

*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

2003

Том 8, №1
Volume 8, No.1

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., МІКОША 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), ВОЙНИЛОВИЧ В.О. (Чернігів), ГОЛОВАЧ А.П. (Полтава), ДАНИЛОВСЬКА Н.П. (Івано-Франківськ), КОМІСАРЕНКО І.В. (Київ), МИРОНЕЦЬ Т.М. (Дніпропетровськ), ПАВЛОВСЬКИЙ М.П. (Львів), ПАВЛЮК П.М. (Київ), СЕЛІВАНОВА К.Ф. (Сімферополь), ТУРЧИН І.С. (Київ), ЧЕБАН А.К. (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
Academy of Medical Sciences
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 28.03.2003. Підп. до друку 22.04.2003. Формат 70 x 108/16.
Офсетний друк. Ум.-друк. арк. 12,8. Наклад 340 прим.

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

ЗМІСТ

Оригінальні дослідження

Цукровий діабет у вагітних: особливості проблеми в Україні <i>В.І.Медведь</i>	4
Проблема визначення типу цукрового діабету за даними аналізу деяких реєстрів хворих на діабет <i>М.Д. Халангот, С. Пруна, В.І. Кравченко, Н. Харріс</i>	12
Моторика жовчних шляхів у хворих з вперше виявленим цукровим діабетом 1 типу та зв'язок її зі станом автономної нервової системи <i>С.М.Ткач, Ю.М.Найда</i>	18
Опрацювання методу імуноферментного аналізу для визначення антитіл до інсуліну у сироватці крові здорових людей та хворих на цукровий діабет <i>В.В.Корпачов, С.В.Мельниченко, Р.Г.Лукашова, Н.В.Іванська, Г.Є.Раєвська</i>	24
Клінічна ефективність препарату діротон (лізіноприл) у хворих на цукровий діабет <i>А.В.Ковальчук, В.В.Корпачов, І.О.Мосендз, Л.Г.Подрез</i>	31
Показники кальцієвого балансу та структурно-функціональний стан кісткової тканини у хворих на первинну хронічну недостатність надниркових залоз <i>В.А. Олійник, В.В. Поворознюк, Г.М. Терехова</i>	39
Ефективність радіойодотерапії метастазів у легені диференційованого раку щитоподібної залози у дітей і дорослих <i>В.В.Шишкіна, Е.Д.Чеботарьова, Д.О.Джужа, Т.К.Совенко</i>	47
Рівень андрогенізації та концентрації фруктози в еякуляті у чоловіків з гіпофертильністю <i>В.О.Бондаренко, О.М.Демченко, Т.Ю.Бурма, Н.М.Бречка, Л.А.Сиротенко</i>	54
Вплив активації білкового синтезу на реалізацію дії андрогенів <i>О.М.Демченко, Є.М.Коренєва, Н.М.Бречка, Л.А.Сиротенко</i>	61
Синдром гіперпролактинемії у хворих з менінгіомами головного мозку <i>М.С.Кваша</i>	67
Особенности липидного обмена у мальчиков-подростков с гипоталамическим синдромом пубертатного периода <i>О.О. Хижняк, Т.Н. Сулима</i>	73
Вплив естрадіолу та оварієктомії на стероїдогенез і вміст холестерину в корі надниркових залоз щурів <i>О.І.Ковзун, О.С.Микоша</i>	79
Епіфіз і вікові порушення ритмічних коливань функції надниркових і статевих залоз у тварин <i>І.Ф.Лабунець, Л.В.Магдич, В.О.Жеребицький</i>	85
Вплив L-аргініну і блокатора синтази оксиду азоту N ^o -нітро-L-аргініну на рівень катехоламінів та продуктів перекисного окиснення ліпідів у крові мурчаків за умов адаптації до інтервальної гіпоксії <i>Н.М. Кургалюк, Т.М. Мишуніна</i>	93

Огляди

Маркери малігнізації в сучасній доопераційній цитологічній діагностиці карцином щитоподібної залози (огляд літератури і власні дані) <i>Ю.М.Божок, Г.В.Зелінська, Г.М.Кулініченко, Г.Я.Устименко</i>	99
---	----

Дифузний токсичний зоб у дітей та підлітків: етіологія, патогенез, хірургічне лікування (огляд літератури та власні дані) <i>Б.В. Гуда</i>	112
---	-----

Короткі повідомлення

Оцінка ефективності ліпіну при діабетичній периферичній полінейропатії <i>І.О. Мосендз</i>	122
---	-----

Гемоліз и структура мембран эритроцитов у больных с нефрогенной анемией вследствие диабетического гломерулосклероза до и после лечения эритропоэтином <i>Н.А. Зуева, О.И.Лебедь, Т.И.Герасименко, А.С.Ефимов</i>	127
---	-----

Лазерная коагуляция сетчатки в лечении диабетической ретинопатии при 1 и 2 типах сахарного диабета <i>Н.В. Пасечникова</i>	132
---	-----

Нецукровий діабет у дітей та підлітків <i>О.В.Большова-Зубковська, В.А.Музь</i>	136
--	-----

Замітка з практики

Случай наследственной папиллярной карциномы щитовидной железы у ребенка <i>В.А. Войнилович, Д.М. Игнатенко, Н.Л. Зенченко</i>	138
--	-----

Правила для авторів	140
---------------------	-----

Загальні етичні принципи експериментів на тваринах	142
--	-----

Науково-практичні конференції з ендокринології в Україні у 2003 році	146
--	-----

ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ У ВАГІТНИХ: ОСОБЛИВОСТІ ПРОБЛЕМИ В УКРАЇНІ

В.І.Медведь*

Інститут педіатрії, акушерства і гінекології АМН України, 04050 Київ, Україна

Аналіз офіційних статистичних даних МОЗ України за останні 5 років виявив низку несподіваних фактів. Поширеність цукрового діабету серед вагітних в Україні (0,08 %) істотно нижча за таку у більшості розвинених країн світу (0,3-0,5 %), причому вона з року в рік зменшується (з 1997 до 2001 року на 25 %). Не виявляється та не враховується гестаційний діабет, частота якого у загальній популяції вагітних становить не менше 2 %. У різних регіонах України поширеність цукрового діабету серед вагітних та роділець розрізняється майже на порядок, коливаючись від 0,29 % до 0,01 %. У жіночих консультаціях щороку спостерігається під час вагітності менше хворих на діабет, ніж число тих, що народжують. У статті обговорюються можливі причини такої парадоксальної ситуації, висловлюються деякі припущення. Автор запрошує зацікавлених ендокринологів до дискусії.

Ключові слова: цукровий діабет, вагітні, роділлі, поширеність гестаційного діабету.

Проблема цукрового діабету є, без сумніву, найгострішою у клініці екстрагенітальної патології вагітних. І якщо, завдяки успіхам і зусиллям усієї клінічної медицини, материнська смертність при цьому захворюванні тепер майже не відрізняється від загальнопопуляційної, то перинатальна залишається досить високою – 50-180 ‰ [1-6]. Цукровий діабет справляє надзвичайно несприятливий вплив на плід, ступінь і характер якого незрівнянний з впливом будь-яких інших видів патології матері. Разом з тим, загальновизнано, що за умови надання хворим висококваліфікованої акушерсько-ендокринологічної допомоги, забезпечення їх високоякісними людськими інсулінами і засобами самоконтролю, вагітність повинна закінчуватися народженням життєздатної (в ідеалі – здорової) дитини.

Сент-Вінсентська декларація, до якої приєдналася й Україна, проголосила право кожної хворої на діабет стати матір'ю. Більше того, одним з її конкретних завдань є “домогтися при цукровому діабеті таких самих результатів вагітності, як у популяції в цілому” [7, 8]. Реальність цієї задачі вже доведена. Так, наприклад, у Материнському і Перинатальному центрі Жіночого медичного коледжу в Токіо протягом 13-річного періоду перинатальна смертність при цукровому діабеті становить 6,1 ‰, тоді як загальнопопуляційна у той же період – 7,7 ‰ [9]. Подібні приклади з окремих клінік наводилися і з інших країн. Але все ж таки більшість даних по територіях (країни в цілому, штату, провінції і міста) свідчать про вищу перинатальну смертність при цукровому діабеті [6, 10-12].

У цій статті автор хотів би зупинитися на деяких аспектах проблеми цукрового діабету в Україні. Проведений аналіз виявив несподівані, і навіть парадоксальні факти, пояснення яким знайти дуже важко. Саме тому, публікуючи статтю в центральному ендокринологічному виданні України, автор дуже спо-

*Адреса для листування (Correspondence): Інститут педіатрії, акушерства і гінекології АМН України, вул. Мануїльського, 8, 04050 Київ, Україна

дівається на відгук ендокринологів і спробу допомогти йому зрозуміти наші “особливості”.

1. В Україні поширеність цукрового діабету у вагітних нижча, ніж у всіх розвинених країнах світу.

Згідно з загальноновизнаними узагальненими даними, передгестаційний цукровий діабет (тобто той, що був у хворі ще до настання вагітності) у популяції вагітних у розвинених країнах світу зустрічається з частотою 3-5 на 1000 (0,3-0,5 %) [4, 5]. У нас у 2001 р., відповідно до офіційної державної статистики, цей показник становив 0,08 %, тобто, як мінімум, був у 2,5 рази нижчим.

Чому? Невже населення в Україні рідше хворіє на цукровий діабет, ніж в інших країнах? Підкреслимо, що, оскільки переважна більшість вагітних жінок – це молоді жінки (вік до 35 років), то й більшість випадків передгестаційного діабету – це захворювання 1-го типу. Уявити, що воно залишається недіагностованим, просто неможливо. Залишається припустити, що в Україні хворі на діабет 1-го типу менше вагітніють і виношують вагітність. Чому? Можливо в дівчат і жінок дітородного віку настільки гірший стан здоров'я, настільки частіше зустрічаються тяжкі інвалідизуючі хронічні ускладнення діабету, що вони свідомо утримуються від материнства. Можливо, з огляду на такі самі причини, в них знижена репродуктивна функція. Не можна виключити і вплив чинника низької економічної забезпеченості хворих. І, нарешті, припустимо, що наші хворі не довіряють нашим лікарям, не вірять в успішний результат вагітності, тому переривають її чи, що менш імовірно, вдаються до запобіжних заходів.

2. Поширеність цукрового діабету серед вагітних в Україні щороку знижується.

Про неухильний ріст захворюваності на діабет в усьому світі, про “глобальну епідемію” цієї хвороби мовилося і писалося стільки, що нема сенсу повторювати. Така ж тенденція спостерігається й у вагітних: число пологів у хворих на діабет зростає [10, 13].

В Україні спостерігається зворотний процес (табл. 1). Протягом останніх 5 років абсолютна кількість хворих на цукровий діабет, що народили, знизилася на 38,3 % (!), а показник на 1 тис. пологів – на 25 %. Чому? Малоімовірно, що за ці роки істотно змінився стан здоров'я чи матеріальне становище хворих, так само як довіра їх до вітчизняної медицини. Більше того, саме у ці роки в країні прийнята і виконується державна програма “Цукровий діабет”. Якщо вищенаведені цифри розглядати як один з об'єктивних показників ефективності цієї програми щодо забезпечення материнства хворим жінкам, то не можна не відзначити, що “щось негаразд у датським королівстві”...

Таблиця 1. Число пологів у хворих на цукровий діабет в Україні в 1997–2001 рр.

Рік	Кількість пологів	
	абс.	Показник на 1000
1997	551	1,2
1998	538	1,3
1999	470	1,2
2000	427	1,1
2001	340	0,9

3. В Україні практично відсутній гестаційний діабет.

Точніше, хворі на гестаційний діабет звичайно є, але немає спеціального їх обліку, немає офіційної державної статистики. Загальноновизнано, що гестацій-

ний діабет зустрічається серед вагітних значно частіше, ніж передгестаційний. За даними різних авторів, поширеність цієї патології становить 2-12 % [7, 14-16]. Якщо взяти навіть найнижчу цифру 2 %, то в Україні в 2001 р. мали народити 7480 жінок з гестаційним діабетом (усього в країні відбулося 373 808 пологів). Куди ж поділися всі ці хворі, чи було у них встановлено діагноз, чи надано спеціалізовану допомогу? На всі ці запитання відповідей в автора немає.

Не хочеться вірити, що частина хворих на гестаційний діабет увійшла до загальної цифри вагітних і породіллей з цукровим діабетом, про яку йшлося вище, оскільки в цьому разі виявиться, що поширеність передгестаційного діабету в нас ще менша ніж 0,08 %, а ця цифра і так, як мінімум, у 2,5 рази нижча, ніж у всіх розвинених країнах.

Якщо ми не знаємо долю 7480 вагітних, що перенесли гестаційний діабет і народили у 2001 р., то абсолютно точно знаємо, чому більшість з них залишилася непоміченою. У країні зовсім відсутня система активного виявлення, не кажучи вже про скринінг цієї патології, яка нерідко перебігає приховано. Сьогодні у вагітних (та й то не в усіх) визначають глікемію натще при взятті на облік у жіночій консультації. У більшості випадків це відбувається в ранні терміни вагітності, коли діабетогенна дія останньої ще виявляється не повною мірою. Не виділяються групи ризику у вагітних щодо гестаційного діабету, а відтак не проводиться їхнє додаткове обстеження. Винятково рідко і лише у випадку виявлення гіперглікемії натще виконується годинний глюкозотолерантний тест з 50 г глюкози [17].

З питання щодо дійсної користі проведення усім вагітним у терміні 24-28 тижнів скринінгового тесту на гестаційний діабет думки розбіжні. Усе ж таки більшість авторів вважає обґрунтованим і доцільним таке обстеження. У близькій нам за соціально-економічними умовами і станом здоров'я населення Росії проведення за міжнародним протоколом скринінгового обстеження обмежених контингентів вагітних (у рамках Міжнародної програми "Діабет" було задіяно 5 центрів у різних містах) дозволило виявити гестаційний діабет у 4,03 % вагітних жінок [18]. На наш погляд, результати цього і десятків інших подібних досліджень є переконливим доказом на користь введення обов'язкового скринінгового обстеження на діабет вагітних, тим більше що це практично не вимагає додаткових витрат бюджетних коштів. Як паліативний захід, спочатку могла б бути введена система формування групи ризику щодо гестаційного діабету із обстеженням лише цих жінок. У будь-якому випадку із сьогоднішніми положеннями миритися не можна. На жаль, наші кількаразові звернення з цього приводу до МОЗ України результату поки що не дали.

Наприкінці обговорення кола питань, пов'язаних з гестаційним діабетом, хочемо підкреслити ще один важливий аспект. Виявлення цієї патології у вагітних має значення не тільки для акушерської служби. Приблизно 50 % жінок, що перенесли гестаційний діабет, протягом наступних 15 років занедажують на "звичайний" діабет, частіше 2-го типу. З огляду на те, що більшість жінок протягом першої половини життя виношує як мінімум одну вагітність, активне виявлення порушень вуглеводного метаболізму у всіх вагітних є ефективним заходом виявлення групи ризику з цукрового діабету 2-го типу у жіночій популяції.

4. Поширеність цукрового діабету серед вагітних і породіллей у різних областях України розрізняється на порядок.

У табл. 2 наведено дані про поширеність цукрового діабету в різних областях нашої країни в 2001 р. Як видно, показник у вагітних м.Києва становив 0,16 %, у Харківській області – 0,15 %, у Вінницькій – 0,14 %, у Дніпропетровській, Сумській і Чернівецькій – 0,13 %, а в Житомирській, Івано-Франківській, Рівненській і Чернігівській – 0,02 %. У породіллей розходження

також дуже значні – від 0,17 % у Харківській області, 0,14 % – у Черкаській і Сумській до 0,02 % – у Волинській. У попередні роки було таке саме положення: поширеність діабету серед вагітних у 2000 р. коливалася від 0,24 % – у Києві, 0,18 % – у Сумській області до 0,01 % – у Запорізькій області і нуля – в Чернігівській; у 1999 р. – від 0,17 % у Кіровоградській області до 0,01 % – в АР Крим; серед породіллей у 2000 р. – від 0,28 % у Донецькій області до 0,04 % – у Волинській, Луганській і Львівській областях; у 1999 р. – від 0,29 % у Дніпропетровській області до 0,03 % – у Миколаївській.

Чому? Очевидно, що настільки розбіжні цифри не відбивають справжніх відмінностей захворюваності в різних регіонах. Можна припустити, що для розродження хворі їдуть до інших областей, концентруються в спеціалізованих центрах. Однак, по-перше, “лідерами” за кількістю пологів щороку виявляються різні області, причому часом не ті, де хворим на цукровий діабет можуть надати найбільш кваліфіковану допомогу, а по-друге, така міграція до місця розродження ніяк не може пояснити настільки ж значних відмінностей, що спостерігаються серед вагітних. Залишається припустити, що насправді мають місце значні хиби в обліку хворих і статистичній звітності. А відтак, ми не маємо адекватного уявлення про стан проблеми в країні. Принагідно зазначимо, що невідомими лишаються і частота невиношування, ускладнень вагітності, оперативного розродження, і перинатальна смертність при цукровому

Таблиця 2. Поширеність цукрового діабету в регіонах України в 2001 р.

Область	Вагітні*		Породіллі**	
	абс.	%	абс.	%
АР Крим	13	0,08	13	0,08
Вінницька	20	0,14	10	0,07
Волинська	3	0,03	2	0,02
Дніпропетровська	33	0,13	34	0,13
Донецька	16	0,06	34	0,11
Житомирська	3	0,02	6	0,05
Закарпатська	5	0,03	10	0,07
Запорізька	15	0,11	15	0,11
Івано-Франківська	3	0,02	5	0,04
Київська	11	0,08	8	0,06
Кіровоградська	4	0,05	10	0,12
Луганська	9	0,06	8	0,05
Львівська	14	0,06	15	0,07
Миколаївська	9	0,09	6	0,06
Одеська	20	0,10	20	0,09
Полтавська	11	0,10	11	0,10
Ровенська	2	0,02	5	0,04
Сумська	11	0,13	12	0,14
Тернопільська	6	0,06	5	0,05
Харківська	29	0,15	32	0,17
Херсонська	8	0,08	8	0,08
Хмельницька	6	0,05	12	0,10
Черкаська	7	0,07	14	0,14
Чернівецька	12	0,13	12	0,13
Чернігівська	2	0,02	8	0,09
м.Київ	31	0,16	25	0,13
м.Севастополь	0	0	0	0

Примітка: * – дані жіночих консультацій, ** – дані пологових стаціонарів.

діабеті в масштабах країни, без чого не можна здійснювати заходи щодо поліпшення основних акушерських показників.

5. Останнє і, мабуть, найпарадоксальніше. В Україні народжує більше хворих на діабет, ніж спостерігається щороку. У 1999 р. народили 470 жінок з цукровим діабетом, а в жіночих консультаціях спостерігалися лише 302, у 2000 р., відповідно, 427 і 295, у 2001 – 340 і 303.

Чому? Пояснення може бути тільки одне: хворі, точніше значна їх частина, не довіряють офіційній медицині, лікарям жіночих консультацій, тому не спостерігаються упродовж усієї вагітності, а звертаються за акушерською допомогою лише тоді, коли потрібно народжувати. Можливо, вони спостерігаються лише ендокринологом, а можливо, – в приватних жіночих консультаціях (які донедавна не мали права наглядати за вагітними, а тепер можуть робити це цілком законно). Якими б не були причини такого положення, якщо його не змінити, то поліпшити результати вагітності у хворих на цукровий діабет не вдасться. Ніхто не заперечує, що лише у разі спільного ретельного спостереження вагітної ендокринологом і акушером-гінекологом, чіткої послідовності і наступності в їхній роботі можна досягти позитивного результату.

Після усього вищевикладеного вже не здається парадоксом чи навіть чимось незвичайним, що в Україні різниця між загальнопопуляційною перинатальною смертністю і такою при цукровому діабеті у багато разів більша, ніж в інших країнах. І якщо рівень перинатальної смертності в країні в 2001 р. (8,75 ‰) не надто вже різко відрізняється від рівня найбільш розвинених країн (4-7 ‰), то при цукровому діабеті наше відставання досі дуже значне.

Отже, у цій статті п'ять разів було задане запитання "чому?". Можливо, хтось із шановної читацької аудиторії знає більш задовільні відповіді ніж ті, що їх намагався дати автор. Можливо, комусь описані особливості проблеми "діабет у вагітних жінок в Україні" не здаються парадоксальними. Можливо, хтось відгукнеться на цю публікацію зі своїм баченням коренів проблеми і виникне дискусія, у результаті якої виграють хворі жінки. Автор був би за це безмежно вдячний.

Література

1. Арбатская И.Ю. Сахарный диабет 1 типа и беременность // Фарматека. 2002, № 5, 30-36.
2. Охорона здоров'я України: результати діяльності. Київ, 2000. 511 с.
3. Федорова М.В., Краснопольский В.И., Петрухин В.А. Сахарный диабет, беременность и диабетическая фетопатия. М.: Медицина, 2001. 288 с.
4. Evans A.T., Veciana M., Benbarka M. The pregnancy and endocrine diseases // K.R.Niswander, A.T.Evans (eds.). Manual of Obstetrics. Fifth ed. Boston/New York/Toronto/London: Little, Brown and Co, 1996, 164-188.
5. Kitzmiller J., Gavin L. Diabetes mellitus and pregnancy // N.Lavin (ed.). Manual of Endocrinology and Metabolism. Boston/New York/Toronto/London: Little, Brown and Co, 1994, 845-856.
6. Von Kries R., Kimmerle K., Schmidt J.E. et al. Pregnancy outcomes in mothers with pregestational diabetes: population-based study in North Rhine (Germany) from 1988 to 1993 // Eur. J. Pediatr. 1997, 156, N 12, 963-967.
7. Кранс Г.М.Дж., Порт М., Кіна Г. (ред.). Лікування та вивчення діабету в Європі: програма дій за Сент-Вінсентською декларацією. Перекл. з англ., 1994. 97 с.
8. Litchiner N., Frazer R., Heller S. The St. Vincent declaration and pregnancy – how close we to achieving its aims? // Abstr. of the XIV Eur. Congr. Gynecol. Obstet. Granada, 1999, p. 192.
9. Zhu L., Nakabayashi M., Takeda Y. Statistical analysis of perinatal outcomes in pregnancy, complicated with diabetes mellitus // J. Obstet. Gynecol. Res. 1997, 23, N 6, 555-563.

10. Casey B.M., Lucas M.I., McIntire D.D., Leveno K.I. Pregnancy outcomes in women with gestational diabetes compared with general obstetric population // *Obstet. Gynecol.* 1997, **90**, N 6, 869-873.
11. Casson I.F., Clarke C.A., Howard C.V. et al. Outcomes of pregnancy in insulin-dependent diabetic women: results of a five year population cohort study // *BMJ.* 1997, **315**, N 7103, 275-278.
12. Evers J., de Valk G., Visser H. A national-wide prospective study of the outcome of pregnancy in women with type 1 diabetes mellitus // *University Medical Center Utrecht, the Netherlands*, 2001.
13. El Mallach K.O., Narchi H., Kulayat N.A., Shaban M.S. Gestational and pregestational diabetes: comparison of maternal and fetal characteristics and outcome // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 1997, **58**, N 2, 203-209.
14. Chia Y.T., Chua S., Thai A.C. et al. Gestational diabetes: obstetric and neonatal outcome in 411 cases // *Singapore Med. J.* 1996, **37**, N 6, 591-594.
15. Deerochanawong C., Putiyanun C., Wongsuryrat M. et al. Comparison of National Diabetes Data Group and World Health Organisation criteria for detecting gestational diabetes mellitus // *Diabetologia.* 1996, **39**, N 9, 1070-1073.
16. Helton M.R., Arndt J., Kebede M., King M. Do low-risk prenatal patients really need a screening glucose challenge test? // *J. Fam. Pract.* 1997, **44**, N 6, 556-561.
17. Медведь В.І., Солонець М.І. Стан спеціалізованої допомоги вагітним з цукровим діабетом в Україні: дійсне і бажане // *Ендокринологія.* 2001, **6** (додаток), с. 286.
18. Мурашко Л.Е., Трусова Н.В. Гестоз у женщин с нарушениями толерантности к глюкозе // *Акушер. гинекол.* 1999, № 4, 19-22.

Сахарный диабет у беременных: особенности проблемы в Украине

В.І.Медведь

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

Анализ официальных статистических данных МЗ Украины за последние 5 лет обнаружил ряд неожиданных фактов. Распространенность сахарного диабета среди беременных в Украине (0,08 %) существенным образом ниже таковой в большинстве развитых стран мира (0,3-0,5 %), причем из года в год она уменьшается (с 1997 до 2001 года на 25 %). Не выявляется и не учитывается гестационный диабет, частота которого в общей популяции беременных составляет не меньше 2 %. В разных регионах Украины распространенность сахарного диабета среди беременных и рожениц различается почти на порядок, колеблясь от 0,29 % до 0,01 %. В женских консультациях ежегодно во время беременности наблюдается меньше больных на диабет, чем рождает. В статье обсуждаются возможные причины такого парадоксального положения, высказываются некоторые предположения. Автор приглашает заинтересованных эндокринологов к дискуссии.

Ключевые слова: сахарный диабет, беременные, роженицы, распространенность гестационного диабета.

Diabetes mellitus in pregnant women: features of the problem in Ukraine

V.I.Medved

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

The analysis of official statistical data for the last 5 years showed a number of unexpected facts. The prevalence of diabetes mellitus among pregnant women in Ukraine (0,08 %) is significantly lower than in the majority of developed countries (0,3-0,5 %), and it decreases from year to year (from 1997 to 2001 by 25 %). Gestational diabetes, whose frequency in a common population of pregnant women makes not less than 2 % is not diagnosed and taken into account. In different regions of Ukraine the prevalence of diabetes mellitus among pregnant and parturient women differs almost of an order – from 0,29 % up to 0,01%. The number of pregnant women with diabetes mellitus who are observed annually at female consultation clinics is less than the number of diabetic women who travails. Possible reasons of such paradoxical situation are discussed, some assumptions are made. The author invites the interested endocrinologists to discussion.

Key words: diabetes mellitus, pregnant, parturient woman, prevalence of gestational diabetes.

(Надійшла 24.12.2002)

К статье В.И.Медведя “Цукровий діабет у вагітних: особливості проблеми в Україні”

Проблема течения и исхода беременности у женщин, страдающих сахарным диабетом, представляет один из наиболее актуальных вопросов клинической диабетологии. Это объясняется, с одной стороны, постоянно увеличивающимся числом людей, болеющих диабетом, что, естественно, влечет за собой и возрастание количества беременных женщин с диабетом, а, с другой стороны, большими сложностями течения беременности на фоне диабета и опасностью развития осложнений как со стороны матери, так и плода. Вместе с тем, при адекватном лечении сахарного диабета, исход беременности у пациенток с диабетом практически не отличается от показателей в общей популяции, что и было достигнуто в экономически развитых странах. Именно поэтому вопросы о состоянии организации медицинской помощи беременным женщинам, страдающим сахарным диабетом, поднятые в статье В.И.Медведя, представляются очень важными.

Автор подчеркивает, что официальные статистические данные относительно распространенности сахарного диабета в нашей стране значительно меньше аналогичного показателя в других странах. По всей видимости, эти расхождения обусловлены недостаточным выявлением сахарного диабета в Украине. Действительно, в то время как распространенность заболевания в странах Европы и Северной Америки составляет 4-5 %, в Украине этот показатель не превышает 2 %. Конечно, наша страна не является “счастливым исключением” из отмечающейся во всем мире тенденции к возрастанию заболеваемости и распространенности диабета. Объяснением такой низкой распространенности болезни может являться только недостаточно активное проведение скрининга и диагностики сахарного диабета. Известно, что диагностика диабета 2 типа требует проведения активных диагностических мероприятий и этот тип заболевания может оставаться невыявленным в течение многих лет. Можно предположить, что у многих беременных женщин с невыявленным диабетом отмечается именно 2 тип заболевания, который может развиваться и у лиц моложе 35 лет. С другой стороны, следует согласиться с автором в его предположении о том, что женщины, страдающие диабетом 1 типа, беременеют реже, чем пациентки в других странах. К сожалению, во многих лечебных учреждениях нашей страны по-прежнему господствует точка зрения о том, что женщинам с диабетом беременность и роды противопоказаны, что противоречит современным принципам ведения больных с диабетом. Еще одним объяснением может служить тот факт, что в нашей стране остается высокой частота хронических осложнений диабета, прежде всего ретинопатии и нефропатии, а наличие далеко зашедших стадий этих осложнений является противопоказанием к беременности, что и приводит к уменьшению числа беременностей на фоне сахарного диабета 1 типа.

Очень тревожными представляются приведенные автором данные, свидетельствующие о крайне плохой выявляемости гестационного диабета. Конечно, столь низкая выявляемость гестационного диабета не позволяет адекватно контролировать показатели глюкозы в крови, а именно строгое поддержание нормогликемии в течение беременности является основным фактором, способствующим ее нормальному исходу. С другой стороны, общеизвестно, что у беременных женщин с диабетом значительно повышен риск развития явного сахарного диабета 2 типа в течение достаточно короткого периода времени после родоразрешения. При этом, в последние годы было найдено, что гестационный сахарный диабет является предвестником или проявлением метаболического синдрома – состояния, ведущего к существенному возрастанию

риска кардиоваскулярной заболеваемости и смертности. Таким образом, своевременное выявление гестационного диабета представляется весьма важным как для акушеров, так и для эндокринологов и терапевтов.

Отсутствие единых требований и принципов к организации выявления сахарного диабета во время беременности определяет, по-видимому, и отмеченное автором значительное расхождение в показателях распространенности заболевания среди беременных женщин и рожениц в разных регионах страны. Большие расхождения также отмечаются в показателях распространенности диабета в общей популяции, что определяется разной активностью эндокринологической службы по выявлению заболевания.

Отсутствие стройной и эффективно действующей системы выявления и лечения сахарного диабета у беременных женщин, по-видимому, лежит в основе того факта, что многие больные с диабетом во время беременности не регистрируются в женских консультациях, что, естественно, приводит не только к искажению статистических данных, но и ухудшению оказания медицинской помощи этим больным.

Приведенные автором в статье данные заставляют еще раз настоятельно подчеркнуть необходимость проведения скрининга всех беременных женщин для своевременного выявления нарушения толерантности к углеводам или сахарного диабета. Поэтому следует подчеркнуть важность проведения всем беременным теста на толерантность к глюкозе на 28-й неделе беременности. Особое внимание при обследовании следует обращать на женщин с факторами риска развития сахарного диабета, такими как отягощенная по диабету наследственность, рождение крупных плодов в результате предыдущих беременностей, указания на гестационный диабет во время предшествующих беременностей. У таких женщин необходимо определять содержание глюкозы крови в ранние сроки беременности в течение нескольких раз.

Следует поблагодарить автора за острые и несомненно своевременно поставленные вопросы, решение которых позволит значительно повысить эффективность реализации государственной программы "Сахарный диабет".

Б.Н.МАНЬКОВСКИЙ

Заведующий отделением профилактической диabetологии Института
эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АМН Украины,
доктор медицинских наук

ПРОБЛЕМА ВИЗНАЧЕННЯ ТИПУ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ЗА ДАНИМИ АНАЛІЗУ ДЕЯКИХ РЕЕСТРІВ ХВОРИХ НА ДІАБЕТ

М.Д. Халангот*, С. Пруна¹, В.І. Кравченко², Н. Харріс³

Донецький державний медичний університет ім. М.Горького, 83003 Донецьк, Україна; ¹Центр телемедицини, 70208 Бухарест, Румунія; ²Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, 04114 Київ, Україна; ³Університет у Баті, Велика Британія

Проаналізована практика встановлення діагнозу типу цукрового діабету (ЦД) за даними реєстрів первинної (в Румунії) та вторинної (в Україні) ланок допомоги хворим на діабет. У Донецькому реєстрі частка хворих на ЦД 1-го типу, що отримували пероральні цукрознижувальні засоби перед тим, як їм призначався інсулін (8 % з 514 хворих), була значно менша, ніж у Бухаресті (44 % з 1343 хворих). Поясненням цієї різниці може бути не завжди обґрунтована зміна діагнозу типу ЦД з 2-го на 1-й під час призначення інсуліну. Створення великих національних та міжнародних реєстрів ЦД вимагає уніфікованого підходу до діагностики типів ЦД. Наведені клінічні приклади діагностики типів ЦД. Запропоновано спиратись на останні міжнародні рекомендації щодо класифікації ЦД під час визначення клінічного діагнозу.

Ключові слова: цукровий діабет, реєстри, типи цукрового діабету.

У Європі інформаційні технології (ІТ) та реєстри хворих на діабет стають все важливішим інструментом поліпшення й моніторингу якості допомоги хворим. Ці дослідження координуються робочою групою Європейської діабетичної асоціації (www.doit-easd.org/). Моделі ІТ для діабетології виникали в різних системах охорони здоров'я, але проблеми багато в чому подібні. Організаційні та політичні питання часто виявляються важчими, ніж технічні вирішення (<http://www.doit-easd.org/en/meetings/gubbio00/gubbio00.htm>).

