денситометрія кісткової тканини: індекс міцності кісткової тканини (Stiffness) становить 80 % і показник Z – 1,84 та 74 % і Z – 2,40 (права і ліва п'яtkові кістки, відповідно).

Встановлено клінічний діагноз: „Первинний гіперпаратиреоз. Аденома лівої прищитоподібної залози. Системний остеопороз. Патологічні переломи плечових кісток. Вторинна міокардіодистрофія.”

Проведена операція – видалення аденоми прищитоподібної залози, лівостороння гемітиреоїдектомія. Патогістологічний висновок: Лівостороння аденома прищитоподібної залози. Прилегла тканина щитоподібної залози – без особливостей.

Остаточний діагноз: „Первинний гіперпаратиреоз. Стан після видалення аденоми лівої верхньої прищитоподібної залози, лівосторонньої гемітиреоїдектомії. Системний остеопороз. Патологічні переломи плечових кісток. Вторинна міокардіодистрофія.”

Перебіг післяопераційного періоду супроводжувався симптоматичною гіпокальціємією. Загальний кальцій сироватки знизився до 1,55-2,25 ммоль/л, іонізований кальцій – 1,08 ммоль/л, фосфор сироватки після операції – 0,80 ммоль/л. Паратиреоїдний гормон – 27,24 пг/мл.

З метою корекції гіпокальціємії призначали хлорид кальцію внутрішньовенно, вітрум кальцій, рокалтрол. В задовільному стані дівчинка виписана додому.

Амбулаторно отримувала препарати кальцію і вітаміну D.

При повторному огляді через 3 місяці рівень кальцію залишався нормальним (2,1 ммоль/л), покращився загальний стан. При ультразвуковому дослідженні щитоподібної залози додаткові утворення в ділянці щитоподібної залози не візуалізувались. Печінка, жовчний міхур, підшлункова залоза, селезінка – без патології. В нирках – поодинокі конкременти. Кількісна ультразвукова денситометрія кісток показала деяке поліпшення мінералізації кісткової тканини – індекс міцності кісткової тканини (Stiffness) становив 85 % і

показник $Z - 1,37$ та 82% і $Z - 1,70$ (права і ліва п'яткові кістки, відповідно).

Дівчинка продовжує лікування препаратами кальцію і вітаміну D амбулаторно, рекомендовані періодичні огляди з визначенням рівня паратиреоїдного гормону і кальцію.

Висновки

1. Захворювання дітей на ПГПТ є доволі рідкісною патологією і не завжди швидко і правильно діагностується.

2. Діагностика повинна базуватися на результатах комплексного обстеження хворих із застосуванням клінічних, лабораторних і функціональних методів обстеження. Оскільки першою і часто єдиною ознакою гіперпаратиреозу у дітей можуть бути скарги з боку опорно-рухового апарату, викликані остеопорозом, діагностичний пошук для дітей з остеопорозом має обов'язково включати методи вивчення стану прищитоподібних залоз.

3. ПГПТ у дітей має важкий перебіг і при несвоєчасній діагностиці і лікуванні призводить до порушення роботи багатьох органів і систем.

Література

1. Рибаків С.Й., Комісаренко І.В., Кваченюк А.М. Синдромні характеристики первинного гіперпаратиреозу // *Ендокринологія*. 2002, 7, № 1, 62-67.
2. Головач І.Ю., Попович В.І. Гіперпаратиреоз: стан проблеми на сучасному етапі // *Лікар. справа*. 2003, № 3-4, 3-10.
3. Калинин А.П., Балаболкин М.И., Лукьянчиков В.С., Нурманбетов Д.Н. Первичный гиперпаратиреоз // *Клин. мед.* 1990, № 1, 130-136.
4. Monneuse O., Causeret S., Lifante J.C. Primary juvenile hyperparathyroidism. Report of 24 cases // *Ann. Chir.* 2002, 127, 276-280.
5. Князев Ю.А., Марченко Л.Ф. Заболевания паращитовидных желез у детей // *Педиатрия*. 1984, № 8, 41-46.
6. Ferrer Ramirez M.J., Arroyo Domingo M., Lopez Molla C. et al. Descriptive analysis and surgical outcome of primary hyperparathyroidism // *Acta Otorrinolaringol. Esp.* 2002, 53, 773-780.
7. Doria A.S., Huang C., Makitie O. et al. Neonatal, severe primary hyperparathyroidism: a 7-year clinical and radiological follow-up of one patient // *Pediatr. Radiol.* 2002, 32, N 9, 684-689.
8. Harman C.R., van Heerden J.A., Farley D.R. Sporadic primary hyperparathyroidism in young patients: a separate disease entity? // *Arch. Surg.* 1999, 134, N 6, 651-655, discus. 655-656.
9. Котова И.В., Калинин А.П. Первичный гиперпаратиреоз и синдром множественных эндокринных неоплазий // *Пробл. эндокринолог.* 2003, 49, № 3, 37-39.
10. Mimouni F., Tsang R.C. Parathyroid and vitamin D-related disorders // *Clinical Pediatric Endocrinology*. Ed. S. A. Kaplan. Philadelphia-London-Toronto: W.B.Saunders company, 1990, Chapter 11, 427-455.
11. Hsu S.C., Levine M.A. Primary hyperparathyroidism in children and adolescents: the Johns Hopkins Children's Center experience 1984-2001 // *J. Bone Miner. Res.* 2002, N 17, 44-50.
12. Жуковский М.А. Диагностика эндокринных заболеваний у детей. Пермское книжное из-во, 1971. 128 с.
13. Назаренко Г.И., Араблинский А.В., Романов Р.Г., Богданова Е.Г. Современная комплексная неинвазивная диагностика опухолей паращитовидных желез // *Вестник рентгенологии и радиологии*. 1999, № 6, 4-9.
14. Нейко С.М., Головач І.Ю., Митник З.М. Клінічні, інструментальні і лабораторні методи діагностики остеопорозу: Навчальний посібник. Івано-Франківськ: ІФДМА, 2001. 54 с.
15. Поворознюк В.В. Ультразвуковая диагностика в оценке структурно-функционального состояния костной ткани // *Проблемы остеологии*. 1999, 2, № 3, 35-45.

16. Carty S.E., Roberts M.M., Virji M.A. Elevated serum parathormone level after "concise parathyroidectomy" for primary sporadic hyperparathyroidism // *Surgery*. 2002, 132, N 6, 1086-1092.
17. Suzuki S., Fukushima T., Ami H. et al. Pre- and postoperative bone metabolism of primary hyperparathyroidism // *Biomed. Pharmacother*. 2000, 54, Suppl. 1, 90s-96s.

Диагностика и клинические проявления первичного гиперпаратиреоза у детей (обзор литературы и собственные данные)

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

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

В статье обсуждаются особенности течения первичного гиперпаратиреоза у детей. Рассматривается роль клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования в диагностике гиперпаратиреоза. Особенное внимание уделяется необходимости ранней диагностики заболевания для улучшения прогноза и качества жизни детей с этим редким заболеванием. Приведен случай заболевания гиперпаратиреозом у девочки 15 лет.

Ключевые слова: первичный гиперпаратиреоз, аденома паращитовидных желез, остеопороз, гиперкальциемия.

Diagnostics and clinical manifestations of primary hyperparathyroidism in children (review of literature and own data)

A.A.Derevyanko, I.Yu.Shevchenko, E.V.Bolshova, D.I.Derevyanko

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

In the article peculiarities of clinical picture of primary hyperparathyroidism in children are discussed. The role of clinical, laboratory and instrumental methods of examination in early diagnosis of primary hyperparathyroidism are being considered. Special attention is paid to the necessity of early diagnosis of this disease for the improvement of prognosis and quality of life with this rare disorder. A case of hyperparathyroidism in 15-year old girl is described.

Key words: primary hyperparathyroidism, adenoma of the parathyroid gland, osteoporosis, hypercalcemia.

(Надійшла 4.02.2004)

ФАРМАКОТЕРАПІЯ АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОГО РАКУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ТА ВЛАСНІ ДАНІ)

А.М.Кваченюк

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

Адренокортикальний рак – це рідкісна та агресивна пухлина, котра часто діагностується на останній стадії розвитку. Лікування з використанням адренотоксичного препарату мітотану застосовується протягом десятиріч, але до цього часу дискутується питання про його роль при резидуальній пухлині чи у якості додаткового агента у післяопераційному періоді. У випадках гіперпродукції кортизолу чи інших стероїдних гормонів також можуть бути використані інші препарати (кетоконазол, аміноглютетимід). Хіміотерапія з використанням одного агента (доксорубіцин чи цисплатина) розчарувала низькою ефективністю (<30 %) і короткою тривалістю клінічної дії. Хіміотерапія з багатьма препаратами була досліджена в малих серіях і супроводжувалась численними побічними ефектами. Кращі результати були отримані за комбінації етопозиду, доксорубіцину і цисплатини при додаванні мітотану – ефективність рівнялась 54 %, включаючи індивідуальну повну відповідь на лікування. Коли використовується терапія мітотаном, бажаним є моніторування рівня препарату в організмі.

Ключові слова: адренокортикальний рак, надниркові залози, медикаментозне лікування, хіміотерапія, хлодитан, злоякісні пухлини.

Злоякісні пухлини коркової речовини надниркових залоз є тяжкою онкологічною патологією, що потребує комплексного терапевтичного підходу для досягнення ефективності лікування. Основним методом в лікуванні адренокортикального раку (АКР) залишається хірургічний, котрий в ряді випадків забезпечує онкологічну радикальність. Однак медикаментозне лікування відіграє також значну роль в комплексному лікуванні даної патології. Необхідність і мета застосування лікарських засобів залежать від кожного конкретного випадку. Медикаментозну терапію використовують для передопераційної підготовки, для профілактики рецидивів і метастазів у післяопераційному періоді, для паліативного лікування неоперабельних пухлин чи при генералізації процесу. Не дивлячись на розробку радикальних оперативних втручань з дисекцією заочеревинної клітковини, нерідко технічно неможливо повністю видалити пухлинну тканину, можливий розрив капсули пухлини, немає впевненості в максимально повному видаленні регіональних метастазів. В цих випадках і за наявності віддалених метастазів використання фармакотерапії АКР є обов'язковим. Більше половини адренокортикальних раків є гормонально-активними, що може полегшити раннє виявлення хвороби. Променева терапія використовується з паліативною метою для зменшення болю у хворих з кістковими метастазами і як додатковий метод для хіміотерапії [1, 2-4].

Основними задачами фармакотерапії АКР є гальмування росту пухлини і її медикаментозна руйнація. При гормональній активності АКР не менш важливою задачею є пригнічення гіперпродукції пухлиною гормонів чи блокування дії пухлинних гормонів, що у багатьох випадках подовжує життя хворих і полегшує страждання. Серед цих препаратів необхідно виділити наступні: похідні орто-пара-дихлор-дифеніл-дихлоретану – о,п'ДДД (мітотан, хлодитан),

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

аміноглютетимід, метирапон, кетоконазол, трилостан, препарат RU-486. В арсенал засобів медикаментозного лікування АҚР, особливо при використанні комбінованих схем, необхідно віднести загальні цитостатичні препарати: адриаміцин, блеоміцин, етопозид, цисплатина.

Ширше застосування для лікування АҚР отримали мітотан і хлодитан, що викликають гальмування біосинтезу кортикостероїдів і деструкцію пухлини. В поодиноких випадках мітотан може затримувати ріст АҚР [5-7]. У великому ретроспективному мультицентричному дослідженні мітотан покращував рівень виживаності, але тільки у хворих з метастазами [8].

Зменшення стероїдо-індукованих симптомів засвідчене більше, ніж у половини хворих, і у 34 % – відмічена об'єктивна регресія пухлини [9] за добової дози мітотану 8-10 г (середня тривалість лікування становила 7 міс). Однак зниження рівня стероїдів не корелювало з регресією пухлини і, таким чином, не може бути використано в якості індикатора антипроліферативної відповіді. Найчастіші побічні ефекти – це нудота і блювота, рідше – діарея, шкірні висипання, депресія, неврологічні розлади (загальмованість, атаксія), але всі вони зникали, коли лікування припинялося. Дослідження 115 хворих з неоперабельним АҚР [5], коли використовували все більші дози мітотану до тих пір, доки не відмічалися побічні ефекти, показало, що більшість хворих отримувала 5-10 г препарату за добу, хоч підтримуюча доза коливалася досить широко (0,5-20,0 г). Серед хворих з гіперсекрецією стероїдів у 85 % спостерігалися біохімічні зміни, а у 61 % пацієнтів відмічена регресія пухлин. Виживаність у цій серії пролікованих мітотаном хворих була в два рази вищою, ніж в групі контролю. У порівнянні з попередньою роботою [9], більш сприятлива відповідь була отримана, коли інтервал між постановкою діагнозу і лікуванням був коротший. В той же час декілька спостережень не змогли доказати значного збільшення рівня виживаності навіть у хворих з об'єктивною відповіддю на мітотан [10-13].

Концепція включення мітотану у якості додаткової терапії була представлена у 1980-х роках. Низькі підтримуючі дози при нетривалому лікуванні були використані для уникнення побічних ефектів у хворих без метастазів. Застосування мітотану у пацієнтів з АҚР після видалення первинної пухлини, місцевої променевої терапії чи їх комбінації [6] підтвердило, що при використанні мітотану виживаність в 4 рази вища. Видається, що відповідь на лікування залежить від того, в якій терапевтичній комбінації використовується мітотан. Найбільш тривала виживаність була у хворих, що отримували мітотан в якості додаткової терапії після радикального видалення первинної пухлини і у хворих, котрим давали хлодитан перед видаленням рецидивної пухлини [13]. Однак ряд авторів стверджують, що терапія мітотаном скоріше всього впливає негативно на виживаність [14, 15-17].

У французькому багатоцентровому дослідженні лікування мітотаном покращувало рівень виживаності тільки у хворих з метастазами, які отримували препарат після операції [8]. У великому ретроспективному дослідженні [18] показано, що при досягненні концентрації мітотану в крові 14 мг/мл мітотан ставав незалежним чинником, який поліпшує виживаність без огляду на радикальність видалення пухлини. Однак не у всіх хворих вдавалося досягти цього рівня у зв'язку з вираженою токсичністю. Згідно з критеріями відповіді на лікування, введеними ВООЗ у 1979 році, ефективність мітотану в забезпеченні об'єктивної регресії пухлини є суперечливою [11]. Внаслідок того, що неможливо передбачити індивідуальну відповідь, багато авторів радять використовувати тривалу терапію мітотаном тільки в неоперабельних випадках [15]. За відсутності відповіді на мітотан як монотерапію застосовують інші схеми хіміотерапії (в тому числі в комбінації з мітотаном) [16].

Розроблено декілька схем застосування хлодитану [19, 20]. Використання

препарату в якості передопераційної підготовки (2-3 тижні по 5-8 г/добу) мало за мету знизити гормональну гіперпродукцію для зменшення ризику операції. З метою профілактики післяопераційних рецидивів після потенційно радикальних операцій хлодитан призначався курсом 150-200 г по 4-5 г/добу. Якщо впевненості в радикальності операції не було (пухлина більше 15 см в діаметрі, розриви капсули, нерадикальність дисекції), хлодитан призначався з лікувальною метою кількома курсами по 8-10 г/добу (250-300 г/курс). При цьому частота рецидивів і метастазів була у 3,0-3,5 рази нижчою, ніж без застосування хлодитану [21, 22]. Після нерадикальних операцій (резекції пухлини, розвантажувальні операції) хлодитан призначався при можливості постійно по 6-8 г/добу, при цьому тривалість життя вдавалося подовжити до 8 міс – 4 років [23]. Та нарешті, з метою паліативного лікування, для неоперабельних хворих хлодитан призначався в максимально толерантних дозах.

У хірургічній клініці Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України у період 1977-2003 років знаходилися на лікуванні 196 хворих з АКР: 85 (43,4 %) – з синдромом Іценка-Кушинга, 36 (18,4 %) – з вірільним синдромом, 3 (1,5 %) – з синдромом Кона, 1 (0,5 %) – з синдромом фемінізації, 71 (36,2 %) – з гормонально-неактивним АКР. 129 (65,8 %) пацієнтів отримували хлодитан за різними схемами.

У 10 випадках діагностовано розповсюджений неоперабельний процес і хворим призначався хлодитан в максимально толерантних дозах для постійного прийому: у трьох хворих відмічена нестерпність до препарату і хлодитанотерапія була припинена, решта пацієнтів отримувала хлодитан разом з симптоматичним лікуванням. Даним хворим вдалося полегшити загальний стан. Середня виживаність становила 11,6 міс. Один хворий прожив з моменту констатації некурабельності процесу 2,5 роки.

17 пацієнтів отримували хлодитан у післяопераційному періоді у зв'язку з виявленням у них віддалених метастазів (легені, печінка, кістки). Цим хворим призначався хлодитан також в максимально терпимих дозах, але курсами по 250-300 г. Середня тривалість життя дорівнювала 3,7 років. Один хворий з множинними метастазами в легенях прожив на хлодитанотерапії 15 років. При лікуванні хлодитаном у багатьох пацієнтів відмічалась позитивна динаміка за даними інструментальних методів дослідження, покращувався суб'єктивний стан.

Нерадикальні операції (резекції пухлини, debulking surgery) були виконані 12 хворим, котрим у післяопераційному періоді також був призначений хлодитан в максимально терпимих дозах для постійного прийому. Середня тривалість їх життя становила 3,1 роки (з коливаннями від 6 міс до 5 років).

Хлодитанотерапія була призначена 25 пацієнтам після умовно радикальних операцій (пухлини більші 15 см, розриви капсули) кількома курсами по 250-300 г. У двох хворих, які були радикально оперовані, виникли рецидиви. Двадцять хворих отримували післяопераційний курс хлодитану після потенційно радикальних операцій – рецидивів відмічено не було.

Із 129 хворих 45 отримували хлодитан у післяопераційному періоді у зв'язку з інтраопераційним виявленням регіонального метастазування за схемами, що відповідають умовно радикальним операціям. Рецидив пухлини в проекції регіональних колекторів лімфовідтоку виник у 16 хворих, 10 з яких були оперовані повторно. Вісім хворих померло від прогресування хвороби, не дивлячись на хлодитанотерапію і повторні операції.

Іншим препаратом в арсеналі фармакотерапії АКР є метирапон. Метирапон спочатку використовували як діагностичний засіб при хворобі Іценка-Кушинга, але пізніше стали застосовувати і як терапевтичний препарат, що блокує фінальну стадію (11 β -гідроксильовання) синтезу кортизолу [24]. Метирапон має швидку дію [25]. Внаслідок особливості дії, стимулюється синтез андрогенів, що викликає гірсутизм і вірилізацію. Метирапон є ефективним

препаратом другого ряду для контролю секреції кортизолу зі зворотним ефектом; він не є цитотоксичним агентом.

Кетоконазол є антигрибковим імідазолом, що викликає пригнічення стероїдного синтезу у гонадах та надниркових залозах. Кетоконазол (нізорал) ефективно знижує рівень циркулюючих андрогенів. На противагу мітотану кетоконазол є потужним інгібітором синтезу холестерину, але має виразну гепатотоксичність [24]. Препарат дійсно ефективний при гіперкортицизмі, який викликаний АКР, але має лише антипроліферативну дію [26-28].

Аміноглютетимід блокує перетворення холестерину в прегненолон у всіх тканинах і тому зменшує синтез кортизолу, альдостерону і естрогенів. Інгібування ароматази призводить до посилення антиестрогенного ефекту і може бути використано для лікування раку молочної залози [24]. Використання препарату лімітується виразними побічними ефектами (гіпотиреоз, шкірні висипання, лихоманка).

RU-486 (міфепристон) є антагоністом глюкокортикоїдних рецепторів [29]. Прийом його у наростаючих дозах від 5 до 20 мг/добу призводить до швидкого клінічного ефекту [29, 30]. Єдиний недолік полягає у тому, що неможливо спостерігати за рівнем відповіді, оскільки рівень кортизолу не знижується і гіпокортицизм лабораторно діагностувати важко (необхідно оцінювати гіпокортицизм за рівнем глюкози крові).

Таким чином, крім о,п'-ДДД (мітотан, хлодитан), решта препаратів (метирапон, кетоконазол, аміноглютетимід, RU-486) не мають адренкортиколітичного ефекту. Тому останні лікарські засоби можуть призначатися тільки з метою контролю гіперкортицизму, а не як протипухлинні препарати.

Для лікування АКР використовуються і цитотоксичні препарати загальної дії. Цитотоксичне лікування супроводжується побічними ефектами, тому може застосовуватися у хворих з вираженим прогресуванням хвороби і поганим прогнозом. Декілька видів цитотоксичних препаратів традиційно використовують з об'єктивним рівнем відповіді в 10-40 %. Потенційні препарати з антипроліферативним ефектом для АКР – це доксорубіцин, етопозид (VP 16), цисплатина і сурамін [31].

Доксорубіцин (традиційний курс – 40 мг/м² кожні 4 тижні) був вперше застосований в 1980 році для лікування АКР, але рівень відповіді був низьким – 12,5 % [37]. При збільшенні дози (60 мг/м² кожні 3 тижні) рівень відповіді дещо підвищувався і досягав 19 % з тривалістю 51-78 міс [38]. Таким чином, доксорубіцин є малоефективним препаратом для лікування АКР і може бути застосований при резистентності до хлодитану (частіше при низькодиференційованому АКР). Тяжкі токсичні ефекти зустрічалися у 1/3 пролікованих мітотаном хворих і у 1/4 – у пролікованих доксорубіцином хворих [38].

В ряді досліджень була відмічена нетривала повна відповідь у хворих з АКР на цисплатину [39, 40]. Цисплатину (75-100 мг/м² кожні 3 тижні) комбінували з мітотаном (4 г/добу), що викликало відповідь у 30 % хворих з резидуальною метастатичною хворобою із середньою тривалістю 8 міс. Більшість побічних ефектів були гастроінтестинальними і неврологічними. Токсичність лікування була від помірного до тяжкого ступеня. В інших клінічних дослідженнях доповнення мітотану цисплатиною не підвищувало рівень відповіді [39, 41].

Сурамін – це антитрипаносомний препарат, котрий акумулюється в наднирковій корі приматів. *In vitro* препарат індукує цитотоксичний ефект і знижує продукцію стероїдів [32-36]. В пілотних дослідженнях один хворий мав найсерйозніші побічні ефекти – гостру демієлінізуючу нейропатію, інший – помер від тромбоцитопенічної геморагії. Рівень відповіді був низьким – 14 % [34].

Госіпол – сперматотоксин з олії бавовняних зерен, який пригнічує ріст людського АКР у щурів [35], має м'які побічні ефекти і може призначатися перорально в амбулаторних умовах (використовується як контрацептив у чо-

ловіків в Китаї). 18 хворих з прогресуючим АҚР і метастазами, крім мітотану, приймали як мінімум 6 тижнів госіпол. Тільки у трьох хворих була часткова відповідь [35].