Дотримування міжнародних стандартів при створенні реєстрів практично необхідне для цілей аналізу, що здійснює програма контролю якості й технологій Європейського бюро ВООЗ – QCT WHO Europe (<http://qct.who.dk/diabetes/>). Ця структура нагромадила базу даних, що містить 50000 випадків цукрового діабету, які були передані з 28 центрів 22 країн. Представники ВООЗ вказують, що створення мережі зі збирання й аналізу даних про ЦД стало можливим завдяки співпраці з такими проектами, як DiabCare та BlackSeaDiab [1]. ВООЗ підтримує розвиток баз даних хворих на діабет, що створюються на первинному та вторинному рівнях діабетологічної служби (DiabCare), з яких можливе автоматичне отримання розроблених ВООЗ індикаторів якості DiabCare (<http://qct.who.dk/diabetes/dad.htm>). Саме такі можливості властиві програмному забезпеченню BlackSeaTeleDiab (BSTD), у створенні якого брала участь і Україна [2]. В межах державної комплексної програми “Цукровий діабет” триває робота зі створення національного реєстру хворих на ЦД “СИНАДІАБ” [3]. Адекватний аналіз реєстрів ЦД неможливий без достатнього ступеня стандартизації внесених даних. У 1999 р. у Європі опубліковані нові рекомендації ВООЗ та Міжнародної діабетичної федерації, що стосуються діагностики ЦД [4], рекомендоване їх використання і в Україні [5]. Дотримування міжнарод-

*Адреса для листування (Correspondence): Донецький державний медичний університет ім. М.Горького, просп. Ілліча, 16, 83003 Донецьк, Україна; E-mail: n.khalangot@medic.donetsk.ua

них стандартів під час діагностики типів ЦД є необхідною умовою при створенні реєстру хворих на діабет. Метою роботи є вивчення практики діагностики типу ЦД на первинному (практичні лікарі) та вторинному (клінічному) рівнях діабетологічної допомоги.

Матеріали та методи

1. Порівнювали реєстри ЦД, що були створені в Румунії та в Україні, під час розробки програмного забезпечення BSTD (міжнародний проект EU PL 96-0121) [2]. Румунські реєстри BSTD (RO 1 RO 2, загальна кількість хворих – 5000) створювалися у 1999 р. лікарями первинної ланки, при цьому дані про тип ЦД без змін переносилися з поточної медичної документації. Український реєстр BSTD (загальна кількість хворих – 900) створювався у 1999, 2000 і 2001 рр. лікарями ендокринологічної клініки обласної лікарні. У реєстр заносився клінічний діагноз типу ЦД, який іноді відрізнявся від раніше встановленого районним ендокринологом. Відбирали дані про лікування ЦД у пацієнтів з ЦД 1-го типу віком понад 30 років і тривалістю захворювання більше 3-х років. У відібраних таким чином групах порівнювали кількість хворих (в %), які раніше лікувалися пероральними цукрознижувальними засобами (ПЦЗ). Вірогідність різниці для відносних величин визначали статистично [6].

2. Порівнювали кількість хворих на ЦД 2-го типу, що отримують інсулін, з даними деяких реєстрів хворих на діабет країн Чорноморського регіону (дані отримані з Румунського центру телемедицини, Бухарест (www.telemed.ro)).

3. Аналізували поточну практику занесення даних про тип ЦД до програми СИНАДІАБ в Донецькій області.

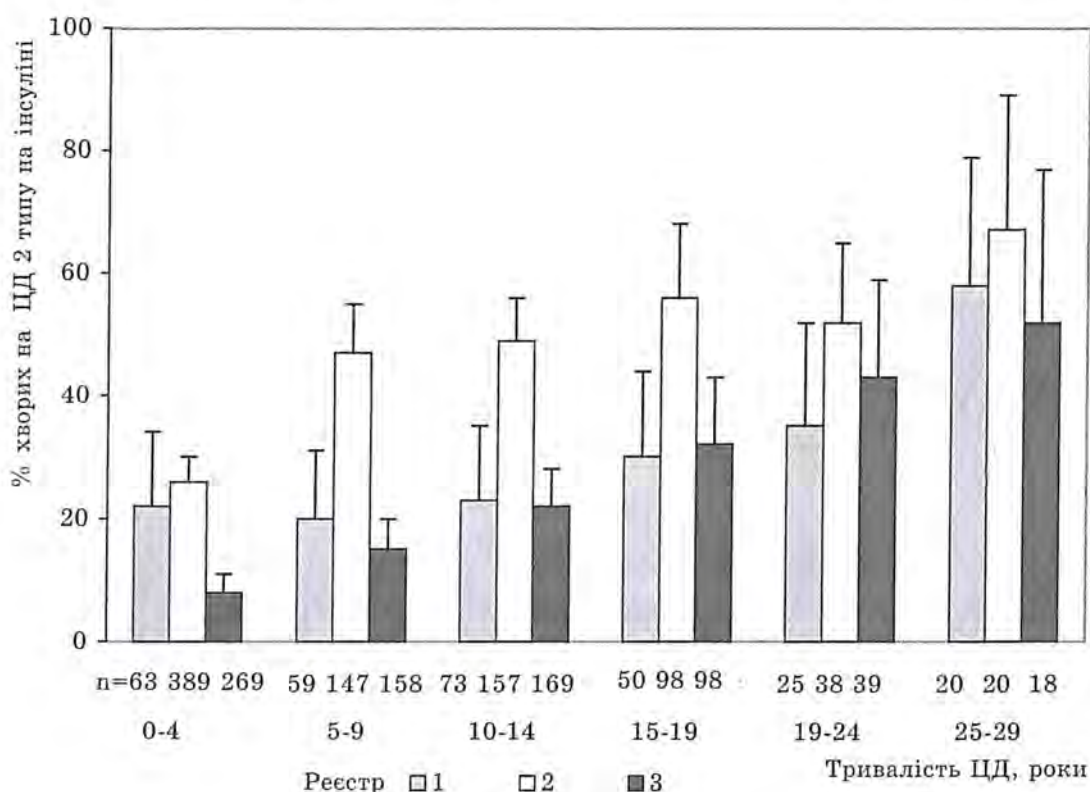
Результати та їх обговорення

У реєстрах, створених лікарями первинної ланки (RO1 і RO2), кількість хворих, що відповідають критеріям відбору, складала 452 і 891, відповідно. З них 51,5 % і 36,6 % отримували ПЦЗ перед початком інсулінотерапії. Клінічна база даних, що була створена на другому рівні допомоги (UKR 1999, 2000, 2001), включала відповідно 190, 250 та 74 аналогічних пацієнтів. З них тільки 6,3 %, 6,4 % та 12 %, відповідно, раніше отримували ПЦЗ, тобто 8 % із 514 хворих. Кількість хворих на ЦД 1-го типу, в анамнезі яких є дані про лікування ПЦЗ перед початком інсулінотерапії, в клінічній базі даних обласної лікарні м. Донецька була значно меншою ($P < 0,01$), ніж у реєстрі, створеному на рівні первинної допомоги в Бухаресті (44 % із 1343 хворих).

При створенні клінічних баз даних BSTD у 1999-2001 рр. в Донецькій обласній лікарні привернула увагу істотна невідповідність у багатьох випадках поточного діагнозу типу ЦД міжнародним критеріям. Особливо очевидно ця невідповідність стала після публікації нових рекомендацій ВООЗ та Європейської діабетичної федерації з діагностики цукрового діабету [4]. У нових рекомендаціях підкреслюється, що клінічна стадія ЦД 1-го типу означає потребу в інсуліні для виживання у всіх хворих на цей тип (що раніше був відомий як “інсулінозалежний” ЦД). Під час аналізу паперових форм BSTD, заповнених районними ендокринологами, виявилось, що із 199 хворих на ЦД 1-го типу, які хворіють більше 10 років і отримують на момент заповнення форм інсулін, 48 (24 %) мають більше ніж 3-річний термін лікування ПЦЗ (від $6,66 \pm 2,18$ до $14,3 \pm 6,2$ років). Тільки в одному з 10 районів області не було хворих на ЦД 1-го типу, які мають тривалий анамнез лікування ПЦЗ, що й вказувало на правильний підхід до діагнозу в цьому районі. У більшості випадків необґрунтована зміна діагнозу 2-го типу ЦД на 1-й відбувається на основі потреби в інсулінотерапії, що повинно бути відображено в діагнозі, як “ЦД 2-го типу, що потребує лікування інсуліном для контролю”, відповідно до рекомендацій ВООЗ та Європейської діабетичної федерації. Проблема діагностики типу ЦД зберігається і сьогодні, в період створення національного реєстру СИНАДІАБ. Під час аналізу паперових форм СИНАДІАБ, заповнених міським ендокринологом одного з міст Донецької області, виявилось, що із 111 хворих на ЦД 1-го типу

у 18 (16 %) інсулін призначено більш ніж через 3 роки після виявлення ЦД. Відсутність уніфікованого підходу до діагностики типу ЦД може суттєво ускладнити подальший аналіз реєстру хворих на діабет.

На малюнку подана частота (в % $\pm$ стандартне відхилення) використання інсуліну у хворих на ЦД 2-го типу залежно від тривалості захворювання (за даними аналізу госпітальних реєстрів трьох країн Чорноморського регіону). Помітна істотна різниця у застосуванні інсулінотерапії при відомій тривалості ЦД 0-4 роки між реєстрами 1, 2 і 3; при тривалості 5-19 років – між реєстрами 2 та 1, 3. Цю диференціацію можна пояснити не лише неоднаковими терапевтичними підходами в різних країнах, а й різницею в діагностичних критеріях типів ЦД. Зміна діагнозу типу ЦД може бути пов'язана із соціальними причинами (більш “лояльне” відношення органів медико-соціальної експертизи до хворих на ЦД 1-го типу). Варіант ЦД 1-го типу, відомий як “латентний автоімунний цукровий діабет дорослих” (LADA), при якому хворі можуть обходитися без інсуліну в середньому від 1 до 3 років [7, 8], повинен враховуватися під час обговорення діагнозу, але реальні труднощі в діагностиці типу ЦД, як правило, мають місце, коли вперше виявлено ЦД. У рекомендаціях міжнародної організації лікарів загальної практики, які здійснюють первинне лікування діабету (Primary Care Diabetes, Europe; www.pcd.europe.org), відзначається, що не завжди можливо розрізнити ЦД 1-го і 2-го типів враховуючи вік, симптоми та рівні глікемії [9]. За даними клінічного реєстру BSTD 1999-2001 рр., ці труднощі виникали в 14 хворих (1,7 %), тимчасово класифікованих як “ЦД неуточнений”, що відповідає коду E14 міжнародної класифікації хвороб 10 перегляду [10]. Аналогічні проблеми виникають і під час аналізу реєстрів



Малюнок. Частота використання інсуліну у хворих на ЦД 2-го типу залежно від тривалості захворювання за даними аналізу госпітальних реєстрів 3-х країн Чорноморського регіону (% $\pm$ стандартне відхилення).

ЦД в Західних країнах: дослідники, які вивчали у межах DiabCare Q-Net поширеність нефропатії в міських госпіталах Німеччини, в 33 випадках з 581 і 17 з 335 не змогли документувати тип ЦД [11]. P.Z.Zimmet et al. [7] наполягають на необхідності введення визначення антитіл до глутаматдекарбоксилази (GAD Ab) як рутинної процедури для хворих без ожиріння, в яких діабет виявлено після 30 років, з метою діагностики типу LADA [7]. Тепер визначення GAD Ab для уточнення типу ЦД систематично не проводиться не лише в Україні, але й на рівні первинної діабетологічної допомоги в Європі [9]. Визначення типу ЦД в осіб, які захворіли в 30-40 років і не мають кетоацидозу, ґрунтується на виявленні їх чутливості до ПЦЗ. Така діагностика шляхом "пробного" лікування іноді небезпечна для хворого.

Ми спостерігали за хворим Н. (ідентифікаційний № BSTD: UKR00000785). Рік народження – 1966. Діабет виявлено в 1996 р. після появи типових симптомів. Протягом першого року захворювання лікувався глібенкламідом, у 1997 р. розвинулась кетоацидотична кома, з цього часу – на інсуліні (28 Од середньої тривалості дії 1 раз на добу). Поступив у клініку 21.03.01 з діагнозом "діабетичний гломерулосклероз, ХНН 2", після лікування в місцевій лікарні (в епікризі з історії хвороби описано типову клініку кетоацидозу та гіпнопро-теїнемію – 52 г/л). Під час обстеження в клініці виявлено набряки гомілок і стоп, дефіцит маси тіла (62 кг при зрості 186 см), протейнурії немає, альбумін сечі – 1,7 мг/л, креатинін – 0,08 ммоль/л. Збільшення дози інсуліну на 12 Од/добу за рахунок препарату швидкої дії перед їдою 3 рази на день призвело до зникнення набряків, які в даному випадку можна пояснити білково-енергетичною недостатністю на тлі тривалої декомпенсації діабету та неадекватної інсулінотерапії (кардіальна причина набряків також не підтверджена). Цей випадок вказує на небезпечність "пробного" лікування без застосування інсуліну маніфестації діабету в осіб віком до 40 років без ожиріння, яке може призвести до кетоацидозу. Окрім того, такий випадок демонструє й те, що схема інсулінотерапії, допустима при ЦД 2-го типу, у хворих на ЦД 1-го типу призводить до тяжкої декомпенсації, кетоацидозу, а іноді й білково-енергетичної недостатності.

Прикладом більш своєчасного діагнозу ЦД 1-го типу може бути випадок з хворим Б. (ідентифікаційний № СИНАДІАБ 051192001) 1963 року народження. Цукровий діабет діагностовано 5.04.02, з цього часу отримував гліметірид. У клініці хворого вперше оглянуто 11.04.02. Симптоми діабету появились у січні 2002 р., після видалення зуба. Гіперглікемія натще фіксувалася ще у лютому 2002 р. – 11,1 ммоль/л, 3.04.02 – 11,6 і 5.04.02 – 15,8 ммоль/л на тлі харчування з виключенням солодоців. Об'єктивно: вага 67 кг, зріст 181 см. АТ – 90/60 мм рт. ст., частота серцевих скорочень – 76/хв. Глухість першого тону на верхівці. Чутливість стоп не порушена. Кетонурії немає. Глікемія експрес-методом – 18 ммоль/л. Діагноз: Цукровий діабет неуточнений, декомпенсація. Подальше лікування протягом першого місяця за допомогою ПЦЗ та ПЦЗ у сполученні з однією ін'єкцією на добу інсуліну не призвело до компенсації ЦД. 20.05.02 скарги на "болі в серці", глікемія натще – 8,0 ммоль/л. За даними самоконтролю – наявна глюкозурія. Рекомендовано: 1) дослідити антитіла до глутаматдекарбоксилази (GADA); 2) консультація кардіолога, 3) збільшити дозу інсуліну до 16 Од "протафан" на ніч. 14.06.02 зберігаються незначна кардіалгія та глюкозурія. Кардіолог і ревматолог виявили ревматизм латентного перебігу з мінімальним ступенем активності. Виявлено значне підвищення антитіл до глутаматдекарбоксилази: 2,4 Од/мл при нормі < 0,9 Од/мл, сіра зона – 0,75-1,2 (Діагностичний інститут м. Берліна, Німеччина; представник у Донецьку: secretary@dromd.donetsk.ua). Уточнений діагноз: ЦД, тип 1, декомпенсація. Рекомендована відповідна інсулінотерапія з відміною ПЦЗ. Встановленню діагнозу у цього хворого допомогло визначення GAD Ab. Слід також звернути увагу на

поєднання ЦД з ревматизмом, що також непрямо вказує на збільшену вірогідність аутоімунної патології (ЦД 1-го типу). Використання діагнозу "Цукровий діабет неуточнений" (код МКБ-10 E14) дозволяє виділити "групу ризику" кетоацидозу, що потребує частішого лікарського контролю під час уточнення діагнозу.

Висновки

1. Діагностика типу ЦД лікарями первинної ланки допомоги хворим на діабет часто ґрунтується лише на факті призначення інсуліну.
2. Необхідні національні рекомендації стосовно діагностики типів ЦД, які враховуватимуть міжнародні стандарти і коди МКБ-10.
3. Використання в клінічному діагнозі деяких формулювань з рекомендацій Європейської діабетичної федерації ("ЦД 2-го типу, що має потребу в інсуліні для контролю"), і кодів МКБ-10 (Цукровий діабет неуточнений, E14) може істотно підвищити якість реєстру хворих на діабет.

Література

1. Bergrem K.H., Johansen K.S. Registers: The view of WHO Seventh Workshop of the DOIT EASD Study Group Gubbio, (PG-Italy), 12th - 14th May 2000.
2. Harris N.D., Raptis A., Raptis S. et al. Black Sea Tele-Diab: development and implementation of an electronic patient record for patients with diabetes // Health Informatics Journal. 2001, 7, №2, 108-111.
3. Наказ МОЗ України про створення реєстру хворих на цукровий діабет // Ендокринологія. 2001, 6, №2, 246-247.
4. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications Report of a WHO Consultation. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus World Health Organization Department of Noncommunicable Disease Surveillance, Geneva, 1999.
5. Тронько Н.Д., Ефимов А.С., Маньковский Б.Н.. Современная классификация сахарного диабета // Ендокринологія. 2001, 6, № 1, 128-131.
6. Мерков А.М., Поляков Л.Е. Санитарная статистика. М.: Медицина, 1974, 83-85.
7. Zimmet P.Z., Tuomi T., Mackay I.R. et al. Latent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA): the role of antibodies to glutamic acid decarboxylase in diagnosis and prediction of insulin dependency // Diabetic Med. 1994, N 11, 299-303.
8. Дедов И.И., Фадеев В.В. Введение в диабетологию. М.: Берер, 1998. 31 с.
9. Rutten G.E.H.M., Verhoeven S., Heine R.J. et al. The dutch college of general practitioners (NHG) standart for type 2 diabetes mellitus guidelines for type 2 diabetes care // Huisarts en wetenschap. 1999, 42, N 2, 67-84.
10. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, Tenth revision. Vol.1. World Health Organisation, Genewa, 1992. ICD-10.
11. Pehlmeier W., Renner R., Kimmerling T. Prevalence of diabetic nephropathy in primary care and hospitals of an urban area // Diabetologia. 1997, 40, Suppl. 1, abstr. 2074.

Проблема определения типа сахарного диабета по данным анализа некоторых реестров больных диабетом

Н.Д. Халангот, С. Пруна¹, В.И. Кравченко², Н. Харрис³

Донецкий государственный медицинский университет им. М.Горького, 83003 Донецк, Украина; ¹Центр телемедицины, 70208 Бухарест, Румыния; ²Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев, Украина; ³Университет в Бати, Великобритания

Проанализирована практика установления диагноза типа сахарного диабета (СД) по данным реестров первичного (в Румынии) и вторичного (в Украине) звеньев помощи больным диабетом. В Донецком реестре доля больных СД 1-го типа, получавших пероральные сахароснижающие средства перед тем, как им назначался инсулин (8 % из 514 больных), была значительно меньше, чем в Бухаресте (44 % из 1343 больных). Объяснением этой разницы может быть не всегда обоснованное изменение диагноза

типа СД со 2-го на 1-й во время назначения инсулина. Образование больших национальных и международных реестров СД требует унифицированного подхода к диагностике типов СД. Приведены клинические примеры диагностики типов СД. Предложено опираться на последние международные рекомендации классификации СД во время определения клинического диагноза.

Ключевые слова: сахарный диабет, регистры, типы сахарного диабета.

Problem of diabetes mellitus type determination according to the analysis of some diabetic registers

N.Khalangot, S.Pruna¹, V.Kravchenko², N.Harris³

M.Gorky Donetsk State Medical University, 83003 Donetsk, Ukraine; ¹Romanian Telemedicine Center, 70208 Bucharest, Romania; ²V.P.Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 04114 Kyiv, Ukraine; ³BA1 1RL Bath University, UK

Background: Several diabetics Registers have been elaborated in the participant countries of the BSTD project (EU PL 96-0121) including Ukraine and Romania when the BSTD software was developed and tested. Large Registers were developed by Romanian Primary Care doctors (5000 cases in total). The BSTD Register in Ukraine was worked out in main by secondary care doctors who entered clinical data sometimes changing the diagnosis of the DM type made at the Primary Care level. In many cases, the DM type diagnosed in the Primary Care (up to 25%) was noted to be variance with the IDF/WHO Recommendations (1999). The maximally correct DM type diagnoses are needed for developing large DM Registers.

Purpose: To investigate the problem of diagnosing the DM type in Primary Care.

Methods: The data were extracted from two Primary Care databases in Romania (Bucharest) and from one Secondary Care database in Ukraine (Donetsk). We analyzed the Romanian databases (RO1 and RO2) for 1999 and the Ukrainian ones for 1999, 2000, 2001. The data on DM type 1 patients aged >30 years with DM duration >3 years were extracted. Having analyzed only the Oral Antidiabetic Drugs (OAD) Field we have obtained the fraction of type 1 patients (in %) with a history of the OAD before insulin administration.

Results: In the Primary Care databases (RO1 and RO2) the number of patients corresponding to the requirements was 452 and 891, respectively. Of them 51.5% and 36.6% were treated by the OAD before insulin administration. The Secondary Care databases (UKR 1999, 2000, 2001) included 190, 250 and 74 similar patients, respectively. Of them only 6.3 %, 6.4 % and 12 %, respectively, received prior OAD treatment, i.e. 8% of the 514 patients. The number of type 1 patients who received OAD before the start of insulin in Donetsk was significantly less ($P < 0.01$) than that in Bucharest (44 % of 1343 patients). This difference can be explained by often ungrounded reclassification of type 2 patients to type 1 ones which occur after insulin administration in the Primary Care. While filling the database in Donetsk we noted that about 25 % of patients in Primary Care receiving insulin and previously reclassified from type 2 into type 1 were above 40 years at the time of DM diagnosis, the duration of the OAD treatment being 3 to 15 years before insulin administration. Therefore, they could hardly be considered the true type 1 patients. In practice, difficulties with DM type determination occurred rather rarely in the Secondary Care level (5 cases of "unknown" or E14 DM type according to International Disease Classification 10 in Donetsk database). The corresponding option is in the BSTD software. These patients may be in need of immunology tests (Gad Ab).

Conclusions: 1. In Primary Care the DM type 1 is often determined only basing on insulin treatment. 2. The use of the latest IDF/WHO recommendation www.staff.ncl.ac.uk/philip.home/who/dmc.htm for the clinical diagnosis in the Primary Care (e.g. DM type 2 requiring insulin for control) may improve the DM Register quality.

Key words: diabetes mellitus, registers, types of diabetes mellitus.

(Надійшла 27.06.2002)

МОТОРИКА ЖОВЧНИХ ШЛЯХІВ У ХВОРИХ З ВПЕРШЕ ВИЯВЛЕНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 1 ТИПУ ТА ЗВ'ЯЗОК ЇЇ ЗІ СТАНОМ АВТОНОМНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ

С.М.Ткач*, Ю.М.Найда

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

З метою вивчення ранніх змін моторики жовчних шляхів на початку розвитку цукрового діабету та уточнення зв'язку її зі станом автономної нервової системи обстежено 24 хворих з вперше виявленим цукровим діабетом 1 типу і 25 здорових осіб. Клінічне обстеження супроводжувалося вивченням моторики жовчних шляхів за методом ультразвукової холецистографії на підставі аналізу динаміки скоротливості жовчного міхура після стандартного жовчогінного сніданку і функції автономної нервової системи за даними спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму. В результаті обстеження у хворих з вперше виявленим цукровим діабетом виявлені субклінічні зміни стану жовчного міхура: збільшення його об'єму натще і залишкового об'єму через 60 хв після яєчних жовтків, відповідно, $22,5 \pm 3,1 \text{ см}^3$ і $6,0 \pm 0,8 \text{ см}^3$ проти $12,7 \pm 1,1 \text{ см}^3$ і $3,7 \pm 0,4 \text{ см}^3$ у здорових осіб ($P < 0,02-0,01$).

Аналіз результатів показав, що лише у 7 хворих з вперше виявленим цукровим діабетом моторика жовчних шляхів була нормальною, у решти пацієнтів спостерігалася їх дискінезія: у 9 – гіпертонічної-гіперкінетичної форми і у 8 хворих – гіперкінетичної-гіпотонічної форми. Зміни моторики жовчних шляхів в групі 9 хворих з гіпертонічною-гіперкінетичною дискінезією, яка характеризувалася тимчасовою затримкою жовчовиділення, на відміну від інших груп хворих, відбувалися на тлі вірогідного зменшення спектральних потужностей компонент серцевого ритму: VLF – $224,6 \pm 32,5 \text{ мс}^2$, LF – $236,0 \pm 33,7 \text{ мс}^2$, HF – $239,3 \pm 50,4 \text{ мс}^2$, у порівнянні зі здоровими (VLF – $550,5 \pm 90,9 \text{ мс}^2$, LF – $596,1 \pm 84,8 \text{ мс}^2$, HF – $781,4 \pm 152,8 \text{ мс}^2$; $P < 0,01$). Таким чином, на початку розвитку цукрового діабету 1 типу у більшості хворих з вперше виявленим захворюванням спостерігається дискінезія жовчних шляхів, до розвитку якої, у ряді випадків, причетне порушення стану автономної нервової системи.

Ключові слова: вперше виявлений цукровий діабет 1 типу, діабетична автономна нейропатія, жовчний міхур, спектральний аналіз серцевого ритму, ультразвукова холецистографія.

Порушення моторики позапечінкових жовчних шляхів є одним з тяжких і поширених безсимптомних або малосимптомних уражень [1]. Зниження скоротливої активності жовчного міхура, яке порушує ентерогапатичну циркуляцію жовчних кислот, може не тільки посилювати морфологічні та функціональні порушення травного каналу і печінки у хворих на цукровий діабет, але і безсимптомно приховувати небезпеку підвищеного ризику розвитку жовчокам'яної хвороби [2, 3]. Холестеринові камені утворюються у хворих на цукровий діабет у 2-3 рази частіше, ніж у популяції. Однією з головних причин цього вважають діабетичну автономну нейропатію, при якій спостерігається зменшення скоротливої активності жовчного міхура, так званий діабетичний холецистопарез, що призводить до застою жовчі, підвищеного формування на цьому тлі холестеринових кристалів, утворення та подальшого росту каменів

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

[4-6]. Встановлено, що кардіоваскулярна автономна нейропатія спостерігається у 7,7 % хворих з вперше виявленим цукровим діабетом [7]. Однак і дотепер залишається невідомим, чи є ранніми прояви діабетичної шлунково-кишкової автономної нейропатії, а саме, дисфункція жовчних шляхів. Не з'ясовано також, які саме форми дискінезії жовчних шляхів характерні для початку розвитку цукрового діабету і чи мають вони зв'язок зі станом автономної нервової системи.

З цією метою проведене дослідження моторики жовчних шляхів і стану автономної нервової системи у хворих з вперше виявленим цукровим діабетом 1 типу.

Матеріали і методи

Під нашим спостереженням перебували 24 хворих з вперше виявленим цукровим діабетом 1 типу і 25 здорових осіб того ж віку та статі. Серед хворих було 10 жінок і 14 чоловіків у віці від 17 до 32 років. В групі не включалися особи з жовчокам'яною хворобою, з ожирінням, а також ті, які хворіли на вірусний гепатит або мали в анамнезі які-небудь інші хвороби печінки чи жовчних шляхів. На час обстеження хворі знаходилися у стані компенсації або субкомпенсації цукрового діабету, яка була досягнута за рахунок дієти та інсулінотерапії.

Клінічне обстеження супроводжувалося вивченням моторики жовчних шляхів за методом ультразвукової холецистографії на підставі аналізу динаміки скоротливості жовчного міхура після стандартного жовчогінного сніданку і функції автономної нервової системи за даними спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму. Фізіологічні значення досліджуваних показників спектрального аналізу серцевого ритму і ультразвукової холецистографії були отримані при обстеженні відповідно 25 і 20 здорових осіб.

Скоротливу активність жовчного міхура вивчали за допомогою ультразвукової холецистографії, як найбільш чутливого, інформативного та безпечного методу [8, 9]. Дослідження виконували на апараті ультразвукового сканування "Toshiba" SSA 240A (Японія), що працює у режимі реального часу з робочою частотою ротаційного датчика 3,75 МГц. Обстеження робили вранці, натще, не раніше ніж через 12 год після останнього прийому їжі. Дослідження виконували за загальноприйнятою методикою ультразвукового обстеження жовчного міхура при положенні хворого на спині на висоті глибокого вдиху. Ехолокацію здійснювали у поздовжньому перетині, послідовно переміщуючи датчик від правої передньоаксиллярної лінії до парастернальної, доки не виявляли найбільший поздовжній перетин по довгій вісі жовчного міхура. Об'єм останнього визначали за формулою Weil [10].

При дослідженні скоротливої активності жовчного міхура жовчогінним сніданком були 2 сирих яєчних жовтки, як засіб стимулювання виділення ендогенного холецистокініну. Ультразвукову холецистографію виконували п'ять разів: до жовчогінного сніданку і через 15, 30, 40, 60 хв після нього. Час дослідження був визначений на підставі встановлених раніше найбільш показових періодів змін об'єму жовчного міхура [11, 12]. Скоротливу активність жовчного міхура оцінювали за відсотком скорочення його об'єму (у англомовній літературі – фракція спорожнення), який визначали для кожної хвилини обстеження за формулою [5]:

$$\% \text{ скорочення} = \frac{\text{Об'єм міхура натще} - \text{Об'єм міхура після сніданку}}{\text{Об'єм жовчного міхура натще}} \times 100$$

З метою оцінки стану автономної нервової системи, на тлі якого спостерігаються зміни моторики жовчного міхура, проведене дослідження спектрального аналізу серцевого ритму [13]. Вибір методу був зумовлений тим, що згідно з сучасними даними літератури, він є найбільш адекватним неінвазивним методом для оцінки стану над-сегментарного і сегментарного відділів вегетативної нервової системи [14, 15]. Дослідження виконували за допомогою електрокардіографа ЕК1Т-03М2 та за комп'ютерною програмою спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму. Оцінювали загальну потужність спектру варіабельності серцевого ритму (середньоквадратичне відхилення – СКВ²) та його складових компонентів: дуже низькочастотної – VLF (до 0,05 Гц), низькочастотної – LF (0,05-0,15 Гц) та високочастотної компоненти – HF (0,15-0,5 Гц).

Дані стану жовчного міхура та вегетативного статусу, отримані за результатами ультразвукової холецистографії і спектрального аналізу серцевого ритму, були піддані

статистичній обробці із застосуванням критерію t Стюдента і визначенням показника вірогідності різниці (P).

Результати та їх обговорення

На час обстеження у хворих були відсутні скарги чи клінічні ознаки хвороб печінки чи жовчних шляхів.

За даними ультразвукової холецистографії, на початку спостереження у групи хворих з вперше виявленим цукровим діабетом, на відміну від здорових осіб, зареєстровані збільшення об'єму жовчного міхура як натще, так і його залишкового об'єму через 60 хв після яєчних жовтків. Однак ступінь скорочення жовчного міхура на 15-, 30-, 40- та 60-й хвилини після жовчогінного сніданку не мав суттєвої різниці у порівнянні з показниками здорових осіб (табл. 1).

Аналіз результатів ультразвукової холецистографії показав, що лише у 7 хворих з вперше виявленим цукровим діабетом моторика жовчних шляхів була нормальною, у решти пацієнтів спостерігалася їх дискінезія: у 9 – гіпертонічної-гіперкінетичної форми і у 8 хворих – гіперкінетичної-гіпотонічної форми. Зміни моторики жовчних шляхів в групі 9 хворих з дискінезією гіпертонічної-гіперкінетичної форми, які характеризувалися тимчасовою затримкою жовчовиділення, відбувалися на відміну від інших груп хворих на тлі послаблення вегетативного тону, з вірогідним зниженням загальної спектральної потужності варіабельності ритму серця і всіх її складових компонент: дуже низької частоти (VLF), низької (LF) та високої частоти (HF) (табл. 2).

Отже, загалом, у 17 з 24 обстежених хворих з вперше виявленим цукровим діабетом встановлені субклінічні ознаки дискінезії жовчних шляхів гіперкінетичної-гіпотонічної і гіпертонічної-гіперкінетичної форм. Остання форма дискінезії відбувалася, на відміну від інших груп хворих, на тлі змін показників вегетативного тону. Враховуючи сучасну точку зору на природу формування спектральних компонент ритму серця, отримані результати свідчать про зниження у цієї групи хворих функціональної активності симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи, а також церебральних ерготропних систем надсегментарного рівня вегетативної регуляції [14-16].

Отримані дані свідчать, що дискінезія жовчних шляхів може спостерігатися вже на початку розвитку цукрового діабету 1 типу, і до її розвитку, у ряді випадків, може бути причетним порушення стану автономної нервової системи. Знайдене у хворих збільшення об'єму жовчного міхура як натще, так і його залишкового об'єму свідчить про зниження його тону.

Таким чином, більш ніж у третини хворих з вперше виявленим цукровим діабетом спостерігаються початкові прояви діабетичної шлунково-кишкової автономної нейропатії у вигляді дисфункції жовчних шляхів та зниження тону жовчного міхура, що вказує на її ранній розвиток при цукровому діабеті.

Висновки

1. На початку розвитку цукрового діабету 1 типу у більшості хворих з вперше виявленим захворюванням спостерігається дискінезія жовчних шляхів гіперкінетичної-гіпотонічної і гіпертонічної-гіперкінетичної форм.

2. Розвиток гіпертонічної-гіперкінетичної дискінезії жовчних шляхів у хворих з вперше виявленим цукровим діабетом відбувається на тлі порушень автономної нервової системи.

3. Більш ніж у третини хворих з вперше виявленим цукровим діабетом

Таблиця 1. Показники моторики жовчного міхура у хворих з вперше виявленим цукровим діабетом 1 типу (M±m)

Група обстежених	Кількість обстежених	Об'єм жовчного міхура натще, см ³	Залишковий об'єм жовчного міхура, см ³	Ступінь скорочення об'єму жовчного міхура після яечних жовтків (в % до його об'єму натще) через			
				15 хв	30 хв	40 хв	60 хв
Здорові особи	20	12,7±1,1	3,7±0,4	15,6±5,1	47,4±5,0	59,3±3,6	70,2±2,3
	24	22,5±3,1	6,0±0,8	11,2±9,5	49,8±5,8	56,0±4,8	69,9±3,0
Хворі з вперше виявленим цукровим діабетом 1 типу							
P		< 0,01	< 0,02	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1

Примітка. Тут і в табл. 2: P – вірогідність різниці з показниками здорових осіб.

Таблиця 2. Показники спектрального аналізу серцевого ритму (мс²) у хворих з вперше виявленим цукровим діабетом 1 типу (M±m)

Група обстежених	Кількість обстежених	Загальна спектральна потужність (TP)	Дуже низькочастотна компонента (VLF)	Низькочастотна компонента (LF)	Високочастотна компонента (HF)
Здорові особи	25	1928,1±256,4	550,5±90,9	596,1±84,8	781,4±152,8
	9	700,0±92,6	224,6±32,5	236,0±33,7	239,3±50,4
Хворі з гіпертонічною-гіперкінетичною дискінезією жовчних шляхів					
P	8	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Хворі з гіперкінетичною-гіпотонічною дискінезією жовчних шляхів					
P	7	> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1
Хворі без порушень моторики жовчних шляхів					
P		> 0,1	> 0,1	> 0,1	> 0,1

спостерігаються початкові прояви діабетичної шлунково-кишкової автономної нейропатії у вигляді дисфункції жовчних шляхів та зниження тону сфінктера жовчного міхура, що вказує на її ранній розвиток при цукровому діабеті.

Література

1. Ефимов А.С., Скробонская Н.А. Клиническая диабетология. К.: Здоров'я, 1998. 320 с.
2. Pfeifer M.A., Jung S., Crain G., Schumer M. Autonomic neuropathy // *Diabetic Medicine*. 1993, 10, Supp. 2, 70S-73S.
3. Бурков С.Г., Гребенев А.Л. Факторы риска развития желчекаменной болезни. Статистические данные // *Клин. мед.* 1994, № 3, 59-62.
4. Иванченкова Р.А., Свиридов А.В. Современный взгляд на патогенез желчекаменной болезни // *Клин. мед.* 1999, № 5, 8-12.
5. Nahm J.S., Park J.Y., Park K.G. et al. Gallbladder motility in diabetes mellitus using real time ultrasonography // *Am. J. Gastroenterol.* 1996, 91, 2391-2394.
6. Геллер Л.И., Грязнова М.В., Рыбалка Е.Д. Значение дуоденита в нарушении моторики желчного пузыря у больных сахарным диабетом // *Пробл. эндокринологии*. 1991, № 3, 8-10.
7. Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy: clinical manifestations and measurement // *Diabetes Rev.* 1999, 7, 342-357.
8. Brugge W.R. Motor function of the gallbladder: measurement and clinical significance // *Semin. Roentgenol.* 1991, 26, 226-231.
9. Воробьев Л.П., Салова Л.М., Маев И.В., Пархатова С.Я. Роль различных методов исследования в диагностике функциональных расстройств в желчевыводящей системе // *Клин. мед.* 1996, № 9, 35-38.
10. Воробьев Л.П., Маев И.В., Салова Л.М. Количественная оценка состояния гепатобилиарной системы с помощью двухмерной эхографии у больных с дискинезиями желчевыводящих путей // *Мед. радиология*. 1993, № 3, 12-15.
11. Ткач С.М., Клименко О.П. Прискорення скоротливої активності жовчного міхура під впливом альфа-ліпоевої кислоти у хворих з діабетичним холецистопарезом // *Ендокринологія*. 2001, 6, № 2, 152-159.
12. Клименко Е.Ф. Некоторые вопросы эхографической оценки кинетической способности стенок желчного пузыря и его сфинктерного аппарата // *Врач. дело*. 1995, № 5-6, 154-156.
13. Molgaard H, Hermansen K. Evaluation of cardiac autonomic neuropathy by heart rate variability // In: C.E. Mogensen, E. Standl (eds.). *Research methodologies in human diabetes*. Berlin, New York: de Gruyter, Pt. 1, 1994, 219-240.
14. Ziegler D. Diabetic cardiovascular autonomic neuropathy: prognosis, diagnosis, and treatment // *Diabetes Metab. Rev.* 1994, 10, 339-383.
15. Вегетативные расстройства: Клиника, лечение, диагностика. Под ред. А.М. Вейна. М.: Медицинское информационное агентство, 1998. 752 с.
16. 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.

Моторика желчных путей у больных с впервые выявленным сахарным диабетом 1 типа и связь ее с состоянием автономной нервной системы

С.Н.Ткач, Ю.Н.Найда

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

С целью выявления ранних изменений моторики желчных путей в начале развития сахарного диабета и уточнения связи их с состоянием автономной нервной системы, обследовано 24 больных с впервые выявленным сахарным диабетом 1 типа и 25 здоровых лиц. Клиническое обследование сопровождалось изучением моторики желчных путей методом ультразвуковой холецистографии на основании анализа динамики сократимости желчного пузыря после стандартного желчегонного завтрака и функции автономной нервной системы по данным спектрального анализа вариабельности сердечного ритма. В результате обследования у больных с впервые выявленным сахарным

ОПРАЦЮВАННЯ МЕТОДУ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ ДО ІНСУЛІНУ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ ТА ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

В.В.Корпачов, С.В.Мельниченко*, Р.Г.Лукашова, Н.В.Іванська¹, Г.Є.Раєвська¹

Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України, 04114 Київ; ¹АТЗТ НВК ДіаПроф. Мед, 04123 Київ, Україна

Розроблено умови проведення твердофазного імуноферментного визначення антитіл до інсуліну у сироватках крові здорових людей та хворих на цукровий діабет (ЦД) 1 і 2 типів. Метод придатний також для обстеження людей з інсулінорезистентністю, спонтанною гіпоглікемією та при визначенні груп ризику щодо захворювання на ЦД. Встановлено ефективну концентрацію (10 мкг/мл) напівсинтетичного людського інсуліну ("Hoechst", Німеччина) для сенсibilізації твердої фази. В якості других антитіл використано моноклональні антитіла до імуноглобулінів людини, кон'юговані з пероксидазою хрому. Фермент-субстратна суміш складається з ортофенілєндіаміну та пероксиду водню у фосфат-цитратному буфері, рН 5,0. Встановлено, що 22,7 % хворих на ЦД 1 типу і 6,25 % хворих на ЦД 2 типу мають антитіла до інсуліну. Для групи донорів ця величина становила 1,2 %. На основі розробленого методу передбачається створення вітчизняної імуноферментної тест-системи для обстеження хворих на ЦД, що отримують препарати інсуліну, а також осіб, віднесених до групи ризику захворювання на ЦД.

Ключові слова: цукровий діабет, антиінсулінові антитіла, твердофазний імуноферментний аналіз.

Визначення антитіл до інсуліну набуває все більшого значення при обстеженні хворих на ЦД 1 і 2 типу. Антитіла до ендогенного або екзогенного інсуліну беруть участь в різноманітних реакціях антитілозалежної клітинно-опосередкованої цитотоксичності і можуть бути причиною ураження інсулін-секретуючих клітин. Встановлено досить чітку кореляцію між тяжкістю клінічного перебігу, прогнозом захворювання, строком специфічної терапії інсуліном та появою в крові антитіл до нього. Важливим моментом є визначення антитіл до інсуліну у хворих з інсулінорезистентністю і спонтанною гіпоглікемією, коли необхідно вибрати ефективну тактику лікування цих хворих [1-5]. Тестування на утворення антитіл до інсуліну є важливим для встановлення індивідуальної витривалості до ін'єкційних препаратів інсуліну та оцінки їх якості. Контроль рівня протиінсулінових антитіл також має певне клініко-діагностичне значення при визначенні груп ризику щодо захворювання на ЦД серед дитячого та дорослого населення [6, 7].

Мета роботи полягала в опрацюванні імуноферментної тест-системи для визначення антитіл до інсуліну у сироватці (плазмі) крові людей. Імуноферментні методи визначення антитіл мають переваги перед широко застосовуваними радіоімунологічними методами, оскільки в останньому випадку існують труднощі, пов'язані з нестабільністю реагентів та дотриманням особливих умов безпеки [8].

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

Матеріали і методи

Розроблена тест-система (ІФА-АТ-інс) для визначення антитіл до інсуліну у сироватках крові людей побудована за принципом гетерогенного твердофазного імуоферментного аналізу (ІФА). Антитіла з сироватки крові зв'язуються і утворюють комплекс з антигеном (інсуліном), фіксованим на полістироловому планшеті. З утвореним комплексом взаємодіє кон'югат – антитіла до імуноглобулінів людини, мічені ферментом – пероксидазою хрому. Після вилучення незв'язаного кон'югату в лунки планшета вносять проявник – розчин, який містить субстрат (H_2O_2) та хромоген (ортофенілєндіамін). Матеріалом для дослідження були сироватки крові здорових людей, отримані на Станції переливання крові (м. Київ), та хворих на ЦД, що лікувалися у відділеннях Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України.

Для розведення сироваток випробували різні інсуліни: людські кристалічні біосинтетичні фірм "Lilly" (США) та "Novo Nordisk" (Данія), напівсинтетичний людський фірми "Hoechst" (Німеччина), кристалічний свинячий ("Hoechst"), лікарські препарати біосинтетичного людського інсуліну "Актрапід НМ" ("Novo Nordisk"), напівсинтетичного людського інсуліну "Інсуман Рапід" ("Індар", Україна), свинячих – "Актрапід МС" ("Novo Nordisk") і "Моноінсулін МС" ("Індар"), а також аналог інсуліну людини "Ново Рапід" ("Novo Nordisk"). Крім названих інсулінів для порівняння було застосовано А21- монодезамідоінсулін ("Novo Nordisk").

Для розведення сироваток випробували розчини 1 % бичачого сироваткового альбуміну (БСА) або 0,5 % желатину у фосфатно-сольовому буфері з додаванням 0,05 % твіну-20 (ТФСБ), а також сухе знежирене коров'яче молоко в ТФСБ. Співвідношення інгредієнтів в останньому випадку опрацьовано і запатентовано на підприємстві ДіаПроф. Мед. Призначення цих розчинів полягає не тільки в розведенні сироваток, а і в блокуванні неспецифічного зв'язування білків сироватки крові з вільними від інсуліну місцями на планшеті.

В процесі роботи випробували кон'югати з пероксидазою хрому, виготовлені на НВК ДіаПроф.Мед, до складу яких входили моноклональні антитіла до імуноглобулінів G людини (МАТ), або поліклональні антитіла до всіх класів імуноглобулінів (ПАТ), одержані шляхом імунізації кіз (лаб. молекулярної біології і генної інженерії Всеросійського інституту сільськогосподарських технологій, Москва). Розведення кон'югату з МАТ становило 1: 100000, з ПАТ – 1:10000. Виготовлені на підприємстві ДіаПроф.Мед складові частини субстратної суміші змішували безпосередньо перед постановкою колориметричної реакції.

За позитивний контроль правили антитіла, одержані методом афінної хроматографії [9] на сорбенті агароза-напівсинтетичний інсулін людини ("Hoechst"). Елюцію антитіл здійснювали 0,1 М гліцин-НСІ буфером рН 2,4. Вміст антитіл у пробах після їх нейтралізації визначали за методом Бредфорда [10]. В залежності від умов проведення ІФА оптична густина проб з позитивним контролем знаходилася в межах 0,500 – 1,000.

Загальна схема проведення імуоферментного аналізу багато в чому співпадала з рекомендаціями, запропонованими в роботі [11]. Планшети фірм "Dynatech" (США) або "Nunc" (Данія) сенсibiliзували при 4 °С протягом 18-20 год розчином різних препаратів інсуліну в 0,05 М карбонатно-бікарбонатному буфері рН 9,5 по 100 мкл на лунку. Після сорбції планшети двічі промивали фосфатно-забуферним ізотонічним розчином NaCl з 0,05 % тритону X-100 (буфер для промивання). Потім вносили по 95 мкл розчину для розведення сироваток та по 5 мкл досліджуваних зразків сироваток крові. Всі сироватки тестували в 2-3-х паралельних пробах. Планшети обережно струшували, інкубували 1 год при 37 °С після чого 4 рази відмивали буфером для промивання. На наступному етапі в усі лунки вносили по 100 мкл розчину кон'югату в ТФСБ. Проби інкубували 30 хв в термостаті, промивали 6 разів і в усі лунки вносили по 100 мкл субстратного розчину ортофенілєндіаміну (ОФД) з пероксидом водню у фосфатно-цитратному буфері, рН 5,0. Планшет з проявником витримували 20 хв у темному місці при кімнатній температурі, ферментну реакцію зупиняли внесенням в кожну лунку планшету по 50 мкл 2 М сірчаної-кислоти і не пізніше, як через 5 хв визначали оптичну густина у двохвильовому режимі (492 нм відносно 620 нм).

Отримані результати обробляли, використовуючи критерії Стюдента. Після постановки ІФА верхню границю норми – граничне значення (ГЗ) визначали як середнє значення величин оптичної густини (ОГ) для сироваток практично здорових людей (83 донорів) плюс три значення середньоквадратичного відхилення ($\bar{X} + 3\sigma_x$). В нашому випадку ця величина дорівнювала 0,291. Сироватки, для яких значення ОГ перевищували даний показник, визначали як позитивні. Враховуючи рекомендації ВООЗ, результати дослідів представляли також у вигляді співвідношення значення ОГ зразків сироваток до граничного значення в системі (ОГ/ГЗ).

Результати та їх обговорення

При відпрацюванні початкового етапу методу – зв'язування антигену з твердою фазою, прийшли до висновку, що більш придатними є планшети типу “MaxiSorp” виробництва фірми “Dynatech” або “Nunc”. Інтенсивність реакції при їх використанні за результатами ІФА в 1,5-2 рази вища, ніж при застосуванні планшетів типу “PoliSorp” цих же самих фірм.

В усіх дослідях, крім обговорених окремо, для розведення сироваток вживали розчин знежиреного коров'ячого молока в ТФСБ. При використанні 0,05 % розчину желатини в ТФСБ реєструвалась досить велика ($\approx 0,070$) ОГ в пробах без сироватки (тло), крім того виявлялась значна кількість хибнопозитивних зразків. Застосування 1 % розчину БСА в ТФСБ сприяло зниженню фонових значень, але в цьому випадку також реєструвались хибнопозитивні сироватки, хоча в меншій кількості, ніж з желатиною. За даними деяких авторів, щодо ефективності блокування вільних від інсуліну місць зв'язування на твердій фазі розчинами БСА та казеїну, то кращі блокуючі властивості має останній [12]. В знежиреному молоці міститься значна кількість олігосахаридів, а також альбуміну, казеїну і продуктів їх часткової денатурації, які здійснюють стабілізуючий ефект на структурну організацію білків та на міжбілкові взаємодії [12].

Для визначення оптимальної концентрації інсуліну у сенсibiliзуючому розчині використано напівсинтетичний інсулін людини фірми “Hoechst”. Результати цих досліджень наведені в табл. 1. Показано, що застосування розчину інсуліну з концентрацією 10 мкг в 1 мл є найефективнішим. Незважаючи на те, що при використанні розчинів з меншим вмістом інсуліну реєструється більша оптична густина, існує можливість виявлення хибнопозитивних зразків. Такі сироватки не містять антитіл до інсуліну, але за деяких умов постановки ІФА реєструються як позитивні. Особливо це стосується досліджень сироваток людей, які не хворіють на цукровий діабет, але страждають на ревматоїдний артрит, червоний вовчак або інші автоімунні захворювання. Збільшення концентрації інсуліну до 25-50 мкг/мл не призводить до суттєвого по-

Таблиця 1. Результати визначення антиінсулінових антитіл у сироватках крові здорових людей та хворих на цукровий діабет при використанні різних концентрацій напівсинтетичного інсуліну людини (“Hoechst”) в розчині для сенсibiliзації планшетів (в одиницях ОГ)

Сироватки	Концентрація інсуліну (мкг/мл)						“ORG 520”	
	0,5	1,0	5,0	10,0	25,0	50,0	ОГ проби	Од/мл
Тло	0,014	0,010	0,013	0,011	0,010	0,012	0,038	-
7	0,058	0,037	0,022	0,022	0,021	0,022	0,061	0,32
482	0,769	0,774	0,182	0,099	0,068	0,061	0,053	0,30
468	0,476	0,499	0,135	0,078	0,063	0,061	0,060	0,32
10	0,203	0,206	<i>0,266</i>	0,326	0,449	0,536	0,485	16,5
14	0,642	0,595	<i>0,285</i>	<i>0,286</i>	<i>0,286</i>	<i>0,288</i>	0,346	12,3
171	0,120	0,095	<i>0,281</i>	0,352	0,508	0,508	0,992	38,0
423	0,320	0,389	0,469	0,501	0,455	0,455	1,231	47,0

Примітки:

1. тло – проба без сироватки;
2. сироватки: 7, 482, 468 – здорових людей; 10, 14, 171, 423 – хворих на ЦД;
3. “ORG 520” – ОГ та кількісний вміст антитіл до інсуліну (Од/мл) у сироватках після постановки ІФА з використанням набору фірми “ORGenTech”;
4. жирним шрифтом позначено ОГ, що перевищує граничне значення;
5. курсивом позначено ОГ, що знаходиться в межах граничних значень.

ліпшення результатів постановки ІФА. Можливо, що при використанні високих концентрацій інсуліну для сенсibilізації планшетів відбувається нашарування молекул інсуліну, які під час відмивання зсуваються і частково видаляються разом із промивним розчином.

Існують також і економічні міркування у використанні чітко обґрунтованих концентрацій інсуліну (10 мкг/мл) для приготування сенсibilізованих планшетів. Ефективним є застосування кон'югатів пероксидази хрому як з моноклональними антитілами до імуноглобулінів G людини, так і з поліклональними. Слушність висновків щодо наведених умов проведення ІФА підтверджена результатами паралельних досліджень відібраних сироваток з контрольною імуноферментною системою "Anti-insulin ORG 520" ("ORGentech", Німеччина), яка містила стандартні зразки антитіл до інсуліну. При значеннях ОГ більше за 10 Од/мл (це відповідає величинам $>0,320$ ОГ) такі сироватки вважалися позитивними.

На нашу думку, важливим моментом при опрацюванні методу було проведення експериментів, мета яких полягала у з'ясуванні можливості використання інсулінів різного походження та виробництва різних фірм для сенсibilізації твердої фази. Така робота може мати суто практичний інтерес, бо дозволяє, у разі потреби, замінити напівсинтетичний кристалічний інсулін людини фірми "Hoechst", для якого розроблено умови ІФА, на інший з таким же ефектом. Для цього були відібрані кристалічні інсуліни людини та свині, лікарські форми інсулінів: "Актрапід НМ", "Актрапід МС", "Ново Рапід", "Інсу-ман Рапід", "Моноінсулін МК", а також для порівняння – А21-монодезамідоінсулін. Відомості про фірми-виробники цих інсулінів надані в розділі "Матеріали і методи". Концентрація всіх інсулінів у сенсibilізуючому розчині – 10 мкг/мл. З даних, наведених у табл. 2, випливає, що при дослідженні одних і тих самих сироваток як здорових людей, так і хворих на ЦД, всі інсуліни, крім А21-монодезамідоінсуліну людини, проявляли практично однакову активність при визначенні антитіл до інсуліну. Незначні коливання у співвідношеннях ОГ/ГЗ для окремих зразків при взаємодії з різними інсулінами можна пояснити особливостями самих сироваток.

Відомо, що інсулін – полівалентний антиген, і антитілозв'язуючі ділянки його молекули містяться як на гідрофобній, так і на гідрофільній її частині [13]. Оскільки планшети типу "MaxiSorp" особливо активно адсорбують гідрофільні білки [14], найбільш вірогідною є іммобілізація інсуліну на твердій фазі за рахунок гідрофільної частини його молекули, сконцентрованої в районі В 30, яка зумовлює видові особливості цього гормону. Очевидно, відібрані інсуліни розташовуються таким чином, що їх антигенні детермінанти залишаються доступними для взаємодії з антиінсуліновими антитілами сироваток крові. Цим можна пояснити виявлені нами схожі антитілозв'язуючі властивості сорбованих на планшеті людських та свинячих інсулінів.

Незважаючи на деякі відмінності в постановці ІФА, аналогічні дані були одержані авторами роботи [15], які показали, що антитіла до інсуліну з сироваток крові хворих на ЦД однаково зв'язуються з інсулінами різних ссавців (людським, бичачим, свинячим, кінським, овечим), і тому для визначення видових особливостей антитіл необхідне використання методу конкурентного інгібування відповідними інсулінами. Однак треба зауважити, що навіть за умов одержання методами гібридомної технології моноклональних антитіл до різних ділянок інсуліну, питання про епітопну структуру молекули інсуліну залишається до кінця не вирішеним.

Особлива просторова орієнтація А21-монодезамідоінсуліну та наявність специфічних антигенних детермінант може пояснити отримані нами значно нижчі значення ОГ зразків сироваток в лунках, сенсibilізованих цим похідним інсуліну, у порівнянні з іншими інсулінами (табл. 2).

Таблиця 2. Результати визначення розробленою тест-системою вмісту антитіл до інсуліну у відібраних позитивних та негативних сироватках крові людей за умов сенсibilізації планшетів різними інсулінами

Сироватки	ІНСУЛІНИ									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
В-к	0,09	0,10	0,09	0,11	0,06	0,09	0,09	0,09	0,09	0,06
М-ко	0,11	0,09	0,08	0,06	0,10	0,08	0,12	0,12	0,51	0,06
7	0,05	0,05	0,05	0,11	1,13	0,03	0,09	0,10	0,08	0,04
46	0,55	0,66	0,61	0,63	0,53	0,48	0,53	0,60	0,50	0,33
449	0,17	0,23	0,24	0,14	0,21	0,25	0,19	0,19	0,16	0,10
470	0,19	0,16	0,21	0,16	0,21	0,20	0,18	0,21	0,16	0,13
79	0,23	0,22	0,24	0,18	0,25	0,21	0,25	0,33	0,28	0,11
102	1,63	1,43	1,60	1,24	1,70	1,52	1,36	1,67	1,82	0,27
151	3,32	3,08	3,35	2,99	2,95	3,45	4,02	3,15	4,30	1,03
171	2,93	2,96	2,86	2,99	3,02	4,33	3,93	3,25	3,95	1,07
423	2,63	1,86	2,05	1,71	2,24	2,81	2,90	2,87	1,66	0,62
506	1,23	1,23	1,37	1,30	1,22	1,91	1,85	1,71	1,37	0,38
554	6,74	5,96	6,76	5,45	5,64	7,34	6,88	7,57	8,53	2,57

Примітки:

а) результати виражені у співвідношенні ОГ/ГЗ, де ОГ – оптична густина проби, ГЗ – граничне значення в системі;

б) жирним шрифтом виділено позитивні за вмістом антитіл до інсуліну зразки сироваток;

в) інсуліни: 1 – біосинтетичний кристалічний інсулін людини (“Lilly”, США), 2 – біосинтетичний кристалічний інсулін людини (“Novo Nordisk”, Данія), 3 – напівсинтетичний кристалічний інсулін людини (“Hoechst”, Німеччина), 4 – препарат біосинтетичного інсуліну людини “Актрапід НМ” (“Novo Nordisk”), 5 – препарат напівсинтетичного інсуліну людини “Інсуман Рапід” (“Індар”, Україна), 6 – інсулін свинячий кристалічний (“Hoechst”), 7 – препарат свинячого інсуліну “Актрапід МС” (“Novo Nordisk”), 8 – препарат свинячого інсуліну “Моноінсулін МК” (“Індар”), 9 – аналог інсуліну людини “NovoRapid” (“Novo Nordisk”), 10 – кристалічний А21-монодезамідоінсулін людини (“Novo Nordisk”);

г) сироватки: В-к, М-ко, 7, 46 – здорових людей; 449, 470, 79 – хворих на ЦД (негативні за вмістом антитіл до інсуліну); 102, 151, 171, 423, 506, 554 – хворих на ЦД (позитивні за вмістом антитіл до інсуліну).

Розроблений метод ІФА був використаний для обстеження хворих на ЦД та донорів на вміст в їх сироватках крові антитіл до інсуліну (табл.3). Цими дослідженнями встановлено, що 22,7 % хворих на ЦД 1 типу і 6,25 % хворих

Таблиця 3. Характеристика осіб, обстежених на вміст антитіл до інсуліну у сироватці крові розробленим методом, та виявлення у них цих антитіл (%)

Групи людей	n	Середній вік (від і до), роки	Середня тривалість захворювання (від і до), роки	Співвідношення чоловіки/жінки	% осіб, позитивних на вміст антитіл до інсуліну
Донори	83	- (18-60)	-	-	1,2
Хворі на ЦД 1 типу	88	36,9±1,44 (13-68)	11,32±0,98 (0-34)	43/45	22,7
Хворі на ЦД 2 типу	80	60,36±1,17 (31-82)	11,98±1,06 (0-37)	27/53	6,25

Примітка: n – кількість осіб в групах.

на ЦД 2 типу мають антитіла до інсуліну. В останньому випадку всі пацієнти під час лікування одержували препарати інсуліну. В групі донорів зареєстрована тільки одна особа з 83 (тобто 1,2 %), в сироватці крові якої були знайдені ці антитіла. Характеризуючи в цілому обстежених хворих, необхідно відмітити значну (біля 11 років) тривалість захворювання у цих людей. З даних літератури відомо, що у хворих на ЦД спостерігається значна різниця у виявленні антиінсулінових антитіл не тільки серед різних вікових груп, але й в залежності від строку інсулінотерапії.

В нормі вміст антиінсулінових антитіл становить 1-5 % [6, 16]. Результати наших досліджень значною мірою збігаються з даними, наведеними в роботі [4], де засвідчено, що виявлення антиінсулінових антитіл при застосуванні імуноферментної комерційної системи "Isletest-IAA" фірми "Biomerika" (США) у хворих на ЦД 1 типу складає 25-28,5 %. Серед хворих на ЦД 2 типу знайдено 9 % осіб з антитілами до інсуліну, а в контрольній групі людей – тільки 2 %. В задачу подальшої роботи входить порівняння розробленої імуноферментної тест-системи ІФА-АТ-інс з аналогічними комерційними імуноферментними та радіоімунологічними.

Висновки

1. Розроблено умови проведення імуноферментного аналізу, за допомогою якого можна виявити антитіла до інсуліну у сироватках крові хворих на ЦД, а також здорових людей. Метод може бути використано для обстеження людей, які мають порушення вуглеводного обміну, або яких за генетичними ознаками відносять до груп ризику захворювання на ЦД.

2. Опрацьованою тест-системою ІФА-АТ-інс визначено вміст антиінсулінових антитіл у сироватках крові здорових людей і хворих на ЦД 1 та 2 типів. Результати цих досліджень співпадають з даними літератури.

Література

1. Verge C.F., Eisenbarth G.S. Natural history of autoimmunity in type I diabetes mellitus // *Diabetes Mellitus*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996, 287-298.
2. Жук Е.А. Впервые выявленный сахарный диабет 1 типа с позиции современной иммунологии // *Иммунология*. 1997, №2, 16-18.
3. Wichterle D., Stolba P., Bendlova B., Krnakova A. Anti-insulin antibodies and insulin resistance // *Uniter Lek.* 1995, 41, N 2, 146-150.
4. Lorini R., Alibardi A., Vitali L. et al. Risk of type 1 diabetes development in children with incidental hyperglycemia // *Diabetes Care*. 2001, 24, N 7, 1210-1216.
5. Мельниченко Г.А., Фадеев В.В. Аутоиммунный инсулиновый синдром как причина гипогликемических состояний // *Пробл. эндокринологии*. 1997, №4, 48-51.
6. Bingley K.Y., Bonifacio E., Gale E.A.M. Predicting type 1 diabetes // *The Diabetes Annual*, 1999, N 12, 1-20.
7. Зверева Я.С., Дубинкин И.В., Зилов А.В. и др. Иммунологические подходы к предикции инсулинзависимого сахарного диабета // *Пробл. эндокринологии*. 1999, №6, 3-6.
8. Руденко А.В., Кругликов В.Т. Имуноферментный анализ. 30 лет диагностической практики // *Лаб. диагностика*. 1999, №3, 11-20.
9. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот // М.: Наука, 1985. 536с.
10. Bradford M.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.
11. Галыбин А.А., Ермолин Г.А., Курмакова Л.В. Твердофазный имуноферментный метод количественного определения антител к инсулину // *Вопр. мед. химии*. 1986, 32, №3, 136-139.
12. Arakawa Tsutomu, Timasheff S.N. Stabilization of protein structure by sugars // *Biochemistry*. 1982, 21, 6536-6544.

13. Корпачев В.В. Инсулин и инсулинотерапия // К.: РИА "Триумф", 2001. 456 с.
14. Rowell V. Solid phase guide // Nunc A/S. 1999. 177 p.
15. Nell L.Y., Virta V.Y., Thomas Y.W. Application of a rapid enzyme-linked immunoabsorbent microassay (ELISA) to study human anti-insulin antibody // Diabetes. 1985, 34, 60-66.
16. Roll U., Ziegler A.-G. Combined antibody screening for improved prediction of IDDM – Modern strategies // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 1997, 105, 1-14.

Разработка метода иммуноферментного анализа для определения антител к инсулину в сыворотке крови здоровых людей и больных сахарным диабетом

В.В.Корпачев, С.В.Мельниченко, Р.Г.Лукашова, Н.В.Иванская¹, Г.Е.Раевская¹
Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев; ¹АТЗТ НПК ДиаПроф.Мед, 04123 Киев, Украина

Разработаны условия проведения твердофазного иммуноферментного определения антител к инсулину в сыворотке крови здоровых людей и больных сахарным диабетом (СД) 1 и 2 типа. Метод пригоден также для обследования людей с инсулинорезистентностью, спонтанной гипогликемией и для выявления групп риска заболевания СД. Определена оптимальная концентрация (10 мкг/мл) полусинтетического человеческого инсулина ("Hoechst", Германия) для сенсибилизации твердой фазы. В качестве вторичных антител использованы моноклональные антитела к иммуноглобулинам человека, конъюгированные с пероксидазой хрена. Фермент-субстратная смесь содержит ортофенилендиамин и перекись водорода в фосфат-цитратном буфере, pH 5,0. Показано, что 22,7 % больных СД 1 типа и 6,25 % больных СД 2 типа имеют антитела к инсулину. Для группы доноров эта величина составляла 1,2 %. На основе разработанного метода предполагается создание отечественной иммуноферментной тест-системы для обследования больных СД, получающих препараты инсулина, а также лиц, отнесенных к группе риска заболевания СД.

Ключевые слова: сахарный диабет, антиинсулиновые антитела, твердофазный иммуноферментный анализ.

Development of an immunoenzyme approach aimed for human serum anti-insulin antibodies detection in healthy persons and diabetic patients

V.V.Korpachov, S.V.Melnichenko, R.G.Lukashova, N.V.Ivans'ka¹, G.Ye.Rayevs'ka¹
V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology & Metabolism of AMS, 04114 Kyiv; ¹ Scientific Production Enterprise "DiaProph Med", 04123 Kyiv, Ukraine

The authors have developed an ELISA-based approach aimed for anti-insulin antibodies detection in human sera taken from healthy persons and patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. This approach may be also used for the investigations of persons with insulin resistance and spontaneous hypoglycemia as well as for the identifying groups with high risk of diabetes development. The effective concentration (10 mg/ml) of semi-synthetic human insulin ("Hoechst", Germany) necessary for solid phase sensitization was determined. Horse-radish peroxidase-conjugated antibodies against human immunoglobulins were used as secondary antibodies. Developer solution contains o-phenylendiamine and hydrogen peroxide in citrate-phosphate buffer, pH 5.0. Anti-insulin antibodies are found in patients with type 1 and type 2 diabetes (22.7 % and 6.25 % of patients, respectively). Taking the developed approach into consideration, the construction of an adequate Ukrainian ELISA-based test system becomes possible aimed for large-scale population screening to make prognosis of diabetes development and also for examination of diabetes patients being treated by insulin.

Keywords: diabetes mellitus, anti-insulin antibodies, ELISA.

(Надійшла 27.01.2003)

КЛІНІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРЕПАРАТУ ДІРОТОН (ЛІЗІНОПРИЛ) У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

А.В.Ковальчук*, В.В.Корпачов, І.О.Мосендз, Л.Г.Подрез

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

У статті викладені результати використання препарату інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту – діротону (лізіноприлу) ("Гедеон Ріхтер", Угорщина) у 29 хворих на цукровий діабет типу 1 і типу 2 з наявністю діабетичної нефропатії (у різних стадіях за класифікацією Mogensen) та з артеріальною гіпертензією і без неї. Метою дослідження було встановлення ефективності даного препарату у хворих на цукровий діабет, його толерантності, впливу на рівень артеріального тиску, показники мікроальбумінурії та протеїнурії. У всіх пацієнтів вимірювали артеріальний тиск у ранішні та вечірні години, досліджували протеїнурію, а за її відсутності – мікроальбумінурію як до, так і після лікування діротон (лізіноприлом).

Встановлена висока антигіпертензивна ефективність препарату діротон при лікуванні хворих на цукровий діабет з артеріальною гіпертензією і діабетичною нефропатією. Показане зниження рівня мікроальбумінурії у хворих з початковими проявами діабетичної нефропатії, зменшення рівня протеїнурії на тлі прийому діротону у хворих із стадіями нефропатії, які зайшли надто далеко. Засвідчена висока терапевтична ефективність діротону у поєднанні з низькою частотою виникнення і незначною вираженістю побічних реакцій, які зумовлені прийомом препарату.

Ключові слова: цукровий діабет типу 1 і типу 2, артеріальний тиск, артеріальна гіпертензія, протеїнурія, мікроальбумінурія, лікування, діротон (лізіноприл).