Таким чином, монотерапія хіміотерапевтичним препаратом не є раціональним лікуванням резидуального АҚР. Більш виправданим і ефективним є комбінація препаратів. Застосування цисплатини та етопозиду у 18 хворих з розповсюдженим АҚР і продовження терапії мітотаном у 14 з них забезпечило відповідь у третини пацієнтів [42]. В мультицентричному дослідженні з вивчення АҚР [43] оцінювалася комбінація етопозиду, доксорубіцину і цисплатини (ЕДЦ) у поєднанні з мітотаном без перерви між курсами хіміотерапії. Загальний рівень відповіді у 28 хворих з розповсюдженим АҚР був високим: 15 відповідей (2 повних і 13 – часткових), стабілізація хвороби у 8 хворих і прогресування – у 5. У пацієнтів з відповіддю прогресування недуги починалося через 2 роки. Відповідь спостерігалася у хворих як з гормонально-активними, так і з гормонально-неактивними пухлинами. Лікування за схемою ЕДЦ, як правило, терпиме для пацієнтів, і тільки кілька хворих зменшили дозу чи зупинили хіміотерапію (в основному, через гематологічні побічні ефекти). Терапію за схемою ЕДЦ широко використовують для карциноми шлунка. Вона супроводжується значними побічними ефектами і смертністю внаслідок токсикозу від ліків [43]. Цей процес може бути керований у хворих з АҚР, однак, може бути необхідним знизити дозу етопозиду для поліпшення стану хворих. Таким чином, комбінована хіміотерапія за схемою ЕДЦ+мітотан є відносно толерантним і ефективним лікуванням для розповсюдженого АҚР і може бути застосована в ряді випадків.

Повільний прогрес в медикаментозному лікуванні АҚР обумовлюється декількома чинниками: рідкістю АҚР, агресивністю пухлини, швидким прогресуванням, мультисистемним ураженням внаслідок гормональної гіперпродукції [44, 45]. З метою деструкції пухлинних клітин препаратами вибору є хлодитан і мітотан, котрі призначаються за вказаними схемами у залежності від клінічної ситуації. Метиралон, кетоконазол, аміноглютетимід, RU-486 є препаратами другого ряду і можуть бути використані для швидкої ліквідації гіперпродукції стероїдів і паліативного поліпшення стану хворих. При резистентності до хлодитану і мітотану чи при низькодиференційованих формах АҚР можуть застосовуватися хіміотерапевтичні препарати загальної дії в комбінації з хлодитаном (мітотаном) за розробленими схемами. Основним методом лікування АҚР залишається хірургічне втручання. Медикаментозне лікування повинно бути додатковим до хірургічного чи може бути використане як монотерапія при неоперабельних пухлинах або розповсюдженному процесі.

Література

1. Cohn K., Gottesman L., Brennan M. Adrenocortical carcinoma // *Surgery*. 1992, **112**, 963-971.
2. Hamberger B. Adrenal tumors: introduction // *World J. Surg.* 2001, **25**, 903-904.
3. Brunt L.M., Moley J.F. Adrenal incidentaloma // *World J. Surg.* 2001, **25**, 905-913.
4. Didolkar M.S., Bescher A., Elias E.G., Moor R.H. Natural history of adrenal cortical carcinoma // *Cancer*. 1981, **47**, 239-246.
5. Lubitz J.A., Freeman L., Okun R. Mitotan use in inoperable adrenal cortical carcinoma // *JAMA*. 1973, **223**, 1109-1116.
6. Schteingart D.E., Motazed A., Noonan R.A., Thompson N.W. Treatment of adrenal carcinoma // *Arch.Surg.* 1982, **117**, 1142-1149.
7. Dackiw A.P., Lee J.E., Gagel R.F., Evans D.B. Adrenal cortical carcinoma // *World J. Surg.* 2001, **25**, 914-926.
8. Icard P., Chapuis Y., Andreassian B. et al. Adrenocortical carcinoma in surgically treated patients: a retrospective study on 156 cases by the French Association of Endocrine Surgeons // *Surgery*. 1992, **112**, 972-978.

9. Hutter A.M.Jr., Kayhoe D.E. Adrenal cortical carcinoma: results of treatment with o,p'-DDD in 138 patients // *Am.J.Med.* 1966, 41, 581-587.
10. Wooten M.D., King D.K. Adrenal cortical carcinoma: epidemiology and treatment with mitotane and a review of the literature // *Cancer.* 1993, 72, 3145-3151.
11. Luton J.P., Cerdas S., Billaud L. et al. Clinical features of adrenocortical carcinoma, prognostic factors and the effect of mitotane therapy // *N. Engl. J. Med.* 1990, 332, 1195-1201.
12. Plager J.E. Carcinoma of the adrenal cortex: clinical description, diagnosis and treatment // *Int. Adv. Surg. Oncol.* 1984, 7, 329-336.
13. Venkatesh S., Hickey R.C., Sellin R.V. et al. Adrenal cortical carcinoma // *Cancer.* 1989, 64, 765-772.
14. Kjellman M., Larsson C., Backdahl M. Genetic background of adrenocortical tumor development // *World J. Surg.* 2001, 25, 948-956.
15. Vassilopoulou-Sellin R., Guinee V., Klein M.J. et al. Impact of adjuvant mitotane on the clinical course of patients with adrenocortical cancer // *Cancer.* 1993, 71, 3119-3124.
16. Barzon L. Is there a role for low doses of mitotane as adjuvant therapy in adrenocortical carcinoma? // *J.Clin. Endocrin.Metabol.* 1999, 84, 1488-1493.
17. Barzon L., Fallo F., Sonino N. et al. Adrenocortical carcinoma: experience in 45 patients // *Oncology.* 1997, 54, 490-498.
18. Haak H.R., Hermans J., Van de Velde C.J. et al. Optimal treatment of adrenocortical carcinoma with mitotane: results in a consecutive series of 96 patients // *Br. J. Cancer.* 1994, 69, 947-953.
19. Комиссаренко И.В., Рыбаков С.И. Фармакотерапия опухолей коркового вещества надпочечных желез // *Фармакол. вісник.* 2000, № 1, 50-53.
20. Комиссаренко И.В., Чебан А.К., Рыбаков С.И. Методы комбинированного лечения болезни Иценко-Кушинга и гормонально-активных опухолей коры надпочечников: Метод. рекоменд. К., 1979. 15 с.
21. Комиссаренко В.П., Резников А.Г. Ингибиторы функции коры надпочечных желез. К.: Здоров'я, 1972. 373 с.
22. Комиссаренко И.В. Лечение болезни и синдрома Иценко-Кушинга хирургическим методом и с применением ингибитора функции коры надпочечниковых желез хлордана (о,п'-ДДД): Автореф. дис. докт. мед. наук. К., 1977. 41 с.
23. Рыбаков С.И. Клиника, диагностика и лечение гормонально-активных опухолей коркового вещества надпочечных желез: Автореф. дис. докт. мед. наук. К., 1990. 45 с.
24. Trainer P.J., Besser M. Cushing's syndrome: therapy directed at the adrenal glands // *Endocrin. Metabol. Clin. North. Am.* 1994, 23, 571-577.
25. Verhelst J.A., Trainer P.J., Howlett T.A. et al. Short- and long-term responses to metyrapone in the medical management of 91 patients with Cushing's syndrome // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 1991, 35, 169-178.
26. Sonino N., Boscaro M., Paolette A. et al. Ketoconazole treatment in Cushing's syndrome: experience in 34 patients // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 1991, 35, 347-353.
27. Sinnaeve L.J.E., Becks G.P. Preoperative ketoconazole therapy for adrenocortical carcinoma // *Can. Med. Assoc. J.* 1989, 141, 131-135.
28. Кваченюк А.М. Особливості клінічного перебігу злоякісних пухлин кіркової речовини надниркових залоз // *Лікар. справа.* 2003, №8, 52-54.
29. Bertagna X., Basin C., Picard F. et al. Peripheral antiglucocorticoid action of RU 486 in man // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 1988, 28, 537-542.
30. Ahlman H., Khorram-Manesh A., Jansson S. et al. Cytotoxic treatment of adrenocortical carcinoma // *World J. Surg.* 2001, 25, 927-933.
31. Andres F., Grunenberger F., Kurtz J.E. et al. Le traitement du cortico-surrenalome malin // *Presse Med.* 1997, 26, 880-887.
32. Feuillau P., Raffeld M., Stein C.A. et al. Effect of suramine on the function and structure of adrenal cortex in the cynomolgus monkey // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1987, 65, 153-160.
33. Allolio B., Reincke M., Arlj W. et al. Suramine for treatment of adrenal carcinoma // *Lancet.* 1989, 1, 277-286.

34. La Rocca R.V., Stein C.A., Danesi R. et al. Modulation of steroid hormone production, cytotoxicity in vitro and clinical antitumor effect // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1990, **71**, 497-504.
35. Wu Y.W., Chik C.L., Knazek R.A. An in vitro and in vivo study of antitumor effects of gossypol on human SW-13 adrenocortical carcinoma // *Cancer Res.* 1989, **49**, 3754-3760.
36. Кваченюк А.Н. Результаты лечения злокачественных опухолей коры надпочечников // *Клин. хирургия.* 2001, №8, 44-46.
37. Flack M.R., Pyle R.G., Mullen N.M. et al. Oral gossypol in the treatment of metastatic adrenal cancer // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1993, **76**, 1019-1027.
38. Decker R.A., Elson P., Hogan T.E. et al. Eastern Cooperative Oncology Group: Eastern Cooperative Oncology Group study 1979: mitotane and adriamycin in patients with advanced adrenocortical carcinoma // *Surgery.* 1991, **110**, 1006-1011.
39. Pilon C., Pistorello M., Moscon A. et al. Inactivation of the p16 tumor suppressor gene in adrenocortical tumors // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999, **84**, 2776-2781.
40. Hesketh P.J., McCaffrey R.P., Finkel H.E. et al. Cisplatin based treatment of adrenocortical carcinoma // *Cancer Treat. Rep.* 1987. **71**, 2221-2228.
41. Schulick R.D., Brennan M.F. Long-term survival after complete resection and repeat resection in patients with adrenocortical carcinoma // *Ann. Surg. Oncol.* 1999, **6**, 719-726.
42. Miller J., Crapo L. The medical treatment of Cushing's syndrome // *Endocr. Rev.* 1993, **14**, N 4, 443-458.
43. Schlumberger M., Ostronoff M., Bellaiche M. et al. 5-Fluorouracil, doxorubicine and cisplatin regimen in adrenal cortical carcinoma // *Cancer.* 1988, **61**, N 8, 1492-1494.
44. Bonacci R., Gigliotti A., Baudin E. et al. Cytotoxic therapy with etoposide and cisplatin in advanced adrenocortical carcinoma // *Br. J. Cancer.* 1998, **78**, 546-560.
45. Carpenter P.C. Mitotane failure in adrenocortical cancer: where next? // *Cancer.* 1993, **71**, 2900-2909.

Фармакотерапия аденокортикального рака (обзор литературы и собственные данные)

А.Н.Кваченюк

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

Аденокортикальный рак – это редкая и агрессивная опухоль, которая зачастую диагностируется на последней стадии развития. Лечение с использованием адренотоксического препарата митотана применяется в течение десятилетий, но до сих пор выясняется его роль при резидуальной опухоли или в качестве дополнительного агента в послеоперационном периоде. В случае гиперпродукции кортизола или иных стероидных гормонов также могут быть использованы и другие препараты (кетоназол, аминоглютетимид). Химиотерапия с использованием одного агента (доксорибуцин или цисплатинум) разочаровали низкой эффективностью (<30 %) и короткой продолжительностью клинического действия. Химиотерапия с многими препаратами была исследована в малых сериях и сопровождалась множественными побочными эффектами. Лучшие результаты были получены при комбинации этопозиды, доксорибуцина и цисплатины при добавлении митотана – эффективность составила 54 %, включая индивидуальный полный ответ на лечение. Когда используется терапия митотаном, желательным является мониторинг уровня препарата в организме.

Ключевые слова: аденокортикальный рак, надпочечники, медикаментозное лечение, химиотерапия, хлоритан, злокачественные опухоли.

Pharmacotherapy of adrenocortical cancer (review of literature and own data)

A.M.Kvachenyuk

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

Adrenocortical cancer is a rare and aggressive tumor, which often diagnosed at final stage. Treatment with the adrenotoxic drug mitotane has been used for decades, however its role in residual tumor or as an additional agent in postoperative period is cleared up until now. In cases of cortisol hyperproduction some other drugs (such as ketoconazole or

aminoglutetimide) may be used. Results of chemotherapy with one agent (doxorubicine or cisplatinum) were disappointing because low response level (< 30 %) and short response duration. Chemotherapy with multiple drugs was investigated in small series and resulted in numerous side effects. Best results were obtained with a combination of etopozide, doxorubicine and cisplatinum with an addition of mitotane – the response was 54 % including individual complete response. When applying therapy with mitotane monitoring of the drug level is mandatory.

Key words: adrenocortical cancer, adrenal glands, drug treatment, chemotherapy, chloditane, malignant tumors.

(Надійшла 23.01.2004)

МЕТФОРМИН И РОЗИГЛИТАЗОН – ПЕРСПЕКТИВЫ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА (МИНИОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Н.А.Зуева*

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

В обзоре проанализированы современные представления о механизме действия гипогликемизирующих препаратов метформина (бигуанид) и розиглитазона (тиазолидиндион) в аспекте совместного применения для лечения сахарного диабета 2 типа. Оба препарата снижают глюконеогенез, уровень свободных жирных кислот и глюкозы. Розиглитазон повышает чувствительность к инсулину за счет увеличения количества Глут-4 и снижения продукции медиаторов инсулинорезистентности, активируя гликолиз, повышает уровень липопротеидов высокой плотности, способствует профилактике возникновения сахарного диабета 2 типа у лиц с повышенным риском заболевания, снижает микроальбуминурию и артериальное давление. В то же время розиглитазон повышает уровень липопротеидов низкой плотности, стимулирует липогенез. Последние свойства розиглитазона могут быть нивелированы метформином, который содействует снижению массы тела, подавляет продукцию липопротеидов низкой плотности и очень низкой плотности, триглицеридов, улучшает коагуляционные свойства крови, снижая активацию ингибитора активатора плазминогена-1. При этом метформин усиливает гипогликемизирующий эффект розиглитазона за счет увеличения свободной фракции инсулина без стимуляции его продукции бета-клетками поджелудочной железы.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, инсулинорезистентность, метформин, розиглитазон, лечение.

Сахарный диабет (СД) 2 типа является тяжелой хронической прогрессирующей болезнью с высоким уровнем заболеваемости и смертности.

СД 2 типа характеризуется одновременным нарушением секреции инсулина и инсулинорезистентностью печени, жировой ткани, мышц и эндотелия. Все эти отклонения вносят вклад в изменение метаболизма глюкозы и развитие гипергликемии. Степень и длительность последней является ключевым моментом в развитии хронических осложнений диабета [1]. Часто СД 2 типа сочетается с ожирением, что сопровождается высокой степенью инсулинорезистентности и значительной гиперинсулинемией по сравнению с пациентами без ожирения. У больных с ожирением более высокий риск кардиоваскулярных осложнений. Препаратом выбора у тучных пациентов с СД 2 типа является метформин [2].

Метформин (диметилбигуанид) имеет несколько точек приложения в организме и эффективен только при наличии эндогенного или экзогенного инсулина. Основные механизмы действия метформина коротко суммированы в табл. 1. Как видно из представленных данных, метформин прямо не влияет на концентрацию инсулина в крови, но изменяет его фармакокинетику за счёт повышения свободной фракции. При этом метформин выступает в качестве антагониста инсулина на уровне ингибитора активатора плазминогена-1. Последний активируется инсулином и угнетает фибринолиз, способствуя гиперкоагуля-

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

дии. Таким образом, метформин нормализует коагуляционные свойства крови. Он также уменьшает проатерогенный потенциал инсулина, снижая уровни триглицеридов, липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), образование свободных жирных кислот (СЖК) – потенциальных субстратов в процессах перекисного окисления с образованием токсичных продуктов пероксидации, а также кетонных тел. Лёгкий анорексигенный эффект и снижение всасывания углеводов в тонком кишечнике под влиянием этого препарата помогают больным в достижении снижения массы тела. Метформин повышает вход глюкозы в клетку, что связано с увеличением фракции свободного инсулина в крови [3, 4].

Таблица 1. Основные эффекты метформина в организме человека

Подавляет (снижает)	Стимулирует (повышает)
<ol style="list-style-type: none"> 1. Глюконеогенез 2. Образование СЖК, триглицеридов, ЛПНП, ЛПОНП 3. Окисление жиров 4. Замедляет всасывание углеводов в тонком кишечнике 5. Образование ингибитора активатора плазминогена 1 (тканевого типа) 6. Соотношение: связанный инсулин/свободный инсулин 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Кровоток в печени 2. Превращение глюкозы в гликоген 3. Соотношение инсулин/проинсулин 4. Анорексигенный эффект

Единственным отрицательным моментом в механизме действия метформина является небольшая стимуляция анаэробного гликолиза, что при передозировке препарата, особенно в сочетании с большими дозами алкоголя, может приводить к накоплению молочной кислоты. Хотя при правильном использовании препарата такие случаи не наблюдаются [5].

При нетяжёлых формах СД 2 типа метформин может применяться в виде монотерапии. Однако учитывая длительность заболевания СД и его хронические осложнения для достижения эффективного гликемического контроля важным является правильное сочетание препарата с другими лекарственными средствами, в частности, с розиглитазоном.

Розиглитазон относится к новому классу антидиабетических препаратов – тиазолидиндионам. Антигипергликемический эффект последних связан со снижением инсулинорезистентности и повышением чувствительности к инсулину клеток печени, мышц, жировой ткани и эндотелия. В зависимости от типа инсулинчувствительных тканей действие тиазолидиндионов суммировано в табл. 2.

Свое действие розиглитазон оказывает посредством взаимодействия с ядерными гамма-рецепторами активатора пролифератора пероксисом (PPAR γ). В резуль-

Таблица 2. Эффекты тиазолидиндионов в инсулинчувствительных тканях [6].

Жировая ткань	Скелетная мускулатура	Печень
<p>Повышение:</p> <ul style="list-style-type: none"> - поглощения глюкозы; - окисления глюкозы; - поглощения СЖК; - липогенеза 	<p>Повышение:</p> <ul style="list-style-type: none"> - поглощения глюкозы; - окисления глюкозы; - гликолиза; - гликогенеза 	<p>Повышение:</p> <ul style="list-style-type: none"> - поглощения глюкозы; - липогенеза <p>Снижение:</p> <ul style="list-style-type: none"> - глюконеогенеза; - гликогенолиза

тате происходит снижение продукции эндотелина-1 (один из самых мощных вазоконстрикторов), фактора некроза опухолей- α (TNF- α), резистина, СЖК, повышение чувствительности к лептину, увеличение активности липопротеидлипазы и уровня адипонектина. Большинство перечисленных веществ являются индукторами и/или медиаторами инсулинорезистентности. Гипогликемизирующее действие розиглитазона заключается в его способности активировать фосфатидилинозитол-3-киназу (IP-3-kinase) мышечных клеток, благодаря чему возрастает количество клеточных переносчиков для глюкозы – Глут-4 и, соответственно, увеличивается вход глюкозы в клетку. Кроме того, розиглитазон, улучшая чувствительность эндотелия к инсулину, снижает систолическое и, особенно, диастолическое артериальное давление [7], а также микроальбуминурию [8]. С дисфункцией эндотелия и повышенным риском кардиоваскулярных заболеваний ассоциирован повышенный уровень асимметричного диметиларгинина. Лечение розиглитазоном в дозе 4 мг/сут в течение 12 недель у больных с наличием инсулинорезистентности и кардиоваскулярной патологии без диабета привело к повышению чувствительности к инсулину, снижению уровня асимметричного диметиларгинина и уменьшению проявлений эндотелиальной дисфункции [9]. Недавно были получены экспериментальные данные о том, что розиглитазон способен предотвращать повреждение свободными жирными кислотами островковых клеток [10] и даже восстанавливать их функцию [11]. Розиглитазон повышает уровни как ЛПВП, так и ЛПНП, снижает концентрацию С-пептида [12].

Важным в действии тиазолидиндионов, как показали исследования, проводившиеся в течение 2-х лет, является их способность нормализовать нарушенный тест толерантности к глюкозе и восстанавливать чувствительность к инсулину у лиц с инсулинорезистентностью. Эти результаты говорят в пользу возможности использования тиазолидиндионов для профилактики возникновения СД 2 типа в группах с высоким риском заболевания [13].

Анализируя действие розиглитазона и метформина, можно выявить сходные эффекты – подавление глюконеогенеза, снижение уровня СЖК, улучшение гликемического контроля. В то же время в исследовании [5], посвященном сравнительному изучению эффектов розиглитазона и метформина в скелетных мышцах, было установлено, что именно розиглитазон, а не метформин, улучшает чувствительность к инсулину мышц в состоянии отдыха после нагрузки и удваивает инсулинзависимую скорость поглощения глюкозы в течение физической активности у больных с СД 2 типа. Эти данные говорят в пользу монотерапии розиглитазоном у больных СД 2 типа, которые активно занимаются физическими упражнениями, поскольку физические нагрузки хорошо сочетаются с розиглитазоном, а не метформином (риск повышения уровня молочной кислоты как под влиянием физической нагрузки, так и под влиянием метформина). Однако сам розиглитазон не стимулирует выработку инсулина бета-клетками поджелудочной железы и не увеличивает активность инсулина за счет повышения его свободной фракции в крови. Возможно поэтому, при значительной длительности заболевания гипогликемизирующего действия препарата иногда бывает недостаточно для эффективного контроля гликемии.

С другой стороны, хорошо известен факт, что СД 2 типа в подавляющем большинстве случаев протекает на фоне ожирения, чаще всего абдоминального (висцерального). Розиглитазон улучшает чувствительность к инсулину всего организма, особенно неабдоминальной жировой ткани. Жировую ткань рассматривают как центральное звено в действии розиглитазона *in vivo*. Недавно стало известно, что молекулярным звеном между ожирением и СД 2 типа является протеин с высоким содержанием цистеина – резистин. Оказалось, что розиглитазон снижает как экспрессию мРНК, так и уровень самого резистина в недавно образованных макрофагах *in vitro* [14]. В другом исследовании [15] показано, что розиглитазон увеличивает уровень адипонектина плазмы при СД 2 типа. Адипонектин –

протеин плазмы, синтезируемый и секретируемый исключительно жировой тканью, обладает противовоспалительными, антиатерогенными свойствами *in vitro*. Снижение содержания адипонектина обнаружено у лиц с метаболическим синдромом и ИБС. Розиглитазон, улучшая чувствительность жировой ткани к действию инсулина, способствует уменьшению висцеральной жировой клетчатки без снижения общего количества жировой ткани в организме. В данной ситуации весьма выгодным сочетанием будет совместное применение розиглитазона с метформином, поскольку одним из механизмов действия последнего является снижение массы тела с достаточно эффективным снижением уровня глюкозы в крови. Негативное гиперлипидемическое действие розиглитазона может быть также нивелировано при добавлении к схеме терапии метформина, одним из механизмов действия которого является снижение уровня ЛПНП и ЛПОНП.