Поєднання цукрового діабету (ЦД) з артеріальною гіпертензією (АГ) нині є однією із найважливіших і найактуальніших проблем сучасної ендокринології. При цьому АГ представляє собою не тільки вагомий чинник ризику виникнення атеросклерозу, але й ускладнює перебіг діабетичних мікро- та макроангіопатій, які є причиною судинних катастроф, розвитку хронічної ниркової недостатності.

Біля 80 % хворих на ЦД типу 2, старших 60 років, мають артеріальний тиск (АТ) вищий 140/90 мм рт. ст. Смертність внаслідок серцево-судинних ускладнень у хворих на діабет вища, ніж у людей, що не страждають на ЦД при будь-якому рівні АТ [1]. Згідно з рекомендаціями Об'єднаного національного комітету США по контролю за АТ (VI перегляду 1997 року) при виявленні АГ, навіть з рівнем АТ 130-139/85-89 мм рт. ст., у поєднанні з ЦД одночасно з модифікацією способу життя повинна починатися медикаментозна терапія артеріальної гіпертензії [2].

У рекомендаціях ВООЗ стверджується, що наявність у хворих на артеріальну гіпертензію (незалежно від її ступеня) цукрового діабету, відносить їх до групи високого ризику, а при ускладненні діабетичною нефропатією – до групи дуже високого ризику [3].

Слід враховувати особливості артеріальної гіпертензії у хворих з різними типами цукрового діабету. Так, при ЦД типу 1 АГ найчастіше є наслідком діабетичної нефропатії, що проявляється підвищенням перш за все діастолічного АТ, а потім і систолічного. Зокрема, F.Collado-Mesa et al. [4] стверджу-

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

ють, що поширеність АГ серед пацієнтів з ЦД типу 1 і середньою тривалістю захворювання 14,7 років складала 24 %, що значно перевищує аналогічні показники у осіб такого ж віку, але без цукрового діабету. До того ж, тільки 11,3% хворих на ЦД типу 1 і АГ отримували адекватну антигіпертензивну терапію.

Діабетична нефропатія (ДН) і, як її наслідок – АГ, розвивається у 28-40 % пацієнтів з ЦД типу 1, і у 10% пацієнтів з ЦД типу 2 [5]. Першою ознакою діабетичної нефропатії є альбумінурія з наступним підвищенням АТ і зниженням швидкості клубочкової фільтрації. Причиною порушення структури і функції основних складових стінки судин нефронів служать метаболічні порушення і зміни внутрішньониркової гемодинаміки [6]. Мікроальбумінурія, будучи клінічним проявом початкової стадії діабетичної нефропатії, дозволяє прогнозувати підвищену вірогідність серцево-судинних ускладнень у даної категорії хворих. Можливим поясненням подібної асоціації вважають ендотеліальну дисфункцію, артеріальну гіпертонію, порушення ліпідного обміну, інсулінорезистентність [7].

У хворих на ЦД типу 2 артеріальна гіпертензія має переважно атеросклеротичний генез, що відповідно призводить до підвищення систолічного АТ, а також пульсового тиску. За даними М. Laakso [8], середні показники систолічного (САТ) і діастолічного (ДАТ) АТ, а також частота есенціальної артеріальної гіпертензії значно вищі у хворих на ЦД типу 2 і в осіб з порушеною толерантністю до вуглеводів у порівнянні з особами, які не страждають на це захворювання. Для ЦД типу 2 є характерним патогенетичний взаємозв'язок інсулінорезистентності і гіперінсулінемії у процесі виникнення АГ. При цьому найзначніша якраз резистентність до інсуліну, а не власне гіперінсулінемія [9]. У хворих похилого віку поєднання ізольованої систолічної гіпертензії і ЦД є прогностично несприятливим відносно зростання ризику смертності [10].

Основною метою антигіпертензивної терапії повинно бути зниження артеріального тиску до рівня, що дозволяє запобігати або сповільнювати ускладнення, які зумовлені взаємообтяжуючим впливом АГ і ЦД. Підбір антигіпертензивної терапії у хворих на ЦД має ряд специфічних особливостей. Препарат вибору повинен відповідати наступним вимогам:

- проявляти достатній (суттєвий) гіпотензивний ефект;
- мати, по можливості, органопротекторний вплив;
- справляти позитивний метаболічний вплив на організм або, принаймні, не посилювати обмінні порушення, притаманні ЦД.

Пожвавлені дискусії з питання про можливі переваги того чи іншого класу антигіпертензивних засобів розв'язуються при одержанні результатів порівняльних клінічних досліджень. Їх підсумок дозволяє стверджувати, що у хворих на ЦД препаратами вибору є інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ), що мають найвираженіший ренопротекторний вплив серед антигіпертензивних препаратів. Механізми впливу інгібіторів АПФ:

- поліпшення внутрішньониркової гемодинаміки, що сприяє уповільненню прогресування дисфункції нирок [7];
- зменшення проникності клітинних мембран;
- суттєве зменшення протеїнурії у хворих з ДН і АГ, а також за відсутності АГ [11];
- усунення або применшення мітогенної дії ангіотензину II, що сповільнює прогресування структурних змін у нирках.

Матеріали і методи дослідження

У відділенні клінічної фармакології знаходились на стаціонарному лікуванні 29 хворих на цукровий діабет типу 1 і типу 2, яким призначали діротор ("Гедеон Ріхтер", Угорщина). Із них було 14 чоловіків і 15 жінок віком від 17 до 72 років (середній вік

– $46,03 \pm 2,94$ років). У 14 пацієнтів індекс маси тіла (ІМТ) коливався від 27 до 41 кг/м², у решті хворих маса тіла була нормальною (ІМТ – до 26,5 кг/м²). Із 29 пацієнтів, які були включені у дослідження, 15 складали особи з ЦД типу 1, 14 – ЦД типу 2.

Перед початком дослідження 20 пацієнтів знаходилися у стані декомпенсації ЦД, решта – в стані субкомпенсації вуглеводного обміну.

Основні критерії включення хворих в дослідну групу:

- наявність протеїнурії (діабетична нефропатія IV ст. за класифікацією Mogensen);
- за відсутності протеїнурії – наявність мікроальбумінурії (III ст. діабетичної нефропатії за Mogensen);

- артеріальна гіпертензія різного генезу (есенціальна гіпертонія або симптоматична гіпертензія на тлі діабетичної нефропатії).

У 14 пацієнтів, які включені в дослідження, мала місце тільки діабетична нефропатія без ознак артеріальної гіпертензії.

У 15 пацієнтів була діагностована артеріальна гіпертензія різного генезу. Цю групу складали, в основному, пацієнти з 2 типом діабету, старші 50 років. Тільки у 3 пацієнтів із цієї підгрупи артеріальна гіпертензія розвинулась за наявності цукрового діабету і може бути розцінена як вторинна (нефрогенна), і як результат прогресування атеросклерозу на тлі діабету. У 12 хворих це була гіпертонічна хвороба, яка спостерігалася тривалий час в анамнезі ще задовго до розвитку цукрового діабету.

Супутня патологія була такою: ІХС, кардіосклероз атеросклеротичний, атеросклероз аорти і коронарних судин (11 пацієнтів), хронічний пієлонефрит (5 пацієнтів).

Всі хворі отримували адекватну цукрознижувальну, ангіопротекторну терапію і, при необхідності, додаткову антигіпертензивну. Діротон (лізіноприл) був складовим компонентом комплексної терапії у стаціонарі. Курс лікування діртоном продовжувався 6 тиж. Доза препарату підбиралася індивідуально. У пацієнтів без ознак АГ діротон призначався в дозі 2,5-5 мг 1 раз на добу (вранці або на ніч). Пацієнтам з вираженою АГ призначалася доза 10-15-20 мг в 2 прийоми, в разі необхідності здійснювалася корекція дози в процесі лікування. 8 пацієнтів отримували комбіновану гіпотензивну терапію із-за наявності супутньої патології (в основному, ІХС) і тривалої стійкої гіпертензії. Ця терапія включала:

- β-блокатори (атенолол, метапролол);
- сечогінні (фуросемід, гіпотіазид);
- антагоністи кальцієвих каналів (фенігидин, корінфар, діакордин).

Всім хворим виконувались загальноклінічні дослідження. Мікроальбумінурія визначалася за допомогою реактиву KONE (Фінляндія), протеїнурія – методом Брандберга-Робертса-Стольнікова.

Лабораторні і фізикальні показники статистично оброблялися з використанням критерію t Стюдента і визначенням показника вірогідності різниць (P) парним методом за допомогою програми Oridgen на ПК. Різниця показників вважалась вірогідною при $P < 0,05$. Обстеження хворих здійснювалося перед початком і після закінчення курсу лікування (6 тиж).

Результати та їх обговорення

У результаті проведених досліджень встановлене вірогідне зниження рівня систолічного і діастолічного артеріального тиску до нормальних величин у хворих на цукровий діабет і артеріальну гіпертензію, які отримують діротон (лізіноприл) виробництва “Гедеон Ріхтер” в адекватній дозі (табл. 1). Крім того, вдалося досягнути зниження середнього САТ і ДАТ до рівня, який рекомендує ВООЗ хворим на цукровий діабет. Так, за результатами дослідження НОТ були визначені оптимальні величини АТ, що дозволяють запобігати роз-

Таблиця 1. Динаміка показників АТ в усіх хворих на ЦД, які приймали діротон (n=29)

Артеріальний тиск	Статист. показники	До лікування	Після лікування
САТ, мм рт. ст.	$M \pm m$ P	$142,76 \pm 5,27$	$120,86 \pm 3,58$ <0,001
ДАТ, мм рт. ст.	$M \pm m$ P	$84,31 \pm 2,10$	$76,38 \pm 1,87$ <0,001

Примітка. Тут і в табл. 2 та 3: P – вірогідність різниці до і після лікування.

витку серцево-судинної патології. Зокрема, величини САТ склали 139 мм рт. ст., ДАТ – 82,6 мм рт. ст. [12].

При аналізі рівня артеріального тиску в залежності від часу доби також зафіксовано вірогідне зниження рівня як САТ, так і ДАТ (табл. 2). Важливо, що прийом діротону (лізіноприлу) дозволив не тільки стабілізувати артеріальний тиск протягом доби на необхідному рівні, але і сприяв досягненню вранішнього антигіпертензивного ефекту. Такий позитивний результат, безумовно, зменшує ризик серцево-судинних ускладнень в передранішні і вранішні “критичні” години доби.

Таблиця 2. Динаміка показників АТ протягом доби в усіх хворих на ЦД, які приймали діротон (n=29)

Артеріальний тиск	Статист. показники	До лікування	Після лікування
САТ вранці, мм рт. ст.	M±m P	141,38±5,19	121,90±3,72 <0,05
ДАТ вранці, мм рт. ст.	M±m P	83,79±2,17	76,03±1,9 <0,05
САД ввечері, мм рт. ст.	M±m P	134,14±5,05	116,90±3,48 <0,05
ДАД ввечері, мм рт. ст.	M±m P	79,48±2,38	72,76±1,87 <0,05

Мікроальбумінурія, як відмічалось вище, у хворих на ЦД має подвійний характер. З одного боку, вона є початковою стадією розвитку ДН, при якій своєчасне терапевтичне втручання призначенням препаратів інгібіторів АПФ дозволить уповільнювати, а в деяких випадках і запобігати розвитку хронічної ниркової недостатності. З другого боку, симптом мікроальбумінурії є чинником ризику кардіоваскулярних ускладнень у хворих на ЦД. Дане твердження базується на думці про мікроальбумінурію як про маркера ендотеліальної дисфункції [7]. Отже, особливо важливим є призначення інгібіторів АПФ на ранніх (доклінічних) стадіях ДН – стадії мікроальбумінурії, коли може бути реалізована можливість ефективного уповільнення патологічного процесу і, в кінцевому підсумку, збільшення тривалості і якості життя хворих на ЦД як типу 1, так і типу 2.

У процесі нашого дослідження був підтверджений ефективний ренопротекторний вплив діротону (лізіноприлу). Одержані дані відображають високо-вірогідне зниження рівня мікроальбумінурії від початкового $238,12 \pm 64,25$ мг/л до $62,92 \pm 17,46$ мг/л ($P < 0,01$) в цілому по групі (табл. 3).

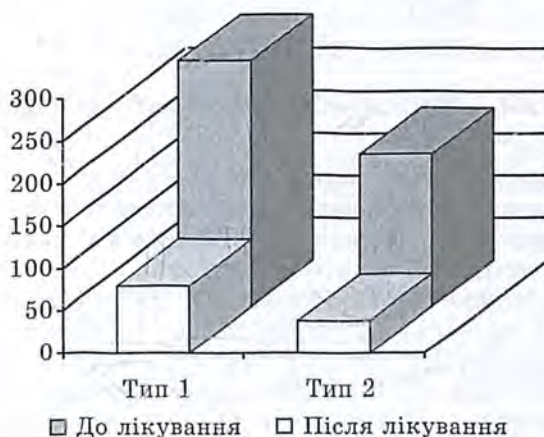
Нааявну мікроальбумінурію мали 9 хворих (ЦД типу 1 – 5 осіб, ЦД типу 2

Таблиця 3. Основні показники мікроальбумінурії та протеїнурії в усіх хворих до і після лікування препаратом діротон (n=29)

Екскреція білка	Статист. показники	До лікування	Після лікування
Мікроальбумінурія, мг/л	M±m n P	238,12±64,25 9	62,92±17,46 9 <0,01
Протеїнурія, г/л	M±m n P	0,179±0,08 20	0,066±0,02 20 <0,1

– 4 особи). Відносно невелика кількість пацієнтів з наявністю мікроальбумінурії (31 % від загальної кількості хворих) пояснюється вираженими діабетичними ускладненнями у обстежуваних пацієнтів. До того ж, серед пацієнтів з ЦД типу 1 цей показник все ж таки вищий і складає 35 % від числа хворих на ЦД типу 1, а у групі хворих на ЦД типу 2 він дорівнює 26,7 % від усіх хворих на ЦД типу 2, які брали участь в даному дослідженні. Ці відсоткові показники ще раз підтверджують необхідність більш ранньої діагностики ЦД, особливо типу 2, а також його ускладнень. Спостереження за хворими на ЦД типу 1 в динаміці дає можливість виявити початкові прояви діабетичної нефропатії своєчасно, тобто на стадії мікроальбумінурії і розпочати адекватну терапію препаратами інгібіторів АПФ для запобігання прогресування ДН.

Наші дослідження в підгрупі хворих на ЦД типу 1 з мікроальбумінурією показали тенденцію до зниження її рівня з $290,38 \pm 120,38$ мг/л до $79,28 \pm 33,42$ мг/л ($P=0,07$) (мал. 1). Нормалізації показника мікроальбумінурії в цій групі хворих нам досягти не вдалося у зв'язку з тим, що середній рівень мікроальбумінурії у цих хворих наближався до протеїнурії, тобто мала місце III стадія ДН (за класифікацією Mogensen) на межі переходу до IV стадії (за цією ж класифікацією), а також тому, що лікування було нетривалим (6 тиж).



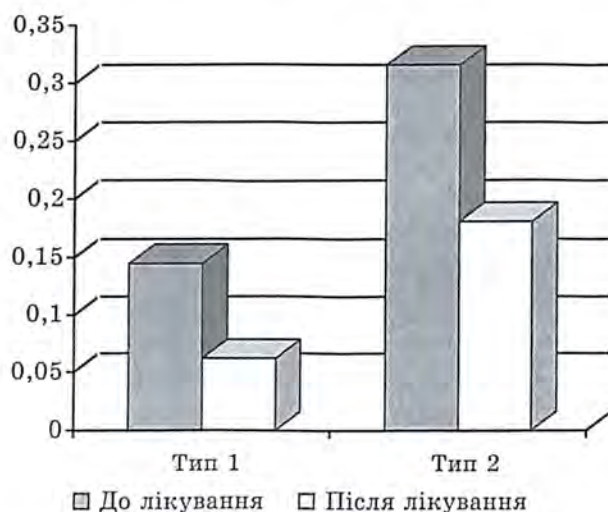
Мал.1. Динаміка мікроальбумінурії (мг/л) у хворих на діабет в процесі лікування препаратом діротон.

У хворих на ЦД типу 2 ($n=4$) відмічена тенденція до зниження рівня мікроальбумінурії з $180,33 \pm 66,52$ мг/л до практично нормальних величин – $38,55 \pm 7,89$ мг/л ($P=0,049$) (мал. 1).

Щодо зниження рівня протеїнурії, то ефект тут був меншим. Але виявлена позитивна тенденція ($P=0,07$) до зменшення протеїнурії в цілому у хворих ($n=29$), які приймали діротон (табл. 3). Отримані результати зменшення вираженості протеїнурії в процесі лікування свідчать про ефективний вплив діротону (лізіноприлу) навіть у хворих з досить грубим ушкодженням ниркової паренхіми, наслідком якої стала протеїнурія.

При вивченні динаміки даного показника по підгрупах виявлена наступна закономірність. Первісний рівень протеїнурії у підгрупі хворих на ЦД типу 2 ($n=11$) був вищим, ніж у підгрупі хворих на ЦД типу 1 ($n=9$). В процесі лікування діротонном у підгрупі пацієнтів з ЦД типу 2 вірогідних змін не виявлено, імовірно всього із-за вираженості ураження нирок як внаслідок діабетичної нефропатії, так і ренальних ускладнень гіпертонічного генезу. У підгрупі па-

цієнтів з ЦД типу 1 з вираженою протеїнурією (IV стадія за класифікацією Mogensen) в процесі лікування діротоном спостерігалися вірогідні зміни рівня білка в сечі з $0,145 \pm 0,036$ г/л до $0,062 \pm 0,029$ г/л ($P < 0,01$) (мал. 2). Слід підкреслити, що позитивний ренопротекторний вплив діротоноу (лізіноприлу) у хворих на ЦД супроводжувався ефективним антигіпертензивним ефектом.



Мал. 2 Динаміка протеїнурії у хворих на ЦД при лікуванні препаратом діротоном

Свідченням впливу діротоноу (лізіноприлу) на судини дрібного калібру є дослідження N. Chaturvedi і співавторів [13], які встановили, що органопротекторний ефект лізіноприлу проявляється в зниженні ризику прогресування регіонопатії у хворих на ЦД.

За даними проспективного контрольованого довготривалого дослідження у хворих на ЦД і ДН з нормальним рівнем АТ встановлено, що використання інгібіторів АПФ сприяє зменшенню альбумінурії [14]. Це доказує ефективність препаратів інгібіторів АПФ в дозах, що не впливають на рівень АТ, в якості ренопротекторних засобів і свідчить про специфічну дію інгібіторів АПФ на ниркову гемодинаміку і мікроциркуляцію.

В процесі застосування препарату діротоном (лізіноприл) у деяких хворих ($n=3$) зафіксований прояв так званого „ефекту першої дози”, тобто, значне зниження рівня АТ після первинного (1-2 рази) прийому діротоноу з наступним вирівнюванням показників АТ до бажаних при подальшому використанні препарату. У 1 пацієнтки було зафіксовано появу непродуктивного кашлю, що поступово зник при дальшому прийомі препарату. Проте виявлені побічні дії ніякою мірою не зменшують терапевтичну ефективність препарату діротоном і доцільність його широкого застосування у хворих на цукровий діабет.

Таким чином, одержані результати, що підтверджуються даними наукових публікацій, обґрунтовують доцільність широкого використання інгібіторів АПФ, зокрема, діротоноу (лізіноприлу) виробництва “Гедеон Ріхтер” (Угорщина) в лікуванні хворих на цукровий діабет. Використання діротоноу (лізіноприлу) справляє сприятливий вплив на перебіг діабетичної нефропатії, знижує ризик серцево-судинних ускладнень у хворих на ЦД, чим поліпшує клінічний перебіг захворювання і прогноз тривалості життя.

Література

1. Арабидзе Г.Г., Белоусов Ю.Б., Карпов Ю.А. Артериальная гипертония. М.: Ремедиум, 1999. 139 с.
2. The Sixth Report of the Joint National Committee on Prevention Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. USA N/H Publication, N 98-4080, November 1997.
3. World Health Organization – International Society of Hypertension guidelines for the management of hypertension // J. Hypertension. 1999, 17, 151-183.
4. Collado-Mesa F., Colhoun H.M., Stevens L.K. et al. Prevalence and management of hypertension in type 1 diabetes mellitus in Europe: EURODIAB IDDM Complications Study // Diabet. Med. 1999, 16, 41-48.
5. McPhu S.I., Lingappa V.R., Ganong W.F. et al. Pathophysiology of disease. New York: Lange, 1995. 388 p.
6. Sovers J. Systemic hypertension, diabetes and kidney // J. Amer. Soc. Nephrology. 1990, 1, 139-147.
7. Cooper M., Pathogenesis, prevention and treatment of diabetic nephropathy // Lancet. 1998, 352, 213-219.
8. Laakso M. Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes // Diabetes. 1999, 48, 937-942.
9. Anderson E., Hoffman R. Renoprotective role of ACE inhibitors in diabetic nephropathy // J. Clin. Invest. 1991, 87, 2246-2252.
10. Staessen I.A., Thijs L., Fagard R. H. et al. For the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) Trial Investigators. Calcium channel blockade and cardiovascular prognosis in the European trial on isolated Systolic Hypertension // J. Hypertension. 1998, 32, 410-416.
11. Remuzzi G., Ruggenenti P., Benigni A. Understanding the nature of renal disease progression // Kidney Int. 1997, 51, 2-15.
12. Hansson L., Zanchetti A., Carruthers S.G. et al. Effects of intensive blood pressure lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension: principal results of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomized trial // Lancet. 1998, 351, 1755-1763.
13. Chaturvedi N., Sjolie A.K., Stephenson I. M. et al. Effect of lisinopril in progression of retinopathy in normotensive people with type 1 diabetes. EURODIAB controlled trial of lisinopril in insulin-dependent diabetes mellitus // Lancet. 1998, 351, 28-31.
14. Parving H.U., Hommel E.N., Nielsen M.D. et al. Effect of captopril on blood pressure and kidney function in normotensive insulin-dependent diabetes with nephropathy // Brit. Med. J. 1989, 299, 533-536.

Клиническая эффективность препарата диротон (лизиноприл) у больных сахарным диабетом

А.В. Ковальчук, В.В. Корпачев, И.А. Мосендз, Л.Г. Подрез

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

В статье изложены результаты применения препарата ингибитора ангиотензинпревращающего фермента – диротона (лизиноприла) (“Гедеон Рихтер”, Венгрия) у 29 больных сахарным диабетом типа 1 и типа 2 с наличием диабетической нефропатии (в различных стадиях по классификации Mogensen), с артериальной гипертензией и без неё. Целью исследования являлось установление эффективности данного препарата у больных сахарным диабетом, его переносимости, влияния на уровень артериального давления (АД), показатели микроальбуминурии и протеинурии. У всех пациентов проводилось измерение АД в утренние и вечерние часы, исследование протеинурии, а при отсутствии таковой – микроальбуминурии как до, так и после лечения диротоном (лизиноприлом). Установлена высокая антигипертензивная эффективность препарата диротон при лечении больных сахарным диабетом с артериальной гипертензией и диабетической нефропатией. Показано снижение уровня микроальбуминурии у больных с начальными проявлениями диабетической нефропатии, уменьшение уровня протеинурии у больных с далекозашедшими стадиями нефропатии. Показана высокая терапевтическая эффективность диротона, сочетающаяся с низкой частотой возникновения и незначительной выраженностью побочных реакций, вызванных приемом препарата.

Ключевые слова: сахарный диабет типа 1 и типа 2, артериальное давление, артериальная гипертензия, протеинурия, микроальбуминурия, лечение, диротон (лизиноприл).

Clinical effect of the preparation Dirotone (lisinopril) in patients with diabetes mellitus
A.V. Kovalchuk, V. V. Korpachev, I. A. Mocends, L.G. Podrez
V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 04114 Kyiv, Ukraine

The results of using a preparation of ACE inhibitor - Dirotone (*lisinopril*) (*Gedeon Richter, Hungary*) in 29 patients with type 1 and type 2 *diabetes mellitus* and the presence of diabetic nephropathy (at various stages according to the classification of Mogensen) with arterial hypertension and without it are presented. The purpose of the research was to establish the efficiency of the given preparation in patients with diabetes mellitus, its tolerance, effect on the arterial pressure, on parameters of microalbuminuria and proteinuria. The measurement of morning and evening AP, examination of proteinuria and in its absence – microalbuminuria before and after Dirotone (*lisinopril*) treatment were performed in all patients.

The high antihypertensive efficiency of the preparation Dirotone in treating patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus, arterial hypertension and diabetic nephropathy was established. The decrease in the level of proteinuria in patients with initial manifestation of diabetic nephropathy, the level of proteinuria, microalbuminuria under Dirotone (*lisinopril*) reception in patients with the initial stages of diabetic nephropathy were shown. The high therapeutic efficiency of Dirotone (*lisinopril*), combined with low frequency of insignificant manifestation of adverse reactions caused by the preparation was demonstrated.

Key words: type 1 and type 2 diabetes mellitus, blood pressure, arterial hypertension, microalbuminuria, proteinuria, treatment, dirotone (*lisinopril*).

(Надійшла 27.09.2002)

ПОКАЗНИКИ КАЛЬЦІЄВОГО БАЛАНСУ ТА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ НА ПЕРВИННУ ХРОНІЧНУ НЕДОСТАТНІСТЬ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ

В.А. Олійник, В.В. Поворознюк¹, Г.М. Терехова*

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

Досліджували структурно-функціональний стан кісткової тканини та показники кальцієвого балансу у хворих на первинну хронічну надниркову недостатність (ПХНН). Отримані результати свідчать, що в осіб з ПХНН виникають структурно-функціональні зміни кісткової тканини, які можуть бути охарактеризовані як остеопенія та остеопороз. Системна остеопенія формується вже на початку захворювання. Серед можливих причин виявлених змін у обстежених жінок слід виділити порушення абсорбції кальцію та його втрату у зв'язку з наявністю проносів, що супроводжують декомпенсацію захворювання. Зниження абсорбції кальцію у кишковокику та його втрата з кишковими масами призводять до виникнення вторинного гіперпаратиреозу. Слід зазначити, що за призначення замісної терапії препаратами глюкокортикоїдів виникає гіперкальціурія, яка є більш виразною у пацієнтів, які отримують преднізолон. У пацієнтів цієї групи також відмічено зниження рівня загального кальцію крові. Серед інших причин виникнення кісткових змін у хворих на ПХНН слід зазначити зниження секреції естрогенів із порушенням статевої функції та руйнування кісткового колагену, про що свідчить підвищення екскреції оксипроліну з сечею. Для діагностики змін стану кісткової тканини у хворих на ПХНН доцільно використовувати як рентгенологічні дослідження, так і остеоденситометрію.

Ключові слова: первинна хронічна надниркова недостатність, остеопенія, остеопороз, діагностика, лікування.

Термін "недостатність надниркових залоз" об'єднує хвороби, які спричинені гіпофункцією їх кори. Доволі різноманітні клінічні прояви цих патологічних станів обумовлені суттєвими змінами обміну речовин, що виникають внаслідок значного зниження секреції глюкокортикоїдів (та/або, значно рідше, мінералокортикоїдів) у надниркових залозах. Хронічна надниркова недостатність (хвороба Аддісона) є наслідком первинного ушкодження більше 90 % клітин коркового шару наднирників, при якому виникає значний дефіцит глюкокортикоїдних (та/або мінералокортикоїдних) гормонів у крові хворих. Серед причин, які призводять до розвитку первинної хронічної недостатності надниркових залоз, слід зазначити наступні [1, 2]:

- ідіопатична атрофія наднирників (автоімунне ураження);
- гранулематози: туберкульоз, гістоплазмоз, саркоїдоз;
- пухлини надниркових залоз або метастази у наднирники;
- гемохроматоз;
- амілоїдоз;
- двобічна адреналектомія.

Деструкція та наступна атрофія коркового шару надниркових залоз викликає складні та різнобічні порушення обмінних процесів і зміни у функціональній активності багатьох систем і органів, серед яких переважають змі-

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

ни серцево-судинної і нервової систем, розлади з боку органів травлення, порушення водно-сольового обміну, виразний катаболізм білків [3]. Метаболічні процеси, що проходять у кістковій тканині, як і її ремоделювання, значною мірою визначаються функціональним станом гормональних систем, тому порушення, що виникають при хворобі Аддісона, можуть обумовлювати розвиток системної остеопенії та остеопорозу. Саме хвороба Аддісона вказується як можлива причина розвитку вторинного ендокринного остеопорозу [4, 6]. Разом з тим, порушення обміну кальцію та стан кісткової системи у хворих на ПХНН на сьогодні є найменш вивченими. Нечисленні дослідження, які присвячені цій проблемі, представляють доволі суперечливі результати. Так, в окремих роботах [5, 6] показана залежність ступеня втрати кісткової маси від віку хворих та тривалості захворювання. Поодинокі дослідження, у яких аналіз стану кісткової системи робили у невеликих групах хворих, не виявили її змін [7].

У дослідженні В.В.Фадєєва та співавт. [8] показано, що системна остеопенія розвивається однаково часто у чоловіків та жінок, хворих на хронічну надниркову недостатність. Вірогідним чинником, який призводить до розвитку остеопенії у жінок з цією патологією, автори вважають тривалість менопаузи.

Таким чином, аналіз даних літератури свідчить, що патофізіологічні механізми розвитку порушень кальцієвого балансу, як і формування остеопенії і остеопорозу, при хворобі Аддісона до кінця нез'ясовані та потребують подальшого вивчення.

Мета дослідження – вивчити особливості змін кальцієвого балансу та структурно-функціональний стан кісткової тканини у хворих на первинну хронічну недостатність надниркових залоз (хвороба Аддісона).

Матеріали та методи дослідження

Здійснено комплексне обстеження 20 жінок, хворих на хронічну надниркову недостатність, віком 30-54 роки, з тривалістю захворювання від 6 міс до 5 років. У всіх жінок менструальний цикл був відсутнім (до початку захворювання у всіх обстежених жінок були наявні регулярні менструальні цикли). Обстежені хворі були розділені на три групи :

1 група – 5 жінок із вперше виявленою хронічною наднирковою недостатністю; до обстеження хворі замісної гормонотерапії не отримували.

2 група – 7 жінок із захворюванням середньої тяжкості у стані медикаментозної компенсації, які отримували лікування кортизона ацетатом у середньодобовому дозуванні 0,05 г.

3 група – 8 жінок із захворюванням середньої тяжкості у стані медикаментозної компенсації, що отримували преднізолон у середньодобовому дозуванні 0,015 г.

Усі обстежені жінки не отримували лікування препаратами остеотропної дії.

У контрольну групу увійшли 15 соматично здорових жінок аналогічного віку.

Комплексне клінічне обстеження хворих включало ендокринологічне та ортопедичне дослідження стану пацієнтів, анкетування для з'ясування наявності переломів кісток в анамнезі та уточнення характеру больового синдрому. Під час обстеження звертали увагу на те, чи немає у хворих патології органів травлення, нирок та порушень менструального циклу (усі хворі жінки проходили гінекологічний огляд). Під час обстеження хворі перебували за умов стаціонарного харчування із споживанням кальцію відповідно до вікових фізіологічних нормативів (1000 – 1200 мг кальцію на добу).

Обстеження виконували після отримання згоди пацієнтів.

Біохімічні дослідження здійснювали за загальноприйнятими методиками [9]. Визначали вміст загального та іонізованого кальцію у крові та рівень добової кальциурії. Вивчалася екскреція за сечею за добу сумарних 17-оксикортикостероїдів (17-ОКС) [10], сумарних 11-оксикортикостероїдів (11-ОКС) [11] та сумарних естрогенів [12] у фолікулярну фазу менструального циклу.

Визначали рівень екскреції оксипроліну (ОПР) з сечею за добу у відношенні до екскреції креатиніну (мкмоль/ммоль креатиніну), що допомагає оцінювати стан кісткової резорбції [13].

Виконувалося рентгенологічне дослідження аксіального та периферичного скелету з метою визначення стану кісткової тканини. На підставі вивчення рентгенограм попе-

рекового відділу хребта у бічній проекції обчислювали індекс деформації хребців, а на основі рентгенморфометрії 2-ї метакарпальної кістки розраховували метакарпальний індекс, запропонований Barnet та Nordin [14].

Діагностику остеопорозу, структурно-функціональний стан кісткової тканини (еластичність, щільність, якість кістки, її міцність) вивчали за допомогою ультразвукового денситометра "Achilles +", (фірми "Lunar Corp.", США, 1995 р.). Реєстрували швидкість проходження ультразвуку по кісткових структурах п'ятки [15].

Визначали такі ультразвукові параметри :

- швидкість поширення ультразвуку (ШПУ), тобто швидкість проходження ультразвуку крізь кістку; виражається у м/с, залежить від еластичності та щільності кістки;
- широкосмугове ослаблення ультразвуку (ШОУ) – показник, що характеризує втрату інтенсивності ультразвуку у середовищі його поширення; виражається у дБ/МГц і відображає не тільки кісткову щільність, але й кількість, розміри та просторову орієнтацію трабекулярної кісткової тканини;

- індекс міцності кісткової тканини (ІМ, %), який вираховується на підставі значень показників ШПУ та ШОУ і відображає стан губчастої кісткової тканини обстежуваного стосовно категорії дорослих людей у віці 20 років.

Результати опрацьовували за методом варіаційної статистики з обчисленням t-критерію Стюдента. Статистично значущою вважали різницю показників при $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

При клінічному обстеженні у всіх хворих виявлялися окремі клінічні ознаки гіпокортицизму: гіперпигментація шкіри, транзиторне зниження артеріального тиску у ранкові години, зниження м'язової сили; у 11 жінок відмічені болі у ділянці серця (при електрокардіографії виявлено виразні дистрофічні зміни міокарда). У всіх хворих 1 групи визначалося зниження маси тіла протягом попереднього року (у середньому на 6-10 кг), мали місце скарги на нудоту, блювоту, часті рідкі випорожнення кишечника.

Усі обстежені жінки пред'являли скарги на наявність болів у кістках (переважна більшість хворих локалізувала болі у поперековому відділі хребта), швидку втомлюваність протягом дня. За вербальною ранговою шкалою вираженість больового синдрому оцінювалася як середня у 6, як інтенсивна – у 14 хворих.

Ортопедичне обстеження хворих дозволило охарактеризувати болі у хребті як дорсалгії у 10, як люмбалгії – у 10 жінок. У 5 хворих в анамнезі мали місце переломи Колліса, у інших хворих переломів не було.

Під час вивчення гормональних показників у жінок 1 групи визначалося вірогідне зниження рівнів екскреції 11-ОКС та 17-ОКС з сечею за добу ($P < 0,05$). Разом з тим, не виявлено змін цих показників у хворих 2 та 3 груп у порівнянні із пацієнтами контрольної групи ($P > 0,1$), що свідчило про компенсацію ПХНН у цих жінок (табл. 1). При аналізі індивідуальних даних екскреції 11-ОКС та 17-ОКС з сечею у жінок 2 та 3 груп звертають на себе увагу більш

Таблиця 1. Гормональні показники у хворих на первинну хронічну надниркову недостатність ($M \pm m$)

Групи обстежених	Екскреція 17-ОКС з сечею, мкмоль/добу	Екскреція 11-ОКС з сечею, мкмоль/добу
Хворі 1 групи, n=5	4,9±0,03	0,08±1,02
P	<0,05	<0,05
Хворі 2 групи, n=7	15,1±0,2	0,65±0,8
P	>0,1	>0,1
Хворі 3 групи, n=8	17,2±1,02	0,84±0,2
P	>0,1	>0,1
Контрольна група, n=15	14,1±0,92	0,78±0,05

Примітка. P – вірогідність відмінностей показників обстежених у порівнянні з контрольною групою.

високі значення цих показників у хворих обох груп у порівнянні із контрольною та 1 групою обстежених.

Виявлено зниження добової екскреції сумарних естрогенів з сечею ($90,3 \pm 1,02$ нмоль/добу – у 1 групі; $74,6 \pm 1,18$ нмоль/добу – у 2 групі; $63,2 \pm 2,08$ нмоль/добу – у 3 групі хворих; у контрольній – $102,3 \pm 5,16$ нмоль/добу, $P < 0,05$). Звертають на себе увагу нижчі значення екскреції естрогенів з сечею у жінок 2 та 3 груп, у порівнянні із 1 групою обстежених та контролем. При цьому менструальні цикли були відсутніми у жінок усіх груп. Такі дані можуть бути пояснені більшою тривалістю захворювання у осіб 2 та 3 груп. Отримані дані дозволяють зробити припущення про можливість формування синдрому передчасного виснаження яєчників у жінок, хворих на ПХНН. Такі зміни можуть бути додатковими чинниками формування структурних порушень у скелеті хворих на ПХНН, крім основних можливих патогенетичних механізмів розвитку метаболічних змін у кістках (порушення мінерального обміну, катаболізм білків кісткової тканини, дисбаланс процесів кісткового ремоделювання).

Важливою складовою ураження кісткової тканини є порушення балансу кальцію. Аналіз показників кальцієвого балансу (дані наведено у табл. 2) виявив зниження рівнів загального та іонізованого кальцію крові у пацієнтів 3 групи у порівнянні із показниками здорових ($P < 0,05$). У жінок 2 групи відмічено вірогідне зниження рівня іонізованого кальцію крові відносно показників контрольної групи ($P < 0,05$). Разом з тим, визначалася виразна гіперкальциурія у жінок цих груп ($P < 0,05$). У групі хворих з вперше виявленою ПХНН вірогідних змін рівня кальцію крові та кальциурії не виявлено, однак при аналізі індивідуальних показників іонізованого кальцію крові у пацієнтів цієї групи у 3 осіб визначалися рівні, нижчі за нормативні, що може бути пов'язано з декомпенсацією захворювання та наявністю блювоти і проносів.

Досліджено рівень екскреції метаболіту колагену оксипроліну з сечею за добу по відношенню до екскреції креатиніну (табл. 2). Показано, що у всіх хворих 2 та 3 груп має місце збільшення показників екскреції цього маркера кісткової резорбції ($P < 0,05$). Виявлене вірогідне збільшення екскреції оксипроліну у 3 групі хворих ($P < 0,05$). Отримані дані дозволяють припустити, що у хворих на ПХНН

Таблиця 2. Показники кальцієвого балансу та екскреції оксипроліну з сечею у хворих на первинну хронічну ниркову недостатність ($M \pm m$)

Групи обстежених	Загальний кальцій крові, ммоль/л	Іонізований кальцій крові, ммоль/л	Екскреція кальцію з сечею, ммоль/добу	Загальний оксипролін сечі, мкмоль/ммоль креатиніну
Хворі 1 групи, n=5	$2,27 \pm 0,09$	$0,99 \pm 1,03$	$11,22 \pm 0,68$	$4,9 \pm 1,81$
P	$>0,1$	$>0,1$	$>0,1$	$>0,1$
Хворі 2 групи, n=7	$2,43 \pm 0,16$	$0,95 \pm 0,06$	$15,4 \pm 1,04$	$8,1 \pm 1,2$
P	$>0,1$	$<0,05$	$<0,05$	$<0,05$
Хворі 3 групи, n=8	$1,93 \pm 0,05$	$0,87 \pm 0,03$	$18,7 \pm 0,92$	$12,3 \pm 2,2$
P	$<0,05$	$<0,05$	$<0,05$	$<0,05$
P'	$<0,05$	$>0,1$	$<0,05$	$<0,05$
Контрольна група, n=15	$2,23 \pm 0,03$	$1,12 \pm 0,02$	$12,0 \pm 2,10$	$3,6 \pm 0,24$

Примітка. У табл. 2 і 3: P – вірогідність відмінностей показників хворих у порівнянні з контрольною групою; P' – вірогідність відмінностей показників хворих 3 групи у порівнянні із даними 1 групи.

відбувається підсилення кісткової резорбції, яке при тривалому перебігу захворювання може призводити до формування остеопенії і остеопорозу.

Зроблено оцінку стану кісткової тканини у хворих на ПХНН. При рентгенологічному дослідженні аксіального та периферичного скелету виявлено чіткі ознаки остеопорозу у 4 хворих 3 групи. Найбільш помітними зміни були у грудному та поперековому відділах хребта і проявлялися зниженням висоти тіл хребців та їх деформацією (подібно до “риб’ячих”).

Рентгенморфометричне дослідження виявило зниження індексу деформації хребців у всіх хворих 2 та 3 груп (показник складав у середньому $0,57 \pm 0,1$ ум.од. – у хворих 2 групи; $0,49 \pm 0,02$ ум. од. – у 3 групі хворих та $1,02 \pm 0,4$ ум.од. – у контрольній групі ($P < 0,05$). У жінок 1 групи рентгенологічних змін кісткової тканини не було.

Дослідження показників ультразвукової остеоденситометрії дозволило виявити зміни кісткової тканини у всіх хворих. Аналіз показників остеоденситометрії показав, що у хворих переважають зниження еластичності та значне зменшення щільності кісткової тканини. У хворих всіх груп виявлено зниження показників ШПУ та ІМ у порівнянні до таких у групі здорових ($P < 0,05$) (дані наведено у табл. 3). Значення ІМ у жінок 3 групи були вірогідно меншими, ніж у 1 групі обстежених ($P < 0,05$). Отримані дані свідчать про те, що зміни структури кісткової тканини виявляються при ПХНН вже на початку захворювання, навіть за відсутності таких за даними рентгенографії скелету. Слід зазначити, що ультразвукова остеоденситометрія є чутливим, ефективним, нешкідливим діагностичним заходом, який дозволяє виявляти зміни кісткової тканини значно раніше, ніж рентгенологічні методики.

Таблиця 3. Показники ультразвукової остеоденситометрії у хворих на хронічну надниркову недостатність ($M \pm m$)

Групи обстежених	n	ШПУ, м/с	ШОУ, дБ/мГц	ІМ, %
Хворі 1 групи, Р	5	$1593,0 \pm 1,2$	$106,0 \pm 3,60$	$79,0 \pm 1,20$
		$< 0,05$	$> 0,1$	$< 0,05$
Хворі 2 групи, Р	7	$1582,0 \pm 1,90$	$103,0 \pm 1,84$	$72,4 \pm 1,09$
		$< 0,05$	$> 0,05$	$< 0,05$
Хворі 3 групи, Р Р'	8	$1565,0 \pm 2,12$	$92,4 \pm 6,40$	$56,4 \pm 1,90$
		$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$
		$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$
Контрольна група	15	$1654,0 \pm 4,5$	$110,6 \pm 3,20$	$98,54 \pm 1,78$

Результати остеоденситометрії за останнє десятиріччя дозволили окреслити поняття “межі переломів”, яка визначається показником індексу міцності кістки $< 67\%$. За даними наших досліджень встановлено підвищення ризику виникнення переломів у 8 хворих. Враховуючи рекомендації ВООЗ, було виявлено остеопороз у 8 хворих, остеопенія визначалася у 12.

Підсумки

Виконане дослідження показало, що у хворих на ПХНН виникають структурно-функціональні зміни кісткової тканини, які можуть бути охарактеризовані як остеопенія та остеопороз. Системна остеопенія формується вже на початку захворювання. Серед можливих причин виявлених змін у обстежених жінок слід виділяти порушення абсорбції кальцію та його втрату у зв'язку з наявністю проносів, що супроводжують декомпенсацію захворювання. Зниження абсорбції кальцію у кишковокику та його втрата з кишковими масами

призводить до виникнення вторинного гіперпаратиреозу, за рахунок чого показники кальцієвого балансу можуть залишатися незмінними [16]. Слід зазначити, що при призначенні замісної терапії препаратами глюкокортикоїдів виникає гіперкальциурія, яка є суттєвішою у пацієнтів, що отримують терапію преднізолоном. У пацієнтів цієї групи також відмічено зниження рівня загального кальцію крові.

Серед інших причин виникнення кісткових змін у хворих на ПХНН слід зазначити зниження секреції естрогенів із порушенням статевої функції. У всіх обстежених жінок мала місце стійка аменорея. У хворих виявлено вірогідне зниження рівня екскреції естрогенів порівняно до контрольної групи. Статеві гормони відіграють важливу роль у розвитку та дозріванні скелету, а також у підтриманні балансу кісткової маси. Дефіцит естрогенів може викликати дисбаланс процесів кісткового ремоделювання, що спричиняє прискорену втрату кісткової маси, незалежно від причин недостатності функції яєчників [4, 16].

Важливою складовою структурно-функціональних порушень стану кісткової тканини є руйнування кісткового колагену, про що свідчить підвищення екскреції оксипроліну з сечею. Ці зміни відбуваються у хворих на тлі замісної гормональної терапії і більше помітні в осіб, які отримують лікування преднізолоном, на відміну від хворих, котрі лікуються кортизона ацетатом. Виявлені зміни кальцієвого балансу та підвищена деградація колагену є важливими складовими патогенезу виникнення остеопенії та остеопорозу у хворих на ПХНН.

Окремо слід виділити, як можливий фактор патогенезу змін структури кісткової тканини в осіб з вперше виявленою некомпенсованою ПХНН, розлади у системі кровотворення, які можуть спричинювати порушення дозрівання остеобластів (останні можуть бути похідними мезенхімальних материнських клітин). Відомо, що гормони кори наднирників відіграють важливу роль у регуляції гемопоезу на усіх його рівнях, здійснюють контроль проліферації та диференціації стовбурних кровотворних клітин, клітин-попередників та зрілих елементів різних ліній кровотворення. За гіпокортицизму виникає різке зниження вмісту стовбурних кровотворних клітин (КОЕ_c) у кістковому мозку та змінюється їх функціональний стан, що проявляється у порушенні співвідношення та субмікроскопічного стану кровотворних клітин у колоніях селезінки, що сформовані КОЕ_c [17]. Зміни кількості та функціональної активності остеобластів, вірогідно, призводять до дисбалансу процесів кісткового ремоделювання та спричиняють розвиток остеопенії і остеопорозу в осіб з ПХНН.

Для діагностики змін стану кісткової тканини у хворих на ПХНН доцільно використовувати як рентгенологічні дослідження, так і остеоденситометрію. Слід зазначити, що застосування рентгенморфометричних досліджень значно підвищує чутливість рентгенологічних методик щодо виявлення системної остеопенії та остеопорозу.

Ультразвукова остеоденситометрія дозволяє діагностувати як остеопенію, так і остеопороз у хворих на ПХНН на ранніх етапах їх виникнення, прослідковувати за ефективністю лікування.

Результати нашого дослідження дозволяють рекомендувати включення до схем комплексного лікування хронічної надниркової недостатності препарати остеотропної дії.

Література

1. Клиническая эндокринология: Руководство для врачей. Под. ред. Н.Т. Старковой. М., 1996. 540 с.
2. Эндокринология. Под ред. Н. Лавина. М.: Практика, 1999. 1128 с.
3. Зелинский Б.А. Аддисонова болезнь. К.: Здоров'я, 1988. 149 с.
4. Favus M.J. (ed.). Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. New-York: Raven-Press, 1993. 441 p.

5. Deal C.L. Osteoporosis: prevention, diagnosis, and management // Am. J. Medicine. 1997, 102, N 1a, 35s-39s.
6. Подрушник Е. П. Остеопороз – проблема века. Симферополь, 1997. 216 с.
7. Devogelaer J.P., Crabbe J., de Deuxchaisnes C.N. State of osseous tissue in patients with Addison's diseases // Brit. med. J. 1987, 249, 798-800.
8. Фадеев В.В., Власова И.С., Мельниченко Г.А.. Минеральная плотность костной ткани у пациентов с первичной хронической надпочечниковой недостаточностью // Пробл. эндокринол. 1999, 45, № 4, 31-36.
9. Цюхно З.И., Славнов В.Н., Панченко Н.И. и др. Функциональные методы исследования в эндокринологии. К.: Здоров'я, 1981. 240 с.
10. Крехова М.А. Метод приготовления препарата β -глюкуронидазы и его применение для определения 17-оксикортикостероидов мочи // Пробл. эндокринол. гормонотер. 1960, № 2, 55-63.
11. Dorner G., Stahl F. Eine einfache fluorometrische Methode zur Routinebestimmung von freiem Cortisol + Corticosteron im Harn // Acta biol. med. germ. 1964, 12, 606-611.
12. Brown J.B., MacLeod S.C., Macnaughtan C. et al. A rapid method for estimating oestrogens in urine using a semi-automatic extractor // J. Endocrinol. 1968, 42, 5-15.
13. Ермакова И.П., Пронченко И.А., Вузулина В.П. Особенности поведения биохимических маркеров резорбции и формирования костной ткани при вторичном (после аллотрансплантации почки) остеопорозе у женщин // Остеопороз и остеопатии. 1999, № 1, 17-20.
14. Линденбратен Л.Д., Наумов Л.Б. Медицинская рентгенология. М.: Медицина, 1984. 383 с.
15. Поворознюк В.В. Остеопороз у населения України: фактори ризику, клініка, діагностика, профілактика і лікування: Автореф. дис. докт. мед. наук. К., 1998. 47 с.
16. Рожинская Л.Я. Системный остеопороз: Практическое руководство для врачей. М., 2000. 195 с.
17. Гринченко И.М. Состояние кроветворения при экспериментальном гипокортицизме: Автореф. дис. канд. мед. наук. К., 1989. 21 с.

Показатели кальциевого баланса и структурно-функциональное состояние костной ткани у больных с первичной хронической недостаточностью надпочечных желез

В.А.Олейник, В.В.Поворознюк¹, Г.Н.Терехова
 Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев; ¹Институт геронтологии АМН Украины, 04114 Киев, Украина

Проведено исследование структурно-функционального состояния костной ткани и показателей кальциевого баланса у больных с первичной хронической надпочечниковой недостаточностью (ПХНН). Полученные результаты свидетельствуют о том, что у лиц с ПХНН возникают структурно-функциональные изменения костной ткани, которые могут быть охарактеризованы как остеопения и остеопороз. Системная остеопения формируется уже вначале заболевания. Среди возможных причин выявления изменений у обследуемых женщин следует выделять нарушения абсорбции кальция и его потерю в связи с наличием поносов, которые сопровождают декомпенсацию заболевания. Снижение абсорбции кальция в кишечнике и его потеря с кишечными массами ведет к возникновению вторичного гиперпаратиреоза. Следует отметить, что при назначении заместительной терапии препаратами глюкокортикоидов возникает гиперкальциурия, которая более выражена у пациентов, получающих терапию преднизолоном. У пациентов этой группы также отмечено снижение уровня общего кальция крови. Среди других причин возникновения костных изменений у больных с ПХНН следует отметить снижение секреции эстрогенов с нарушением половой функции и разрушение костного коллагена, о чем свидетельствует повышение экскреции оксипролина с мочой. Для диагностики изменений состояния костной ткани у больных с ПХНН целесообразно использовать как рентгенологические исследования, так и остеоденситометрию.

Ключевые слова: первичная хроническая надпочечниковая недостаточность, остеопения, остеопороз, диагностика, лечение.

Indices of calcium balance and structural functional state of the osseous tissue in patients with primary chronic insufficiency of the adrenal glands

V.A.Oliyanyk, V.V.Povorosnyuk¹, G.M.Terekhova

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

An examination of structural functional state of the osseous tissue and parameters of calcium balance in patients with primary chronic adrenal insufficiency (PCAI) was performed. Data obtained are indicative of structural functional state of the osseous tissue that can be characterized as osteopenia and osteoporosis in patients with PCAI. Systemic osteopenia is formed at the disease onset. Disorders in absorption of calcium and its elimination (loss) connected with diarrheas accompanying disease decompensation must be distinguished among possible causes of revealed changes in examined women. The decreased absorption of calcium in the intestine and its elimination with intestinal masses result in secondary hyperparathyroidism. It is necessary to note that in case of prescribing the replacement therapy with glucocorticoid preparations hypercalciuria that is more expressed in patients who had prednisolone therapy is observed. A decreased level of blood total calcium is also noted in patients of this group. An increased oxyproline secretion is indicative of disorders in sexual function with decrease in estrogen secretion and destruction of osseous collagen should also be considered among other causes of the osseous changes in patients with PCAI. Roentgenologic examinations as well as osteodensitometry are advisable for diagnosing changes in the osseous tissue in patients with PCAI.

Key words: primary chronic adrenal insufficiency, osteopenia, osteoporosis, diagnosis, treatment.

(Надійшла 15.01.2003)

ЕФЕКТИВНІСТЬ РАДІОЙОДОТЕРАПІЇ МЕТАСТАЗІВ У ЛЕГЕНІ ДИФЕРЕНЦІЙОВАНОГО РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ У ДІТЕЙ І ДОРОСЛИХ

В.В.Шишкіна*, Е.Д.Чеботарьова, Д.О.Джужа, Т.К.Совенко

Інститут онкології АМН України, 03022 Київ, Україна

Зроблено ретроспективний аналіз результатів радіойодотерапії (РЙТ) у 26 дітей та 38 дорослих з легеневи метастазами диференційованого раку щитоподібної залози (ДРЩЗ). Діагноз встановлювався на підставі комплексного обстеження, яке включало рентгенографію, КТ легень, УЗД, сцинтиграфію всього тіла з діагностичними і лікувальними активностями ^{131}I , визначення рівня тиреоглобуліну в крові. При проведенні РЙТ у дітей до 10 років разова активність складала 1,5-1,9 ГБк, старших 10 років – 2,6-3,7 ГБк, у дорослих – 3,7-6,6 ГБк. Позитивний ефект терапії одержано у 20 дітей (76,9 %) і 16 дорослих (48,1 %). Встановлено, що серед чинників, які сприяють підвищенню сумарних лікувальних активностей у дітей – фолікулярний варіант ДРЩЗ, у дорослих – вік до 45 років. Як у дітей, так і в дорослих сумарні лікувальні активності ^{131}I збільшуються при пролонгації строків проведення РЙТ після операції. Для ранньої діагностики метастазування в легені необхідно робити післяопераційну сцинтиграфію всього тіла з ^{131}I . При призначенні РЙТ обов'язкове виконання посттерапевтичного сканування всього тіла з прицільною сцинтиграфією легень на 5-6 добу після прийому радіофармпрепарату, а після закінчення лікування – спостереження до кінця життя з використанням сцинтиграфії з ^{131}I і визначенням рівня тиреоглобуліну.

Ключові слова: диференційований рак щитоподібної залози, легеневі метастази, радіойодотерапія, діагностична сцинтиграфія, посттерапевтична сцинтиграфія.

Диференційований рак щитоподібної залози як у дітей, так і в дорослих має сприятливий прогноз при адекватному комбінованому лікуванні [1, 2]. Є значний досвід використання радіойодотерапії як ад'юванта до операцій при ДРЩЗ у дорослих і відносно незначний – при застосуванні у дітей. В останніх роботах [3-5] показано, що ^{131}I має досить високу ефективність при лікуванні регіонарних і віддалених метастазів незалежно від віку пацієнтів.

Більшість раків, які дають метастази у віддалені органи, є папілярними, фолікулярними або змішаними і значною мірою накопичують радіоїод, якщо тканина щитоподібної залози видалена і рівень тиреотропного гормону (ТТГ) підвищений. РЙТ значно поліпшує 10-річне виживання хворих з віддаленими метастазами: 75% у пролікованих ^{131}I у порівнянні з 10% у тих, які не одержували РЙТ.

Найявний досвід РЙТ віддалених метастазів показує порівняльні результати терапії дорослих і дітей за умови використання великих активностей ^{131}I . Суттєвою відмінністю є перевищення у 2-3 рази поглинутих доз на все тіло дитини у порівнянні з дорослими [6].

Через відомі складності в лікуванні віддалених метастазів ДРЩЗ, суперечливість даних з використанням різних активностей ^{131}I , віковими особливостями розподілу радіофармпрепарату (РФП) і впливом на цей процес гістологічної структури пухлини [7, 8], метою роботи стало вивчення особливостей РЙТ хворих на ДРЩЗ з легеневи метастазами.

*Адреса для листування (Correspondence): Інститут онкології АМН України, вул. Ломоносова, 33/43, 03022 Київ, Україна

Матеріали і методи

Проведено ретроспективний аналіз результатів РЙТ хворих на ДРЩЗ дітей і дорослих з метастазами в легені, які лікувались в Інституті онкології АМН України з 1986 до 2002 р.

Під наглядом перебувало 64 хворих – 26 дітей та 38 дорослих. Серед дітей – 15 дівчаток та 11 хлопчиків віком від 8 до 16 років (середній вік – 11,5 років). З 26 дітей 22 поступили після тиреоїдектомії (ТЕ), двоє – субтотальної резекції щитоподібної залози (СТР), двоє – гемітиреоїдектомії (ГТЕ). Четверо хворих (15,4 %) оперувались двічі: повторні операції через нерадикальність першої операції, необхідність видалення лімфовузлів. 7 дітям (26,9 %) після хірургічного лікування за місцем проживання проведена дистанційна променева терапія (ДПТ). У 11 хворих (42,3 %) гістологічно визначено папілярний рак, у 7 (26,9 %) – фолікулярний, у 8 (30,8 %) – змішані варіанти. Згідно з класифікацією ВООЗ, за даними клінічного і патоморфологічного досліджень після операції стадію $T_{2-4}N_{1-2}M_0$ визначено у 22 хворих, $T_{2-4}N_2M_1$ – у 4.

Серед дорослих було 12 чоловіків та 26 жінок віком від 18 до 70 років (середній вік – 44,5 років). У 31 хворого раніше вже була виконана ТЕ, у 5 – СТР, у 1 – ГТЕ. 8 хворих оперувались двічі, 1 – чотири рази, 1 – не оперувався. 13 (34,2 %) пацієнтам після операції за місцем проживання проведена ДПТ, 2 одержали ДПТ і поліхіміотерапію. У 17 (44,7%) гістологічно діагностовано папілярний рак, у 13 (34,2 %) – фолікулярний, у 8 (21,0 %) – змішані форми. Стадію захворювання $T_{2-4}N_{1-2}M_0$ визначено у 17, $T_{2-4}N_2M_1$ – у 15. 50 % дітей і 86,9 % дорослих поступили з метастазами в легені, що розвинулись у різні строки після хірургічного лікування. У 3 дорослих визначались метастази в кістки, у 1 хворої – у головний мозок.

Діагноз віддалених метастазів було встановлено на підставі комплексного обстеження, яке включало проведення рентгенографії, КТ, УЗД, скінтиграфії всього тіла з діагностичними і лікувальними активностями ^{131}I , визначення рівня тиреоглобуліну (ТГ) в сироватці крові. Діагностична скінтиграфія виконувалась через 24-48 год після перорального прийому 70-80 МБк йодиду натрію, міченого ^{131}I , на гамма-камері "MB 9200" (Угорщина), з'єднаної з комп'ютерно-скінтиграфічною системою "Microsegams". Рівні ТГ у сироватці крові визначались радіоімунологічним методом за стандартною методикою з використанням набору реагентів підприємства "ХОП" Інституту біоорганічної хімії НАН Білорусі та автоматичних скінтиляційних гамма-лічильників "1175R" фірми "Searle Analytic Inc." (Нідерланди) і "Cobra II" фірми "Packard" (США).

При призначенні лікувальних активностей ^{131}I дітям, підліткам та особам молодого віку враховували вік, масу тіла хворого [6], радикальність проведеної операції та гістологічні особливості пухлинного росту (мультицентричність, інвазію в капсулу, кровоносні і лімфатичні судини), розповсюдженість процесу (регіонарні і віддалені метастази). У дітей віком до 10 років разова індивідуальна активність коливалась від 1,5 до 1,9 ГБк, понад 10 років – 2,6-3,7 ГБк. У дорослих лікувальні активності складали від 3,7 до 6,6 ГБк. З 4-го дня після призначення лікувальних активностей усі хворі одержували супресивну терапію L-тироксином.

Результати та їх обговорення

За одержаними даними 9 (34,6 %) дітей поступили для радіонуклідного обстеження і лікування через 1-6 років після операції. Серед дорослих 13 хворих (34,2 %) поступили для радіонуклідного обстеження і лікування через 1-20 років (в середньому – 6,2 роки) після операції. Інші – через 1,5-5 міс. Таким чином, більше ніж третині як дітей, так і дорослих РЙТ призначалась у досить пізні строки після хірургічного лікування.

У 13 дітей (50 %) і 5 дорослих (13,1 %) метастатичний процес у легенях при рентгенографії не визначався і був виявлений лише при проведенні скінтиграфії усього тіла. Слід зазначити, що симптоми легеневого метастазування у дітей нечіткі і нерідко метастази не визначаються рентгенологічно, якщо вони за розміром менші ніж 1 см у діаметрі. У той же час у дорослих легеневі метастази часто макрондулярні.

У табл. 1 наведено результати діагностичної скінтиграфії всього тіла у дітей і дорослих.

При діагностичній скінтиграфії у дітей і дорослих поряд з метастазами в легені визначалась залишкова тканина щитоподібної залози (ЗТЩЗ), метастази в шийні лімфовузли та лімфовузли середостіння. Окрім того, у однієї хворої

18 років діагностовано метастаз у головний мозок, у трьох пацієнтів метастази в легені з'явилися на тлі метастатичного ураження кісток. Вважаємо, що при комплексному обстеженні хворих з ДРЩЗ необхідно робити діагностичну скінтиграфію всього тіла з ^{131}I через 4-6 тиж після операції, а при проведенні РЙТ, незалежно від результатів попередніх досліджень, обов'язково виконувати прицільну скінтиграфію легень через 5-6 діб після прийому лікувальних активностей. Рівні ТГ в усіх хворих були значно підвищені, а в окремих випадках перевищували 300 мкг/л.

Таблиця 1. Дані діагностичної скінтиграфії всього тіла з ^{131}I у хворих з метастазами ДРЩЗ в легені

Результати діагностичної скінтиграфії всього тіла	Кількість хворих	
	діти	дорослі
Залишкова тканина щитоподібної залози*	4	16
Залишкова тканина щитоподібної залози, метастази в легені	7	9
Залишкова тканина щитоподібної залози, метастази в шийні лімфовузли, легені	10	7
Залишкова тканина щитоподібної залози, метастази в легені, головний мозок	-	1
Метастази в лімфовузли середостіння і легені	1	2
Метастази в легені	4	-
Метастази в легені і кістки	-	3
Разом	26	38

Примітка: * – метастатичне ураження легень виявлено після введення лікувальних активностей ^{131}I .

У процесі РЙТ ознаки регресії легеневи метастазів спостерігались в усіх дітей. Проте позитивний ефект лікування, тобто відсутність накопичення РФП у легенях під час останнього курсу РЙТ, був одержаний у 20 дітей з 26 (76,9 %) та у 16 з 38 дорослих (42,1 %) зі строками спостереження від 6 міс до 15 років. 7 дітей і 20 дорослих продовжують РЙТ. Один хворий помер унаслідок розповсюдження процесу через 15 років після РЙТ, один – через нещасний випадок.

Кількість курсів РЙТ та сумарні активності, які призвели до позитивного ефекту РЙТ, наведені в табл. 2.

Як у дітей, так і в дорослих кількість курсів РЙТ та введені активності коливались у значних межах. 16 з 20 дітей (80,0 %) були чутливіші до РЙТ, оскільки ефект після лікування в них спостерігався при сумарних активностях радіоїоду 5,9-22,2 ГБк. Четверо хворих за 12-14 курсів одержали 32,1-37,6 ГБк. В той же час 6 хворих з частковим ефектом, які продовжували лікування, вже одержали від 8 до 26 курсів, сумарні введені активності у них склали 29,3-56,3 ГБк. Середні сумарні активності у дітей з позитивним ефектом склали $12,4 \pm 1,9$ ГБк. Вік не впливав на ефективність РЙТ. Середній вік у дітей з позитивним ефектом склав на початку лікування 11,7 років, а у тих хворих, які продовжували лікування – 11,6 років.

При папілярному раку 10 дітей з позитивним ефектом одержали в середньому $7,4 \pm 0,4$ ГБк, 7 зі змішаними формами – $14,6 \pm 4,8$ ГБк, 3 з фолікулярним раком – $23,6 \pm 9,9$ ГБк. Різниця в групах хворих з папілярним і фолікулярним раком була вірогідною ($P < 0,01$).

Початкове введення низьких активностей ^{131}I (0,4 до 1,5 ГБк) серед дітей з позитивним ефектом було у 9 з 20 (45,0 %), серед тих, хто продовжував РЙТ протягом 7-11 років – у 6 з 7 (85,7 %). На величини кумулятивної активності

^{131}I впливали і строки виконання РІТ після операції. Так, у 15 дітей, пролікованих через 1-2 міс, вони складали в середньому $9,3 \pm 1,5$ ГБк, а у 5, пролікованих через 1-4 роки, – $20,8 \pm 11,7$ ГБк ($P < 0,05$).

Середня сумарна активність ^{131}I у дорослих пацієнтів (середній вік – 37,7 років) з позитивним ефектом склала $25,9 \pm 2,8$ ГБк з коливаннями від 13,8 до 48,1 ГБк. Від гістологічної структури пухлини кумулятивна активність не залежала. Разом з тим, у хворих до 45 років введена сумарна активність складала $28,8 \pm 4,1$ ГБк, тоді як в осіб старших 45 років – $19,3 \pm 2,5$ ГБк ($P < 0,01$). У 13 осіб, які поступили на лікування через 1-5 міс після операції, кумулятивна активність в середньому складала $22,2 \pm 3,0$ ГБк, у 3 хворих, які поступили через 3-7 років – $37,3 \pm 5,8$ ГБк ($P < 0,05$).

Таблиця 2. Кількість курсів РІТ і сумарні активності ^{131}I в осіб з позитивним ефектом РІТ

Групи хворих	Кількість хворих	Кількість курсів РІТ	Сумарні активності, ГБк
Діти	6	2	5,9-6,8
	4	3-4	6,6-8,2
	5	5-6	7,4-22,2
	1	8	15,2
	4	12-14	32,1-37,6
Дорослі	4	3-4	12,7-16,6
	6	5-6	17,0-26,6
	3	8-9	24,7-35,9
	3	10-12	35,5-48,1

Отже, за нашими даними, головними причинами пролонгованої РІТ (протягом 4 років і більше) є два чинники. По-перше, це початкове застосування низьких лікувальних активностей ^{131}I . Очевидно, це пов'язане зі створенням низьких поглинутих доз у метастазах під час перших курсів РІТ, які не призводять до девіталізації пухлинної тканини, а тільки знижують функціональну активність клітин, що спричиняє зміну параметрів кінетики ^{131}I і значно знижує осередкові поглинуті дози під час наступних курсів. Не виключено розвиток радіорезистентності пухлини. Таким чином, у хворих з легеневидами метастазами призначувані лікувальні активності при першому курсі РІТ мають бути досить високими, наскільки це дозволяють індивідуальні особливості.

По-друге, на величини кумулятивної активності ^{131}I , а значить і на тривалість лікування, впливали строки проведення РІТ після операції. Пізніше призначення РІТ після операції призводить до більшого розповсюдження пухлинного процесу.

Окремі автори через можливі ускладнення з боку кровотворних органів прагнуть обмежити кумулятивні активності ^{131}I у дітей до 18,5-25,9 ГБк, так як такі активності створюють променеве навантаження на все тіло до 200-300 рад [7].