В европейских странах розиглитазон чаще применяют для лечения СД 2 типа в комбинации с другими антидиабетическими пероральными препаратами, в частности, с метформином, если только действия розиглитазона в максимальной дозе (8 мг/сут) не хватает для достижения полной компенсации СД. У таких пациентов розиглитазон в суточной дозе 4-8 мг совместно с метформином снижал гликемию натощак на 2-3 ммоль/л или уровень гликозилированного гемоглобина примерно на 1% [16]. В другом исследовании [17] показано, что такое сочетание может существенно отсрочить назначение инсулина.

Таким образом, у метформина и розиглитазона есть ряд сходных черт в механизме действия – подавление глюконеогенеза, уменьшение уровня СЖК и глюкозы. Позитивными моментами для розиглитазона являются: повышение чувствительности к инсулину и снижение инсулинорезистентности, уменьшение продукции инсулина и медиаторов инсулинорезистентности, увеличение окисления глюкозы, активация гликолиза, повышение уровня ЛПВП, способность предотвращения повреждения свободными жирными кислотами островковых клеток и даже восстановление их функции, нормализация теста толерантности к глюкозе и профилактика возникновения СД 2 типа у лиц с повышенным риском заболевания, снижение микроальбуминурии и артериального давления. Негативным в действии розиглитазона можно считать стимуляцию липогенеза и небольшое увеличение массы тела, повышение уровня ЛПНП. Позитивные эффекты метформина: снижение активации ингибитора активатора плазменогена-1 и, соответственно, улучшение коагуляционных свойств крови, подавление продукции ЛПНП, ЛПОНП и триглицеридов, увеличение свободной фракции инсулина без стимуляции его продукции бета-клетками поджелудочной железы, снижение массы тела.

Анализ эффектов обоих препаратов позволяет предположить перспективность совместного применения розиглитазона и метформина – усиление гипогликемизирующего действия, улучшение коагуляционных свойств крови, снижение продукции СЖК и других медиаторов инсулинорезистентности, подавление метформином образования ЛПНП и повышения массы тела под влиянием розиглитазона, подавление розиглитазоном за счет стимуляции гликолиза и окисления глюкозы образования молочной кислоты под влиянием метформина. Кроме того, совместное применение обоих препаратов может позволить отсрочить назначение инсулина у больных с длительным течением СД 2 типа.

Литература

1. Ефимов А.С., Скробонская Н.А. Клиническая диабетология. К.: Здоров'я, 1998. 320 с.
2. Jones T.A., Sautter M., Gaal L.F.V., Jones N.P. Addition of rosiglitazone to metformin is most effective in obese, insulin-resistant patients with type 2 diabetes // *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2003, 5, 163-170.
3. Inzucchi S.E., Maggs D.G., Spollett G.R. et al. Efficacy and metabolic effects of metformin and troglitazone in type II diabetes mellitus // *N. Engl. J. Med.* 1998, 338, 867-872.

4. Widen E.L., Eriksson J.G., Groop L.C. Metformin normalizes nonoxidative glucose metabolism in insulin-resistant normoglycemic first-degree relatives of patients with NIDDM // *Diabetes*. 1992, **41**, 354-358.
5. Hällsten K., Virtanen K.A., Lonnqvist F. et al. Rosiglitazone but not metformin enhances insulin- and exercise-stimulated skeletal muscle glucose uptake in patients with newly diagnosed type 2 diabetes // *Diabetes*. 2002, **51**, 3479-3485.
6. Hauner H. The mode of action of thiazolidinediones // *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2002, **18**, S10-S15.
7. Bennet M.A., Agrawal A., Elasha H. et al. Rosiglitazone improves insulin sensitivity, glucose tolerance and ambulatory blood pressure in subjects with impaired glucose tolerance // *Diabetic Medicine*. 2004, **21**, 415-422.
8. Grossman E. Rosiglitazone reduces blood pressure and urinary albumin excretion in type 2 diabetes (commentary) // *J. Hum. Hypertension*. 2003, **17**, 5-6.
9. Marx N., Froehlich J., Siam L. et al. Antidiabetic PPAR gamma-activator rosiglitazone reduces MMP-9 serum levels in type 2 diabetic patients with coronary artery disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003, **23**, N 2, 283-288.
10. Lupi R., Guerra S., Marselli L. et al. Rosiglitazone prevents the impairment of human islet function induced by fatty acids: evidence for a role of PPAR γ 2 in the modulation of insulin secretion // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004, **286**, E560-E567.
11. Bell D.S.H. β -Cell rejuvenation with thiazolidinediones // *Am. J. Med.* 2003, **115** (8A), 20S-23S.
12. Freed M.I., Ratner R., Marcovina S.M. et al. Effects of rosiglitazone alone and in combination with atorvastatin on the metabolic abnormalities in type 2 diabetes mellitus // *Am. J. Cardiol.* 2002, **90**, N 9, 947-952.
13. Durbin R.J. Thiazolidinedione therapy in the prevention/delay of type 2 diabetes in patients with impaired glucose tolerance and insulin resistance // *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2004, **N 6**, 280-285.
14. Patel L., Buckels A.C., Kinghorn I.J. et al. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003, **300**, N 2, 472-476.
15. Yang W.S., Jeng C.Y., Wu T.J. et al. Synthetic peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, rosiglitazone, increases plasma levels of adiponectin in type 2 diabetic patients // *Diabetes Care*. 2002, **25**, N 2, 376-380.
16. Scheen A.J. Medication of the month. Rosiglitazone (Avandia) // *Rev. Med. Liege*. 2002, **57**, N 4, 236-239.
17. Dailey G.E., Noor M.A., Park J.-S. et al. Glycemic control with gliburide/metformin tablets in combination with rosiglitazone in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind trial // *Am. J. Med.* 2004, **116**, 223-229.

Метформін та розиглітазон – перспективи сумісного застосування в лікуванні цукрового діабету 2 типу (мініогляд літератури)

Н.О.Зуєва

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

В огляді проаналізовані сучасні уявлення про механізм дії гіпоглікемізуючих препаратів метформіну (бігуанід) та розиглітазону (тіазолідиндіон) в аспекті сумісного застосування для лікування цукрового діабету 2 типу. Обидва препарати знижують глюконеогенез, рівень вільних жирних кислот та глюкози. Розиглітазон підвищує чутливість до інсуліну за рахунок підвищення кількості Глут-4 та зниження продукції медіаторів інсулінорезистентності, активізуючи гліколіз, підвищує рівень ЛПВЩ, сприяє профілактиці виникнення цукрового діабету 2 типу в осіб з підвищеним ризиком захворювання, знижує мікроальбумінурію та артеріальний тиск. В той же час розиглітазон підвищує рівень ЛПНЩ, стимулює ліпогенез. Останні властивості розиглітазону можуть бути нівельовані метформіном, який сприяє зниженню маси тіла, подавляє продукцію ЛПНЩ, ЛПДНЩ та тригліцеридів, поліпшує коагуляційний стан крові, знижуючи активацію інгібітора активатора плазміногену-1. При цьому метформін посилює гіпоглікемізуючий ефект розиглітазону завдяки підвищенню вільної фракції інсуліну без стимуляції його продукції бета-клітинами підшлункової залози.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, інсулінорезистентність, метформін, розиглітазон, лікування.

Metformin and rosiglitazone – prospects of their combination in treatment of type 2 diabetes mellitus (minireview of literature)

N.A.Zuyeva

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

The article gives a review of the modern views on the mechanism of action of hypoglycemic agents such as metformin (biguanid) and rosiglitazone (thiazolidinediones) in their combination for treatment of type 2 diabetes mellitus (DM). Both drugs decrease gluconeogenesis, free fatty acids and glucose levels. Rosiglitazone increases sensitivity to insulin because of augmentation of quantity of Glut-4 and decreases production of mediators of insulin resistance, activates glycolysis, increases HDLP, prevents type 2 DM in persons with high risk, decreases microalbuminuria and blood pressure. At the same time rosiglitazone raises LDLP level, stimulates lipogenesis. The latter effects of rosiglitazone can be counteracted by metformin, which promotes loss of body mass, suppresses production of LDLP, VLDLP and triglycerides, improves blood coagulation characteristics by decreasing of PAI-1 activation. In addition, metformin enhances hypoglycemic effect of rosiglitazone due to augmentation of free insulin fraction without stimulation of its production by beta-cells of the pancreas.

Key words: type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metformin, rosiglitazone, treatment.

(Надійшла 22.09.2004)

БІЛКИ, ЩО ЗВ'ЯЗУТЬ ІНСУЛІН, ТА КОНТРЕЦЕПТОРНІ БІЛКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ І ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ТА ВЛАСНІ ДАНІ)

В.В.Корпачев, Н.М.Гуріна, С.В.Мельниченко, Р.Г.Лукашова,
А.А.Шупрович*

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

Розглянуто дані літератури про сироваткові чинники білкової природи, які впливають на біологічну активність інсуліну, що циркулює у крові. До них відносяться білки, що зв'язують інсулін, та білки, що блокують активні центри рецепторів інсуліну, – контррецепторні білки. Ці чинники здатні нівелювати біологічний вплив інсуліну, вони проявляють властивості конкурентних інгібіторів інсулін-рецепторного зв'язування *in vitro*, а також мають діабетогенну дію при введенні тваринам. Виходячи з відмінностей “антагоністичних” властивостей сироваткових чинників, виявлених у здорових людей і хворих на цукровий діабет, можна припустити, що вони відіграють певну роль серед механізмів формування інсулінорезистентності на рівні взаємодії між інсуліном і його клітинними рецепторами. Дані літератури та результати досліджень авторів цієї роботи свідчать про наявність серед білків сироватки (не враховуючи антиінсулінових антитіл) двох типів білків, що зв'язують інсулін, які мають високу або низьку афінність до інсуліну і належать відповідно до глобулінової і альбумінової фракцій сироваткових білків. Виділення білків, що зв'язують інсулін, проводили шляхом афінної сорбції сироватки крові на інсулін-агарозі (сефарозі). Поетапна елюція буферними розчинами з різними значеннями рН дозволила спочатку видалити з афінних колонок слабо зв'язані білки при рН 6,0, а потім при рН 2,5 отримати високоспецифічні фракції білків, що зв'язують інсулін.

Ключові слова: білки, що зв'язують інсулін; контррецепторні білки; інсулінорезистентність; цукровий діабет.

Цукровий діабет 2 типу (ЦД-2) характеризується станом інсулінорезистентності, коли для досягнення нормального рівня глюкози у крові потрібні концентрації інсуліну, які значно перевищують його фізіологічні рівні. Проте причини і механізми виникнення резистентності тканин до дії інсуліну досі невідомі. Серед багатьох чинників, які можуть впливати на біологічну дію інсуліну, можна назвати наявність у крові речовин, здатних блокувати дію гормону на початковому етапі його взаємодії з клітинами, а саме – на стадії специфічного розпізнавання інсуліну і зв'язування його з мембранними рецепторами. Такий вплив може здійснюватися за участю двох механізмів: 1) утворення комплексів інсуліну з білками плазми крові, що зв'язують інсулін (БЗІ), 2) блокування активних центрів рецепторів інсуліну на мембранах чутливих клітин контррецепторними білками (КРБ). Білки, що зв'язують інсулін, можуть виконувати роль транспортних речовин і регуляторів вмісту біодоступного інсуліну, а антирецепторні – визначати кількість вільних місць на рецепторах інсуліну.

Антагоністичний (антиінсуліновий) вплив сироваток крові хворих на цукровий діабет і здорових людей щодо біологічної дії інсуліну на діафрагму щу-

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

рів *in vitro* виявлено досить давно. Але дані літератури про властивості сироваткових чинників, які спричиняють цей вплив, дуже суперечливі, що обумовлено методичними особливостями виділення з сироватки білкових фракцій [1-25].

J.Vallance-Owen та ряд інших дослідників [3-4, 9-10] вивчали біологічну активність альбумінової фракції, яку отримували з сироватки крові методом кислотно-спиртової екстракції. Гальмування альбуміновою фракцією поглинання глюкози діафрагмою щура за наявності інсуліну було дозозалежним і конкурентним. Показано, що антагоністичний фактор не належить до вільних ліпідів, жирних кислот, стероїдоподібних сполук, а має поліпептидну природу. Дослідники дійшли висновку, що антагоніст інсуліну – це не сам сироватковий альбумін, а зв'язаний з ним компонент, названий “синальбуміном” (synalbumin insulin antagonist), який міститься у плазмі крові хворих на діабет у більшій кількості, ніж у здорових осіб. Припускали, що синальбумін являє собою сполучення сироваткового альбуміну з В-ланцюгами інсуліну [9]. Показано пряму кореляційну залежність між антагоністичною активністю сироваткового альбуміну та рівнем глікемії натще у хворих на ЦД та їхніх родичів, при цьому у “синальбумін-позитивних” сироватках за допомогою мас-спектрометрії виявлено наявність кантуренової кислоти – похідного триптофану, який здатний утворювати комплекс з інсуліном [17].

З альбумінової фракції сироватки крові людей, хворих на ЦД 1 типу, та щурів з алоксановим діабетом Б.А.Кудряшовим та ін. [22-24] отримано в гомогенному вигляді кислий білок з молекулярною масою 60 кДа, який викликає діабетоподібний стан при уведенні щурам, і отримав назву “діабетогенний фактор”. Цей білок зв'язує як інсулін, так і поліаніонний гетерополісахарид гепарин, що призводить до зниження у піддослідних тварин вмісту імунореактивного інсуліну, інсулінорезистентності і гіперглікемії, а також до падіння рівня ендогенного гепарину і гіперкоагуляції крові. Уведення тваринам гепарину знімає гіперглікемічний вплив діабетогенного фактора.

Інший підхід до виділення фракції білків сироватки з антагоністичними властивостями щодо інсуліну використали H.Antoniades et al. [1-2, 7-8]. За допомогою хроматографії на катіонообмінних смолах Dowex-50 з великих об'ємів плазми крові донорів (до 20 л) виділяли комплексну форму зв'язаного з білками інсуліну, названого “bound insulin” (BIns). Виявлено суперечливі ефекти BIns: з одного боку, спостерігався антагонізм щодо впливу інсуліну на діафрагму щура [7], а з іншого – інсуліноподібна дія BIns за умов *in vitro* та *in vivo*. Розділення комплексів основних білків з інсуліном досягали за допомогою гідролізу в кислому або лужному середовищі, а також шляхом обробки екстрактами жирової тканини, оскільки виявилось, що фракція BIns проявляє інсулінову активність у діафрагмальному тесті за наявності в інкубаційному середовищі епідидимальної жирової тканини щурів або при додаванні екстрактів з жирової тканини людей і щурів [2]. Ці дані стали основою напівкількісного біологічного методу оцінки активності гормону у фракціях вільного та зв'язаного інсуліну плазми крові. При цьому вимірюється поглинання глюкози з інкубаційного середовища (або інші впливи інсуліну) тканиною діафрагми і жировою тканиною щурів. На основі отриманих даних авторами уперше висловлено припущення, що досліджувані фракції BIns містять чинники, які можуть викликати інсулінорезистентність тканин [8]. Але виявлений “антиінсуліновий” вплив не можна пояснити тільки здатністю BIns зв'язувати інсулін, на що вказують результати дослідження, описаного H.Antoniades. У цьому дослідженні виявляли порушення утилізації інсуліну діафрагмою щурів після преінкубації тканини з BIns, незважаючи на те, що надосадову рідину з розчином BIns відкидали перед проведенням реакції з інсуліном. В експериментах, виконаних пізніше [19], показано, що наявність в інкубаційному середовищі

фракції “зв’язаного інсуліну” перешкоджає максимальному прояву біологічної дії вільного інсуліну на жирову тканину. На наш погляд, ці факти можна пояснити наявністю у фракціях ВІns, виділених шляхом іонообмінної хроматографії, чинників, здатних блокувати рецептори інсуліну на мембранах клітин. Але на той час рецептори інсуліну не були відкриті, і головна увага приділялась дослідженню інсуліну, зв’язаного з білками.

Зв’язування міченого інсуліну фракціями сироваткових білків досліджувалось як за умов *in vitro*, так і *in vivo*. При вивченні міграції ^{125}I -інсуліну після його інкубації з сироватками крові здорових людей методами гель-імуноелектрофорезу і авторадіографії було виявлено радіоактивність серед β_{2A} - і β_{2M} -глобулінів, але не в зоні γ -глобулінів [11]. Комплекси міченого інсуліну з білками осаджувались антитілами проти людських імуноглобулінів (Ig), тобто ці білки проявляли певні властивості Ig. З використанням методу електрофорезу в блоках крохмального гелю було показано, що мічений інсулін, доданий до взятої натще сироватки крові здорових донорів, переміщувався в основному як вільний інсулін, у той час як головна частка інсуліноподібної активності спостерігалась в зоні ($\gamma+\beta$)-глобулінів. Відсутність зв’язування міченого інсуліну з білками автори пояснили тим, що за даних умов сироватка не містить надлишку БЗІ, вільних від інсуліну. У крові, отриманій через 10 хв після навантаження глюкозою, сироваткова активність, причетна до зв’язування інсуліну, виявлялась у зоні вільного інсуліну, α_1 -глобулінів та альбумінів. Таким чином, у сироватці крові, взятій натще, інсулін знаходиться здебільшого у зв’язаній формі, а після прийому їжі – переважно у вільному стані [4, 7].

Після інкубації ^{125}I -інсуліну з сироватками крові здорових донорів і наступного електрофорезу в поліакриламідному гелі виявляли максимальну радіоактивність у ділянці 2,3- α_1 -глобулінів і α_2 -глобулінів. При додаванні до інкубаційного середовища антиінсулінової сироватки пік радіоактивності зміщувався до зони α_1 -, β - і γ -глобулінів, звідки зроблено висновок про нестійкий характер зв’язку інсуліну з транспортними білками. У сироватках хворих на ЦД 1 типу, які отримували інсулін, максимальну радіоактивність виявляли в зоні γ -глобулінів і 3 α_1 -глобулінів. Поява мітки в зоні γ -глобулінів у деяких сироватках пов’язана, очевидно, з наявністю в них антитіл до інсуліну [16].

Вже в ранніх роботах відзначалось, що “антагоністичні” впливи сироваток крові, отриманих від осіб з ожирінням та цукровим діабетом, значно відрізняються від дії сироваток крові здорових людей. Так, описано більш виражений гальмівний вплив сироваток крові хворих на ЦД на такі біологічні функції інсуліну, як поглинання глюкози і антиліполітична дія в жировій тканині *in vitro* [12]. Це обумовлене, очевидно, пригніченням активності інсуліну чинниками сироваток, причому такими, що безпосередньо блокують дію гормону на клітини, оскільки в жировій тканині антиінсулінова дія БЗІ не повинна проявлятися. Ймовірно, що таким чином виражається здатність діабетичних сироваток блокувати інсулінові рецептори.

H. Antoniades припускав, що при діабеті з відносною нестачею інсуліну та надлишком “антагоністичного фактора” як протидія продукується додаткова кількість інсуліну, тому підвищується вміст ВІns у сироватці крові. Згідно з цим поглядом, ожиріння, що часто супроводжує діабет, викликане тим, що жирова тканина здатна утилізувати зв’язану форму інсуліну, який, в свою чергу, сприяє збереженню та запасанню ліпідів в адипоцитах [8]. На користь цього погляду свідчать дані про залежність вмісту фракцій вільного і зв’язаного інсуліну у хворих на діабет від наявності ожиріння: якщо у нововиявлених, ще не лікованих хворих на цукровий діабет з нормальною масою тіла концентрація ВІns не перевищувала рівня норми, то у хворих на діабет з первинним ожирінням визначався високий рівень ВІns і вільного інсуліну. Виникла думка, що у таких пацієнтів підвищений рівень ВІns гальмує нормальне погли-

нання вільного інсуліну м'язами, але не жировою тканиною, здатною використовувати обидві фракції інсуліну, внаслідок чого ожиріння підсилюється [7, 8]. Можливо, що підвищення здатності γ -глобулінів зв'язувати інсулін дає переваги жировій тканині перед іншими тканинами за умов енергетичного голодування при цукровому діабеті [18]. В осіб з діабетом трансформація інсуліну в зв'язану форму підвищена, а його утилізація знижена, що може посилювати глюкозотолерантність [13].

Дослідження, пов'язані з осадженням фракції зв'язаного інсуліну поліетиленгліколем (ПЕГ), показали відмінність властивостей комплексованого з глобулінами інсуліну у сироватках крові здорових людей і хворих на ЦД. Після преципітації γ -глобулінів сироваток крові хворих на ЦД 2 типу під дією ПЕГ виявляли перехід до осаду значної частини інсуліноподібної активності, тоді як інсулінова активність сироваток крові здорових людей і хворих на ЦД 1 типу при такій же обробці не змінювалась [18]. При визначенні вмісту вільного інсуліну у сироватках крові здорових людей після осадження глобулінів ПЕГ було помічено, що процедура розморожування сироваток і наступної інкубації при 37 °С не впливає на результати визначення. У той же час, у сироватках крові хворих на ЦД спостерігались великі розбіжності вимірюваної кількості імунореактивного і вільного інсуліну (на 51-272 %). Концентрація загального інсуліну при цьому не змінювалась [15]. Не виключено, що після розморожування порушується зв'язок інсуліну з білками-носіями, які у хворих на ЦД відрізняються від білків, що є у сироватках крові здорових людей.