За нашими спостереженнями, під впливом прийому ^{131}I у окремих дітей і дорослих в перші дні спостерігались місцеві і загальні реакції: нудота, блювота, слабкість, головний біль, набряк ЗТЩЗ, біль в горлі під час ковтання, сіалоаденіт. В основному, вказані скарги зникали упродовж 3-5 днів після РІТ. У 6 дітей (23,1 %) спостерігалась скороминуща лейкопенія, тромбоцитопенія. Отже, побічні реакції на РІТ, які ми спостерігали, не є загрозою для життя і не можуть бути протипоказанням до призначення повторних лікувальних активностей ^{131}I , навіть у дітей.

Подаємо короткі витяги з історій хвороб пацієнтів з неефективною РІТ.

Хвора Я. В 13 років проведена ТЕ з приводу ДРЩЗ. Гістологічно – фолікулярний рак. Рентгенологічно – множинні метастази в легені. При діагностичній сцинтиграфії з ^{131}I визначалась ЗТЩЗ, метастази в шийні лімфовузли, лімфовузли середостіння, легені. В 1990-1995 рр. одержала 11 курсів РЙТ з активностями від 0,4 ГБк до 1,8 ГБк за методикою Е.С. Кисельової та спів-авт. [9], а далі, до теперішнього часу – 9 курсів по 3,7-4,8 ГБк. Таким чином, хвора за 20 курсів РЙТ одержала 56,3 ГБк. Осередків підвищеного накопичення РФП у легенях немає, в лімфовузлах середостіння реєструється незначне накопичення ^{131}I . Лікування досі продовжує. У хворой спостерігалась скороминуща анемія, лейкопенія. Ймовірно, що в даному випадку пролонгація РЙТ зумовлена зміною кінетики ^{131}I і розвитком радіорезистентності унаслідок застосування низьких терапевтичних активностей на початку лікування.

Хвора Н. У 10-річному віці в 1989 р. проведена резекція щитоподібної залози. Гістологічно – папілярний рак. В 1994 р. через появу епілептиформних нападів проведена КТ головного мозку. Діагностовано метастаз у ліву півкулю головного мозку, перебувала під наглядом у нейрохірургів. В 1996 р. під час діагностичної сцинтиграфії всього тіла – ЗТЩЗ, метастази в лімфовузли ший і головний мозок, при терапевтичній сцинтиграфії – метастази в легені. З 1996 р. до теперішнього часу одержала за 21 курс РЙТ 43,7 ГБк. Накопичення ^{131}I в легенях немає. Визначається слабке накопичення РФП у головному мозку зліва. Ускладнень РЙТ немає. Очевидно, що клінічна ситуація, яка склалась, зумовлена пізнім проведенням РЙТ.

Хворий Ч. В 37 років зроблена нерадикальна операція з приводу папілярного раку щитоподібної залози. Рентгенологічно – метастазування в легені. При діагностичній сцинтиграфії – ЗТЩЗ, метастази в шийні лімфовузли, легені. У 1981-1986 рр. хворий одержав 12 курсів РЙТ, сумарно – 48,8 ГБк, після чого констатовано позитивний ефект терапії, оскільки після контрольної сцинтиграфії осередки підвищеного накопичення ^{131}I не визначалися. Обстежувався рентгенологічно за місцем проживання, одержував супресивну гормонотерапію L-тироксинам. Почуваючи себе здоровим, пацієнт на радіонуклідне обстеження не з'являвся. Стан погіршився в 2001 р. При КТ виявлені метастази в легені, кістки, печінку. Хворий помер у віці 53 роки.

Остання демонстрація свідчить про те, як важливо здійснювати постійний тривалий нагляд за хворими, що одержували РЙТ, особливо за тими, хто належить до категорії високого ризику (віком понад 45 років), пролікованих з приводу регіонарних і віддалених метастазів [2].

Висновки

1. Для ранньої діагностики метастазування в легені у хворих ДРЩЗ необхідне обов'язкове виконання післяопераційної сцинтиграфії всього тіла з ^{131}I . Проте у 18,2 % дітей та 42,1 % дорослих метастази під час діагностичної сцинтиграфії не визначались, тому при РЙТ обов'язкова посттерапевтична прицільна сцинтиграфія легень на 5-6 добу після прийому РФП, а після закінчення РЙТ – спостереження до кінця життя з використанням сцинтиграфії з ^{131}I і визначенням рівня ТГ в крові.

2. З числа пролікованих 64 хворих з метастазами ДРЩЗ в легені позитивний ефект терапії одержано у 20 з 26 дітей (76,9%) та у 16 з 38 дорослих (48,1%).

3. Серед чинників, які сприяють підвищенню кумулятивних активностей при РЙТ у дітей з метастазами в легені, – фолікулярний варіант ДРЩЗ, у дорослих – вік до 45 років. Як у дітей, так і в дорослих сумарні лікувальні активності ^{131}I збільшуються при пролонгації строків проведення РЙТ після операції.

4. У хворих з легеневиими метастазами призначувані лікувальні активності при першому курсі РІТ мають бути досить високими для створення канцероцидних поглинутих доз, відповідно до індивідуальних особливостей.

Література

1. Пачес А.И., Пропп Р.М. Рак щитовидной железы. М.: Медицина, 1995. 370 с.
2. Schlumberger M., Pachini F. Thyroid tumor. Paris: Nucleon, 1999. 317 p.
3. Kanjo Kasagi, Shinichi Miyamoto, Kaigo Endo et al. Increased uptake of iodine-131 in metastases of differentiated thyroid carcinoma associated less severe hypothyroidism following total thyroidectomy // Cancer. 1993, 72, N 6, 1983-1990.
4. Sin J.D., Kao P.F., Chao T.E. The effects of radioiodine in thyroid remnant ablation and treatment of well differentiated thyroid carcinoma // Br.J.Radiol. 1998, 71, N 843, 307-313.
5. Tielens E.T., Serman S.J., Hrubar R.H., Ladeuson P.W. Follicular variant of papillary thyroid carcinoma. A clinicopathologic study // Cancer. 1994, 73, N 2, 424-430.
6. Bonte T.J. Radioiodine and the child with thyroid cancer // Am. J. Roentg. Nucl. Med. 1965, 95, N 1, 1-24.
7. Werner and Ingbar's: The Thyroid. A fundamental and clinical text. 6th ed. L.E. Braverman, R.D. Utiger (eds.). Philadelphia, New York, London, Hagerstown: J.B. Lipincott company, 1991. 1365 p.
8. Reiners Chr., Biko J., Farahati J. et al. 5 year experience with radioiodine treatment in 158 children from Belarus with thyroid cancer // Eur J. Nucl. Med. 1998, 25, N 8, p. 946.
9. Киселева Е.С., Скоробогатов Н.М., Звенаткин Л.С. Комплексное лечение метастазов рака щитовидной железы в легкие в детском и юношеском возрасте // Мед. радиология. 1987, № 3, 7-10.

Ефективність радіойодтерапії метастазів в легкі диференційованого раку щитовидної залози у дітей і дорослих

В.В. Шишкіна, Е.Д. Чеботарева, Д.А. Джужа, Т.К. Совенко
Інститут онкології АМН України, 03022 Київ, Україна

Проведено ретроспективний аналіз результатів радіойодтерапії (РІТ) у 26 дітей і 38 дорослих з легочними метастазами диференційованого раку щитовидної залози (ДРЩЗ). Діагноз встановлювався на основі комплексного обстеження, включав рентгенографію, КТ легких, УЗІ, скінтиграфію всього тіла з діагностичними і лікувальними активностями ^{131}I , визначення рівня тиреоглобуліну в крові. При проведенні РІТ у дітей до 10 років розова активність становила 1,5-1,9 ГБк, старші 10 років – 2,6-3,7 ГБк, у дорослих – 3,7-6,6 ГБк. Положитивний ефект терапії отримано у 20 дітей (76,9 %) і 16 дорослих (48,1 %). Встановлено, що серед факторів, сприяючих підвищенню сумарних лікувальних активностей у дітей – фолікулярний варіант ДРЩЗ, у дорослих – вік до 45 років. Як у дітей, так і у дорослих сумарні лікувальні активності ^{131}I збільшуються при пролонгації термінів проведення РІТ після операції. Для ранньої діагностики метастазування в легкі необхідно проведення післяопераційної скінтиграфії всього тіла з ^{131}I . При призначенні РІТ обов'язково виконання посттерапевтичного сканування всього тіла з прицільною скінтиграфією легких на 5-6 днів після прийому РФП, а після закінчення лікування – спостереження до кінця життя з використанням скінтиграфії з ^{131}I і визначенням рівня тиреоглобуліну.

Ключові слова: диференційований рак щитовидної залози, легочні метастази, радіойодтерапія, діагностична скінтиграфія, посттерапевтична скінтиграфія.

The efficacy of the radioiodine therapy of lung metastases of differentiated thyroid cancer in children and adults

V.V. Shishkina, E.D. Chebotareva, D.A. Dzhuzha, T.K. Sovenko
Institute of Oncology of AMS, 03022 Kyiv, Ukraine

A retrospective analysis of the results of radioiodine therapy (RIT) in 26 children and 38 adults with lung metastases of differentiated thyroid cancer (DTC) was performed. The diagnosis was made using complex investigation including roentgenography, CT of lungs,

ultrasonography, whole body scintigraphy with diagnostic and therapeutic activities of ^{131}I , and determination of thyroglobulin levels. During RIT in children under 10 years single activity was 1.5-1.9 GBq, over 10 years – 2.6-3.7 GBq, in adults – 3.7-6.6 GBq. Positive effect of RIT was in 20 children (76.9%) and in 16 adults (48.1%). It was determined that among factors increasing cumulative therapeutic activities in children is follicular type of DCT, in adults – age under 45 years. Cumulative therapeutic activities increase at the prolongation of the time of RIT after operation both in children and adults. For early diagnostics of lung metastases postoperative scintigraphy with ^{131}I is necessary. During RIT scintigraphy of the lungs at 5-6 days after administration of ^{131}I is indicated and after treatment – life follow up using scintigraphy with ^{131}I and determination of thyroglobulin level.

Key words: differentiated thyroid cancer, lung metastases, radioiodine metastases, diagnostic scintigraphy, postoperative scintigraphy.

(Надійшла 5.11.2002)

РІВЕНЬ АНДРОГЕНІЗАЦІЇ ТА КОНЦЕНТРАЦІЇ ФРУКТОЗИ В ЕЯКУЛЯТІ У ЧОЛОВІКІВ З ГІПОФЕРТИЛЬНІСТЮ

В.О.Бондаренко*, О.М.Демченко, Т.Ю.Бурма, Н.М.Бречка, Л.А.Сиротенко

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

Вивчали показники спермограми, концентрацію фруктози в еякуляті, вміст тестостерону і естрадіолу у сироватці крові у чоловіків з різними варіантами патоспермій. Встановлена позитивна кореляція між концентрацією фруктози в сім'яній рідині та рівнем абсолютної і відносної андрогенізації при ідіопатичній олігозооспермії, а також олігозооспермії при хронічному простатиті. Показано, що у випадках патоспермій, які зумовлені перинатальним обтяженням, відмічається зменшення фруктози на одиницю тестостерону, що свідчить про зниження реалізації його дії.

Ключові слова: гіпофертильність, сім'яні міхурці, патоспермії, тестостерон, естрадіол, фруктоза.

Крім визначення в сім'яній рідині кількості сперматозоїдів, їх рухливості та морфології, велике значення в діагностиці гіпофертильності у чоловіків має біохімічне дослідження еякуляту [1]. Воно необхідне, насамперед, для оцінки секреторної активності додаткових статевих залоз [2-4]. На сьогодні найбільш визнаним біохімічним маркером функціонального стану сім'яних міхурців вважається фруктоза, яку визначають в еякуляті та сім'яній плазмі [5-7].

Утворення фруктози відбувається у сім'яних міхурцях тільки при достатній продукції ендогенного тестостерону (Т) [1]. Після еякуляції фруктоза засвоюється сперматозоїдами у процесі фруктолізу, що необхідно для їх життєдіяльності [8]. Вона є енергетичним субстратом рухомості сперматозоїдів. Це підтверджують і експериментальні дослідження, які свідчать, що додання фруктози до еякуляту посилює рухомість сперматозоїдів [9]. Зменшення кількості сперматозоонів при олігозооспермії (ОЗС) та їх відсутність при азооспермії (АЗС) і, як наслідок, зменшення процесу фруктолізу призводить, за даними деяких авторів, до зростання концентрації фруктози в еякуляті [10-13]. При цьому у випадках нормозооспермії існує позитивна кореляція між відсотком рухомих сперматозоїдів та рівнем фруктози у сім'яній рідині, а при патосперміях відмічається негативна кореляційна залежність між концентрацією фруктози в еякуляті та кількістю рухомих сперматозоїдів [14]. Між тим, є також дані, що у чоловіків немає будь-якого зв'язку між рівнем фруктози у сім'яній рідині та кількістю сперматозоїдів і їх рухливістю [15], а концентрація її залежить від морфології сперматозоїдів [16]. При необструктивній АЗС зростання концентрації фруктози у сім'яній рідині може бути зумовлено не тільки зниженням метаболізму, а й збільшенням продукції її в сім'яних міхурцях [17].

У той же час деякі дослідники відмічають відповідні норми концентрації фруктози в еякуляті при ОЗС та АЗС, коли відсутні інфекції статевих органів

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

і дефіцит андрогенів [18], а також за наявності крипторхізму [19], у випадках необструктивних АЗС [7] та АЗС, що є наслідком вазектомії [20]. Зниження або відсутність фруктози в еякуляті є критерієм АЗС, яка спричинена обструкцією сім'явивідних протоків [21-24], а також при генетично зумовленій агенезії сім'яних протоків і сім'яних міхурців [3, 25-28]. Зменшення концентрації фруктози у сім'яній рідині може бути при патосперміях у чоловіків, які супроводжуються лейкоцитосперміями [29, 30], у випадках деяких варіантів ОЗС [31-33], а також за астенозооспермії [34, 35].

Однак існують також дані, згідно з якими всупереч погіршенню якості спермограм при лейкоцитосперміях і запаленнях органів генітальної системи, зокрема, за наявності простатитів, рівень фруктози в еякуляті перебуває у межах норми [36-38]. Може не змінюватися концентрація фруктози в сім'яній рідині і при відповідній нормі кількості сперматозоїдів в еякуляті та зниженій їх рухливості, тобто при астенозооспермії [39].

Можливість збільшення фруктози при нормозооспермії, у порівнянні з ОЗС, підтверджує і аналіз показників еякуляту 1500 чоловіків репродуктивного віку, у яких зі зростанням кількості сперматозоїдів в сім'яній рідині спостерігалася збільшення концентрації фруктози [40].

Продукція фруктози сім'яними міхурцями залежить від рівня Т у сироватці крові [1, 3]. Вона зменшується у хворих на гіпогонадізм [8], у чоловіків при віковому зниженні рівня Т в крові [41] та при гіпоандрогенних варіантах ОЗС [42]. Зниження концентрації фруктози в еякуляті, а також зменшення при цьому рухливості сперматозоїдів помічено у хворих на простатит у випадках андрогенної недостатності [43], а також при АЗС та виражених ОЗС, зумовлених гіпотестостеронеміями за крипторхізму та гіпогонадізму [44, 45]. В той же час деякі автори не знайшли будь-якої корелятивної залежності між величинами Т в крові та фруктози в еякуляті за нормозооспермії і у випадках ОЗС [12].

Андрогензалежність продукції фруктози підтверджують дані літератури, які свідчать, що призначення андрогенів, або посилення їх продукції після тесту з кломіфенцитратом у випадках патоспермії за наявності гіпотестостеронемії, призводить до зростання рівня фруктози в сім'яній рідині, що поєднується зі збільшенням кількості сперматозоїдів і їх рухливості [35, 46].

Проведений аналіз літератури свідчить, що такий поліморфізм змін концентрації фруктози при гіпофертильності залежить, насамперед, від характеру гіпосперматогенезу та продукції Т. Однак відомо, що при значних порушеннях сперматогенної функції загальною закономірністю є не тільки зниження рівня Т, а й тенденція до підвищення секреції естрадіолу (E_2) та інших естрогенів [44, 47]. Зростання естрогенного насичення організму характерно і для деяких поєднаних форм гіпофертильності у чоловіків [1]. Однак дотепер невідомо, чи існує будь-яка корелятивна залежність між концентрацією фруктози в еякуляті і рівнем не тільки абсолютної, а й відносної андрогенізації чоловічого організму в залежності від ступеня порушення сперматогенезу та варіанту патоспермії.

З метою з'ясування цих взаємозв'язків ми обстежили 85 чоловіків у віці 22-40 років, які були у неплідному шлюбі. У всіх обстежених вивчали сумарний показник статевого розвитку – індекс маскулінізації (ІМ) та стан передміхурової залози за загальновідомими методиками [48, 49], аналіз еякуляту з визначенням кількісних та якісних показників спермограм і концентрації фруктози в еякуляті [2, 3], а також рівень Т та E_2 у сироватці крові за допомогою наборів для імуноферментного аналізу. Практично здорові чоловіки 23-35 років ($n=31$), обстежені за вищезначеними методиками, були контролем. В залежності від клінічних та сперматологічних даних хворих розподілили на такі групи:

1 – хворі на гіпогонадізм (з гіпоплазією яєчок, відсутністю сперматозоїдів в еякуляті та суттєвим зменшенням ІМ) – 10 спостережень;

2 – чоловіки з обструктивною АЗС (перенесені раніше запалення або травми придатків сім'яників, відсутність клітин сперматогенезу в еякуляті) – 5 спостережень;

3 – необструктивна АЗС (наявність клітин сперматогенезу в еякуляті) – 7 спостережень;

4 – необструктивна АЗС з наявністю перинатального обтяження (ПО) в анамнезі – 8 спостережень;

5 – виражена ОЗС (відсутність будь-яких запалень та постабляційних уражень статевих органів, варикоцеле; кількість сперматозоїдів менша 5 млн. в 1 мл еякуляту) – 14 спостережень;

6 – виражена ОЗС з перинатальним обтяженням в анамнезі (ті ж критерії, що й при вираженій ОЗС) – 7 спостережень;

7 – ОЗС (відсутність будь-яких запальних та постабляційних уражень статевих органів, варикоцеле; кількість сперматозоїдів в 1 мл еякуляту становить від 5 до 19 млн.) – 16 спостережень;

8 – ОЗС з перинатальним обтяженням в анамнезі (ті ж критерії, що й при ОЗС) – 9 спостережень;

9 – ОЗС у чоловіків з хронічним простатитом (кількість сперматозоїдів в 1 мл еякуляту – від 5 до 19 млн.) – 9 спостережень.

Матеріал опрацьовано статистично на персональному комп'ютері з використанням критерію t Стьюдента та кореляційного аналізу [50].

Визначення концентрації фруктози в сім'яній рідині показало, що середні величини її не відрізнялись від показників норми при обструктивній та необструктивній АЗС, а також при вираженій ОЗС (таблиця). Однак тільки в осіб 2-ї групи це поєднувалось з відповідними контролю середніми величинами T та T/E_2 -співвідношення. У хворих 3-ї групи лише рівень абсолютної андрогенізації відповідав нормі. При вираженій ОЗС показники T та T/E_2 -співвідношення були менші, ніж у практично здорових чоловіків ($P < 0,01$).

Звертає на себе увагу зменшення концентрації фруктози у сім'яній рідині при суттєвих порушеннях сперматогенної функції з ПО, як і при АЗС у хворих на гіпогонадізм, що виявляється поряд зі зниженою продукцією T та зменшенням T/E_2 -співвідношення.

Все це свідчить, що при вираженому гіпосперматогенезі, коли суттєво зменшується фруктоліз, концентрація фруктози в еякуляті, в основному, відповідає контрольним величинам при нормальній секреції T . Однак при ідіопатичній вираженій ОЗС такої залежності не існує, коли відмічається нормальна концентрація фруктози при зниженій продукції T . Проведений кореляційний аналіз не встановив будь-якого зв'язку між концентрацією фруктози в еякуляті і величинами T , E_2 та T/E_2 -співвідношення у хворих на гіпогонадізм, а також при виражених порушеннях сперматогенезу як з наявністю ПО в анамнезі, так і без нього.

За різних варіантів ОЗС (7-ма – 9-та групи) відмічається вірогідне зменшення концентрації фруктози в сім'яній рідині на тлі зниження секреції T , підвищення продукції E_2 та зменшення T/E_2 -співвідношення. Однак якщо при ОЗС та ОЗС у хворих на хронічний простатит була встановлена позитивна кореляція між величинами фруктози в еякуляті і T у крові ($r=0,843$, $P<0,001$ та $r=0,918$, $P<0,001$, відповідно), а також між рівнем фруктози і величинами T/E_2 -співвідношення ($r=0,857$, $P<0,001$ та $r=0,683$, $P<0,05$, відповідно), то у випадках ОЗС з ПО такої кореляції не існує. Це свідчить про різний механізм формування патоспермій. Вважаючи, що співвідношення фруктоза/ T деякою мірою може свідчити про реалізацію дії T на сім'яні міхурці, ми вивчили ці співвідношення у всіх групах обстежених. Виявилось, що у випадках патоспермій з наявністю ПО середні значення цих співвідношень вірогідно менші, ніж в нормі ($P<0,05$). Все це свідчить, що при диспрограмих варіантах гіпофер-

Таблиця. Статеві гормони у сироватці крові, концентрація фруктози в еякуляті та їх співвідношення у чоловіків з патосперміями ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

Групи	Кількість спостережень	Тестостерон, нмоль/л	Естрадіол, нмоль/л	Співвідношення тестостерон/естрадіол, у.о.	Фруктоза, ммоль/л	Співвідношення фруктоза/тестостерон, у.о.
Гіпогонадизм	10	5,5±0,5 ^a	0,21±0,03	29,9±3,8 ^a	4,8±0,4 ^a	0,89±0,07
Обструктивна АЗС	5	18,6±1,4	0,20±0,05	106,9±19,4	14,3±2,0	0,79±0,14
Необструктивна АЗС	7	15,2±2,4	0,25±0,03 ^a	54,2±7,1 ^a	14,5±1,1	1,08±0,21
Необструктивна АЗС з ПО	8	11,7±2,5 ^a	0,28±0,04 ^a	34,7±7,8 ^a	7,7±1,6 ^a	0,63±0,05 ^a
Виражена ОЗС	14	13,2±2,1 ^a	0,21±0,04	69,1±11,9 ^a	13,5±1,7	1,12±0,2
Виражена ОЗС з ПО	7	11,0±2,6 ^a	0,25±0,04 ^a	48,8±19,6 ^a	7,1±1,4 ^a	0,59±0,05 ^a
ОЗС	16	13,8±1,4 ^a	0,23±0,01 ^a	57,4±8,5 ^a	11,5±0,8 ^a	0,84±0,06
ОЗС з ПО	9	10,2±1,0 ^a	0,24±0,03 ^a	49,2±9,7 ^a	8,1±1,4 ^a	0,63±0,03 ^a
ОЗС при хронічному простатиті	9	10,3±0,9 ^a	0,30±0,04 ^a	37,9±6,0 ^a	8,6±1,3 ^a	0,82±0,06
Контроль	31	19,2±0,9	0,16±0,01	127,3±6,6	14,0±0,5	0,75±0,03

Примітка: а – вірогідність змін порівняно з контролем.

тильності, зумовлених ПО, може порушуватись реалізація дії Т на організми. Можливо, цим спричинене зниження концентрації фруктози при виражених формах патоспермій з ПО.

Доречно зауважити, що при ОЗС у хворих на хронічний простатит виявлена негативна кореляція між концентрацією фруктози та кількістю сперматозоїдів в еякуляті ($r = -0,704$, $P < 0,05$). Необхідно також відмітити, що, незважаючи на вірогідно вищі середні величини Т в крові у чоловіків з вираженими порушеннями сперматогенної функції з ПО, у порівнянні з величинами гормону у хворих на гіпогонадизм ($P < 0,05$), середні значення концентрації фруктози в еякуляті в цих групах та у чоловіків з гіпогонадизмом суттєво не відрізнялись між собою ($P > 0,05$).

Таким чином, при всіх (за винятком обструктивної АЗС) досліджених нами варіантах патоспермій виявляється зниження андрогенізації організму. При цьому в групах з середнім вмістом Т у сироватці крові (нижче 12 нмоль/л) спостерігається вірогідне зниження фруктози в еякуляті. Однак зменшення фруктози на одиницю Т, що є об'єктивним показником реалізації його дії, встановлене тільки при патосперміях, які зумовлені перинатальним обтяженням. Це свідчить про доцільність вивчення цього показника при обстеженні чоловіків з гіпофертильністю з метою здійснення диференційованої діагностики її клінічних варіантів та патогенетичної терапії.

Література

1. Бесплодие в супружестве. Под. ред. И.Ф. Юнды. К.: Здоровье, 1990. 463 с.
2. Михайличенко В.В. Бесплодие у мужчин. Руководство по андрологии. Под. ред. О.Л. Тиктинского. Л.: Медицина, 1990, 297-335.
3. Горпинченко И.И., Добровольская Л.И. Клинико-лабораторная диагностика бесплодия // Сексология и андрология. Под. ред. А.Ф. Возианова, И.И. Горпинченко. К.: Абрис, 1997, 675-716.
4. Pinatel M.C. Semen evaluation: technic of studi // Ann. Biol. Clin. 1985, 43, N 1, 49-53.
5. Watterauer U. Recomend biochemical parameters for routine semen analysis // Urol. Res. 1986, 14, N 5, 241-246.
6. Dieudonne O., Godin P.A., Van-Langendonck A. et al. Biochemical analysis of the sperm and infertility // Clin. Chem. Lab. Med. 2001, 39, N 5, 455-457.
7. Roy S., Banerjee A., Randey H.S. et al. Application of seminal germ cell morphology and semen biochemistry in the diagnosis and management of azoospermic subjects // Asian J. Androl. 2001, 3, N 1, 55-62.
8. Gonzales G.P. Function of seminal vesicles and their role on male fertility // Asian J. Androl. 2001, 3, N 4, 251-258.
9. Rigau T., Farre M., Ballester J. et al. Effects of glucose and fructose on motility patterns of dogs spermatozoa from fresh ejaculates // Theriogenology. 2001, 56, N 5, 801-815.
10. Jathar V.S., Hirwe R., Desai S., Satoskar R.S. Seminal fructose, citric and phosphatase levels and their relation to the sperm count in man // Indian J. Physiol. Pharmacol. 1977, 21, N 3, 186-190.
11. Nikkanen V. Seminal fructose, citric acid and acid phosphatase before and after vasectomy in man // Andrologia. 1978, 10, N 6, 464-468.
12. Oforofuo I.A., Onakewhor J.U., Enuman J. Fructose concentration in seminal fluid and the deoxyribonucleic acid content of spermatozoa from infertile human males // Afr. J. Reprod. Health. 1997, 1, N 1, 89-96.
13. Dandekar S.P., Harikumar P. Seminal profiles of lysosomal enzymes in normal and infertile men // Postgrad. Med. 1997, 43, N 2, 33-37.
14. Lewis-Jones D.I., Aird I.A., Biljan M.M., Kingsland C.R. Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma // Hum. Reprod. 1996, 11, N 11, 2465-2467.
15. Lutjen P., De Witt M., Trounson A. Monosaccharide content of human seminal plasma // Clin. Reprod. Fert. 1985, 3, N 3, 262-263.

16. Andrade-Rocha F.T. Seminal fructose levels in male infertility: relationship with sperm characteristics // *Int. Urol. Nephrol.* 1999, 31, N 1, 107-111.
17. Buckett W.M., Lewis-Jones D.I. Fructose concentrations in seminal plasma from men with nonobstructive azoospermia // *Arch. Androl.* 2002, 48, N 1, 23-27.
18. Videla E., Blanco A.M., Galli M.E., Fernandez-Collazo E. Human seminal biochemistry: Fructose, ascorbic acid, citric acid, acid phosphatase and their relationship with sperm count // *Andrologia.* 1981, 13, N 3, 212-214.
19. Gonzalez Buitrago J.M., Mirrales J.M., Munoz M.I. Seminal plasma creatine kinase activity in fertility studies // *Arch. Androl.* 1980, 5, N 5, 355-360.
20. Jakobsen H., Rui H., Thomassen Y. et al. Polyamines and other accessory sex gland secretions in human seminal plasma 8 years after vasectomy // *J. Reprod. Fertil.* 1989, 87, N 1, 39-45.
21. Coppens L. Diagnosis and treatment of obstructive seminal vesicle pathology // *Acta Urol. Belg.* 1997, 65, N 2, 11-19.
22. Aggour A., Mostafa H., Maged W. Endoscopic management of ejaculatory duct obstruction // *Int. Urol. Nephrol.* 1998, 30, N 4, 481-485.
23. Paick J., Kim S.H., Kim S.W. Ejaculatory duct obstruction in infertile men // *Brit. J. Urol. Int.* 2000, 85, N 6, 720-724.
24. Schroeder-Printzen I., Ludwig M., Koh F., Weidner W. Surgical therapy in infertile men with ejaculatory duct obstruction: technique and outcome of standardized surgical approach // *Hum. Reprod.* 2000, 15, N 6, 1364-1368.
25. Свердлофф Р., Вхасин Ш. Нарушение половой функции у мужчин // *Эндокринология. Под ред. Н. Лавина. М.: Практика, 1999, 367-409.*
26. Von Eckardstein S., Cooper T.G., Putsha K. et al. Seminal plasma characteristics as indicators cistic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in men with obstructive azoospermia // *Fertil. Steril.* 2000, 73, N 6, 1226-1231.
27. Casals T., Bassas L., Egozcue S. et al. Heterogeneity for mutation in the CFTR gene and clinical correlation in patients with congenital absence of the vas deferens // *Hum. Reprod.* 2000, 15, N 7, 1476-1483.
28. Кулаков В.И., Серов В.Н., Адамян Л.В. и др. Руководство по охране репродуктивного здоровья. М.: Триада-X, 2001, 442-467.
29. Gonzales G.F. Corrected seminal fructose test // *Arch. Androl.* 1994, 33, N 1, 17-22.
30. Ludwig M., Kummel C., Schroeder-Printzen I. et al. Evaluation of seminal plasma parameters in patients with chronic prostatitis or leukocytospermia // *Andrologia.* 2000, 30, Suppl. 1, 41-47.
31. Rathore N., Gupta A.S., Rathore A.S., Kothafi L.K. A correlative study of seminal biochemistry and testicular histology in infertile males // *Physiol. Pharmacol.* 1978, 22, N 4, 358-363.
32. Gonzales G.F., Garcia-Ijarles M.A. Blood/seminal serotonin levels in infertile men with varicocele // *Arch. Androl.* 1990, 24, N 2, 193-199.
33. Pawlowicz P., Stachowiak G., Bielak A., Wilczynski J. Administration of natural anthocyanins derived from chokeberry (aronia melanocarpa) extract in the treatment of oligospermia in males with enhanced autoantibodies to oxidized low density lipoproteins (OLAB). The impact on fructose levels // *Ginecol. Pol.* 2001, 72, N 12, 983-988.
34. Gonzales G.F., Villena A. Influence of low corrected seminal fructose levels on sperm chromatin stability in semen from men attending an infertility service // *Fertil. Steril.* 1997, 67, N 4, 763-768.
35. Gonzales G.F., Villena A. Tru corrected seminal fructose level: a better marker of the function of seminal vesicles in infertile men // *Int. J. Androl.* 2001, 24, N 5, 225-260.
36. Cooper T.G., Weidner W., Nieschlag E. The influence of inflammation of the human male genital tract on secretion of the seminal marcers alphaglucoasidase, glycerophosphocholine, carnitine, fructose and citric acid // *Int. J. Androl.* 1990, 13, N 5, 329-336.
37. Von der Kammer I., Scheit K.I., Weidner W., Cooper T.G. The evaluation of markers of prostatic function // *Urol. Res.* 1991, 19, N 6, 343-347.
38. Simbini T., Umapathy E., Jacobus E. et al. Study on seminal leucocytospermia on sperm characteristics // *Urol. Int.* 1998, 61, N 2, 95-100.
39. Carpino A., De Santis V., Siciliano L. et al. Epididymal and sex accessory gland secretions

- in transfusion-dependent beta-thalassemic patients: evidens of an impaired prostatic function // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. 1997, 105, N 3, 169-174.
40. Sheriff S.D. Setting standards of male fertility. Semen analyses in 1500 patients – a report // *Andrologia*. 1983, 15, N 6, 687-692.
 41. Jung A., Schuppe H.C., Schill W.B. Comparison of semen quality in older and younger men attending an andrology clinic // *Andrologia*. 2002, 34, N 2, 116-122.
 42. Демченко О.М., Бондаренко В.О., Бурма Т.Ю. та ін. Динаміка гормонального та репродуктивного статусів при активації дії ендогенних гонадотропінів у чоловіків із безпліддям // *Урологія*. 2000, 4, № 3, 70-73.
 43. Горпинченко И.И. Простатит в этиологии патоспермии // *Сексология и андрология*. 1998, вып. 4, 20-24.
 44. Горпинченко И.И., Малышкин И.Н. Патогенез бесплодия у мужчин // *Сексология и андрология*. Под ред. А.Ф. Возианова, И.И. Горпинченко. К.: Абрис, 1997, 716-743.
 45. Демченко А.Н., Бондаренко В.А., Бурма Т.Е. Репродуктивная функция у мужчин с отклонениями пубертатной маскулинизации // *Сексология и андрология*. 1998, вып. 4, 52-55.
 46. Демченко О.М., Бондаренко В.О., Бречка Н.М. та ін. Досвід використання тестостерону ундеканоату в комплексі з токоферолом ацетатом при терапії неплідності у чоловіків // *Урологія*. 2001, 5, № 3, 42-45.
 47. Гладкова А.И. Гормональная регуляция плодовитости мужчин // *Сексология и андрология*. 1998, вып. 4, 28-32.
 48. Демченко А.Н. Клиническая диагностика и терапия мужского препубертатного гипогонадизма: Метод. рекоменд. Харьков, 2000. 16 с.
 49. Ткачук В.Н., Гробачев А.Г., Агулянский Л.И. Хронический простатит. Л.: Медицина, 1989, 96-141.
 50. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.

Уровень андрогенизации и концентрации фруктозы в эякуляте у мужчин с гипопертильностью

В.А.Бондаренко, А.Н.Демченко, Т.Е.Бурма, Н.М.Бречка, Л.А.Сиротенко
Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я.Данилевского АМН Украины, 61002 Харьков, Украина

Проведено изучение показателей спермограмм, концентрации фруктозы в эякуляте, уровней тестостерона и эстрадиола в сыворотке крови у мужчин с различными вариантами патоспермий. Установлено наличие положительной корреляции между концентрацией фруктозы в семенной жидкости и уровнем абсолютной и относительной андрогенизации при идиопатической олигозооспермии, а также олигозооспермии при хроническом простатите. Показано, что в случаях патоспермий, которые обусловлены перинатальной отягощенностью, отмечается уменьшение фруктозы на единицу тестостерона, что свидетельствует о снижении реализации его действия.

Ключевые слова: гипопертильность, семенные пузырьки, патоспермий, тестостерон, эстрадиол, фруктоза.

Androgenization level and fructose concentration in the ejaculate of men with hypofertility

V.A.Bondarenko, A.N.Demchenko, T.J.Burma, N.M.Brechka, L.A.Sirotenko
V.Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of AMS, 61002 Kharkiv, Ukraine

Sperm indices, concentrations of fructose in the ejaculate and plasma testosterone and estradiol in peripheric blood in men with different kinds of sperm pathology have been researched. Positive correlation between semen fructose concentration and level of absolute and relative androgenization in idiopathic oligozoospermia and chronic prostatitis has been established. It has been shown that in cases of pathospermia induced by perinatal burdening a decrease of the amount of fructose on unit of testosterone is noted. The above data demonstrate a decrease of realization of testosterone action.

Key words: hypofertility, seminal vesicles, pathospermia, testosterone, estradiol, fructose.

(Надійшла 23.10.2002)

ВПЛИВ АКТИВАЦІЇ БІЛКОВОГО СИНТЕЗУ НА РЕАЛІЗАЦІЮ ДІЇ АНДРОГЕНІВ

О.М.Демченко, Є.М.Коренєва, Н.М.Бречка*, Л.А.Сиротенко

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

З метою перевірки гіпотетичної можливості нестероїдних анаболіків модулювати активність тестостерону вивчали вплив фармакологічної активації білкового синтезу на дію андрогенів шляхом застосування препаратів оротату калію, метилурацилу та метіоніну. Було проведено дві серії експериментів. Для вирішення питання, чи вищеназвані препарати діють на органи-мішені до андрогенів, потенціюють вони, чи гальмують дію екзогенного тестостерону, дослідження виконували на гонадектомованих 65-денних самцях щурів. Препарати призначали окремо або разом з тестостерону пропіонатом. У другій серії досліджувалась здатність препаратів впливати на статеве дозрівання особин чоловічої статі. Для цього інтактні тварини, починаючи з віку 50-55 днів, протягом 20 днів отримували вищеназвані препарати. Встановлено, що активатори білкового синтезу оротат калію, метилурацил та метіонін у терапевтичній дозі не мають власного андрогенного ефекту. Введення цих препаратів гонадектомованим самцям щурів сумісно з тестостерону пропіонатом обмежує гіперстимулюючу дію останнього на органи-мішені, особливо це помітно у разі застосування метіоніну, що свідчить про його можливі антиандрогенні ефекти. У інтактних тварин активація анаболізму за допомогою вищезначених препаратів стимулює реалізацію дії ендогенних гормонів системи гіпофіз-гонади в процесі пубертату. Препарати оротат калію, метилурацил та метіонін здійснюють модулюючу дію на органи репродуктивної системи і можуть залучатися для терапії андрогензалежних патологій.

Ключові слова: андрогенний ефект, передміхурова залоза, сім'яні міхурці, нестероїдні анаболіки, пубертат, модуляція дії тестостерону.

Відомо, що андрогени, крім специфічної, мають виражену анаболічну дію [1-3]. На основі андрогенів навіть створена серія анаболічних препаратів з послабленим специфічним ефектом [4-6]. Стероїдні анаболіки, які, як правило, є слабкими андрогенами, при їх сумісному призначенні з тестостерону пропіонатом (ТП) блокують дію останнього на органи-мішені, тобто виступають як слабкі антиандрогени [7]. Поза тим, дослідження щодо впливу нестероїдних анаболіків на специфічну дію тестостерону практично відсутні, незважаючи на гіпотетичну можливість їх модулюючої дії на його активність.

З метою перевірки цієї можливості в даній роботі було вивчено вплив активації білкового синтезу на дію андрогенів шляхом застосування препаратів оротату калію, метилурацилу та метіоніну, які є нестероїдними анаболіками [8].

Матеріали та методи

Експериментальні дослідження виконувались на самцях щурів популяції Вістар. Маса тіла щурів на початку експерименту складала від 70-80 до 100 г. Використано 110 тварин. Для вирішення питання, чи виявляють означені препарати дію на органи-мішені до андрогенів, потенціюють вони чи гальмують дію екзогенного тестостерону, дослідження здійснювали на гонадектомованих (ГЕК) 65-денних самцях щурів. У віці 73-75 днів протягом п'яти днів одноразово вводили вищеназвані препарати, а саме: оротат калію у дозі 150 мг на кг маси тіла, метіонін – 100 мг на кг маси тіла та метилура-

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

цил – 115 мг на кг маси тіла. Препарати призначали окремо або разом з ТП, який вводили в дозі 1 мг на кг маси тіла.

У другій серії експериментів досліджували спроможність зазначених вище препаратів впливати на статеве дозрівання самців. Для цього інтактні тварини, починаючи з віку 50-55 діб, протягом 20 днів отримували ці препарати.

В обох серіях експериментів використовували інтактний контроль.

Після декапітації вилучали вентральну долю передміхурової залози і сім'яні міхурці, зважували, визначали активність кислої фосфатази (КФ) за методом Боданського [9] і вміст фруктози за методом Бокуняєвої [10]. Кількість спостережень у всіх групах складала 5-7 тварин. Отримані дані піддавали статистичній обробці з використанням критерію t Стюдента.

Результати дослідження

У першій серії експериментальних досліджень з'ясовувалось питання, чи мають нестероїдні анаболіки власний андрогенний ефект. При цьому вивчали їх вплив на посткастраційне відновлення органів-мішеней у порівнянні з дією, що спричинена ТП.

Дані, наведені у табл. 1, свідчать про те, що після ГЕК відносна маса вентральної долі передміхурової залози знижується на 60 %, сім'яних міхурців – на 54 % ($P_{1,2} < 0,001$). Це узгоджується із загальновідомими фактами про андрогенну залежність цих органів. Призначення ТП призводить, як і очікувалось, до підвищення маси вентральної долі передміхурової залози та сім'яних міхурців у гонадектомованих тварин, що перевищує рівень, який спостерігається у інтактних тварин ($P_{1,3} < 0,001$).

Коли гонадектомовані тварини отримували препарати метіонін, оротат калію чи метилурацил, відносна маса обох андрогензалежних залоз не збільшувалась.

Таким чином, виходячи з наведених даних, ці препарати не мають андрогенної дії, що підтверджується незмінною масою вентральної долі передміхурової залози та сім'яних міхурців. У той же час звертає на себе увагу той факт, що під впливом метіоніну підвищується концентрація фруктози в сім'яних міхурцях, яка в даній групі тварин досягає рівня інтактних щурів, але нижча за показники у групі, яка отримувала ТП (табл. 1).

Вивчення впливу досліджуваних препаратів на андрогенний ефект ТП показано в табл. 1. Дані таблиці свідчать, що сумісне призначення метіоніну та ТП призводить до стримання ефекту останнього на андрогензалежні органи. Так, під впливом сумісного призначення препаратів метіоніну і ТП маса вентральної долі передміхурової залози знижується на 46 % відносно цього показника при введенні лише ТП, але вірогідно вища за таку у кастрованих тварин. Маса сім'яних міхурців при сумісному призначенні екзогенного андрогену та метіоніну нижча, ніж при введенні одного ТП, і дорівнює масі інтактних тварин. При вивченні функціонального стану цього органа проявляється дія ТП, концентрація фруктози у сім'яних міхурцях не відрізняється від такої у групі, яка отримувала тільки андроген без метіоніну.

Сумісне введення метилурацилу та ТП призвело до того, що відносна маса вентральної долі передміхурової залози нормалізувалась, тоді як відносна маса сім'яних міхурців в цій групі була вищою, ніж у інтактних тварин, так само як і при застосуванні тільки одного ТП (табл. 1). Кількість фруктози в сім'яних міхурцях при сумісному введенні ТП і метилурацилу дорівнює нормі та вірогідно нижча, ніж при вживанні тільки ТП.

У групі тварин, в якій застосовували оротат калію сумісно з ТП, відмічалась нормалізація відносної маси сім'яних міхурців, підвищувалась маса вентральної долі передміхурової залози, яка сягала за межі норми і дорівнювала такій, що була у групі тварин, які отримували тільки ТП. Концентрація фруктози у цих тварин була нижчою, ніж при вживанні тільки ТП і її значення

Таблиця 1. Вивчення андрогенної активності препаратів з анаболічною дією у гонадектомованих щурів самців ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

Група тварин	Вірогідність різниці	Маса, мг на 100 г маси тіла		Концентрація фруктози, ммоль на г тканини сім'яних міхурців
		вентральна доля передміхурової залози	сім'яні міхурці	
1. Інтактні		74,8±5,1	168,2±0,7	0,539±0,040
2. ГЕК + олія		29,9±4,9	78,3±12,0	0,125±0,018
	$P_{1,2}$	<0,001	<0,001	<0,001
3. ГЕК + ТП		102,2±9,5	419,8±35,3	2,067±0,348
	$P_{1,2}$	<0,02	<0,001	<0,001
	$P_{2,3}$	<0,001	<0,001	<0,001
4. ГЕК + метіонін		26,6±2,4	71,8±5,0	0,497±0,125
	$P_{1,4}$	<0,001	<0,001 >0,1	>0,1
	$P_{2,4}$	>0,1		<0,01
5. ГЕК + оротат калію		14,4±2,2	32,3±3,8	0,234±0,040
	$P_{1,5}$	<0,001	<0,001	<0,001
	$P_{2,5}$	<0,01	<0,001	>0,1
6. ГЕК + метилурацил		33,0±5,0	72,0±10,0	0,093±0,022
	$P_{1,6}$	<0,001	<0,001	<0,001
	$P_{2,6}$	>0,1	>0,1	>0,1
7. ГЕК + метіонін + ТП		55,2±5,0	100,2±20,0	1,751±0,210
	$P_{1,7}$	<0,01	>0,1	<0,001
	$P_{2,7}$	<0,001	<0,001	<0,001
	$P_{3,7}$	<0,001	<0,001	>0,1
8. ГЕК + оротат калію + ТП		80,1±8,6	273,9±30,8	1,260±0,080
	$P_{1,8}$	>0,1	<0,001	>0,1
	$P_{2,8}$	<0,001	<0,001	<0,001
	$P_{3,8}$	0,5 < P < 0,1	<0,002	<0,002
9. ГЕК + метилурацил + ТП		117,3±11,0	146,0±13,5	1,165±0,050
	$P_{1,9}$	<0,001	>0,1	>0,1
	$P_{2,9}$	<0,001	<0,001	<0,001
	$P_{3,9}$	>0,1	<0,001	<0,005

відповідали показникам, які спостерігалися у інтактних тварин. Тобто, сумісне призначення ТП та оротату калію було сприятливішим, ніж застосування цих препаратів окремо.

З метою вивчення впливу метіоніну, оротату калію та метилурацилу на активацію гормонів системи гіпофіз-гонади в процесі пубертату виконана інша серія експериментальних робіт. Дослідження здатності нестероїдних фармацевтичних препаратів з анаболічною дією впливати на соматичний розвиток та розвиток репродуктивної системи самців-щурів здійснювали на статевонедозрілих тваринах протягом 20 діб.

Згідно з даними, наведеними у табл. 2, відносна маса сім'яників під впливом досліджуваних препаратів не відрізнялась від такої у інтактних тварин ($P_{1,2}-P_{1,4} > 0,1$). Що стосується маси вентральної долі передміхурової залози, то вона під впливом цих препаратів збільшувалась, але найбільше – при введенні тваринам метіоніну. Маса сім'яних міхурців також позитивно змінювалась – вона вірогідно збільшувалась у тварин всіх піддослідних груп.

Зміни концентрації фруктози в сім'яних міхурцях наведені в табл. 3.

Призначення метіоніну призводить не тільки до збільшення маси сім'яних міхурців, але й до більшої функціональної активності органа, що проявляєть-

Таблиця 2. Маса андрогензалежних органів статевонедозрілих щурів самців, які отримували лікарські засоби протягом 20 діб ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

Умови експерименту	Маса андрогензалежних органів, мг на 100 г маси тіла		
	сім'яники	вентральна доля передміхурової залози	сім'яні міхурці
Контроль (інтактні тварини)	914,0 $\pm$ 67,0	74,8 $\pm$ 5,1	168,2 $\pm$ 7,0
Метіонін	991,0 $\pm$ 59,0 P>0,1	109,5 $\pm$ 16,0 P<0,001	224,0 $\pm$ 41,0 <0,001
Оротат калію	877,0 $\pm$ 46,0 P>0,1	86,0 $\pm$ 14,0 P<0,001	222,3 $\pm$ 39,0 P<0,001
Метилурацил	803,0 $\pm$ 48,0 P>0,1	77,0 $\pm$ 6,0 P<0,001	193,5 $\pm$ 29,0 P<0,001

Примітка. У табл. 2 і 3 P – вірогідність різниці у порівнянні з контролем.

Таблиця 3. Вплив лікарських засобів на активність кислої фосфатази у вентральній долі передміхурової залози та вміст фруктози у сім'яних міхурцях щурів самців ($\bar{X} \pm S\bar{x}$)

Умови експерименту	Фруктоза, ммоль на мг тканини сім'яних міхурців	КФ, мкг Р на 1 г тканини передміхурової залози за годину	КФ, мкг Р на орган за годину
Контроль (інтактні тварини)	0,539 $\pm$ 0,040	3,000 $\pm$ 0,500	2,900 $\pm$ 1,300
Метіонін	1,261 $\pm$ 0,062 P<0,001	4,100 $\pm$ 0,500 P>0,1	3,600 $\pm$ 1,200 P>0,1
Оротат калію	0,570 $\pm$ 0,091 P>0,1	15,100 $\pm$ 4,40 P<0,01	21,600 $\pm$ 3,90 P<0,001
Метилурацил	0,513 $\pm$ 0,057 P>0,1	3,300 $\pm$ 0,800 P>1	3,800 $\pm$ 1,000 P>0,1

ся у підвищенні концентрації фруктози (табл. 3). При введенні оротату калію концентрація фруктози лишається такою ж самою, як і у інтактних тварин. Аналогічна картина була при застосуванні метилурацилу.

При введенні препаратів метіоніну та метилурацилу протягом 20 діб ми спостерігали нормальну активність одного з головних андрогензалежних ферментів передміхурової залози – КФ (табл. 3), тоді як призначення оротату калію спричиняло значне підвищення активності цього ферменту ($P_{1,3} < 0,01$).

Концентрація фруктози в сім'яних міхурцях ГЕК щурів складала 23 % від такої в інтактних тварин (табл. 3). Призначення ТП призводило до значного підвищення рівня фруктози, який у даному випадку був вищий за норму ($P < 0,001$). При введенні одного метіоніну ГЕК тваринам рівень фруктози підвищувався у три рази відносно групи ГЕК щурів, але не досягав норми. При застосуванні метіоніну разом з ТП концентрація фруктози була такою ж високою, як і у самців, що отримували тільки ТП ($P_{1,5} > 0,1$). Таким чином, метіонін був ефективний щодо змін концентрації фруктози у сім'яних міхурцях при вживанні окремо та разом з ТП. Активність КФ передміхурової залози у щурів, що отримували метіонін сумісно з ТП, нормалізувалась.

Висновки

1. Активатори білкового синтезу – препарати оротат калію, метилурацил та метіонін у терапевтичних дозах не мають власного андрогенного ефекту.

2. Введення цих препаратів сумісно з ТП гонадектомованим самцям щурів обмежує гіперстимулюючий ефект останнього на органи-мішені; це особливо помітно у разі застосування метіоніну, що свідчить про його можливий анти-андрогенний ефект.

3. В інтактних тварин активація анаболізму за допомогою застосування метіоніну, метилурацилу та оротату калію стимулює реалізацію дії ендогенних гормонів системи гіпофіз-гонади в процесі пубертату.

4. Препарати метіонін, метилурацил та оротат калію справляють модулюючу дію на органи репродуктивної системи і можуть включатися у схеми терапії андрогензалежних патологій.

5. Необхідне подальше поглиблене вивчення можливих механізмів дії нестероїдних активаторів білкового синтезу на гормональні механізми, які забезпечують процес пубертатогенезу.

Література

1. Arslanian S., Suprasongsin Ch. Testosterone treatment in adolescents with delayed puberty: Changes in body composition, protein, fat, and glucose metabolism // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1997, 82, N 10, 3213 - 3220.
2. Where have all the steroids gone? (Abstr.) Meet. Soc. Endocrinol. Endocrine Sec. Roy. Soc. Med., London, 25 - 27 Nov. 1992 // J. Endocrinol. 1992, 135, Suppl., p. 1.
3. Сексология и андрология. Под. ред. А.Ф. Возианова, И.И. Горпинченко. К.: Абрис, 1997. 880 с.
4. Розен В.Б., Смирнов А.Н. Рецепторы и стероидные гормоны. М.: Изд-во МГУ, 1981. 312 с.
5. Кучеренко Н.Е., Германюк Я.Л., Васильев А.Н. и др. Молекулярные механизмы гормональной регуляции обмена веществ. К.: Вища школа, 1986. 248 с.
6. Тронько Н.Д. Обмен стероидных гормонов при эндокринной патологии. К.: Здоров'я, 1982. 96 с.
7. Boyadiev N.P., Georgieva K.N., Massaldjieva R.I., Gueorguiev S.I. Reversible hypogonadism and azoospermia as a result of anabolic-androgenic steroid use in a bodybuilding with personality disorder. A case report // J. Sports Med. Phys. Fitness. 2000, 40, N 3, 271 - 274.
8. Машковский В.А. Лекарственные средства. Т. 2. М.: Медицина, 1993. 527 с.
9. Тиктинский О.Л. (ред.) Руководство по андрологии. Л.: Медицина, 1990. 416 с.
10. Бокуняева Н.И. Выделения половых органов: Справочник по клиническим и лабораторным методам исследования. М., 1975, 331-340.

Влияние активации белкового синтеза на реализацию действия андрогенов

А.Н.Демченко, Е.М.Коренева, Н.М.Бречка, Л.А.Сиротенко

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

С целью проверки гипотетической возможности нестероидных анаболиков модулировать активность тестостерона было проведено изучение влияния фармакологической активации белкового синтеза на действие андрогенов путем применения препаратов оротата калия, метилурацила и метионина. Было проведено две серии экспериментов. Для решения вопроса о влиянии указанных препаратов на органы-мишени к андрогенам, потенцированию или торможении действия экзогенного тестостерона исследования проводили на гонадектомованных 65-дневных самцах крыс. Препараты назначали отдельно или совместно с тестостерона пропионатом. Для изучения способности препаратов влиять на половое созревание особей мужского пола интактные животные, начиная с возраста 50-55 дней, на протяжении 20 суток получали вышеуказанные препараты. На основании полученных данных сделан вывод о том, что активаторы белкового синтеза оротат калия, метилурацил и метионин в терапевтической дозе не имеют собственного андрогенного эффекта. Введение этих препаратов совместно с тестостерона пропионатом гонадектомованным самцам крыс ограничивает гиперстимулирующий эффект последнего на органы мишени. У интактных животных активация анаболизма при помощи указанных препаратов стимулирует реализацию действия эн-

догенных гормонов системы гипофиз-гонады в процессе пубертата. Препараты оротат калия, метилурацил и метионин обладают модулирующим действием по отношению к органам репродуктивной системы и могут включаться в схемы терапии андрогензависимых патологий.

Ключевые слова: андрогенный эффект, предстательная железа, семенные пузырьки, нестероидные анаболики, пубертат, модуляция действия тестостерона.

The influence of protein synthesis activation on androgen activity realization

A. Demchenko, E. Koreneva, N. Brechka, L. Sirotenko

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

The study of the effect of pharmacologic activation of protein synthesis on androgen action by means of potassium orotate, methyluracil and methionine has been conducted in order to examine hypothetical potential of nonsteroid anabolics to modulate testosterone activity. Two series of experiments have been carried out. To make a conclusion whether the investigated drugs have an influence on androgen target organs, potentiate or inhibit exogenous testosterone action this research was carried out in gonadectomized male rats aged 65 days in the first series. The drugs (potassium orotate, methyluracil and methionine) were administered alone or in combination with testosterone propionate. The drugs abilities to influence pubescence of males have been studied in the second series. For that purpose the drugs under study were injected to intact animals aged 50-55 days during 20 days.

We have concluded that potassium orotate, methyluracil and methionine as activators of protein synthesis in their therapeutical doses do not make a proper androgenous effect. These drugs injections in combination with testosterone propionate given to gonadectomized male rats, limit a hyperstimulative effect of the latter on target organs. The anabolism activation by studied drugs stimulates an endogenous hormones effect of pituitary-gonadal system in puberty of intact animals.

Potassium orotate, methyluracil and methionine possess modulation effect on reproductive organs and may be included in therapy of androgen-dependent pathology.

Key words: androgen action, prostatic gland, sperm vesicles, nonsteroid anabolics, puberty, modulation of testosterone effect.

(Надійшла 23.10.2002)

СИНДРОМ ГІПЕРПРОЛАКТИНЕМІЇ У ХВОРИХ З МЕНІНГІОМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

М.С.Кваша*

Інститут нейрохірургії ім. А.П.Ромоданова АМН України, 04050 Київ, Україна

Проаналізовані клінічні, інструментальні і лабораторні дослідження у 28 хворих (23 жінки і 5 чоловіків) з менінгіомами головного мозку (МГМ), у яких виявлена гіперпролактинемія. Визначено діагностичні критерії синдрому гіперпролактинемії у хворих з МГМ, якими є: аменорея, тривала лактація і ознаки порушення гіпоталамо-гіпофізарної функції на тлі осередкової неврологічної симптоматики і/або внутрішньочерепної гіпертензії. Виявлено, що рівень пролактину у хворих з МГМ мав значні коливання – від 1,3 до 94,1 нг/мл. У 17 пацієнтів вміст пролактину у плазмі крові знаходився у межах коливань норми (8,25-18,5 нг/мл), у 9 – перевищував верхній рівень у здорових і у 2 – був нижчим норми. У жінок в постменопаузі, при злоякісних МГМ рівень пролактину вищий, ніж при доброякісних пухлинах. Запропоновані схеми лікування синдрому гіперпролактинемії у хворих з МГМ і проведена їх клінічна апробація. Найефективнішим було радикальне хірургічне лікування, доповнене медикаментозною корекцією парлоделом (бромокриптином) або каберголіном (достінексом).

Ключові слова: менінгіоми головного мозку, синдром гіперпролактинемії, діагностика, клініка, лікування.

Менінгіоми головного мозку – екстрацеребральні пухлини, що розвиваються головним чином із клітин внутрішнього листка твердої мозкової оболонки (ТМО), рідше – з м'яких мозкових оболонок і менінготеліальних компонентів судинних сплетінь, добре відмежовані від мозку, але тісно зв'язані з ТМО і венозними сплетіннями. Пухлини частіше зустрічаються в дорослих і складають 15-20 % всіх пухлин головного мозку; ростуть повільно, часто рецидивують після хірургічного лікування [1-3].

За сучасними уявленнями, МГМ – гормонозалежні пухлини [1, 3-5]. Виникають МГМ переважно у жінок (в 2-4 рази частіше, ніж у чоловіків), особливо в періоди гормональних перебудов (під час вагітності), у 50-70 % випадків супроводжуються іншими гормонозалежними пухлинами, зокрема, лейоміомами матки і пухлинами молочних залоз; в структурі пухлин виявлені високі рівні естрогенових і прогестеронових рецепторів [1, 3].

У хворих з МГМ відбуваються значні морфологічні і функціональні порушення в гіпоталамо-гіпофізарній системі [1, 3, 6], що призводить до розладу лактотропної функції гіпофіза, яка виражається в неконтрольованому підвищенні рівня пролактину (ПРЛ) і спричиняє появу синдрому гіперпролактинемії (СГ). ПРЛ впливає на вуглеводний, жировий і водно-електролітний обмін, відіграє важливу роль у становленні і регуляції репродуктивної функції як у жінок, так і у чоловіків. Основна роль ПРЛ у жінок – стимуляція лактації та участь у регуляції менструального циклу, у чоловіків – вплив на функціонування тестикул, синтез і обмін андрогенів [6, 7].

ПРЛ синтезується лактотропними клітинами аденогіпофіза і секретується в кров у дуже невеликих кількостях. В нормі концентрація ПРЛ у сироватці крові не перевищує 15 нг/мл [6]. Секреція ПРЛ постійно гальмується гіпоталамічним гормоном дофаміном. Останній утворюється в нейронах паравентри-

*Адреса для листування (Correspondence): Інститут нейрохірургії ім. А.П.Ромоданова АМН України, вул. Мануїльського, 32, 04050 Київ, Україна; факс: (044) 213-95-73

кулярних ядер, а також у нейронах ядра лійки і дугоподібного ядра гіпоталамуса. Дофамін надходить у воротну систему гіпофіза і зв'язується з дофаміновими рецепторами на лактотропних клітинах. Секреція ПРЛ підсилюється під дією естрогенів, тіроліберину і нервових імпульсів [1, 6]. Патологічна гіперпролактинемія зустрічається рідко і завжди служить ознакою невиявлених гіпоталамо-гіпофізарних розладів [6, 8].

Спираючись на вищенаведене, метою нашого дослідження стало вивчення особливостей проявів і перебігу СГ у хворих з МГМ на основі клінічних, інструментальних і лабораторних даних, опрацювання рекомендацій щодо патогенетичних методів лікування та їх клінічна апробація.

Матеріали і методи

Обстежено 28 хворих з МГМ (23 жінки і 5 чоловіків) віком від 34 до 68 років, оперованих в Інституті нейрохірургії АМН України в 2000-2002 рр., з діагностованим у них СГ. Контрольну групу склали 12 здорових жінок та 5 чоловіків. Всі обстежені жінки в залежності від стану менструальної функції були розділені на 3 групи: репродуктивну (5 хворих), перименопаузальну (12 хворих) і постменопаузальну (6 хворих). Чоловіки були у віці 39-47 років. Кожна група вивчалася окремо у зв'язку з особливостями функціонування ендокринної системи в різних вікових періодах.

Діагноз МГМ в усіх хворих підтверджений гістологічним дослідженням видаленої пухлини. Морфологічна структура пухлини оцінювалася відповідно до класифікації ВООЗ (2-е видання, 1993) [9, 10]. За ступенем злоякісності МГМ розділили на типові (I ступінь анаплазії) – 21 спостереження, атипіві (II ступінь анаплазії) – 5 спостережень і анапластичні (злоякісні, III ступеня анаплазії) – 2 спостереження.

Обстеження хворих включало 3 аспекти: клінічний, інструментальний і гормональний. Всі вони мали за мету виявити різні ознаки гіперпролактинемії в організмі хворих з МГМ.

При клінічному обстеженні у хворих детально вивчали анамнез, що дозволило виділити симптоми, які відображають нейроендокринний статус: зниження генеративної функції, гіперпластичні процеси ендометрію, міоми матки, пухлинні захворювання яєчників і молочних залоз, щитоподібної залози. Враховувалися також ожиріння і гіпертонічна хвороба, як захворювання, що зв'язані з гіпоталамічними порушеннями.

Інструментальне дослідження включало виконання рентгенографії черепа в 2 проекціях, комп'ютерної томографії (КТ) і магніторезонансної томографії (МРТ) головного мозку та основи черепа.

Гормональне обстеження здійснювалося з метою вивчення гормонального тла, на якому розвивалися МГМ із СГ, і визначення впливу хірургічного лікування на гормональний баланс. Рівень ПРЛ визначався до початку лікування, на етапах лікування і у різні терміни спостереження за хворими. Кров для гормональних досліджень забирали ранком натще з ліктьової вени. У 7 хворих гормони досліджували повторно на тлі продовженого росту і рецидиву МГМ. Рівень ПРЛ визначали радіоімунологічним методом із використанням стандартних тест-наборів фірми "Immunotech" (Республіка Чехія).

Результати та їх обговорення

Класичною клінічною картиною СГ у жінок є аменорея, галакторея і безпліддя [6]. Однак у хворих з МГМ (особливо за наявності внутрішньочерепної гіпертензії) аменорея виникала і без галактореї, так само як і галакторея у частини хворих з МГМ появлялась самостійно, а у 2 із 5 жінок репродуктивного періоду з СГ взагалі не порушувався менструальний цикл. Лише у 4 жінок галакторея була першим симптомом СГ (не більш ніж у 20 %) і ще рідше (лише у 2) – основною скаргою. Іноді навіть при значному рівні ПРЛ галакторея була відсутня. Ступінь галактореї варіював від спонтанної і непостійної до одиничних крапель.

У чоловіків з МГМ (особливо при базальній локалізації) у 3 знижувалося лібідо, розвилася переважно спорадична імпотенція і у 2 – безпліддя внаслідок олігоспермії. Чоловіки з СГ звертали увагу на появу сексуальних розладів, рідше – на безплідність, а гінекомастія і галакторея у них зустрічалися лише у 2 випадках із 5. Частіше це спостерігалось в чоловіків із лобно-базальними

менінгіомами, або менінгіомою діафрагми турецького сидла з інфраселярним ростом.

У хворих з МГМ в залежності від локалізації пухлини в першу чергу виникали ознаки і симптоми об'ємного впливу на мозок – головні болі, порушення зору (бітемпоральна геміанопсія внаслідок здавлення перехрестя зорових нервів), параліч окорухових м'язів, гідроцефалія, судоми і навіть лікворея. Ці симптоми часто зустрічалися і супроводжували СГ при анте-супра-пара- та інфраселярному рості МГМ, або при вираженій дислокації (до 15-18 мм) серединних структур мозку. У клінічній картині захворювання переважали поєднання симптомів випадіння тропних гормонів гіпофіза й ознак поширеності (супраселярного росту) пухлини – головні болі і порушення зорових функцій.

Крім розладів статевої і репродуктивної функцій, у 2 чоловіків і 5 жінок із СГ, навіть у післяопераційному періоді, прогресивно зменшувалася щільність кісток і розвивався остеопороз, що супроводжувалося болями, причому вираженість цих симптомів зменшувалася лише при нормалізації рівнів ПРЛ і статевих гормонів у сироватці крові.

У цілому, у чоловіків з МГМ і СГ пухлини мали більші розміри (3,5-5 см), частіше виявляли схильність до інвазії кісток черепа (63 % проти 42 % у жінок) і звичайно поширювалися за межі турецького сидла до моменту їх виявлення. У жінок репродуктивного віку розвиток гіпогонадізму проявлявся порушенням менструального циклу, тоді як у чоловіків зниження лібідо та імпотенція найчастіше розцінювалися як функціональні. Тому, через пізню діагностику, у чоловіків пухлина виявлялася, коли вона досягала досить великих розмірів, викликала синдром внутрішньочерепної гіпертензії, зорові порушення, гіпогонадізм.

Оскільки хронічний СГ вказував на порушення секреції ПРЛ, то основним діагностичним критерієм служило визначення рівня ПРЛ у сироватці крові. Помірний СГ виявлявся при гіпотиреозі (8 хворих) або в тих випадках, коли підвищення рівня ПРЛ збігалось з прийомом гормональних препаратів (5 хворих).

Всім хворим із СГ виконана рентгенографія черепа, при цьому були виявлені ознаки підвищеного внутрішньочерепного тиску (гіперпневматизація пазух основної кістки, пальцеві вдавлення, посилення судинного малюнка), поглиблення дна, атрофія спинки і навіть деструкції турецького сидла. Як правило, пара- та інтраселярні МГМ середнього і великого розмірів доступні звичайній краніографії. Виявлення МГМ невеликих розмірів (до 1 см) і площинних пов'язано зі значними труднощами.

Найбільш адекватними методами візуалізації новоутворень гіпоталамо-гіпофізарної ділянки були комп'ютерна томографія і магніторезонансна томографія. КТ використовувалася не тільки для первинної діагностики селярних і біяселярних МГМ, але і для спостереження за динамікою пухлинного процесу. Використання даних КТ при динамічних спостереженнях у поєднанні з гормональними дослідженнями давало надзвичайно цінну інформацію про ефективність терапії. МРТ значно розширювала можливості візуалізації гіпоталамо-гіпофізарної ділянки (у зв'язку з використанням багатопроєкційного дослідження), особливо в сагітальній проєкції, давала додаткову цінну інформацію щодо змін навколо пухлини і, що найбільш важливо, інформацію про структуру самої пухлини. При малих розмірах МГМ (менше 1 см) використовували досконаліші методи діагностики – селективну ангіографію з контрастуванням кавернозних синусів і позитронно-емісійну томографію.