Докладні дослідження фізико-хімічних властивостей БЗІ виконані Н.К Грачовою та ін. [19-21]. Фракціонування сироваток крові робили за допомогою препаративного електрофорезу у стовпчиках поліакриламідного гелю; у фракціях біологічним методом визначали активність вільного й зв'язаного інсуліну. Показано, що у сироватках крові здорових людей, отриманих натще, зв'язаний інсулін виявляється у фракціях трансферинів і постальбумінів, а вільний інсулін – у зоні преальбумінів; після навантаження глюкозою більша частина сироваткової інсулінової активності припадає на вільний інсулін. У сироватках крові хворих на ЦД 2 типу активність зв'язаного інсуліну переходить переважно до зони гаптоглобінів, при цьому вільний інсулін практично відсутній як натще, так і після прийому глюкози. З цих даних зроблено висновки про можливість зв'язування інсуліну двома різними білками сироватки: трансферинами і гаптоглобінами (α_1 -глобулінами), а також про те, що у хворих на ЦД порушене зв'язування інсуліну з сироватковими білками і його вивільнення з комплексованого стану може бути обумовлене зміною фізико-хімічних властивостей фракцій цих білків, зокрема трансферину; це сприяє підключенню до утворення комплексів з інсуліном інших білків – гаптоглобінів. Дослідження трансферину, виділеного з сироваток крові здорових людей і хворих на ЦД, підтвердили, що в останньому випадку спостерігається знижене зв'язування інсуліну трансферином, а також значно менший відносний вміст α -спіралізованих ділянок у молекулах трансферину [21].

У роботах А.А.Жвирблене та ін. [25] для препаративного виділення БЗІ з сироватки крові людей і щурів використано метод афінної сорбції на колонках з інсуліном, іммобілізованим на BrCN-сефарозі 6В, що забезпечує найбільш "фізіологічні" умови отримання цих білків. Отриманий з афінних колонок білок з молекулярною масою 120-140 кДа після відновлення 2-меркаптоетанолом повністю переходив у фрагменти з молекулярною масою близько 50 і 25 кДа. Такі властивості характерні для фрагментів імуноглобулінів G (IgG), що підтвердив і імуноелектрофоретичний аналіз. Вміст БЗІ у сироватці крові щурів і людей становить 0,12-0,15 мг/мл. З використанням методу Скетчарда автори визначили константи асоціації (K_a) отриманого білка з інсуліном. Для БЗІ людини K_a із свинячим інсуліном дорівнювала $2,3 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$, з людським –

$2,5 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$. Далі автори вивчали зв'язування міченого інсуліну з білками сироватки *in vitro* і показали наявність мітки у трьох хроматографічних піках (на сефакрилі S-200), що відповідають імуноглобулінам, сироватковому альбуміну і вільному інсуліну. Зв'язування інсуліну з альбуміном було відносно низьким і оцінювалося як неспецифічне. Розрахунок показав, що при рівні БЗІ у сироватці крові близько 10^{-6} M , незважаючи на низьке значення константи асоціації, більше половини інсуліну сироватки має перебувати у зв'язаному стані. Ємність такої системи цілком достатня для того, щоб протидіяти різким коливанням рівня інсуліну у крові.

У ряді робіт [26-27] показано, що БЗІ сироватки крові не однакові за показниками спорідненості до інсуліну. Так, визначення швидкості дисоціації комплексів інсуліну, міченого ^{131}I , з γ - та β -глобуліновими фракціями сироваткових білків здорових людей при додаванні неміченого інсуліну дозволило виявити зв'язування молекул інсуліну з двома типами активних центрів: $K_{a1}=(1,3-180) \cdot 10^8 \text{ M}^{-1}$, $K_{a2}=(1,0-46) \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$ [26]. При вивченні кінетики зв'язування інсуліну з сироватками хворих на ЦД, лікованих інсуліном, також було знайдено 2 типи центрів зв'язування: а) високоафінні (K_d $0,4-12,4 \cdot 10^{-9}$ моль/л) з низькою ємністю ($0,6-659$ мкОд/л), б) низькоафінні (K_d $0,3-35,7 \cdot 10^{-7}$ моль/л) з високою ємністю ($202-1113$ мкОд/л) [27]. При цьому у хворих з гіпоглікемією відзначено вищий рівень насиченості інсуліном низькоафінних центрів у порівнянні з хворими без гіпоглікемії, що може вказувати на метаболічну активність даної фракції інсуліну. Високоафінні центри можуть належати іншим БЗІ з високою спорідненістю до інсуліну.

В останні роки у пуповинній крові новонароджених дітей виявлено неімуноглобулінові білки, що зв'язують інсулін [28]. У 96 із 100 випадків виявлено активність БЗІ, не пов'язану з наявністю у сироватці крові дітей або їхніх матерів характерних для цукрового діабету панкреатичних аутоімунних маркерів. Природу цих білків, що реагують з інсуліном, поки що не досліджено.

На нашу думку, наявна в літературі неузгодженість у питанні щодо біологічних і фізико-хімічних властивостей білків, що зв'язують інсулін, пов'язана з тим, що різні автори вивчали різні фракції БЗІ, у залежності від використаних ними методичних прийомів виділення цих білків. Аналіз даних літератури схиляє до думки, що у сироватці крові існує мінімум два типи БЗІ (не враховуючи антитіл до інсуліну), а саме:

1) білки з властивостями альбумінів з молекулярною масою 50-70 кДа і високим вмістом кислих амінокислотних залишків. Ці білки виділяються з альбумінових фракцій сироватки крові, отриманих методами кислої спиртової екстракції [4, 22]. Константа зв'язування з інсуліном для альбумінових БЗІ невисока (близько 10^7 M^{-1}), а їх вміст у плазмі крові, навпаки, досить великий. У комплексоутворенні інсуліну з трансферином, як і у зв'язуванні інсуліну з його рецептором, можуть брати участь залишки сіалових кислот. Очевидно, ці білки виконують буферно-транспортну функцію щодо інсуліну, комплекси з яким утворюються після проходження крові через печінку.

2) білки з властивостями глобулінів. Молекулярна маса цих білків >100 кДа, вони проявляють основні властивості і можуть бути отримані з сироватки крові людей і тварин на катіонообмінних смолах [7], а також з глобулінових фракцій сироваткових білків [19, 25]. Ці білки, можливо, мають більшу афінність до інсуліну, яка наближається до показників активних центрів інсулінових рецепторів (10^8-10^9 M^{-1}) [26, 27]. Зв'язування інсуліну з глобулінами, що мають сумарний позитивний заряд, може зміцнюватись за рахунок електростатичної взаємодії з молекулами інсуліну, які в нейтральному середовищі мають властивості аніонів.

Крім того, результати деяких експериментів вказують на те, що у крові хворих на цукровий діабет є чинники, здатні безпосередньо блокувати рецеп-

тори інсуліну на мембранах клітин. На мал. 1 представлено перелік деяких відомих сироваткових чинників, які можуть блокувати інсулін або його рецептори.



Мал. 1. Білкові чинники сироватки крові, здатні впливати на взаємодію інсуліну з його рецепторами.

Про можливе походження білків, що зв'язують інсулін, можна зробити декілька припущень. До *низькоафінних* *БЗІ*, очевидно, належать альбумін і трансферин. Як відомо, дані білки утворюються в печінці, містяться в плазмі крові у великій кількості і виконують транспортні функції щодо багатьох типів молекул, у тому числі й гормонів.

Високоафінні *БЗІ* можуть утворюватися шляхом обмеженого протеолізу позаклітинних ділянок (α -субодиниць) специфічних рецепторів інсуліну. Про це свідчать такі дані.

Ряд авторів показали, що після перфузії печінки щурів розчином інсуліну, міченого [^{125}I], а також при його інкубації з плазматичними мембранами печінки відбувається розщеплення α -субодиниці рецепторів інсуліну (М 130 кДа) з утворенням фрагментів, зв'язаних з міченим інсуліном. При гельфільтрації солюбілізованих мембран печінки виявлено протеолітичні фрагменти α -субодиниць рецептора з масою 70 кДа [29, 30]. Продемонстровано залежне від інсуліну злучування ("shedding") і часткове руйнування рецепторів інсуліну на поверхні культивованих лімфоцитів [31]. При цукровому діабеті частковому розпа-

ду інсулінових рецепторів можуть сприяти наявні порушення антипротеазної та антиоксидантної систем захисту, ушкодження структури плазматичних мембран.

Показано, що відщеплення позаклітинних фрагментів рецепторів гормону росту призводить до утворення білків, які циркулюють у крові та здатні утворювати комплекс з гормоном і справляти активний вплив на його біологічну активність (“розчинні рецептори”) [32]. При ожирінні рівень у плазмі крові білків, що зв’язують гормон росту, підвищений і знаходиться у позитивному кореляційному взаємозв’язку з рівнями інсулінемії та масою абдомінальної жирової тканини [33].

Цікава з точки зору пояснення можливого механізму утворення “розчинних рецепторів” інформація представлена в роботах московських імунологів під керівництвом А.Я.Кульберга [34-35], де експериментально доводять існування біологічно активних регуляторних білків (Р-білків), що є у плазмі крові в нормі й при патології. Ці білки за хімічною будовою не належать до класу імуноглобулінів, але здатні специфічно зв’язувати ліганди різної структури, а також реагувати з антитілами до ділянок “талії” IgG, які в молекулах імуноглобулінів звичайно приховані. Показано, що Р-білки з’являються у плазмі крові та в поміжклітинному матриксі внаслідок обмеженого розпаду зовнішніх ділянок різних клітинних рецепторів нелімфоїдних клітин. При різних захворюваннях вміст Р-білків у крові значно підвищується. У плазмі крові Р-білки знаходяться як у вільному стані (М 50 кДа), так і у вигляді комплексів з імуноглобулінами, з молекулярною масою близько 200 кДа. Властивості Р-білків можуть бути притаманні, зокрема, фрагментам α -субодиниць рецепторів інсуліну. Аналіз структури позаклітинних ділянок рецепторів інсуліну показав високий ступінь гомології їхньої будови з варіабельними ділянками легких та важких ланцюгів імуноглобулінів. Аналогічні дані отримано щодо рецепторів гормону росту [35].

Можливо, що БЗІ походять з групи білків, які зв’язують інсуліноподібні ростові фактори (IGF). Специфічні рецептори IGF на мембранах клітин подібні за будовою до рецепторів інсуліну. Описано шість IGF-зв’язуючих білків плазми крові (IGFBP), що модулюють біологічну активність цих факторів [36]. Виявлено перехресні взаємодії між складовими системи IGF – IGFBP – рецептори IGF та інсулін – рецептори інсуліну, але константи асоціації інсуліну з рецепторами ростових факторів значно нижчі, ніж з його власними рецепторами. Нещодавно було виявлено новий IGFBP – білок 7/mas25, який, на відміну від шести відомих IGFBP, проявляє низьку афінність до IGF і високу – до інсуліну та блокує зв’язування інсуліну з його рецептором [37]. Таким чином, цей високоафінний білок, що зв’язує інсулін, може вносити свою частку у розвиток інсулінорезистентності.

Про сироваткові контррецепторні білки, що проявляють здатність зв’язуватись з рецепторами інсуліну (окрім антитіл до цих рецепторів), опублікованих даних дуже мало.

Відомо, що аполіпопротеїн В (апо-В), через наявність у його структурі спільних з інсуліном антигенних детермінант може конкурувати з гормоном за специфічні центри інсулінових рецепторів. Показано, що ліпопротеїни низької та дуже низької щільності знижували продукцію інсуліну β -клітинами підшлункової залози. “Контрінсулінові” властивості атерогенних фракцій ліпопротеїнів плазми проявлялись також у зниженні поглинання глюкози периферичними тканинами, насамперед м’язами [38].

Фактор некрозу пухлин- α (ФНП- α) також порушує передачу інсулінового сигналу, але цей вплив здійснюється без зміни кількості рецепторів інсуліну на клітину або молекулярної маси рецепторів. Показано, що під дією ФНП- α відбуваються зміни ряду пострецепторних процесів, таких як активація внут-

рішньоклітинних субстратів інсулінових рецепторів IRS-2, експресія транспортерів глюкози; це може стати причиною інсулінорезистентності периферичних тканин, особливо при ожирінні [39-41].

Відомо, що різні форми проінсуліну також можуть взаємодіяти з рецепторами інсуліну, але інсуліноподібна біологічна активність проінсуліну, як і його здатність витіснити [¹²⁵I] інсулін з інсулін-рецепторних комплексів, становить лише 3-10 % порівняно з відповідними властивостями інсуліну [42]. Тому, незважаючи на відомості про аномально високий вміст проінсуліну у крові хворих на діабет, цей попередник інсуліну розглядають скоріше як маркер порушення секреції інсуліну, ніж як чинник, що може порушити рецепторні процеси [43].

За даними А.Я.Кульберга [34], на поверхні клітин експресовані, поряд з рецепторами до різноманітних лігандів, також антирецептори (аналогічно до відомої системи ідіотип-антиідіотип). У випадку рецепторів інсуліну, антирецептори повинні нести антиідіотипний "відбиток", подібний до молекули інсуліну. При переході фрагментів антирецепторів у розчинну форму вони можуть утворювати специфічні комплекси з інсуліновими рецепторами, тому можна припустити, що Р-білки зі структурою антирецепторного типу здатні відігравати роль блокаторів для інсулінових рецепторів і конкурувати з гормоном за активні центри цих рецепторів.

Проблема регуляції інсулін-рецепторної взаємодії та механізмів її порушення при інсулінорезистентних станах привертала увагу дослідників з часу відкриття інсулінових рецепторів та встановлення їхньої ролі в передачі гормонального сигналу і здійснення внутрішньоклітинних функцій інсуліну. За останні десятиріччя досягнуто величезних успіхів у розкритті первинної структури і просторової організації молекули рецептора інсуліну, а також складних молекулярних механізмів передачі інсулінового сигналу. Але зусилля вчених були останнім часом спрямовані здебільшого на вивчення пострецепторних клітинних процесів, і дуже мало уваги приділялося зв'язуванню гормону з його рецептором, хоча цей процес є первинним "пусковим механізмом" усіх наступних каскадів реакцій.

Показники інсулін-рецепторного зв'язування при цукровому діабеті досить широко вивчалися з використанням конкурентних радіоімунологічних методів. Багато дослідників виявили понижене зв'язування інсуліну з його солюбілізованими рецепторами та з деякими тканинами і клітинами хворих на діабет (з пропорційним зниженням активності тирозинкінази рецепторів) [44-47]. У той же час, у культивованих тканинах, отриманих від хворих на діабет, не спостерігалось зменшення кількості центрів зв'язування інсуліну і їхньої афінності, що свідчить про відсутність внутрішніх (генетичних) аномалій, які можуть викликати зниження зв'язування інсуліну свіжоізольованими клітинами [45]. В інших дослідженнях не виявлено зміни показників зв'язування і біологічного впливу інсуліну *in vitro* при діабеті; показано тільки зменшення інсулінозалежного (але не базального) фосфорилування тирозинкінази рецепторів. Ці протиріччя можуть бути пов'язані з численними варіантами і особливостями виділення тканин та рецепторів, умовами постановки реакції, видом досліджених клітин, способом математичної обробки даних, тому порівняння результатів, отриманих різними авторами, не завжди можливе. У багатьох роботах послаблення дії інсуліну виявляли біологічними методами, що не дають можливості визначити кінетичні показники зв'язування і пояснити механізми блокування. Але певна кількість досліджень вказує на можливість порушення біологічної дії інсуліну внаслідок наявності у крові позарецепторних чинників, що впливають на початковий етап взаємодії рецептора з гормоном. Так, за допомогою аналізу Скетчарда показано дозозалежне конкурентне інгібування зв'язування міченого інсуліну з еритроцитами здорових людей при до-

даванні до середовища інкубації сироваток крові хворих на діабет з інсуліно-резистентністю [52].

Відомо, що найважливіший патогенетичний механізм інсулінонезалежного цукрового діabetу – це порушення реакції клітин на інсуліновий сигнал (інсулінорезистентність). Та обставина, що нормоглікемічний стан у інсулінорезистентних хворих на ЦД-2 досягається збільшенням кількості інсуліну у крові (ендогенного, який виділяється в результаті стимуляції сульфаніламідними препаратами, або при введенні великих доз екзогенного інсуліну), наводить на думку, що при ЦД інсулінові рецептори у більшості випадків не пошкоджені, а перебувають у “заблокованому” стані; при цьому інсулін у високих концентраціях може конкурентно витіснити такі блокатори з комплексів з рецепторами. На користь цього свідчать також дані про “запасні рецептори”: давно відомо, що тільки невелика частка рецепторів (до 10 %) повинна зв'язати інсулін для досягнення його повного біологічного впливу [50]. На зворотний характер порушень інсуліночутливості вказують і згадані вище дані про відсутність змін параметрів зв'язування інсуліну та його біологічної дії в культивованих клітинах хворих на цукровий діабет.

З урахуванням викладеної інформації, нами було поставлено завдання вивчити вплив гуморальних чинників сироватки крові хворих на цукровий діабет 2 типу на інсулін-рецепторне зв'язування. За допомогою конкурентного радіолігандного аналізу та розрахунку кінетичних параметрів методом Скетчарда [51] виявлено, що показники специфічного зв'язування інсуліну, міченого [^{125}I], з еритроцитами хворих на ЦД 2 типу відрізняються від контрольних показників зниженням кількості центрів зв'язування на клітину. Інкубація еритроцитів здорових донорів з плазмою крові людей, хворих на ЦД 2 типу, призводить до порушень у зв'язуванні інсуліну, а обробка еритроцитів хворих кислим буферним розчином (рН 4,5) – до нормалізації показників зв'язування. Встановлено, що сироватки крові хворих на цукровий діабет 2 типу конкурентно загальмовують специфічне зв'язування міченого [^{125}I] інсуліну з еритроцитами здорових людей і з солюбілізованими рецепторами інсуліну з печінки щурів. Методом афінної хроматографії на агарозі з ковалентно зв'язаними рецепторами інсуліну (IP-агароза) та на інсулін-агарозі нами було виділено з сироваток крові людей і тварин білки, які мали спорідненість відповідно до рецепторів інсуліну (контррецепторні білки) або до інсуліну (білки, що зв'язують інсулін, або контрінсулінові білки). Білки, отримані з плазми крові на обох сорбентах, виявились гетерогенними за складом електрофоретичних фракцій. Вони утворювали преципітати з ангісироватками до імуноглобулінів G і до Р-білків при імунодифузії в агарі. Вміст цих білків у плазмі крові хворих на ЦД 2 типу був значно вищий, ніж у донорів [52-54].

Представлений фрагмент роботи присвячено виділенню з сироваток крові хворих на ЦД-2 високоспецифічно зв'язаних з афінними сорбентами фракцій інсулінзв'язуючих білків методом афінної хроматографії.

Матеріали та методи дослідження

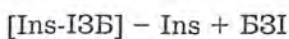
Для виділення БЗІ використовували суміші сироваток крові (по 1 мл кожної) 10 хворих на ЦД 2 типу, які не отримували інсуліну. Сироватки крові піддавали обробці рівним об'ємом 3 % суспензії активованого вугілля в 1 % розчині декстрану Т-70 з метою видалення вільного інсуліну [55]. Після видалення осаду вугілля центрифугуванням зразки сироваток (у розведенні 1:1) зберігали в аліквотах при $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Вміст імунореактивного інсуліну у сироватках крові визначали за допомогою набору “Ріо-ІНС-ІІГ- ^{125}I ” (Білорусь). Афінні сорбенти готували згідно з інструкцією виробників активованої BrCN сефарози 4В (“Pharmacia”) та АН-агарози 4В (Таллін). Для іммобілізації використовували людський рекомбінантний інсулін (“Eli Lilly”) у кількості 30 мг білка на 1,4 г сухого сорбенту. Сорбенти врівноважували в робочому фосфатно-сольовому буферному розчині, рН 7,4 (PBS) і зберігали при $4-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ з додаванням 0,01 % азиду натрію.

Специфічну зв'язувальну активність отриманих сорбентів оцінювали за допомогою мишачих моноклональних антитіл до інсуліну людини (Інститут біохімії НАН України). Для цього 3,4 мл розчину антитіл в PBS (у розведенні 1:136) пропускали через колонки з 500 мг інсулін-агарози, після чого колонки промивали PBS і проводили елюцію 0,1 М HCl-гліциновим буферним розчином, рН 2,5. Збирали фракції по 0,5 мл, доводили до рН 7,0 за допомогою 1 М Трис-HCl (рН 9,0) і визначали рівень антитіл до інсуліну у фракціях методом імуноферментного аналізу на планшетах "Dynatech" з іммобілізованим інсуліном людини ("Hoechst") і використанням кон'югованих з пероксидазою хрому антитіл до імуноглобулінів миші ("Sigma"), згідно з рекомендаціями [56].

Перед хроматографією підготовлені сироватки крові розморожували, центрифугували при 3000 об/хв і пропускали спочатку через колонку з 4 мл агарози 4В, потім через робочу колонку з певною кількістю афінного сорбенту, після чого промивали 30-40 мл PBS. Елюцію проводили за допомогою відповідного буферного розчину, збираючи фракції по 0,5-1 мл, і визначали вміст білка за методом Bradford [57]. Зразки для електрофорезу готували шляхом осадження білків 10-кратним об'ємом холодного 96 % етанолу з наступним центрифугуванням при 4 °С (20 хв при 3000 об/хв). Осад білка суспендували в буфері Леммлі (з β-меркаптоетанолом або без нього) і прогрівали при 100 °С протягом 2 хв. Електрофорез проводили впродовж 4 год у 7,5 % поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію [58] і 3,5 % концентруючим гелем. Білкові фракції забарвлювали розчином Кумасі G-250 у 7 % оцтової кислоти.

Результати досліджень та їх обговорення

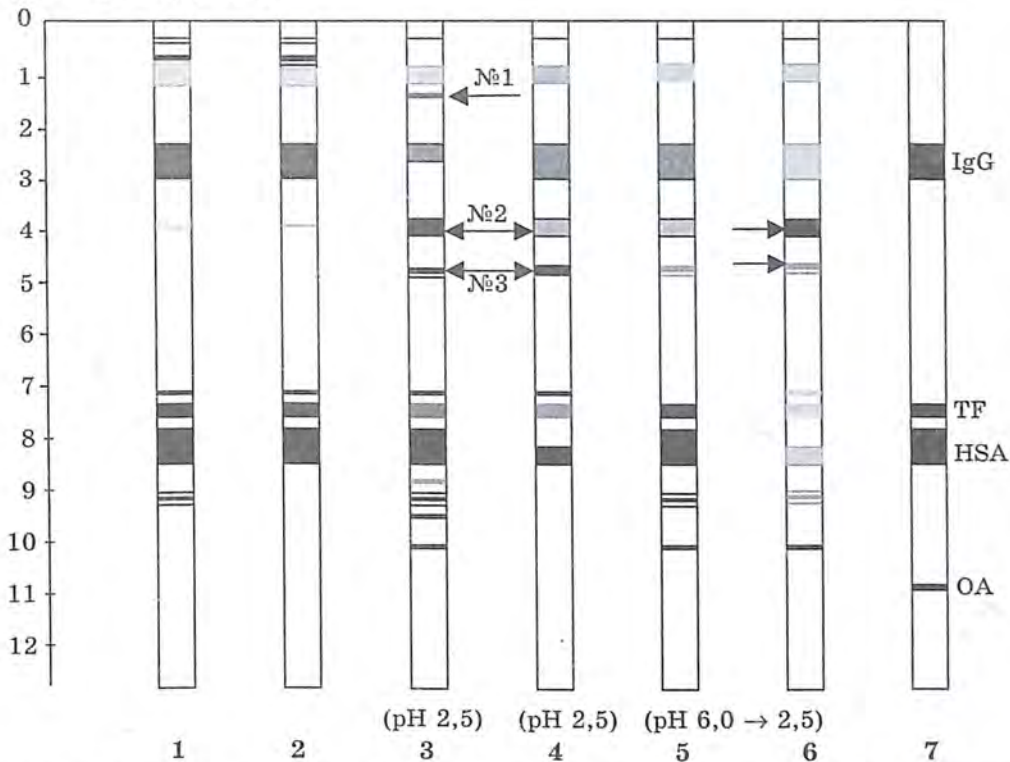
Вміст імунореактивного інсуліну в двох використаних сумішах сироваток крові хворих на ЦД, визначений методом РІА, становив відповідно 128 та 133 пмоль/л. Після обробки суспензією активованого вугілля вміст інсуліну в обох сумішах склав відповідно 10 пмоль/л та менше 4 пмоль/л. Отже, сорбція вугіллям дозволяє видалити значну частину ендогенного інсуліну, що повинно сприяти дисоціації наявних у розчині комплексів інсуліну з білками внаслідок зміщення вправо рівноваги реакції:



Щоб виявити білкові фракції, які найефективніше зв'язуються з іммобілізованим інсуліном, 10 мл очищеної сироватки крові послідовно пропускали через 4 колонки з інсулін-ВrCN-сефарозою 4В; кожна з колонок містила по 650 мг вологого сорбента. Після промивання PBS з кожної колонки проводили елюцію сорбованих білків HCl-гліциновим буферним розчином, рН 2,5. Вихід білка в елюаті з 1 колонки становив 30–35 мкг у перерахунку на 1 мл вихідної сироватки. Фракції елюату з максимальним вмістом білка об'єднували і досліджували за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі, як описано вище. Схематичне розташування електрофоретичних фракцій білків сироватки крові та отриманих елюатів представлено на мал. 2. На схемі можна бачити, що в елюатах з 1 колонки з інсулін-ВrCN-сефарозою концентрувались 3 фракції з молекулярними масами: 1) 160-180 кДа, 2) 125-135 кДа, 3) 115-120 кДа (за даними трьох дослідів); є також фракції альбумінів і трансферинів. Фракція № 1 розташована в зоні імуноглобулінів (γ-глобуліни); фракції № 2 і № 3 належать до зони гаптоглобінів (β-глобуліни або постальбуміни). У трансфузаті та в елюатах з наступних колонок цих фракцій практично не помітно, в той час як інші білки (зокрема, трансферин, альбумін) представлено у співвідношеннях, близьких до нефракціонованої сироватки крові. В елюатах, отриманих з інсулін-АН-агарози, де інсулін людини ковалентно зв'язаний з носієм за допомогою вуглеводневого "містка", виявлялись фракції № 2 і 3 і не було помітно фракції № 1. Таким чином, визначилися фракції БЗІ, щодо яких можна припустити більш високу афінність до іммобілізованого на колонці інсуліну, оскільки вони концентрувалися на афінних сорбентах, на відміну від інших сироваткових білків, вміст яких значно перевищує кількість високоафінних БЗІ.

Наступним завданням роботи було очищення білків, сорбованих з високою специфічністю на колонках з інсулін-АН-агарозою. Для цього застосували метод

Пробіг від старту (см)



Мал. 2. Білки, що зв'язують інсулін, виділені з сироваток крові хворих на цукровий діабет 2 типу методом афінної хроматографії на сорбентах з іммобілізованим інсуліном за різних умов елюції: схема розташування білкових фракцій на електрофореграмі в 7,5 % поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію.

трек 1 – сироватка крові;

трек 2 – білки, не сорбовані на інсулін-сефарозі (трансфузат);

трек 3 – елюція з інсулін-BrCN-сефарози 4В буферним розчином рН 2,5;

трек 4 – елюція з інсулін-АН-агарози 4В буферним розчином рН 2,5;

треки 5, 6 – послідовна елюція з інсулін-АН-агарози 4В буферними розчинами рН 6,0>2,5;

трек 7 – білки-стандарті молекулярної маси: IgG – імуноглобулін G (150 кДа), TF – трансферин (76 кДа), HSA – людський сироватковий альбумін (67 кДа), OA – яєчний альбумін (45 кДа).

Стрілками позначено фракції, що концентруються в елюатах (молекулярна маса 160, 125 і 110 кДа).

поетапної елюції рядом буферних розчинів, кислотність яких поступово зростала. Першу елюцію проводили у м'яких умовах (50 мМ трис-НСІ буфером, рН 6,0), другу – 0,1 М НСІ-гліциновим буфером (рН 2,5); при цьому на першому етапі вдалося видалити з колонки основну кількість трансферинів і альбумінів (мал. 2, трек 5), а на другому – отримати міцніше зв'язані глобулінові і постальбумінові фракції з молекулярною масою 125 і 110 кДа (трек 6).

Отже, методом афінної хроматографії з сироваток крові хворих на цукровий діабет 2 типу виділено білки, що зв'язують інсулін, з використанням сорбентів на основі ковалентно зв'язаного рекомбінантного інсуліну людини. Показано, що деякі з сироваткових білків відразу концентрувалися на афінному сорбенті, в той час як інші білки продовжували сорбуватися при проходженні аліквоти сироватки через ряд однакових колонок. Було підібрано умови поетапної елюції сорбованих сироваткових білків, що дозволило отримати високо-

афінні фракції БЗІ, очищені від основної частини низькоафінно-сорбованих альбуминів і трансферинів. Для прямого аналізу афінності отриманих білкових фракцій до інсуліну і виявлення їх можливої ролі як конкурентних інгібіторів інсулін-рецепторного зв'язування необхідно провести дослідження параметрів зв'язування з використанням радіолігандних методів.

Висновок

Аналіз даних літератури, а також отримані нами результати свідчать про наявність у сироватці крові двох типів білків, здатних зв'язуватись з інсуліном. Оскільки спорідненість до інсуліну деяких білків з властивостями глобулінів, очевидно, вища за спорідненість таких сироваткових білків, як альбумін і трансферин, можна припустити, що високоафінні білки, що зв'язують інсулін, виконують роль не тільки носіїв інсуліну, але й лігандів, здатних конкурувати з рецепторами інсуліну за зв'язування гормону у сироватці крові і відігравати роль конкурентних блокувальних інсулін-рецепторної взаємодії. Крім того, ряд експериментальних даних свідчить про існування у сироватці крові білків, що приєднуються до рецепторів інсуліну. Підвищення вмісту цих блокуючих чинників у сироватці може призвести до порушення рівноваги між компонентами системи і викликати зрушення регуляторних процесів, яке супроводиться змінами інсуліночутливості різних тканин. Звідси випливає, що вивчення сироваткових чинників білкової природи може допомогти виявити нові механізми регуляції специфічної інсулін-рецепторної взаємодії і дослідити їхні особливості при інсулінорезистентних станах, зокрема, цукровому діабеті 2 типу, метаболічному синдромі тощо.

Література

1. Antoniadis H., Gundersen K. Studies on the state of insulin in blood: the state and transport of insulin in blood // *Endocrinology*. 1961, 68, N 1, 7-16.
2. Antoniadis H., Gundersen K. Studies on the state of insulin in blood: dissociation of purified human blood insulin complex(es) by incubation with adipose tissue in vitro // *Endocrinology*. 1961, 68, N 1, 36-42.
3. Vallance-Owen J., Lilley M. An insulin antagonist associated with plasma albumin // *Lancet*. 1961, 15, N 7190, 804-806.
4. Vallance-Owen J., Lilley M. Insulin antagonism in the plasma of obese diabetics and prediabetics // *Lancet*. 1961, 15, N 7190, 806-807.
5. Gundersen K., Williams R. Insulin antagonism in serum of untreated diabetics and in previously treated diabetics with ketoacidosis // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1960, 105, N 2, 330-393.
6. Samaan N., Dempster W., Fraser R., Stillman D. Changes in levels of "atypical" circulating insulin after infusing "typical" insulin through the liver // *J. Endocrinol.* 1963, 26, 1-10.
7. Antoniadis H., Huber A., Boshell B. et al. Studies on the state of insulin in blood: properties of circulating "free" and "bound" insulin // *Endocrinology*. 1965, 76, N 4, 709-721.
8. Antoniadis H. "Bound" insulin and tissue resistance to insulin // *Lancet*. 1965, 2, N 7404, 159-160.
9. Jervell J., Vallance-Owen J. In-vivo effects of the sialbumin insulin antagonist and of B-chain albumin // *Lancet*. 1967, 1, N 7502, 21-22.
10. Alp H., Recant L. Studies of the insulin-inhibitory effect of human albumin fractions // *J. Clin. Invest.* 1965, 44, N 3, 870-882.
11. Morse J., Heremans J. Immuno-electrophoretic analysis of human insulin-binding antibody and its papain-produced fragments // *Lab. Clin. Med.* 1962, 56, N6, 891-897.
12. Лейтес С.М., Давтян Н.К., Липунова З.И. Влияние сыворотки больных сахарным диабетом на действие инсулина в отношении жировой ткани // *Пробл. эндокринолог.* 1970, 16, № 1, 31-35.
13. Арутюнян Н.А., Тихонова Н.Е. О причинах резистентности к инсулину при нару-

- шении толерантности к глюкозе у лиц с нормальной массой тела // Пробл. эндокринолог. 1985, № 4, 6-9.
14. Вельбери С.К., Керге Я.Х., Лилеорг А.А. Значение инсулинсвязывающей активности сыворотки больных сахарным диабетом // Современные проблемы экспериментальной и клинической эндокринологии: Тез. докл. IV съезда эндокринологов Украины. К., 1987, 60-61.
 15. Hanning I., Home P., Alberti K. Measurement of free insulin concentrations: the influence of the timing of extraction of insulin antibodies // Diabetology. 1985, 28, 831-835.
 16. Лившиц И.Б., Корнеева И.Л. Комплексообразование инсулина с белками сыворотки крови в норме и при сахарном диабете // Вопросы лабораторной диагностики: Тез. докл. Минск.: 1975, 87-89.
 17. Петеркова В.А. Синальбумин – маркер диабетического генотипа / Тр. 2-го Моск. мед. ин-та. М., 1976, 58, вып.12, 18-19.
 18. Ярошевский Ю.А., Степанова Н.А. Связанный с белками инсулин крови у больных с инсулинорезистентной формой сахарного диабета // Сов. мед. 1983, № 10, 29-31.
 19. Грачева Н.К., Мкртумова Н.А., Старосельцева Л.К. Выделение фракции “связанного инсулина” с помощью электрофореза в полиакриламидном геле // Пробл. эндокринолог. 1972, 18, № 2, 102-106.
 20. Грачева Н.К., Харитоненков И.Г. Изучение “связанного инсулина” сывороток крови доноров и больных сахарным диабетом методом кругового дихроизма // Пробл. эндокринолог. 1978, 24, № 3, 102-106.
 21. Грачева Н.К. Взаимодействие биотина с комплексной формой инсулина доноров и больных сахарным диабетом // Пробл. эндокринолог. 1980, № 4, 5-9.
 22. Кудряшов Б.А., Пыттель Ю.А. Экспериментальный анализ патофизиологического значения “диабетогенного” фактора, присутствующего в крови животных при аллоксановом диабете // Пробл. эндокринолог. 1981, 27, № 4, 42-46.
 23. Ляпина Л.А., Кудряшов Б.А., Баратова Л.А. Характеристика белка, выделенного из альбуминовой фракции крови в норме и при диабете // Вопр. мед. химии. 1987, № 6, 69-71.
 24. Кудряшов Б.А., Ляпина Л.А. Получение и изучение некоторых физико-химических свойств диабетогенного фактора крови больных диабетом // Вопр. мед. химии. 1989, № 6, 63-66.
 25. Жвирблене А.А., Барбашов С.Ф., Северин Е.С. Выделение и изучение свойств инсулинсвязывающего белка сыворотки крови // Пробл. эндокринолог. 1988, № 4, 64-68.
 26. Кэбот Е., Мейер М. Экспериментальная иммунохимия. М.: Медицина, 1968. 684с.
 27. Kim M., Sheeler L., Mansharamani N. et al. Insulin antibodies and hypoglycemia in diabetic patients. Can a quantitative analysis of antibody binding predict the risk of hypoglycemia? // Endocrine. 1997, 6, N 9, 285-291.
 28. Bilbao J., Calvo D., Urrutia I. et al. Anti-insulin activity in normal newborn cord-blood serum: absence of IgG-mediated insulin binding // Diabetes. 1997, 46, N 4, 713-716.
 29. Lipson K., Kolhatkar A., Donner D. Insulin stimulates proteolysis of the α -subunit, but not the β -subunit of its receptor at the cell surface in rat liver // Biochem. J. 1989, 261, N 2, 333-340.
 30. Сологуб Л.И., Пашковская И.С., Гурская Н.И., Олексин Г.А. Ограниченный протеолиз инсулин-рецепторных комплексов в плазматических мембранах клеток животных // Современные проблемы экспериментальной и клинической эндокринологии: Тез. докл. IV съезда эндокринологов Украины. К., 1987, 358-359.
 31. Baumann G. Growth hormone binding protein – errant receptor or active player? // Endocrinology. 1995, 136, N 2, 377-378.
 32. Hilsted J., Rasmussen M., Kjems L., Ho K. Impact of weight loss, insulin and proinsulin on growth hormone binding protein in obesity // Diabetologia. 1995, 38, Suppl.1, p.A131.
 33. Berhanu P., Olefsky J. Photoaffinity labeling of insulin receptors in viable cultured human lymphocytes. Demonstration of receptor shedding and degradation // Diabetes. 1982, 31, 410-417.
 34. Кульберг А.Я. Регуляторные белки – новая медико-биологическая проблема // В кн.: Регуляторные Р-белки при инфекционных и других заболеваниях (сб. научн. тр.). М., 1990, 3-9.
 35. Кульберг А.Я. Сходство строения переменных районов полипептидных цепей

- иммуноглобулинов и внеклеточных районов рецепторов инсулина и гормона роста // Иммунология. 1986, № 2, 13-17.
36. Chan K., Spenser E. General aspects of insulinlike growth factor binding proteins // *Endocrine*. 1997, 7, N 1, 95-97.
 37. Yamanaka Y., Wilson E., Rosenfeld R., Oh Y. Inhibition of insulin receptor activation by insulin-like growth factor binding proteins // *J. Biol. Chem.* 1997, 272, N 49, 30729-30734.
 38. Потеряева О.Н., Панич Л.Е., Шевкопляс О.П. и др. Липопротеины сыворотки крови при сахарном диабете типа 2 // *Пробл. эндокринолог.* 2003, 49, № 4, 4-8.
 39. Winkler G., Salamon F., Szilvasi I. et al. Tumor necrosis factor-alpha as a link between obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus // *Diabetologia*. 1997, Suppl.: 16th IDF Congress, Abstr. 698.
 40. Valverde A., Terruel T., Navarro P., Lorenzo M. Tumor necrosis factor- α causes insulin resistance and inhibits insulin-induced adipogenesis in fetal brown adipocytes // *Endocrinology*. 1998, 139, N 3, 1229-1238.
 41. Storz P., Doppler H., Pfizenmaier K., Maller G. TNF inhibits insulin induced STAT5 activation in differentiated mouse muscle cells pmi 28 // *FEBS Lett.* 1998, 440, N 1-2, 41-45.
 42. Freychet P. The interactions of proinsulin with insulin receptors on the plasma membrane of the liver // *J. Clin. Invest.* 1974, 54, N 5, 1020-1031.
 43. Haffner S., Gonzalez C., Mykkanen L., Stern M. Proinsulin, immunoreactive insulin and specific insulin in relation to conversion to NIDDM: the Mexico City diabetes study // *Diabetologia*. 1997, Suppl.: 16th IDF Congress, Abstr. 760.
 44. Kahn R. Insulin action, diabetogenesis, and the cause of type II diabetes // *Diabetes*. 1994, 43, 1066-1084.
 45. Olefsky J., Reaven G. Decreased insulin binding to lymphocytes from diabetic patients // *J. Clin. Invest.* 1974, 54, 1323-1328.
 46. Freidenberg N., Henry R., Klein H., Olefsky J. Decreased kinase activity of insulin receptor from adipocytes of NIDDM subjects // *J. Clin. Invest.* 1987, 79, 240-250.
 47. Sinha M., Pories W., Flickinger G., Caro J. Insulin-receptor kinase activity of adipose tissue from morbidly obese humans with and without NIDDM // *Diabetes*. 1987, 36, N 5, 620-625.
 48. Prince M., Tsai P., Olefsky J. Insulin binding, internalization, and insulin receptor regulation in fibroblasts from type II (NIDDM) subjects // *Diabetes*. 1981, 30, N 6, 596-600.
 49. Ribarac-Stepic N., Kovacina K., Zamaclar M., Devcerski M. Detection of compounds in serum inhibiting binding to erythrocyte receptors // *Endocr. Exp.* 1988, 22, N 4, 203-209.
 50. Шаляпина В.Г. Физиология гормональной рецепции. Л.: Наука, 1986. 231 с.
 51. Scatchard L. The attractions of proteins for small molecules and ions // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1949, 51, N 6, 123-132.
 52. Корпачев В.В., Гурина Н.М., Иванова Ж.В. Роль специфических факторов сыворотки крови в нарушении связывания инсулина с рецепторами плазматических мембран эритроцитов // *Укр. биохим. журн.* 1994, 66, № 4, 65-68.
 53. Корпачев В.В., Гурина Н.М., Бездробний Ю.В., Иванова Ж.В. Роль порушення рецепції інсуліну в патологіологічній гетерогенності цукрового діабету // *Ендокринологія*. 1997, 2, № 1, 92-103.
 54. Иванова Ж.В. Фізико-хімічні та імунохімічні властивості контррецепторних та контрінсулінових факторів плазми крові // *Ендокринологія*. 1997, 2, № 1, 56-61.
 55. Shimoyama R., Shelmet J., Savage C., Boden G. Effects of anti-insulin receptor antibodies on downregulation and turnover of insulin receptors on cultures hepatocytes // *Diabetes*. 1986, 35, 128-132.
 56. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Д.Б., Гаврилова Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высшая школа, 1991. 287 с.
 57. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976, 72, 248-254.
 58. Laemmli U. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. 1970, 227, N 5259, 680-685.

Инсулинсвязывающие и контррецепторные белки сыворотки крови больных сахарным диабетом и здоровых людей (обзор литературы и собственные данные)
В.В.Корпачев, Н.М.Гурина, С.В.Мельниченко, Р.Г.Лукашова, А.А.Шупрович
Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев, Украина

Рассмотрены данные литературы о сывороточных факторах белковой природы, которые влияют на биологическую активность циркулирующего инсулина (инсулинсвязывающие белки, ИСБ) и рецепторов инсулина (контррецепторные белки). Эти факторы способны блокировать биологическое действие инсулина; они проявляют свойства конкурентных ингибиторов инсулин-рецепторного связывания *in vitro*, а также обладают диабетогенным действием при введении животным. Исходя из различий "антагонистических" свойств сывороточных факторов, обнаруженных у здоровых людей и больных сахарным диабетом, можно предположить, что они играют определенную роль в формировании инсулинорезистентности на уровне взаимодействия между инсулином и его клеточными рецепторами. Данные литературы и исследования авторов этой работы свидетельствуют о наличии среди белков сыворотки (не считая антиинсулиновых и антирецепторных антител) двух типов ИСБ с высокой или низкой аффинностью к инсулину, относящихся соответственно к глобулиновой и альбуминовой фракциям сывороточных белков. Выделение ИСБ проводили путем аффинной сорбции сыворотки крови на инсулин-агарозе. Поэтапная элюция буферными растворами с разными значениями pH позволила сначала удалить с аффинных колонок более слабо связанные белки (при pH 6,0), а затем при снижении pH элюирующего буфера до 2,5 получить высокоспецифические фракции ИСБ.

Ключевые слова: инсулинсвязывающие белки, контррецепторные белки, инсулинорезистентность, сахарный диабет типа 2.

Insulin binding proteins and counterreceptor proteins from diabetic and healthy subjects blood serum (review of literature and own data)

V. V. Korpatchev, N.M. Gurina, S.V. Melnychenko, R. G. Lukasheva, A. A. Shuprovich
V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 04114 Kyiv, Ukraine

The data concerning serum protein factors able to modify the bioactivity of circulating insulin (insulin binding proteins, IBP) and insulin receptors (counterreceptor proteins) are reviewed. The serum factors are known as suppressors of insulin biological effects, inhibitors of insulin-receptor binding *in vitro* and diabetogenic factors in animals. The difference in content and degree of "antagonistic" effects of serum factors in healthy subjects and diabetic patients suggests their possible role in insulin resistance development at the level of insulin-receptor interaction. The literature and authors' data indicate that there are at least two subtypes of IBP in the serum: 1) proteins with low affinity to insulin belonging to albumin fraction of serum proteins, 2) high affinity proteins of non-immunoglobulin nature. The affinity sorbition of serum IBP on insulin-agarose was performed, followed by two-step elution: the first elution with buffer pH 6,0 removed from sorbent weakly bound proteins; further elution with buffer pH 2,5 allowed to purify strongly bound proteins.

Key words: insulin binding proteins, counterreceptor proteins, insulin resistance, type 2 diabetes mellitus.

(Надійшла 23.06.2004)

ОСОБЛИВОСТІ ХІРУРГІЧНОЇ ТЕХНІКИ ГЕМІТИРЕОЇДЕКТОМІЇ ПРИ ФОЛІКУЛЯРНИХ НОВОУТВОРЕННЯХ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

*І.В.Комісаренко, А.Є.Коваленко, О.В.Люткевич**

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

До теперішнього часу у вивченні високодиференційованого раку щитоподібної залози залишається багато дискусійних питань: номенклатура, клініко-морфологічна характеристика, надзвичайно складна діагностика і вибір оперативної тактики.

Найбільш складна в діагностиці і лікуванні фолікулярна карцинома щитоподібної залози. Ця пухлина представлена структурами подібними до нормального тиреоїдного епітелію, що нерідко ускладнює диференційну діагностику доброякісних і злоякісних фолікулярних новоутворень і вірний вибір оперативного втручання [1].

Відомо, що цитологічна диференційна діагностика доброякісних і злоякісних фолікулярних новоутворень є досить складною [2]. Не вирішує багатьох проблем і експрес-гістологічне дослідження під час операції. Можливості цього дослідження в діагностиці фолікулярного раку досить обмежені (чутливість – 23-40 %, діагностична точність – 8 %) [2-4]. Оскільки тонкоіглова аспіраційна біопсія і експрес-гістологічне дослідження під час операції не можуть дати чіткої відповіді відносно характеру пухлини (карцинома чи аденома), хірург вимушений закінчувати операцію видаленням ураженої частки щитоподібної залози і чекати патогістологічного висновку. Таким чином, виконується гемітиреоїдектомія і питання відносно подальшого лікування (консервативного – спостереження, або подальшого оперативного – проведення остаточної тиреоїдектомії) вирішується після планового патогістологічного дослідження.

В більшості випадків при підтвердженні діагнозу карциноми постає питання стосовно проведення другого етапу – остаточної видалення тканини щитоподібної залози, тобто кінцевої тиреоїдектомії.

Одним з важливих аспектів повторних операцій є техніка втручання. Виконання операції у два етапи несе у собі деяку небезпеку. За даними більшості авторів, повторні операції значно частіше, ніж первинні, супроводжуються ускладненнями [8]. При виконанні повторних операцій на щитоподібній залозі ризик параліча *p.laryngeus recurrens* збільшується до 10-32 %, а ризик паратиреоїдної недостатності до – 5,9-30 % [7]. На думку А.Shaha [4], доречність виконання кінцевої тиреоїдектомії досить сумнівна, так як несе у собі високий ризик специфічних ускладнень тиреоїдної хірургії. Хотілось би, щоб повторні операції супроводжувались мінімальним ризиком інвалідизації пацієнта і відповідали рівню сучасних вимог хірургічної онкології.

У зв'язку з цим, ми розробили метод двохетапного оперативного втручання на щитоподібній залозі при пухлинах фолікулярної будови, в основі якого

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

лежить технічний підхід видалення ураженої частки щитоподібної залози, який дозволяє, при необхідності, здійснити кінцеву тиреоїдектомію з мінімальним ризиком ускладнень.

Метод

Запропонований нами метод полягає у наступному.

1. Після доступу до щитоподібної залози за Кохером, виділяють, лігують і пересікають нижні та верхні судини залози зі сторони ураженої частки.

2. Накладають затискачі на тканину щитоподібної залози або прошивають її з країв до перешийка, утворюючи держалки.

3. Відтягуючи перешийок, відділяють його від трахеї. Пірамідальну частку, якщо вона є, мобілізують таким чином, щоб вона залишилась в одному блоці з часткою і перешийком, які видаляють. Лінія резекції залози проходить по передньо-медіальній поверхні частки, яка залишається. Роблять резекцію до $1/4-1/3$ її об'єму.

4. Потім екстрафасціалью видаляють уражену частку з виділенням зв'язки Беррі і її надсіченням; при цьому візуалізують *n.laryngeus recurrens* і прищитоподібні залози.

5. Виконують експрес-гістологічне дослідження видаленої пухлини і при отриманні відповіді – “фолікулярна неоплазія”, роблять відповідно до запропонованого методу мобілізацію контрлатеральної частки, яку залишають.

6. Для цього по передньо-медіальній поверхні тонким затискачем Холстеда проникають під паріетальний листок капсули залози; одна бранша затискача проходить між паріетальним та вісцеральним листком капсули. Мобілізацію здійснюють вздовж трахеї до зв'язки Беррі, надсікаючи її. При мобілізації не чіпають судини, які живлять частку.

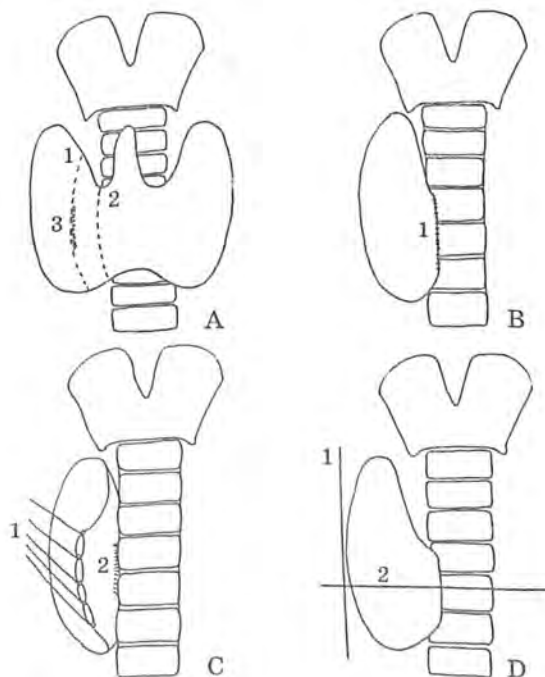
7. Закінчують операцію ретельним гемостазом, на місці видаленої частки залишають аспіраційний дренаж, пошарово зашивають операційну рану.

Другий етап операції виконують у випадку підтвердження кінцевим патогістологічним висновком фолікулярної карциноми щитоподібної залози, коли виникає необхідність у кінцевій тиреоїдектомії.

8. Аналогічно першій операції роблять доступ до щитоподібної залози. На етапі розсічення претиреоїдних м'язів відступають від середньої лінії шиї (первинного розрізу) на 1-3 см, паралельно середній лінії шиї у бік кукси, яка видаляється. Відстань 1-3 см від середньої лінії визначається відсутністю спайкових і рубцевих змін.

9. Куксу видаляють від латеральної до підготовленої під час першої операції медіальної її сторони, за екстрафасціальною методикою, з візуалізацією *n.laryngeus recurrens* і прищитоподібних залоз. Рану дрениують, пошарово заживають.

Особливості запропонованого методу схематично зображені на малюнку.



Малюнок.

А: Вигляд щитоподібної залози на початку операції.

1. Лінія, до якої мобілізують праву частку, яка залишається.

2. Лінія резекції.

3. Зв'язка Беррі.

В: Резекційована права частка.

1. Лінія резекції (захита кукси правої частки).

С: Показано, до якої межі мобілізована права частка, яка залишається.

1. Відведення правої частки “держалками”.

2. Вид на зв'язку Беррі при відведенні частки.

Д: Операційні доступи до залишеної частки на другому етапі.

1. Лінія розрізу інтактних тканин (м'язів) з латерального боку від долі.

2. Лінія розрізу шкіри при доступі до залишеної долі (відповідає розрізу при першій операції).

Результати та їх обговорення

Метод двохетапного оперативного втручання при фолікулярній неоплазії щитоподібної залози застосовується у хірургічному відділі клініки Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України з 1992 року. Виконання операцій за даною методикою значно полегшує повторні оперативні втручання при фолікулярній карциномі, а також у тих випадках, коли у прооперованого пацієнта через тривалий час у залишеній частці виникало вузлове воло.

Даний метод забезпечує онкологічну радикальність, полегшує візуалізацію прищитоподібних залоз і поворотного нерва при повторних операціях; забезпечує сухе операційне поле, вільну орієнтацію в ньому.

Порівнювальна оцінка результатів застосування розробленого методу двохетапного оперативного втручання проведена у 10 хворих за період 1992-1999 років. За контроль була взята група хворих, у яких тиреоїдектомія виконана за стандартним варіантом (98 досліджень) у період 1981-1991 років. Порівнювалась кількість специфічних для тиреоїдної хірургії післяопераційних ускладнень – стійкий парез поворотного нерва і стійкий гіпаратиреоз.

Результати дослідження наведені у таблиці. Застосування нашого методу зменшило кількість ускладнень порівняно зі стандартним методом тиреоїдектомії.

Таблиця. Порівняльна характеристика частоти ускладнень при виконанні тиреоїдектомії з приводу раку щитоподібної залози за даними різних авторів [9]

Автори	Стійкий ларінгеальний парез, %	Стійкий гіпаратиреоз, %
Schlumberger M., 2000	11,0	7,0
Pezzullo L., 1997	11,3	5,6
Blondeau Ph., 1996	9,0	4,0
Пачес А.И., 1995	5,9	5,2
Пинский С.Б., 1999	5,2	2,4
Наші дані 1981-1991: Тиреоїдектомія, яка виконувалась стандартним методом	8,0	4,4
Наші дані 1992-1999: Тиреоїдектомія, яка виконувалась запропонованим методом	5,0	2,0

У період з 1981 по 1991 роки при виконанні тиреоїдектомії за стандартним методом стійкий парез поворотного нерва відмічався у 8,0 % хворих. Впровадження двохетапного методу тиреоїдектомії у період з 1992 по 1999 роки дозволило знизити кількість парезів поворотного нерва на 3 %. У той же часовий проміжок впровадження даної методики, а також електрохірургічної тиреоїдектомії, дозволило зменшити кількість випадків стійкого гіпаратиреозу у 2 рази – з 4,4 % до 2 % (табл.). Метод швидко опановується хірургами і може використовуватися як у спеціалізованих клініках, так і в хірургічних відділеннях загального профілю.

Висновки

1. Мінімальним об'ємом первинного оперативного втручання при фолікулярних новоутвореннях щитоподібної залози є екстрафасціальна гемітиреоїдектомія з видаленням пірамідальної частки, якщо вона є.

2. Мобілізація контрлатеральної частки щитоподібної залози, і при необ-

хідності її видалення через певний час, дозволяє зробити "кінцеву тиреоїдектомію" з мінімальним ризиком ускладнень.

3. Виконання тиреоїдектомії у два етапи при фолікулярних новоутвореннях щитоподібної залози за розробленою методикою знижує кількість таких післяопераційних ускладнень як парез *p.laryngeus recurrens* і стійкий гіпопаратиреоз у два рази порівняно зі стандартним варіантом тиреоїдектомії.

Література

1. Тронько Н.Д., Богданова Т.И. Рак щитовидной железы у детей Украины (последствия Чернобыльской катастрофы). К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. 200 с.
2. Brooks A.D., Shaha A.R., DuMornay W. et al. Role of fine-needle aspiration biopsy and frozen section analysis in the surgical management of thyroid tumors // *Ann. Surg. Oncol.* 2001, 8, N 2, 92-100.
3. Shaha A.R. Invited commentary: Minimally invasive follicular thyroid carcinoma // *Surgery.* 2001, 130, N 1, 119-120.
4. Shaha A.R. Thyroid cancer: extent of thyroidectomy // *Cancer Control.* 2000, 7, N 3, 240-245.
5. Shaha A.R., Loree T.R., Shah J.P. Prognostic factors and risk group analysis in follicular carcinoma of the thyroid // *Surgery.* 1995, 118, N 6, 1131-1136.
6. 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.
7. Валдина Е.А. Повторные операции по поводу дифференцированного рака щитовидной железы // *Вопросы онкологии.* 1999, 45, № 3, 308-310.
8. Романчишен А.Ф. Клинико-патогенетические варианты новообразований щитовидной железы. К.: Наука, 1992. 258 с.
9. Коваленко А.Е. Особенности клиники и хирургического лечения больных раком щитовидной железы после аварии на Чернобыльской АЭС: Дис. д-ра мед. наук. К., 2003. 175 с.

(Надійшла 23.06.2004)

Ендокринологія 2004, Т.9, № 2, с. 239-243

ЗВ'ЯЗОК МІЖ ФУНКЦІОНАЛЬНОЮ АКТИВНІСТЮ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ, ЛІПІДАМИ СПЕРМИ ТА ЧОЛОВІЧОЮ НЕПЛІДНІСТЮ

В.М.Маргітич¹, Н.М.Гула^{1}, М.Д.Тронько², Є.В.Луцицький², С.К.Коб'яков², Т.М.Горідько¹*

¹*Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, 01030 Київ;*

²*Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН України, 04114 Київ, Україна*

Важлива роль щитоподібної залози у забезпеченні фертильної спроможності жінки загальновідома [1-4]. В той же час більшість дослідників відводять тиреоїдній системі другорядну роль у патогенезі чоловічої неплідності [5]. Така дум-

* Адреса для листування (Correspondence): Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, 01030 Київ, Україна

хідності її видалення через певний час, дозволяє зробити “кінцеву тиреоїдектомію” з мінімальним ризиком ускладнень.

3. Виконання тиреоїдектомії у два етапи при фолікулярних новоутвореннях щитоподібної залози за розробленою методикою знижує кількість таких післяопераційних ускладнень як парез n.laryngeus recurrence і стійкий гіпаратиреоз у два рази порівняно зі стандартним варіантом тиреоїдектомії.

Література

1. Тронько Н.Д., Богданова Т.И. Рак щитовидной железы у детей Украины (последствия Чернобыльской катастрофы). К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. 200 с.
2. Brooks A.D., Shaha A.R., DuMornay W. et al. Role of fine-needle aspiration biopsy and frozen section analysis in the surgical management of thyroid tumors // *Ann. Surg. Oncol.* 2001, 8, N 2, 92-100.
3. Shaha A.R. Invited commentary: Minimally invasive follicular thyroid carcinoma // *Surgery.* 2001, 130, N 1, 119-120.
4. Shaha A.R. Thyroid cancer: extent of thyroidectomy // *Cancer Control.* 2000, 7, N 3, 240-245.
5. Shaha A.R., Loree T.R., Shah J.P. Prognostic factors and risk group analysis in follicular carcinoma of the thyroid // *Surgery.* 1995, 118, N 6, 1131-1136.
6. 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.
7. Валдина Е.А. Повторные операции по поводу дифференцированного рака щитовидной железы // *Вопросы онкологии.* 1999, 45, № 3, 308-310.
8. Романчишен А.Ф. Клинико-патогенетические варианты новообразований щитовидной железы. К.: Наука, 1992. 258 с.
9. Коваленко А.Е. Особенности клиники и хирургического лечения больных раком щитовидной железы после аварии на Чернобыльской АЭС: Дис. д-ра мед. наук. К., 2003. 175 с.

(Надійшла 23.06.2004)

Ендокринологія 2004, Т.9, № 2, с. 239-243

ЗВ'ЯЗОК МІЖ ФУНКЦІОНАЛЬНОЮ АКТИВНІСТЮ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ, ЛІПІДАМИ СПЕРМИ ТА ЧОЛОВІЧОЮ НЕПЛІДНІСТЮ

В.М.Маргітич¹, Н.М.Гула^{1}, М.Д.Тронько², Є.В.Лучицький², С.К.Коб'яков², Т.М.Горідько¹*

¹Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, 01030 Київ;

²Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН України, 04114 Київ, Україна

Важлива роль щитоподібної залози у забезпеченні фертильної спроможності жінки загальновідома [1-4]. В той же час більшість дослідників відводять тиреоїдній системі другорядну роль у патогенезі чоловічої неплідності [5]. Така дум-

* Адреса для листування (Correspondence): Інститут біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, 01030 Київ, Україна

ка обумовлена відсутністю органічних уражень щитоподібної залози у більшості неплідних чоловіків, хоча наявні роботи засвідчують важливу роль гіпофізарно-тиреїдної системи у збереженні репродуктивної спроможності чоловіків [6].

Нещодавно було знайдено, що відсоток рухомих сперматозоїдів корелює з кількістю вільного тироксину у циркулюючій крові [7], а у пацієнтів з обструкцією сім'явивідних протоків спостерігається підвищений рівень тиреотропіну, пролактину та фолітропіну [8]. Рівень тироксину крові позитивно корелює з кількістю сперматозоїдів та процентом їх рухомих форм, тим часом між рівнем трийодтироніну, індексом вільного тироксину та показниками спермограми кореляції встановлено не було [9].

Загальновідомо, що дозрівання сперматозоїдів залежить від кількісного вмісту андрогенів у гонадах та деяких інших чинників [10]. Недавно проведені дослідження вказують на важливу роль також і тиреїдної системи в забезпеченні фертильної спроможності сперматозоїдів. Продемонстровано, що призначення щурам тиреостатика пропілтіоурацилу, що частково пригнічує функцію щитоподібної залози, від самого народження аж до статевого дозрівання призводить до збільшення кількості клітин Лейдіга, Сертолі та продукції сперми [11]. А за експериментального гіпертиреозу, викликаного введенням тироксину дозріваючим щурам, знайдено зниження кількості сперматозоїдів як в голівці, так і у хвості епідидиміса [12]. Втім, виражений гіпотиреоз, обумовлений тотальною тиреїдектомією зрілих щурів, на відміну від часткового пригнічення функції щитоподібної залози за допомогою тиреостатика, спричиняє вірогідне зменшення кількості сперматозоїдів в епідидимісі щурів та істотне пониження їх рухомості. При цьому зазнають змін і епідидимальні ліпіди. Замісна терапія тироксином нормалізує рухомість сперматозоїдів, але не їх кількість [13].

Відомо, що тиреїдні гормони регулюють функціональну активність мітохондрій [14]. За чоловічої неплідності спостерігається активація процесів вільнорадикального окиснення, що пов'язано з порушенням функції мітохондріальної NADH-залежної оксидоредуктази (діафрази) [15]. На сьогодні чітко встановлено, що головним механізмом апоптозу клітин, викликаного дією вільних радикалів, є вивільнення цитохрому С з мітохондрій в цитозоль [16]. На разі не встановлено, чи олігозооспермія пов'язана з апоптозом сперматозоїдів під час їх процесингу. Тим часом доведено, що апоптоз супроводжується активацією ферменту скрамблази, яка здійснює трансфер фосфатидилсерину з внутрішнього листка плазматичної мембрани на зовнішній [17]. Нещодавно було показано, що в сперматозоїдах неплідних чоловіків відбувається акумуляція даного фосфоліпиду у зовнішньому листку плазматичної мембрани [18].

У зв'язку з вищевикладеним за мету роботи було покладено вивчити стан функціональної активності щитоподібної залози, сперматологічні параметри еякуляту та вміст фосфатидилсерину в сперматозоїдах неплідних чоловіків з нормо- та олігозооспермією.

Матеріали та методи

Обстежували 27 чоловіків, з них – 14 хворих на неплідність (8 – з нормозооспермією та 6 – з олігозооспермією) і 13 здорових осіб репродуктивного віку (10 – з нормоспермією та 3 – з олігоспермією), що мають дітей. Всім обстеженим чоловікам робили сперматологічне дослідження еякуляту згідно з рекомендаціями ВООЗ, забирали кров на гормональний аналіз, а також вивчали вміст фосфатидилсерину в сперматозоїдах. Вміст тиреотропіну в плазмі крові визначали за допомогою тест-набору RIA-mat TSH (“Byk Sangtek Diagnostica”, Німеччина), тироксину – за допомогою ріо-Т₄-ІІІ (Білорусь). Після розрідження до еякуляту додавали розчин Кребса-Рингера (рН 7,4) у співвідношенні 1:3, обережно перемішували шляхом піпеткування й центрифугували при 600 г протягом 12 хв. Супернатант обережно забирали, а осад тричі промивали ідентичними об'ємами середовища виділення. Наприкінці до осаду додавали 0,15 М розчин NaCl до досягнення концентрації сперматозоїдів 10-50 млн/мл. З суспензії сперматозоїдів готували ліпідний екстракт за методом Бляя-

Дайера [19]. Фосфатидилсерин сперматозоїдів аналізували за допомогою високоефективної двовимірної мікротонкошарової хроматографії на силікагелі КСК-2.

Результати та їх обговорення

У табл. 1 наведено основні сперматологічні показники еякуляту обстежених чоловіків. Показники спермограми здорових чоловіків з олігозооспермією практично не відрізнялися від таких з нормозооспермією, окрім вірогідно нижчої кількості сперматозоїдів в 1 мл еякуляту. В той же час у групах неплідних чоловіків з нормо- та олігозооспермією спостерігалось істотне пониження рухомості сперматозоїдів, кількості їх живих форм, а також вірогідне підвищення відсотка патологічних форм сперматозоїдів.

Таблиця 1. Основні показники спермограми обстежених чоловіків (M±m)

Сперматологічні параметри	Здорові чоловіки		Неплідні чоловіки	
	з нормозооспермією (n=10)	з олігозооспермією (n=3)	з нормозооспермією (n=8)	з олігозооспермією (n=6)
Об'єм еякуляту, мл	4,1±0,7	2,3±0,5	2,4±0,3*	2,6±0,6
Кількість спермій в 1 мл еякуляту, 10 ⁶	94,5±12,1	26,3±3,0*	182,0±48,5	17,8±6,0*
Рухомі, %	67,4±3,1	39,3±17,3	53,5±5,5*	31,8±9,2*
Живі, %	72,2±3,2	69,7±7,4	55,9±5,3*	39,0±9,5*
Патологічні форми, %	22,7±3,5	30,3±6,4	42,8±6,8*	51,3±4,6*

Примітка: тут і далі позначкою * помічено вірогідні зміни стосовно здорових осіб з нормозооспермією.

Як впливає з результатів визначення вмісту тиреотропіну та тироксину у плазмі крові неплідних осіб, тиреоїдний статус олігозооспермічних здорових осіб не відрізняється від такого в нормозооспермічних (табл. 2). Рівень тиреотропіну в циркулюючій крові в обох групах неплідних хворих не відрізняється від такого у здорових осіб. Проте рівень тироксину має тенденцію до вірогідного зростання у випадку неплідних хворих з нормозооспермією порівняно зі здоровими особами з нормозооспермією (t=1,85). А в неплідних чоловіків з олігозооспермією кількість тироксину вірогідно перевищує такий показник у здорових осіб з нормозооспермією, що добре узгоджується з даними літератури [11-13].

Визначення вмісту фосфатидилсерину у сперматозоїдах обстежених чоловіків показало, що в обох групах неплідних хворих спостерігається істотне підвищення рівня фосфатидилсерину порівняно зі здоровими особами з нормозооспермією (табл. 3). Ймовірно, що накопичення фосфатидилсерину у сперматозоїдах неплідних чоловіків, особливо в групі пацієнтів з олігозооспермією, може вказувати на важливу роль цього фосфоліпиду в патогенезі олігозоо-

Таблиця 2. Вміст тиреотропіну та тироксину у плазмі крові неплідних чоловіків (M±m)

Гормони	Здорові чоловіки		Неплідні чоловіки	
	з нормозооспермією (n=10)	з олігозооспермією (n=10)	з нормозооспермією (n=10)	з олігозооспермією (n=6)
Тиреотропін, мМОд/л	1,9±0,4	1,2±0,2	1,8±0,2	1,7±0,3
Тироксин, нмоль/л	91,0±3,0	103,0±11,6	99,0±3,1	108,0±5,6*

Таблиця 3. Вміст фосфатидилсерину в сперматозоїдах неплідних чоловіків (мкг P₁ / 10⁹ сперматозоїдів, M±m, n=3-8)

Здорові чоловіки		Неплідні чоловіки	
з нормозооспермією	з олігозооспермією	з нормозооспермією	з олігозооспермією
4,4±0,7	43,0±25,1	8,4±1,5 *	37,2±8,0 *@

Примітка: позначкою @ помічено вірогідні зміни порівняно з групою неплідних чоловіків з нормозооспермією.

спермії. Не виключено, що накопичення фосфатидилсерину у сперматозоїдах відбувається під впливом тироксину крові за умов активації вільнорадикальних процесів у цих клітинах, оскільки метаболізм ліпідів та окисно-відновні реакції знаходяться під контролем тиреоїдних гормонів. Отже, як робочу гіпотезу можна висловити припущення, що за неплідних станів порушення фертильного потенціалу та олігозооспермія може бути зумовлена дисфункцією тиреоїдної системи. Не виключено, що за неплідності реалізуються такі ланки патогенезу олігозооспермії: тиреоїдна дисфункція на тлі активації процесів вільнорадикального окиснення в чоловічому репродуктивному матеріалі > акумуляція фосфатидилсерину в сперматозоонах > апоптотична загибель сперматозоонів з нормо- або олігозооспермією > неплідність. Однак дана гіпотеза ще потребує подальшого експериментального підтвердження.

Таким чином, у представленій роботі вперше показано тісний зв'язок між підвищеним рівнем тироксину у крові, накопиченням фосфатидилсерину в сперматозоїдах та олігозооспермією й чоловічою неплідністю.

Література

1. Poppe K., Glinooer D. Thyroid autoimmunity and hypothyroidism before and during pregnancy // Hum. Reprod. Update. 2003, 9, N 2, 149-161.
2. Poppe K., Velkeniers B. Thyroid and infertility // Verh. K. Acad. Geneesk. Belg. 2002, 64, N 6, 389-399.
3. Poppe K., Glinooer D., Van Steirteghem A. et al. Thyroid dysfunction and autoimmunity in infertile women // Thyroid. 2002, 12, N 11, 997-1001.
4. Johnson C.A. Thyroid issues in reproduction // Clin. Tech. Small Anim. Pract. 2002, 17, N 3, 129-132.
5. Trummer H., Ramschak-Schwarzer S., Haas J. et al. Thyroid hormones and thyroid antibodies in infertile males // Fertil. Steril. 2001, 76, N 2, 254-257.
6. Baker H.W. Reproductive effects of nontesticular illness // Endocrinol. Metab. Clin. North Am. 1998, 27, N 4, 831-850.
7. Hammami M.M. Hormonal evaluation in idiopathic oligozoospermia: correlation with response to clomiphene citrate therapy and sperm motility // Arch. Androl. 1996, 36, N 3, 225-232.
8. Spitz I.M., Levitt B., Zylber-Haran E. et al. The dissociation of the exaggerated prolactin and thyrotropin responses in seminiferous tubule failure following the administration of a double-pulse of thyrotropin-releasing hormone // J. Endocrinol. Invest. 1983, 6, N 4, 273-276.
9. Abbaticchio G., Giorgino R., Gentile F.M. et al. Male fertility and thyroid hormones // Acta Eur. Fertil. 1981, 12, N 3, 255-260.
10. Hafez B., Goff L., Hafez S. Recent advances in andrology research: physiopathology and clinical application to fertility and infertility // Arch. Androl. 1997, 39, N 3, 173-195.
11. Hardy M.P., Sharma R.S., Arambepola N.K. et al. Increased proliferation of Leydig cells induced by neonatal hypothyroidism in the rat // J. Androl. 1996, 17, N 3, 231-238.
12. Kumar P.N., Aruldas M.M., Juneja S.C. Influence of hyperthyroidism induced at prepuberty on the epididymal lipids, number and motility of spermatozoa in rats // Reprod. Fertil. Dev. 1996, 8, N 3, 373-378.

13. Kumar P.N., Aruldas M.M., Juneja S.C. Influence of hypothyroidism induced at prepuberty on epididymal lipids and the number and motility of spermatozoa in rats // *Int. J. Androl.* 1994, 17, N 5, 262-270.
14. Weitzel J.M., Iwen K.A., Seitz H.J. Regulation of mitochondrial biogenesis by thyroid hormone // *Exp. Physiol.* 2003, 88, N 1, 121-128.
15. Agarwal A., Saleh R.A., Bedaiwy M.A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction // *Fertility and Sterility.* 2003, 79, N 4, 829-843.
16. Petrosillo G., Ruggiero F.M., Paradies G. Role of reactive oxygen species and cardiolipin in the release of cytochrome c from mitochondria // *FASEB J.* 2003, 17, N 15, 2202-2208.
17. Liu J., Dai Q., Chen J. et al. Phospholipid scramblase 3 controls mitochondrial structure, function, and apoptotic response // *Mol. Cancer Res.* 2003, 1, N 12, 892-902.
18. Barroso Villa G., Karchmer Krivitzky S., Castelazo Morales E. et al. Changes in mitochondrial membrane potentials and its exponential relation with phosphatidylserine translocation in the plasma membrane as markers in the initial events of apoptosis: evaluation in different spermatid fractions // *Ginecol. Obstet. Mex.* 2002, 70, 182-189.
19. Blich E.G., Dyer W.I. A rapid method of total lipid extraction and purification // *Can. J. Biochem. Physiol.* 1959, 37, 911- 917.

(Надійшла 5.04.2004)

Ендокринологія 2004, Т.9, № 2, с. 243-247

ЗАСТОСУВАННЯ БІОПРЕПАРАТУ ІЗ БАЦИЛ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ ТИРЕОЇДНОГО СТАТУСУ ОРГАНІЗМУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

Н.В. Бойко, М.В. Кривцова, З.Й. Фабрі*

Ужгородський національний університет, 88000 Ужгород, Україна

Як відомо, захворювання щитоподібної залози часто супроводжуються дисфункціями імунної реактивності організму [1, 2]. Виникає питання, чи спрямована корекція імунної відповіді забезпечуватиме ефективний вплив на стан тиреоїдної системи? Про значну вірогідність позитивної відповіді на це принципове питання свідчить, по-перше, сам факт надзвичайно тісного взаємозв'язку функціонування тиреоїдної та імунної систем людини [1-3]. По-друге, результати клінічних досліджень вказують на можливість використання виявлених зсувів імунної системи для діагностики гіпотиреозу [4]. Нарешті, одержано перші позитивні результати диференційованого застосування імунорегулюючих препаратів у лікуванні хворих на гіпотиреоз [2].

Виразними імуномодулюючими властивостями характеризуються пробіотики – біопрепарати на основі живих бактеріальних культур (в тому числі із бацил), що широко використовуються як у ветеринарній, так і в медичній практиці, насамперед, для профілактики і терапії шлунково-кишкових розладів різної

* Адреса для листування (Correspondence): Ужгородський національний університет, вул. А.Волошина, 54, 88000 Ужгород, Україна; E-mail: nadiya@sas.upenn.edu

13. Kumar P.N., Aruldas M.M., Juneja S.C. Influence of hypothyroidism induced at prepuberty on epididymal lipids and the number and motility of spermatozoa in rats // *Int. J. Androl.* 1994, 17, N 5, 262-270.
14. Weitzel J.M., Iwen K.A., Seitz H.J. Regulation of mitochondrial biogenesis by thyroid hormone // *Exp. Physiol.* 2003, 88, N 1, 121-128.
15. Agarwal A., Saleh R.A., Bedaiwy M.A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction // *Fertility and Sterility.* 2003, 79, N 4, 829-843.
16. Petrosillo G., Ruggiero F.M., Paradies G. Role of reactive oxygen species and cardiolipin in the release of cytochrome c from mitochondria // *FASEB J.* 2003, 17, N 15, 2202-2208.
17. Liu J., Dai Q., Chen J. et al. Phospholipid scramblase 3 controls mitochondrial structure, function, and apoptotic response // *Mol. Cancer Res.* 2003, 1, N 12, 892-902.
18. Barroso Villa G., Karchmer Krivitzky S., Castelazo Morales E. et al. Changes in mitochondrial membrane potentials and its exponential relation with phosphatidylserine translocation in the plasma membrane as markers in the initial events of apoptosis: evaluation in different spermatid fractions // *Ginecol. Obstet. Mex.* 2002, 70, 182-189.
19. Blich E.G., Dyer W.I. A rapid method of total lipid extraction and purification // *Can. J. Biochem. Physiol.* 1959, 37, 911- 917.

(Надійшла 5.04.2004)

Ендокринологія 2004, Т.9, № 2, с. 243-247

ЗАСТОСУВАННЯ БІОПРЕПАРАТУ ІЗ БАЦИЛ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОРУШЕНЬ ТИРЕОЇДНОГО СТАТУСУ ОРГАНІЗМУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

Н.В. Бойко, М.В. Кривцова, З.Й. Фабрі*

Ужгородський національний університет, 88000 Ужгород, Україна

Як відомо, захворювання щитоподібної залози часто супроводжуються дисфункціями імунної реактивності організму [1, 2]. Виникає питання, чи спрямована корекція імунної відповіді забезпечуватиме ефективний вплив на стан тиреоїдної системи? Про значну вірогідність позитивної відповіді на це принципове питання свідчить, по-перше, сам факт надзвичайно тісного взаємозв'язку функціонування тиреоїдної та імунної систем людини [1-3]. По-друге, результати клінічних досліджень вказують на можливість використання виявлених зсувів імунної системи для діагностики гіпотиреозу [4]. Нарешті, одержано перші позитивні результати диференційованого застосування імунорегулюючих препаратів у лікуванні хворих на гіпотиреоз [2].

Виразними імуномодулюючими властивостями характеризуються пробіотики – біопрепарати на основі живих бактеріальних культур (в тому числі із бацил), що широко використовуються як у ветеринарній, так і в медичній практиці, насамперед, для профілактики і терапії шлунково-кишкових розладів різної

* Адреса для листування (Correspondence): Ужгородський національний університет, вул. А.Волошина, 54, 88000 Ужгород, Україна; E-mail: nadiya@sas.upenn.edu

етиології [5, 6]. На сьогодні є докази їх успішного “нетрадиційного” використання, а саме: в якості протиалергічних, антипухлинних засобів, та навіть з метою корекції важких аутоімунних станів людини, імунних порушень хворих на IBD (inflammatory bowel disease, запалення кишечника) тощо [5]. До загальноновизначених потенційних механізмів, за допомогою яких пробіотики можуть запобігати виникненню і лікувати цілий ряд захворювань, відносять насамперед їх здатність стимулювати імунну відповідь (загальну, специфічну, системну, локальну, клітинну і гуморальну); їх високу адгезивність; продукцію антибіотичних речовин та бактеріоцинів; короткотривалу безсимптомну “бактеріємію” [6].

Ми відмітили нормалізацію ряду біохімічних показників крові кролів при експериментальному гіпотиреозі внаслідок впливу пробіотиків із бацил [7]. Основними теоретичними передумовами використання пробіотиків для корекції гіпотиреоїдних станів є наявні дані про їх виражену імуномодулюючу активність, що дозволяє припускати їх потенційну ефективність для лікування гіпотиреоїдних станів, які характеризуються складним причинно-наслідковим зв'язком із порушеннями імунної системи.

Викладене вище і склало мету нашої роботи – дослідити вплив *Bacillus subtilis* 090 (основи нового монокомпонентного біопрепарату Моноспорин-ПК [8]) на деякі показники функціональної активності тиреоїдної і імунної систем організму лабораторних тварин в нормі та за умов модельного гіпотиреозу.

Матеріали та методи

Особливості функціонального стану щитоподібної залози визначали за рівнем гормонів тироксину (T_4) та трийодтироніну (T_3) у сироватці крові методом імуноферментного аналізу, використовуючи тест-системи ТОВ “Хема-Медика” (Росія). Вміст імуноглобулінів класів IgA, IgM, IgG у сироватці крові знаходили за допомогою реакції преципітації в гелі за Оухтерлоні, в основу якого покладено метод Манчіні [9]. Циркулюючі імунні комплекси (ЦК) у сироватці крові виявляли за допомогою їх преципітації поліетиленгліколем [10]. Даний метод базується на здатності розчину поліетиленгліколю (ПЕГ-6000) осаджувати із сироватки крові імунні комплекси (малі ЦК осаджували з використанням 7 % ПЕГ, комплекси середніх розмірів – 3,5 % ПЕГ).

Експерименти проводили на 32 статево зрілих клінічно здорових кролях обох статей породи “Шиншила”, вагою 2,5–3,5 кг. Для досліджень було сформовано три контрольні та одну дослідну групу, по 8 особин у кожній. Контроль 1 (К1) становили інтактні тварини для визначення нормальних фізіологічних значень досліджуваних показників. Кролям другої контрольної групи (група “Контроль Моноспорину-ПК”, скорочено КМ) щоденно перорально вводили досліджуваний пробіотик титром 1 млрд. мікробних клітин/1 мл по 1 мл протягом 7 діб. Детальна характеристика названого препарату описана раніше [8]. У тварин третьої групи (група “Контроль експериментального гіпотиреозу”, скорочено КГ) та дослідної четвертої (група “Гіпотиреоз і Моноспорин-ПК”, скорочено ГМ) експериментальний гіпотиреоз відтворювали шляхом орального введення лікарського препарату мерказолілу із розрахунку 6 мг/кг живої ваги 1 раз на добу протягом трьох тижнів [11]. Для визначення терапевтичної ефективності Моноспорину-ПК у дослідній групі, починаючи із 22 доби експерименту протягом тижня вводили суспензію *Bacillus subtilis* 090 на тлі гіпотиреоїдного стану; при цьому не припиняли періодичне (через день) введення мерказолілу. Рівень тиреоїдних гормонів і досліджуваних імунних показників визначали у тварин усіх експериментальних груп через 24 год після останнього введення Моноспорину-ПК (29 доба експерименту). Кров забирали шляхом проколу крайової вени вуха лабораторних тварин згідно описаної методики [12]. При статистичному аналізі даних використовували t-критерій Стьюдента [13].

Результати

Відтворення нами симптомів гіпотиреоїдного стану на лабораторних тваринах показало, що в таких умовах відбуваються вірогідні зміни у функціональній активності імунної системи, зокрема її В-системи.

Концентрація IgM у сироватці крові інтактних кролів становила $0,06 \pm 0,01$ МОд/мл. Внаслідок перорального введення Моноспорину-ПК у здорових тварин відмічали двократне збільшення рівня IgM. За умов модельного гіпотире-

озу його концентрація зростала більш значною мірою (в 10 разів порівняно з інтактним контролем). Застосування Моноспорину-ПК призводило до зменшення рівня IgM у гіпотиреоїдних тварин, що є виявом тенденції до нормалізації функціональних порушень у активності В-системи імунітету. У сироватці крові тварин цієї групи (ГМ) реєстрували перевищення даного показника всього у 2,3 рази проти інтактного контролю (табл.).

В результаті впливу Моноспорину-ПК рівень IgG дещо збільшувався порівняно з інтактними тваринами (табл.). Зменшення даного показника реєстрували у кролів із ознаками гіпотиреозу; проте використання Моноспорину-ПК з терапевтичною метою за таких умов не спричинило значних змін кількості IgG. Вміст IgA у сироватці крові тварин групи КМ та кролів з модельним гіпотиреозом вірогідно не змінювався. Однак нами виявлено тенденцію до його збільшення в результаті впливу пробіотику та до зменшення – у тварин із експериментальним гіпотиреозом. Вірогідне зростання концентрації IgA відмічали у дослідній групі тварин (ГМ) внаслідок введення Моноспорину-ПК.

У контролі вміст середніх ЦІК дорівнював $2,25 \pm 0,25$ одиниць оптичної густини (од. опт. густ.). Цей показник дещо знизився у групі КМ ($0,87 \pm 0,23$ од. опт. густ.) та у тварин з відтвореним експериментальним гіпотиреозом ($1,38 \pm 0,18$ од. опт. густ.). Терапевтичне застосування Моноспорину-ПК за умов гіпотиреозу призвело до відновлення середніх ЦІК до рівня інтактних тварин.

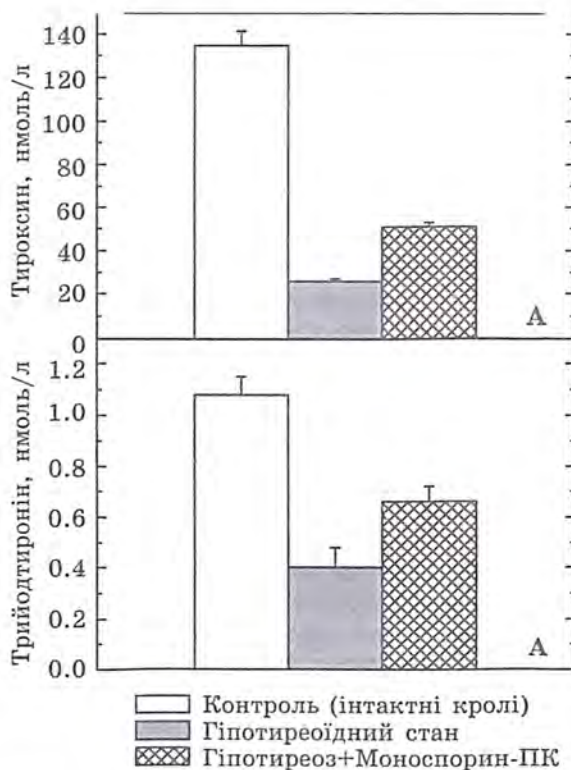
Концентрація ЦІК малих розмірів у нормі знаходилась у межах $6,20 \pm 0,58$ од. опт. густ. У групі КМ даний показник знизився більшою мірою, ніж у гіпотиреоїдних тварин. Очевидними є різні причинні механізми таких змін. Виявлене нами зменшення вмісту ЦІК у групі КМ є свідченням відомого стимулюючого впливу пробіотиків із бацил на фагоцитарну активність крові (в першу чергу, на систему мононуклеарних фагоцитів) [6], що зумовлює прискорення процесів розщеплення і виведення утворених в крові імунних комплексів із організму. Застосування Моноспорину-ПК за умов патології не спричиняло суттєвих змін у концентрації ЦІК малих розмірів порівняно з групою КМ.

Стан цитоподібної залози лабораторних тварин визначали згідно титру тиреоїдних гормонів. Вміст T_4 у сироватці крові інтактних тварин становив $134,60 \pm 6,63$

Таблиця. Вплив Моноспорину-ПК на деякі імунологічні показники крові піддослідних кролів в нормі та за умов експериментального гіпотиреозу ($M \pm m$)

Варіант досліджу	ЦІК середні, од. опт. густ.	ЦІК малі, од. опт. густ.	IgA, МОд/мл	IgM, МОд/мл	IgG, МОд/мл
Контроль 1 (Інтактні кролі)	$2,25 \pm 0,25$	$6,20 \pm 0,58$	$1,44 \pm 0,14$	$0,06 \pm 0,01$	$8,57 \pm 0,07$
КМ (Введення Моноспорину-ПК)	$0,87 \pm 0,23^*$	$3,37 \pm 0,46^*$	$1,59 \pm 0,09$	$0,12 \pm 0,02^*$	$9,59 \pm 0,35^*$
КГ (Гіпотиреоїдний стан)	$1,38 \pm 0,18^*$	$4,75 \pm 0,25^*$	$1,28 \pm 0,13$	$0,68 \pm 0,10^*$	$7,34 \pm 0,37^*$
ГМ (Гіпотиреоз + Моноспорин-ПК)	$2,62 \pm 0,32^{**}$	$3,60 \pm 0,68^*$	$1,82 \pm 0,12^{***}$	$0,14 \pm 0,02^{***}$	$7,98 \pm 0,30$

Примітка: * – зміни вірогідні щодо інтактного контролю, ** – щодо кролів з експериментальним гіпотиреозом, *** – щодо кролів обох зазначених груп (К1 і КГ), $P < 0,05$.



Мал. Вплив Моноспорину-ПК на рівень гормонів щитоподібної залози кролів в різних варіантах дослідження.

Примітка: експериментальні дані групи тварин КМ не наведено. Концентрації T_3 і T_4 цієї групи використано для обчислення кореляції між показниками стану імунної та тиреодної систем.

нмоль/л (мал. А), а T_3 – $1,08 \pm 0,07$ нмоль/л (мал. Б). Рівні обох гормонів у групі КМ (контроль Моноспорину-ПК) статистично не відрізнялись від їх значень для інтактних тварин. У тварин, що одержували мерказоліл протягом 3 тижнів, відмічали різке пригнічення секреції тиреодних гормонів: рівень трийодтироніну у сироватці крові знизився на 62,96 %, тироксину – на 80,82 % ($P < 0,001$). Застосування досліджуваного пробіотику із бактерій для корекції такого експериментального гіпотиреодного стану обумовило значуще зростання рівня обох гормонів – T_3 до $0,66 \pm 0,06$ нмоль/л і T_4 – до $50,75 \pm 2,09$ нмоль/л ($P < 0,001$).

Обговорення результатів

Вперше вивчено принципову можливість застосування біопрепаратів із бактерій для корекції гіпотиреодного стану. За умов відтвореного експериментального гіпотиреозу на лабораторних тваринах ми відмітили збільшення титрів IgM на тлі незначного загального зменшення рівнів IgA і IgG. Виявлені нами зміни імунологічних показників узгоджуються з результатами клінічних спостережень Н.П. Кукіної та співавт. [14], які відмічають підвищення рівня IgM і зниження концентрації IgG та IgA у сироватці крові хворих при легкій формі гіпотиреозу. Уведення Моноспорину-ПК (контроль біопрепарату) супроводжувалось незначним збільшенням титрів усіх класів антитіл, що є прогнозованою реакцією, враховуючи його бактеріальну природу. Зокрема, відомо, що IgM першим реагує на появу чужорідного Ag чи/або виникнення запального процесу, тоді як зміни рівня IgG більшою мірою залежать від природи антигена.

Виявлена нами взаємозалежність між кількістю IgG і концентрацією T_3

($r=0,53$) і обернений кореляційний зв'язок між концентраціями тиреоїдних гормонів і IgM: $r=-0,82$ і $r=-0,59$ (для трийодтироніну та тироксину, відповідно) для всіх досліджуваних груп тварин підтверджує наявність тісних функціональних відносин між імунною і тиреоїдною системами. У роботі [15] показано аналогічний прямий кореляційний зв'язок між рівнем T_4 та вмістом IgG ($r=0,72$) у сироватці крові дітей з гіпофункціональними порушеннями.

Таким чином, одержані нами низькі концентрації T_3 і T_4 у групі тварин, що приймали мерказоліл протягом 3-х тижнів, є свідченням розвитку у них гіпотиреоїдного стану. У тварин з пониженою функцією щитоподібної залози (експериментальний гіпотиреоз) спостерігали зміни імунологічних показників сироватки крові: підвищення рівня IgM, зниження концентрації IgG, середніх та малих ЦІК. У сироватці крові здорових тварин, яким вводили тільки Моноспорин-ПК (контроль біопрепарату), спостерігали вірогідне зростання титрів IgM і IgG, а також тенденцію до збільшення концентрації IgA та зменшення кількості малих і середніх ЦІК, що є проявом типової для пробіотиків імуномодулюючої дії на організм теплокровних.

Терапевтичне застосування активної основи Моноспорину-ПК *Bacillus subtilis* 090 у групі тварин з експериментальним гіпотиреозом призводило до нормалізації рівня середніх ЦІК, тенденції до нормалізації рівнів T_3 і T_4 , концентрацій IgM та IgA.

Література

1. Грыцив В.Е., Епишина Н.А. Иммунологические исследования при гипотиреозе // Иммунология и аллергия: Респ. межвед. сб., вып. 21, 1987, 69-73.
2. Грыцив В.Е., Епишин А.В. Т-, В-системы лимфоцитов и неспецифические факторы защиты у больных гипотиреозом // Врач. дело. 1998, № 2, 52-55.
3. Чуднер В.З., Нигматуллин М.М. Щитовидная железа и система иммунитета // ЖМЭИ. 1989, №1, 86-90.
4. Нугманова Л.Б., Исмаилов С.И., Илясов Ш.Ш., Гадаев С.Г. Состояние клеточного и гуморального иммунитета у больных с различными формами гипотиреоза // Использование иммунологических и токсикологических методов при изучении патологических состояний: Тез. I Респ. конф. по медицинской иммунологии, Ташкент, 1983, с. 67.
5. Teitelbaum J.E., Walker W.A. Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms // Annu. Rev. Nutr. 2002, N 22, 107-138.
6. Смирнов В.В., Резник С.Р., Вьюницкая В.А. и др. Современные представления о механизмах лечебно-профилактического действия пробиотиков из бактерий рода *Bacillus* // Микробиол. журн. 1993, 55, № 4, 92-112.
7. Бойко Н.В., Кривцова М.В., Фабрі З.Й., Ніколайчук В.І. Вплив Моноспорину-ПК на біохімічний статус кролів в умовах експериментального гіпотиреозу // Вісник Ужгородського націон. ун-ту: Біологія. 2003, № 12, 205-209.
8. Бойко Н.В. Протективна ефективність бактеріального біопрепарату Моноспорину-ПК в умовах сучасних агроєкоценозів // Бюлетень Інституту сільськогосподарської мікробіології. 2000, № 8, 32-34.
9. Злотник Т.Е., Левин В.И., Буглова С.Е. Информативность определения циркулирующих иммунных комплексов и иммуноглобулинов в условиях иммунизации // Лаб. дело. 1990, № 12, 69-72.
10. Иммунологические методы. Под ред. Фримеля Г. М.: Медицина, 1987. 472 с.
11. Надольник Л.И., Емельянов Н.В., Пастер И.П., Виноградов В.В. Кортикостероидсвязывающий глобулин при экспериментальном гипотиреозе у самок и самок крыс // Пробл. эндокринол. 2000, 46, № 5, 35-39.
12. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. К.: Высшая школа, 1983. 383 с.
13. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1973. 342 с.
14. Кукина Н.П., Карягина Л.Г., Чучупалова Л.Н., Базарова А.В. Активность лизоци-

ма и содержание иммуноглобулинов у больных гипотиреозом // Вопросы патологии эндокринной системы. Алма-Ата, 1984, 46-48.

15. Уланова Л. Н., Земсков А.М., Князев В.И. Особенности иммунного статуса у детей дошкольного возраста с диффузным увеличением щитовидной железы в условиях экологического неблагополучия // Пробл. эндокринологии. 1995, 41, № 3, 23-25.

(Надійшла 10.02.2004; надійшла в остаточній формі 5.08.2004)

Ендокринологія 2004, Т.9, № 2, с. 248-251

РЕАКЦІЯ КОРТИКОТРОПОЦИТІВ АДЕНОГІПОФІЗА НА ХРОНІЧНУ ДІЮ НІТРАТІВ

І.М. Рожков, В.М. Гордієнко*

Миколаївський державний університет ім. В.О. Сухомлинського, 54030 Миколаїв, Україна

Загальновідомо, що основна фізіологічна дія адренкортикотропного гормону (АКТГ), який є продуктом діяльності кортикотропоцитів аденогіпофіза, полягає в регуляції росту і функції пучкової і сітчастої зон надниркових залоз, гормони яких здатні підвищувати опірність організму до шкідливих чинників. Однак АКТГ також спричиняє розпад і гальмує синтез білків, тобто є антагоністом соматотропіну. Як показують дослідження ряду авторів [1, 2], тривала дія нітратів сприяє виникненню в організмі людини і тварин гемічної гіпоксії, що призводить до затримки фізичного і розумового розвитку дітей, збільшенню довжини і маси їх тіла. Ці порушення в організмі мають певний зв'язок із змінами у функціонуванні кортикотропоцитів гіпофіза. Проте недостатньо вивченими ще залишаються питання про зміни кортикотропної функції аденогіпофіза при тривалій дії нітратів у різні періоди постнатального розвитку.

Метою дослідження було вивчити структурно-функціональні зміни в кортикотропоцитах аденогіпофіза за тривалої дії нітратів у щурів різного віку.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом для вивчення стану кортикотропоцитів аденогіпофіза послужили білі нелінійні щури-самці різного віку: 45, 60 і 180 днів (контрольної і дослідної груп). Всього використано 60 щурів.

Утримання і використання лабораторних тварин відповідало методам, які рекомендуються національними нормами з біоетики [3].

При моделюванні хронічної дії нітратів новонародженим тваринам щодня у питний раціон (після попередньої очистки води) додавали 120 мг/л нітратів амонію, враховуючи особливості зміни маси тіла і фізіологічної потреби тварин у питній воді з віком.

Після декапітації щурів відповідного віку гіпофізи фіксували в рідині Буена з послідовною заливкою матеріалу у парафін. Потім на ротаційному мікротомі готували серійні фронтальні зрізи товщиною 4-5 мкм. Для вивчення гістологічної структури кортикотропоцитів зрізи гіпофіза фарбували свинцевим гематоксиліном і за методом Грімелюса.

На отриманих препаратах досліджували гістологічну будову кортикотропоцитів. При цьому вивчали динаміку клітинного складу передньої частки гіпофіза, характер

* Адреса для листування (Correspondence): Миколаївський державний університет ім. В.О. Сухомлинського, вул. Нікольська, 24, 54030 Миколаїв, Україна

ма и содержание иммуноглобулинов у больных гипотиреозом // Вопросы патологии эндокринной системы. Алма-Ата, 1984, 46-48.

15. Уланова Л. Н., Земсков А.М., Князев В.И. Особенности иммунного статуса у детей дошкольного возраста с диффузным увеличением щитовидной железы в условиях экологического неблагополучия // Пробл. эндокринологии. 1995, 41, № 3, 23-25.

(Надійшла 10.02.2004; надійшла в остаточній формі 5.08.2004)

Ендокринологія 2004, Т.9, № 2, с. 248-251

РЕАКЦІЯ КОРТИКОТРОПОЦИТІВ АДЕНОГІПОФІЗА НА ХРОНІЧНУ ДІЮ НІТРАТІВ

І.М. Рожков, В.М. Гордієнко*

Миколаївський державний університет ім. В.О. Сухомлинського, 54030 Миколаїв, Україна

Загальновідомо, що основна фізіологічна дія адренкортикотропного гормону (АКТГ), який є продуктом діяльності кортикотропоцитів аденогіпофіза, полягає в регуляції росту і функції пучкової і сітчастої зон надниркових залоз, гормони яких здатні підвищувати опірність організму до шкідливих чинників. Однак АКТГ також спричиняє розпад і гальмує синтез білків, тобто є антагоністом соматотропіну. Як показують дослідження ряду авторів [1, 2], тривала дія нітратів сприяє виникненню в організмі людини і тварин гемічної гіпоксії, що призводить до затримки фізичного і розумового розвитку дітей, збільшенню довжини і маси їх тіла. Ці порушення в організмі мають певний зв'язок із змінами у функціонуванні кортикотропоцитів гіпофіза. Проте недостатньо вивченими ще залишаються питання про зміни кортикотропної функції аденогіпофіза при тривалій дії нітратів у різні періоди постнатального розвитку.

Метою дослідження було вивчити структурно-функціональні зміни в кортикотропоцитах аденогіпофіза за тривалої дії нітратів у щурів різного віку.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом для вивчення стану кортикотропоцитів аденогіпофіза послужили білі нелінійні щури-самці різного віку: 45, 60 і 180 діб (контрольної і дослідної груп). Всього використано 60 щурів.

Утримання і використання лабораторних тварин відповідало методам, які рекомендуються національними нормами з біоетики [3].

При моделюванні хронічної дії нітратів новонародженим тваринам щодня у питний раціон (після попередньої очистки води) додавали 120 мг/л нітратів амонію, враховуючи особливості зміни маси тіла і фізіологічної потреби тварин у питній воді з віком.

Після декапітації щурів відповідного віку гіпофізи фіксували в рідині Буена з послідовною заливкою матеріалу у парафін. Потім на ротаційному мікротомі готували серійні фронтальні зрізи товщиною 4-5 мкм. Для вивчення гістологічної структури кортикотропоцитів зрізи гіпофіза фарбували свинцевим гематоксиліном і за методом Грімелюса.

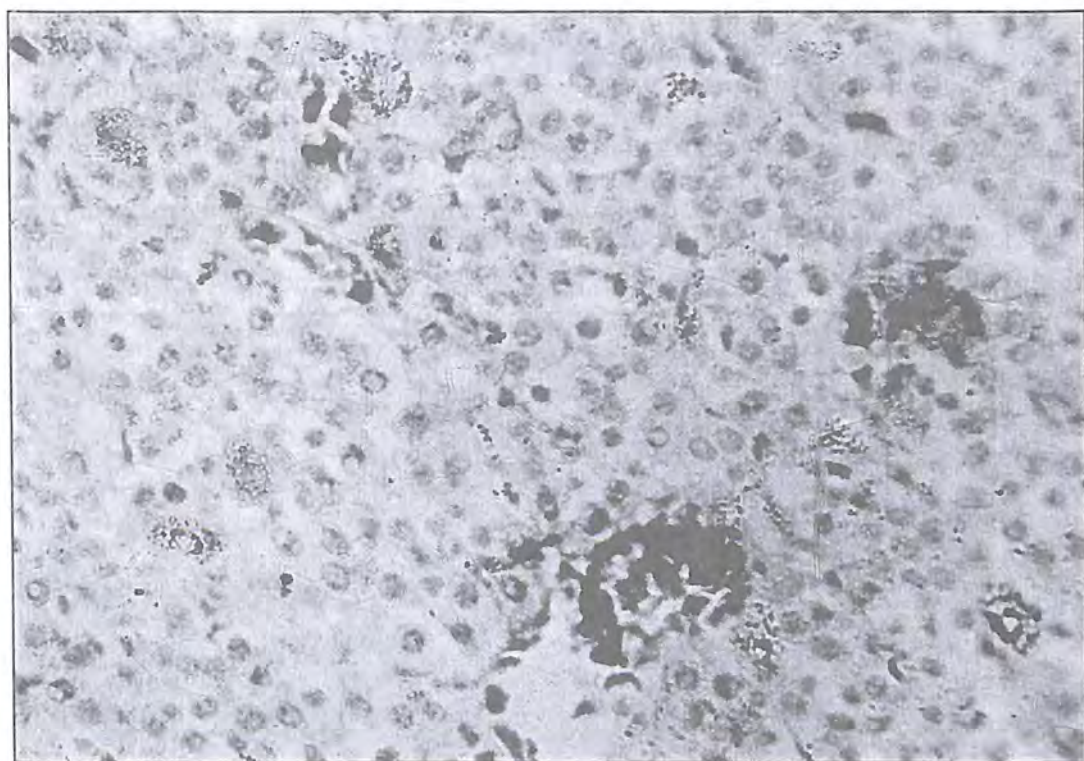
На отриманих препаратах досліджували гістологічну будову кортикотропоцитів. При цьому вивчали динаміку клітинного складу передньої частки гіпофіза, характер

* Адреса для листування (Correspondence): Миколаївський державний університет ім. В.О. Сухомлинського, вул. Нікольська, 24, 54030 Миколаїв, Україна

змін середніх об'ємів кортикотропоцитів, їх ядер і ядерць. Звертали увагу на ядерно-цитоплазматичне співвідношення в цих клітинах, кількість і розподіл секреторних гранул у цитоплазмі та характер розподілу хроматину в їх ядрах.

Результати та їх обговорення

У 45-добових піддослідних тварин, що піддавалися дії нітратів, кортикотропоцити найчастіше зустрічаються поблизу проміжної частки і на периферичних ділянках гіпофіза. Це клітини, як правило, відросткової або кулястої форми, які утворюють контакти як з хромофобами, так і з іншими клітинними елементами аденогіпофіза. Зустрічаються також ці клітини поблизу кровоносних судин. Контури окремих кортикотропоцитів звивисті. Округле або овальне ядро розміщується в центрі клітини або дещо ексцентрично. Ядерце маленьке розміщується поблизу ядерної мембрани. Хроматин утворює невеликі скупчення уздовж каріолемми. У цитоплазмі кортикотропоцитів виявляються нечисленні великі секреторні гранули (мал.1).



Мал. 1. Аденогіпофіз 45-добового щура після хронічної дії нітратів. Окремі кортикотропоцити в центрі залози. Об'єми кортикотропоцитів, їх ядер і ядерць зменшені. В цитоплазмі клітин ознаки дегрануляції. Фарбування: за методом Грімеліуса. Об.90, ок.15.

Внаслідок тривалої дії нітратів фракція кортикотропоцитів в аденогіпофізі у 45-добових тварин збільшується на 14,3 % порівняно з контролем, що відбувається з одночасним зменшенням кількості хромофобів і підтверджує висновки ряду дослідників [4, 5] про здатність деяких хромофобних клітин за певних умов трансформуватись у хромофільні аденоцити. Розміри кортикотропоцитів зменшуються на 47,3 %, ядер – на 39,9 % і ядерць – на 43,6 % (табл.), що свідчить про зниження рівня їх функціональної активності.

На 60-ту добу перебування піддослідних щурів за умов хронічної дії нітратів кількість кортикотропоцитів зростає на 50,0 % порівняно з контролем. При цьо-

му в цих клітинах спостерігається підвищення синтетичної і секреторної активності, що супроводжується збільшенням розмірів кортикотропоцитів на 24,9 %, їх ядер – на 40,0 % (табл.). У цитоплазмі відбувається накопичення секреторних гранул.

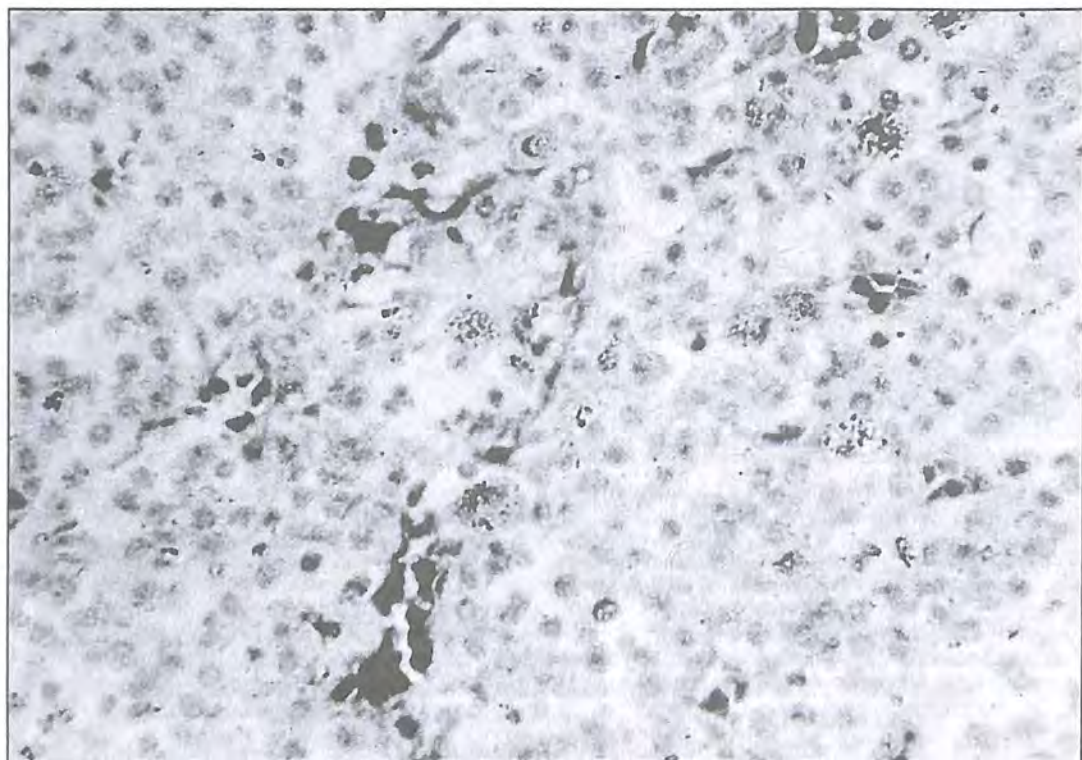
Таблиця. Середні об'єми кортикотропоцитів, їх ядер і ядерць (мкм³) в аденогіпофізі у щурів контрольної групи (1) та після хронічної дії нітратів (2), M±m

Тип аденоцитів	Група тварин	Термін обстеження, діб		
		45	60	180
Кортикотропоцити	1	2034,5±19,9	2063,3±16,4	2083,0±51,5
Ядра		381,9±15,6	421,3±12,4	407,7±10,8
Ядерця		33,5±0,7	29,1±0,5	20,5±0,7
Кортикотропоцити	2	1071,1±15,5*	2576,3±73,4*	2015,0±15,5
Ядра		229,6±11,7*	589,9±12,0*	405,4±10,8
Ядерця		18,9±0,5*	39,3±0,9*	20,7±0,7

Примітка: * – відмінності вірогідні у порівнянні з контролем (P<0,05).

Згідно досліджень М.М. Середенко [1], розвиток гемічної гіпоксії за умов тривалої дії нітратів і нітритів характеризується накопиченням значної кількості адреналіну в гіпоталамусі, який стимулює секрецію АКТГ з аденогіпофіза, що супроводжується посиленням викиду кортикостероїдів.

На 180-ту добу хронічної дії нітратів кількісних змін кортикотропоцитів не відбувається. Однак рівень функціональної активності цих клітин поступається контрольним тваринам, про що свідчить зменшення кількості гранульованих елементів у їх цитоплазмі (мал. 2, табл.). Як показують дослідження



Мал. 2. Аденогіпофіз 180-добового щура після хронічної дії нітратів. Окремі кортикотропоцити поблизу проміжної частки гіпофіза. Розміри кортикотропоцитів та їх ядер зменшені. У цитоплазмі кортикотропоцитів ознаки дегрануляції. Фарбування: за методом Грімеліуса. Об.90, ок.15.

М.М. Середенко [1], гемічна гіпоксія малої і середньої тяжкості сприяє активації гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи. Це забезпечує повноцінну адаптацію до вказаних умов, тоді як при тяжкій формі гіпоксії функція цієї системи (особливо гіпоталамуса) різко пригнічується.

Висновки

Аналізуючи дані, отримані при дослідженні структури кортикотропоцитів аденогіпофіза щурів при хронічній дії нітратів впродовж 45, 60 і 180 днів їх постнатального розвитку, можна відмітити ряд морфофункціональних змін:

а) на 45-ту добу фракція кортикотропоцитів збільшується, тоді як за змінами морфологічних характеристик їх функціональна активність послаблюється;

б) в аденогіпофізі у 60-добових щурів одночасно із збільшенням фракції кортикотропоцитів, за даними їх структурних змін, посилюється й їх синтетична та секреторна активність;

в) на 180-ту добу в кортикотропоцитах поряд із зниженням їх функціональної активності, що підтверджується змінами структури, виявляються ознаки адаптаційно-приспосувального характеру.

Література

1. Середенко М.М. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии. К.: Наукова думка, 1987. 200 с.
2. Носов А.Т., Горішна О.В., Ковальова О.М. Морфофункціональні зміни гіпофіза білих щурів в умовах хронічної нітратної інтоксикації // Вісник проблем біології і медицини. 2002, № 2, 59-62.
3. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. 2002, № 1, 142-145.
4. Алешин Б.В., Яковцова А.Ф., Губина Г.И. Морфологическая оценка функционирования аденогипофиза и эпифиза крупного плода // Эндокринология, вып. 13, 1983, 23-27.
5. Рожков І.М., Гордієнко В.М. Реакція аденогіпофіза щурів за гострої гіпоксії в онтогенезі // Вісник Київ. ун-ту ім. Т. Шевченка: Біологія, вип. 28, 1998, 68-69.

(Надійшла 1.03.2004)

Пам'яті Щербака Олександра Вікторовича



Після тяжкої і тривалої хвороби 11 серпня 2004 р. пішов з життя доцент кафедри ендокринології Національного медичного університету ім.О.О.Богомольця Олександр Вікторович Щербак.

Олександр Вікторович народився 11 жовтня 1948 р. у м.Ташкенті в сім'ї військово-службовця. Після здобуття середньої медичної освіти він поступив до Київського медичного інституту ім.О.О.Богомольця, який закінчив з відзнакою у 1976 р. З цього часу працював лікарем, а потім молодшим науковим співробітником в Інституті ендокринології та обміну речовин, де у 1983 р. захистив кандидатську дисертацію, присвячену метаболічним порушенням у хворих на цукровий діабет. Саме у цьому колективі відбулося становлення Олександра Вікторовича як

спеціаліста-ендокринолога і вдумливого науковця. З 1984 р. його трудова діяльність була пов'язана з Національним медичним університетом ім.О.О.Богомольця, де він спочатку обіймав посаду асистента кафедри фармакології, а з 1992 р. – доцента кафедри ендокринології.

О.В.Щербак був активним, здібним, працьовитим, всебічно розвиненим і авторитетним викладачем кафедри, який за час роботи опублікував близько 400 наукових праць, у т.ч. 10 монографій, підручник "Ендокринологія", ряд навчальних посібників. Основним напрямком його наукової діяльності була проблема фармакотерапії цукрового діабету та інших ендокринних захворювань. Численні довідники, методичні рекомендації, статті, автором яких він був, присвячені цій проблемі. Суттєвим внеском О.В.Щербака в науку була розробка проблеми синтропії цукрового діабету, яка стала основою його докторської дисертації.

Поряд з успішною науково-педагогічною діяльністю Олександр Вікторович багато уваги приділяв громадській роботі, спрямованій на поліпшення охорони здоров'я людей. О.В.Щербака глибоко поважали лікарі і хворі, прислухалися до його порад. 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 Олександра Вікторовича Щербака – справжнього українського інтелігента, людину шляхетну, чесну, глибоко порядну і талановитого вченого назавжди залишиться в серцях співробітників, студентів та пацієнтів і всіх тих, кому пощастило спілкуватися і товаришувати з ним.

Друзі і колеги-ендокринологи