Стан пролактинсекретуючої функції гіпофіза вивчався у всіх 28 хворих з МГМ. Як у жінок, так і у чоловіків коливання рівня ПРЛ були значними – від 1,3 до 94,1 нг/мл. У 17 хворих вміст ПРЛ знаходився у межах коливань норми (8,25-18,5 нг/мл), у 9 – перевищував верхній рівень у здорових і у 2 – був

нижчим норми. Незважаючи на те, що різниця середніх концентрацій ПРЛ у сироватці крові жінок репродуктивного періоду (для лютеїнової фази менструального циклу) порівняно з нормою статистично невірогідна ($P > 0,05$), все ж таки простежувалася тенденція до підвищення середнього рівня ПРЛ у цій групі хворих з МГМ.

Локалізація, розмір, характер і напрямок росту пухлини багато в чому визначали клінічний перебіг захворювання і характер гіперпролактинемії. Визначення ПРЛ при різних локалізаціях МГМ (базальній, конвекситальній і парасагітальній) показали, що при конвекситальному варіанті рівень цього гормону не перевищував середніх показників, при базальному варіанті – був дещо підвищеним і досягав в середньому 27,6 нг/мл, при парасагітальній локалізації пухлини – помітно підвищувався, досягаючи 44,2-94,1 нг/мл. Причому, найвищі рівні ПРЛ були відзначені у хворих із продовженим ростом атипичних і анапластичних МГМ, розташованих у лобово-тім'яних ділянках парасагітально. Ці хворі страждали ще й ожирінням нейроендокринного характеру і гіпертонічною хворобою.

Успіх лікування пацієнтів із СГ залежав, насамперед, від причини захворювання і клінічних порушень. Всі види лікування розділяли на 4 основні групи: хірургічне, медикаментозне, променеве і комбіноване. Вибір методу лікування залежав від диференційної діагностики СГ. Найефективнішим було радикальне хірургічне лікування, доповнене медикаментозною корекцією.

Під час операції основну увагу приділяли раціональній тактиці і техніці видалення МГМ. Основними принципами хірургії МГМ служили: широкий і найбільш раціональний доступ до пухлин, що забезпечував свободу маніпуляцій і мінімальну тракцію мозку; поетапне, фрагментарне видалення МГМ; максимальне збереження всіх артеріальних судин і основних шляхів відтоку венозної крові, виконане з використанням мікрохірургічної техніки і збільшувальної оптики.

Медикаментозна терапія агоністами дофаміну була методом вибору в лікуванні більшості хворих із підвищеним рівнем ПРЛ. Лікування СГ було спрямовано на досягнення нормальної концентрації ПРЛ і відновлення овуляторних менструальних циклів. Медикаментозна терапія дофамінергічними агоністами застосовувалася: в якості першого методу лікування хворих із СГ; для швидкої корекції нейроендокринних розладів після видалення МГМ; при порушеннях менструального циклу і безплідді, обумовлених СГ.

Лікування парлоделом (бромокриптином) починали, як правило, із низьких доз. Препарат застосовували за схемою: від 0,625 мг (1/4 таблетки) до 2,5 мг (1 таблетка) 1-2 рази на день під час їжі з подальшим поступовим збільшенням дози кожні 3-5 днів до досягнення нормопролактинемії. Деякі пацієнти з МГМ і СГ у післяопераційному періоді, навіть при відсутності синдрому внутрішньочерепної гіпертензії, під час прийому парлоделу відзначали його побічні дії – нудоту, запаморочення, гіпотензію, сонливість і головні болі.

У ряді випадків для блокади гіперпролактинемії застосовували L-ДОПА. Останній показав менш виражену терапевтичну дію, ніж парлодел. L-ДОПА призначали перорально по 0,5-2,0 г на добу довгостроково (місяцями). Стійка ремісія при лікуванні цим препаратом наступала лише у хворих із лактореєю без аменореї.

В останні роки з'явилися сучасні, більш ефективні агоністи дофаміну з мінімально вираженими побічними діями. З їх числа нами був використаний каберголін (достінекс). Препарат має виражений і тривалий ПРЛ-знижувачий ефект. Його призначали 1 раз на тиждень. Рекомендовали початкову дозу препарату 0,25 мг 2 рази/тиж, тобто 1/2 табл. 2 рази/тиж із контролем рівня ПРЛ і корекцією дози кожний місяць. Тривалість лікування складала, як правило, 2-6 міс. Проста схема застосування препарату, тривалість його дії,

більш швидко одержання терапевтичного ефекту і добра переносимість виявилися досить ефективними у лікуванні СГ у хворих з МГМ.

Коли СГ у хворих з МГМ поєднувався із гіпотиреозом, добрий терапевтичний результат досягався при призначенні тиреоїдних препаратів.

Для зменшення патологічної лактації в ряді випадків призначали препарати-антагоністи жіночих статевих гормонів (тамоксифен, фарестон) і одержували задовільний ефект.

При пошкодженні гіпоталамо-гіпофізарної ділянки інфекційно-токсичним, або ревматичним процесом застосовували антибіотики (частіше всього, цефалоспорины), препарати з розсмоктуючою дією (лідаза, хімотрипсин) і десенсибілізуючими властивостями (піпольфен).

Критеріями лабораторного ефекту після видалення МГМ служили нормалізація рівня ПРЛ і досягнення повного клінічного ефекту (у жінок репродуктивного періоду – дві послідовні менструації з овуляцією протягом періоду лікування).

Що стосується чоловіків, хворих на МГМ із СГ, то замісна терапія тестостероном не відновлювала потенцію в осіб із гіперпролактинемічним гіпогонадізмом у післяопераційному періоді. В той же час нормалізація рівня ПРЛ в більшості випадків відновлювала функцію гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної системи і секрецію ендogenousного тестостерону. В цих випадках обходилися без лікування андрогенами. Додаткове лікування тестостероном було ефективним тільки в 1 випадку, коли після нормалізації рівня ПРЛ секреція тестостерону залишалася недостатньою.

Висновки

1. Головними симптомами синдрому гіперпролактинемії у хворих з МГМ є триада: аменорея, тривала лактація (іноді протягом багатьох років) і ознаки порушення гіпоталамо-гіпофізарної функції (ожиріння, гіпертонічна хвороба, гіпогонадізм, гіперпролактинемія) на тлі осередкової неврологічної симптоматики і/або внутрішньочерепної гіпертензії.

2. Комплексне обстеження хворих з МГМ із СГ дозволило виявити особливості продукції ПРЛ у цієї категорії пацієнтів: а) жінки репродуктивного періоду з доброякісними МГМ мають порушення циклічної продукції ПРЛ, на що вказує вірогідне підвищення його рівня в I фазу менструального циклу; б) жінки у постменопаузі, а також із злоякісними пухлинами мають вірогідно вищий рівень ПРЛ, ніж при доброякісних новоутворках.

3. У випадку діагностування продовженого росту та рецидиву МГМ доцільно визначати рівень ПРЛ, оскільки його величина здебільшого пропорційна об'єму пухлини.

Література

1. Зозуля Ю.А., Кваша М.С. Рецепторы стероидных гормонов, пролиферативная активность и клинико-морфологические особенности менингиом головного мозга // Укр. нейрохирург. журн. 2002, № 2, 81-86.
2. Козлов А.В. Биология менингиом: современное состояние проблемы // Вопр. нейрохирургии им.Н.Н.Бурденко. 2001, № 1, 32-38.
3. Тиглиев Г.С., Олюшин В.Е., Кондратьев А.Н. Внутрочерепные менингиомы. СПб: Изд-во РНХИ им. проф. А.Л.Поленова, 2001, 318-345.
4. Могила В.В. Содержание соматотропного гормона и пролактина в крови больных менингиомами головного мозга // Врач. дело. 1990, № 9, 94-96.
5. Kepes J.J. (ed.). Meningiomas: Biology, Pathology and Differential Diagnosis. New York: Masson, 1982, p. 38.
6. Лавин Н. Эндокринология. М.: Практика, 1999, 160-166.
7. Булатов А.А., Мартынов А.В., Смирнова Н.В. Биохимическая природа пролактина

- сыворотки крови человека: идентификация пролактинсвязывающего белка // Биохимия. 1997, 62, № 9, 1212-1220.
8. Peace K.A., Orme S.M., Padayatty et al. Cognitive dysfunction in patients with pituitary tumour who have been treated with transfrontal or transsphenoidal surgery or medication // Clin. Endocrinology. 1998, 49, 391-396.
 9. Kleihues P., Burger P.C., Scheithauer B.W. The new WHO classification of brain tumours // Brain Pathol. 1993, N 3, 255-268.
 10. Mairr H., Ofner D., Hittmair A. et al. Classic, atypical, and anaplastic meningioma: three histopathological subtypes of clinical relevance // J. Neurosurg. 1992, 77, 616-623.

Синдром гиперпролактинемии у больных с менингиомами головного мозга
М.С.Кваша

Институт нейрохирургии им. А.П.Ромоданова АМН Украины, 04050 Киев, Украина

Проведен анализ клинических, инструментальных и лабораторных исследований у 28 больных (23 женщины и 5 мужчин) с менингиомами головного мозга (МГМ), у которых выявлена гиперпролактинемия. Определены диагностические критерии синдрома гиперпролактинемии у больных с МГМ, которыми являются: аменорея, длительная лактация и признаки нарушения гипоталамо-гипофизарной функции на фоне очаговой неврологической симптоматики и/или внутричерепной гипертензии. Выявлено, что уровень пролактина у больных с МГМ имел значительные колебания – от 1,3 до 94,1 нг/мл. У 17 пациентов содержание пролактина в плазме крови находилось в пределах колебаний нормы (8,25-18,5 нг/мл), у 9 – превышало верхний уровень у здоровых и у 2 было ниже нормы. У женщин в постменопаузе, при злокачественных МГМ уровень ПРЛ был выше, чем при доброкачественных опухолях. Предложены схемы лечения синдрома гиперпролактинемии у больных с МГМ и проведена их клиническая апробация. Наиболее эффективным было радикальное хирургическое лечение, дополненное медикаментозной коррекцией парлоделом (бромокриптином) или каберголином (достинексом).

Ключевые слова: менингиомы головного мозга, синдром гиперпролактинемии, диагностика, клиника, лечение.

Syndrome of hyperprolactinemia in patients with brain meningiomas

M.S.Kvasha

A.Romodanov Institute of Neurosurgery of AMS, 04050 Kyiv, Ukraine

Analysis of clinical, instrumental and laboratory investigations in 28 patients (23 women and 5 men) with brain meningiomas (BM) and hyperprolactinemia has been made. The following diagnostic criteria of the syndrome of hyperprolactinemia (HP) are identified: amenorrhea, long-lasting lactation and disorders of hypothalamo-pituitary function at the background of local neurologic symptoms and/or intracranial hypertension. Prolactin level in patients with BM ranged from 1,3 to 94,1 ng/ml. In 17 patients blood plasma prolactin level was within the normal range (8.25-18.5 ng/ml), in 9 patients it was above the upper limit and in 2 patients it was beyond the lower range. In postmenopausal women with malignant BM prolactin level is higher than in those with benign ones. Treatment schemes for the syndrome of hyperprolactinemia in BM patients were proposed and their clinical testing was carried out. Radical surgical treatment added by medical correction with parlodel (bromocriptine) or cabergoline (dostinex) was the most effective.

Key words: brain meningioma, syndrome of hyperprolactinemia, diagnostics, clinical manifestation, treatment.

(Надійшла 21.01.2003)

ОСОБЕННОСТИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У МАЛЬЧИКОВ-ПОДРОСТКОВ С ГИПОТАЛАМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ ПУБЕРТАТНОГО ПЕРИОДА

О.О.Хижняк*, Т.Н.Сулима

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

Исследовали особенности липидного обмена у мальчиков с гипоталамическим синдромом пубертатного периода. У больных выявлены три основных типа дислиппротеидемий: II-а, IV и гипоальфахолестеринемия, степень выраженности которых зависела от степени ожирения. Больные с гипоталамическим синдромом пубертатного периода и IV степенью ожирения представляют группу повышенного риска по развитию атеросклероза.

Ключевые слова: гипоталамический синдром пубертатного периода, ожирение, дислиппротеидемия, мальчики-подростки.

Последнее десятилетие ознаменовано повышенным интересом исследователей к проблеме дислиппротеидемий, лежащих в основе развития атеросклероза и связанных с ним заболеваний сердечно-сосудистой системы [1]. Несмотря на то, что факт нарушения липидного обмена у больных с гипоталамическим синдромом пубертатного периода (ГСПП) в настоящее время является общепризнанным, тем не менее работы по изучению этих нарушений очень малочисленны [2, 3]. Остаются недостаточно изученными вопросы взаимосвязи между параметрами липидного спектра и такими основными клиническими симптомами заболевания, как ожирение, его степень и типы, уровень артериального давления. Комплекс этих признаков относится к эндогенным метаболическим факторам риска возникновения атеросклероза и ИБС [4]. Поэтому целью настоящего исследования было изучить состояние липидного обмена у мальчиков-подростков с ГСПП с учетом выделенных нами клинических форм данного заболевания.

Для достижения намеченной цели были поставлены следующие задачи:

1. По данным изучения липидного спектра создать математические модели, в рамках которых выделить все варианты имевших место дислиппротеидемий.
2. Проанализировать особенности дислиппротеидемий с учетом принятой нами дифференциальной диагностики ГСПП, а также в зависимости от степени выраженности отдельных клинических симптомов.

Материалы и методы исследования

Обследовано 70 мальчиков-подростков в возрасте 9-17 лет с ГСПП. Анализировали жалобы больных на головную боль, избыточную массу тела, повышенный аппетит. Клиническое обследование включало: определение физического развития пациентов с использованием перцентильных диаграмм; вычисление индекса массы тела (ИМТ), определение степени ожирения, индекса "окружность талии/окружность бедер" (ОТ/ОБ); мониторинг артериального давления (систолического – САД и диастолического – ДАД); оценку размеров щитовидной железы; определение наличия или отсутствия стрий на коже, гинекомастии.

На основании проведенного нами системного анализа клинических проявлений ГСПП

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

у мальчиков были выделены четыре подгруппы. 1-я подгруппа (26 человек) – больные с типичным ГСПП, который характеризовался максимальной выраженностью всех клинических признаков, в том числе, ожирением III-IV степени, стойким повышением АД, наличием трофических изменений кожи в виде багровых стрий. 2-я подгруппа (11 человек) – гипоталамический синдром с ведущим симптомом ожирения, для которой была характерна умеренная выраженность клинических симптомов, ожирение II-III степени в сочетании с повышенным аппетитом и тиреопатией (диффузный зоб I степени). 3-я подгруппа (7 человек) – гипоталамический синдром с ведущим симптомом артериальной гипертензии. Больные 3-й подгруппы характеризовались избыточной массой тела, стойкой артериальной гипертензией, выраженными головными болями, изменениями на глазном дне в виде ангиопатии сетчатки и патологии зрительного нерва. У больных 4-й подгруппы (26 человек) – стертая форма ГСПП – преобладали признаки нарушения гемодинамики, что клинически проявлялось частыми головными болями, транзиторной гипертензией, ангиопатией сетчатки в сочетании с патологией щитовидной железы (диффузный зоб II степени) и нормальной или избыточной массой тела.

Ферментативным методом определяли содержание в крови общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) с использованием стандартных наборов фирмы "Cormay Multi" (Польша). По стандартной методике проводили расчет содержания в крови холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП), холестерина липопротеидов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП), индекса атерогенности (ИА). Дислипотеидемию характеризовали по классификации Fredrickson [5]. Контролем по ряду биохимических показателей служили 18 здоровых сверстников, жителей г. Харькова.

Факторный, дисперсионный и регрессионный анализ проводился в пакете стандартных статистических программ "STATGRAPHICS" (Manugistic Inc., США).

Результаты и их обсуждение

Средние значения основных антропометрических параметров и показателей АД у мальчиков с различными клиническими вариантами ГСПП представлены в табл. 1.

Таблица 1. Средние значения основных антропометрических параметров и показателей АД у мальчиков с различными вариантами ГСПП

Клинические параметры	Клинические подгруппы			
	1-я	2-я	3-я	4-я
Возраст (лет)	14,5 ± 0,2	13,7 ± 0,2	15,2 ± 0,3	14,1 ± 0,3
ИМТ (кг/м ²)	32,9 ± 0,4	29,0 ± 0,5	28,5 ± 0,6	24,8 ± 0,8
ОТ/ОБ	0,95 ± 0,01	0,94 ± 0,02	0,96 ± 0,02	0,93 ± 0,01
САД (мм рт. ст.)	148 ± 1,9	127 ± 2,9	152 ± 2,4	124 ± 2,3
ДАД (мм рт. ст.)	94 ± 1,4	82 ± 2,5	97 ± 2,3	79 ± 1,8

По результатам изучения особенностей липидного обмена была построена факторная модель, состоящая из трех факторов, описывающих 97,86% вариативности исходных данных. Структура факторной модели представлена в табл. 2. Для смысловой трактовки выделенных факторов нами был принят уровень информационной значимости исходных переменных не ниже 0,4.

Таблица 2. Структура факторной модели показателей липидного спектра у подростков с гипоталамическим синдромом пубертатного периода

Переменные	Фактор 1	Фактор 2	Фактор 3
Общий холестерин	0,98	0,13	-0,12
Холестерин ЛПВП	0,07	-0,19	-0,97
Холестерин ЛПНП	0,96	0,06	0,20
Холестерин ЛПОНП	0,11	0,98	0,14
Триглицериды	0,11	0,96	0,21
Индекс атерогенности	0,61	0,27	0,72

В первый главный фактор ($\Phi 1$), описывающий 52,5 % вариабельности исходных данных, вошли показатели ОХ с коэффициентом факторной нагрузки 0,98, ХС ЛПНП – с коэффициентом 0,96 и ИА – с коэффициентом 0,61. Этот фактор рассматривается нами как интегральный показатель дислипопротеидемии II-а типа. Во второй фактор ($\Phi 2$), описывающий 27,97 % вариабельности исходных данных, вошли показатели ТГ с факторной нагрузкой 0,96 и ХС ЛПОНП с факторной нагрузкой 0,98. Этот фактор, по-нашему мнению, может интегрально оценивать дислипопротеидемию (ДЛП) IV-го типа. В третий фактор ($\Phi 3$), описывающий 17,39 % вариабельности исходных данных, вошли показатели ХС ЛПВП с факторной нагрузкой (-0,97) и ИА с факторной нагрузкой 0,72. Этот фактор интегрально оценивает гипоальфахолестеринемию (ГАХС), которая является самостоятельным фактором риска атеросклероза [6, 7].

В координатах факторного пространства были построены регрессионные модели взаимодействия выделенных нами факторов. Существует линейная зависимость между $\Phi 1$ и $\Phi 3$ ($P < 0,05$) (рис. 1). Из 70 обследованных подростков с ГСПП 21,4 % (15 больных) можно отнести к группе высокого риска по ДЛП II-а типа, из них у 5 мальчиков имела место сочетанная ДЛП (II-а + ГАХС).

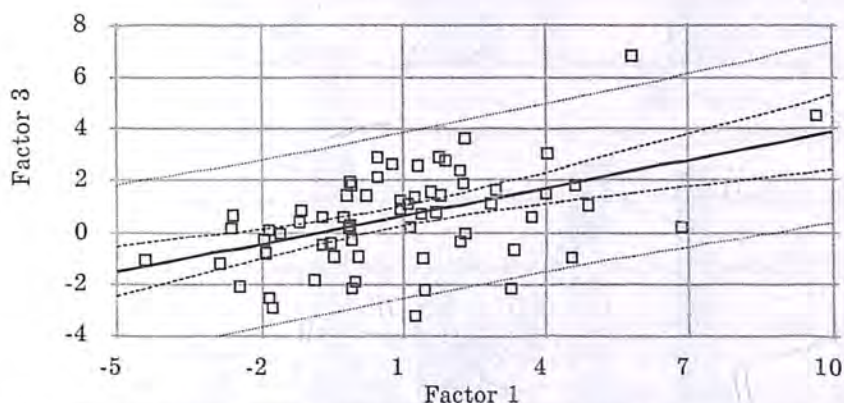


Рис. 1. Регрессионная кривая зависимости случаев дислипопротеидемий II-а типа и гипоальфахолестеринемией у мальчиков с гипоталамическим синдромом пубертатного периода.

Зависимость между $\Phi 2$ и $\Phi 3$ также имеет линейный характер ($P < 0,05$), т.е. атерогенность липидного спектра растет одновременно за счет повышения фракций ХС ЛПОНП и снижения фракций ХС ЛПВП (рис. 2). У 10 % мальчиков с ГСПП отмечался высокий риск по IV-му типу ДЛП, из них у 40 % зарегистрирована сочетанная форма ДЛП (IV-й тип + ГАХС).

Для выяснения особенностей ДЛП у больных с ранее выделенными нами различными вариантами течения ГСПП, был проведен дисперсионный анализ распределения обследуемых в координатном пространстве построенной факторной модели. Результаты представлены на рис. 3.

При разных клинических вариантах течения ГСПП имеет место различная степень отклонений липидного спектра от нормальных значений. По данным $\Phi 1$ и $\Phi 2$, ДЛП II-а и IV типов зарегистрированы у больных 1-й, 2-й и 4-й подгрупп ($P < 0,05$). По показателю $\Phi 1$ больные 2-й подгруппы, где ведущим клиническим симптомом было ожирение, приближаются к группе высокого риска развития атеросклероза [8], а возможный вклад ДЛП IV типа в атерогенез больных с ГСПП незначителен. Средние значения $\Phi 3$ у больных 1-й и 2-й подгрупп достоверно превышали показатели у больных с другими формами ГСПП и у здоровых сверстников ($P < 0,05$). Больные 2-ой подгруппы по уровню

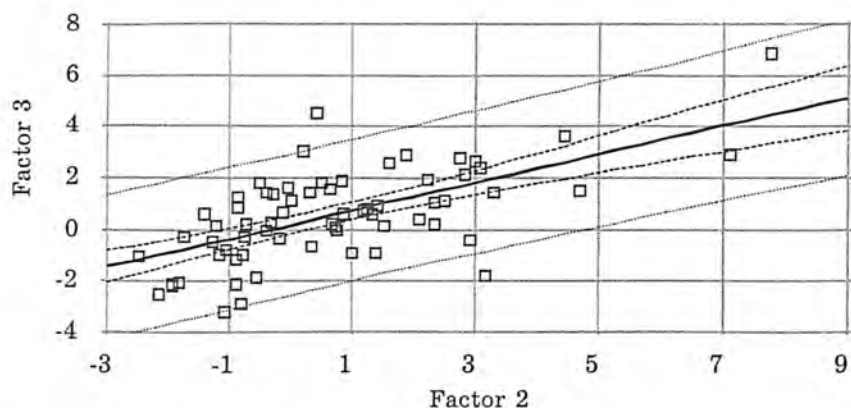


Рис. 2. Регрессионная кривая зависимости случаев дислиппротеидемии IV-типа и гипоальфахолестеринемии у мальчиков с гипоталамическим синдромом пубертатного периода.

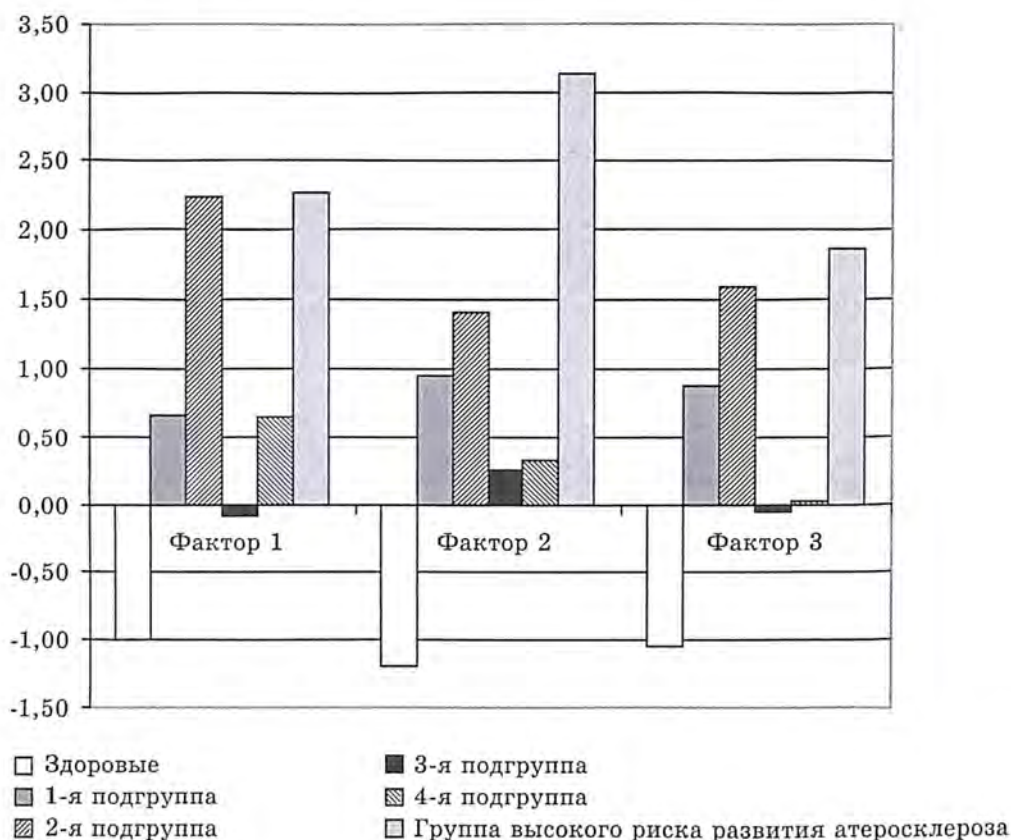


Рис. 3. Сравнительный анализ средних значений факторов в подгруппах больных с различными клиническими вариантами течения гипоталамического синдрома пубертатного периода.

ГАХС приближаются к группе риска развития атеросклероза [8] (рис. 3). У больных 3-й подгруппы отклонения от нормы по всем факторам были статистически недостоверными.

Учитывая многочисленные данные литературы о том, что ожирение явля-

ется фактором риска развития атеросклероза, мы проанализировали зависимость выявленных нами типов ДЛП от степени ожирения больных ГСПП. Результаты представлены на рис. 4.

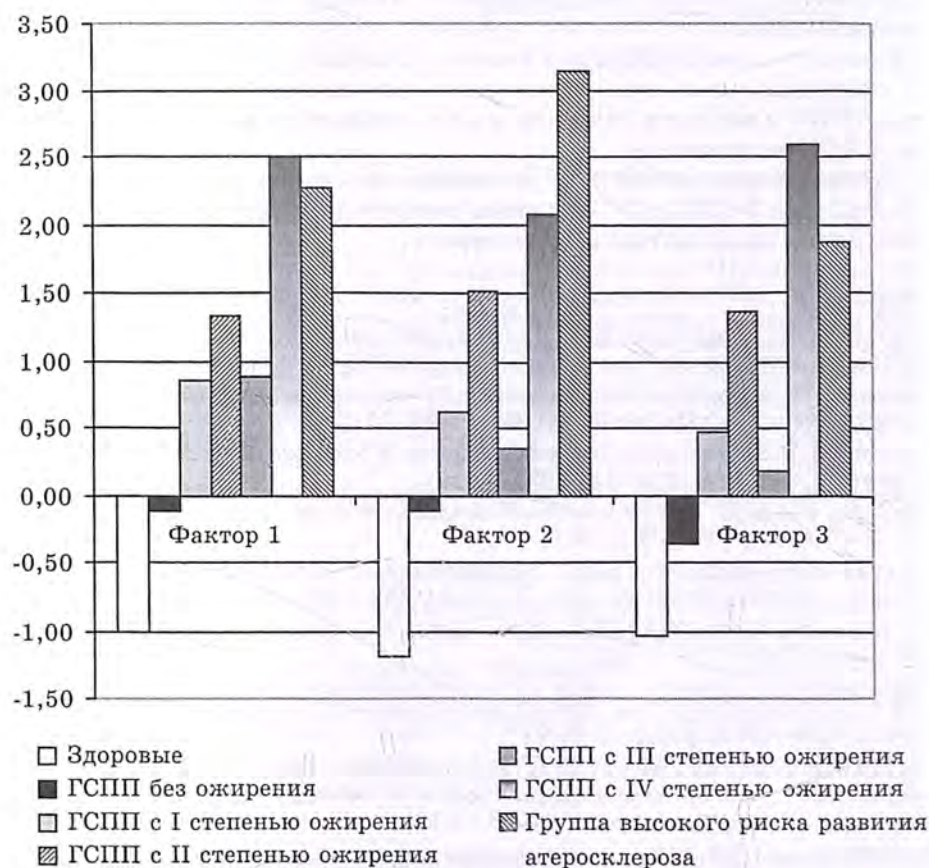


Рис. 4. Сравнительный анализ средних значений факторов у больных с гипоталамическим синдромом пубертатного периода в зависимости от степени ожирения.

Они свидетельствуют о том, что ДЛП выявленных нами типов имели место у больных с I-IV степенью ожирения. У больных с I-III степенью ожирения средние значения Ф1 достоверно превышали ($P < 0,05$) показатели у здоровых подростков и больных ГСПП без ожирения. Уровень ДЛП II-а типа у больных с IV степенью ожирения был выше критического уровня группы риска развития атеросклероза и достоверно ($P < 0,05$) превышал таковой у больных с I-III степенью.

У подростков с ожирением уровень ДЛП IV типа также достоверно превышал показатели липидного спектра, как у здоровых мальчиков, так и у больных с ГСПП без ожирения. Однако он не достигал критического уровня, характерного для риска развития атеросклероза.

У больных с ГСПП и ожирением I-III степени ГАСХ превышает показатели, характерные для здоровых подростков ($P < 0,05$), а у больных с ожирением IV степени ГАСХ превышает критический уровень и становится фактором риска развития атеросклероза.

Выводы

1. Для мальчиков с гипоталамическим синдромом пубертатного периода характерны II-а, IV типы ДЛП (по классификации Fredrickson) и гипоальфа-холестеринемия, которая является самостоятельным фактором риска развития атеросклероза.

2. Указанные типы ДЛП имели место у больных с типичной формой ГСПП, ГСПП с ведущим симптомом ожирения и при стертой форме заболевания. Для больных ГСПП с ведущим симптомом артериальной гипертензии достоверность наличия ДЛП не доказана.

3. Степень выраженности ДЛП зависит от степени ожирения мальчиков с ГСПП. Больные ГСПП с IV степенью ожирения представляют группу повышенного риска по развитию атеросклероза.

Литература

1. Поляков А.Е., Прокопова Т.Н. Липиды, липопротеиды, атеросклероз и ишемическая болезнь сердца // Укр. кардіол. журн. 1998, № 9, 5-10.
2. Терещенко И.В. Пубертатно-юношеский диспитуитаризм (гипоталамический пубертатный синдром) // Педиатрия, 1989, № 12, 55-59.
3. Терещенко И.В. Эндокринные расстройства у юношей и девушек в пубертатном периоде. М.: Союзмедиформ, 1991. 68 с.
4. Швец Н., Бенца Т. Метаболический синдром: методы ранней диагностики и лечения // Ліки України. 2002, № 9, 11-14.
5. Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. Биохимические исследования в клинике. 2-е изд., перераб., доп. Л.: Медицина, 1981. 408 с.
6. Климов А.Н., Никуличева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. СПб: Питер Ком, 1999. 512 с.
7. Чернышов В.А. Характеристика липидотранспортных систем у больных ишемической болезнью сердца с дислипидемией // Експериментальна і клінічна медицина. 2001, № 3, 38-42.
8. Щербакова М.Ю., Самсыгина Г.А., Мурашко Е.В. О первичной профилактике атеросклероза у детей группы высокого риска // Лечащий врач. 2000, № 5-6, 18-21.

Особливості обміну ліпідів у хлопців-підлітків з гіпоталамічним синдромом пубертатного періоду

О.О. Хижняк, Т.М. Сулима

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

Досліджували особливості обміну ліпідів у хлопців з гіпоталамічним синдромом пубертатного періоду. У хворих виявлено три типи дисліпопротеїдемій: II-а, IV та гіпоальфа-холестеринемія, ступінь вираженості яких залежав від ступеня ожиріння. Хворі з гіпоталамічним синдромом пубертатного періоду та IV ступенем ожиріння є групою підвищеного ризику розвитку атеросклерозу.

Ключові слова: гіпоталамічний синдром пубертатного періоду, ожиріння, дисліпопротеїдемія, хлопці-підлітки.

Some peculiarities of lipid metabolism in teen-age boys with pubertal period hypothalamic syndrome

O.O. Khyzhnyak, T.N. Sulima

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

Studying lipid metabolism in teen-age boys with pubertal period hypothalamic syndrome makes it possible to establish three types of dyslipoproteidemia: II-a, IV and hypoalphacholesterinemia. There is statistical by significant relationship between obesity and dyslipoproteidemia. Patients with IV degree of obesity are at high risk of atherosclerosis development.

Key words: pubertal period hypothalamic syndrome, obesity, dyslipoproteidemia, teen-age boys.

(Надійшла 10.12.2002)

ВПЛИВ ЕСТРАДІОЛУ ТА ОВАРІЕКТОМІЇ НА СТЕРЕОІДОГЕНЕЗ І ВМІСТ ХОЛЕСТЕРИНУ В КОРІ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ

О.І.Ковзун*, О.С.Микоша

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

Досліджено вплив естрадіолу на кору надниркових залоз у інтактних та оварієктомованих щурів. Оварієктомія призводить до значного зниження вмісту вільного та сумарного холестерину в адренкортикоцитах. Включення міченого холестерину до кортикостерону та альдостерону у кастрованих тварин збільшується у порівнянні з інтактними. Триденне введення естрадіолу не відновлює вміст холестерину в тканині кори надниркових залоз оварієктомованих щурів, але викликає значне посилення включення міченого холестерину до кортикостерону як у інтактних, так і у оварієктомованих щурів.

Ключові слова: естрадіол, оварієктомія, стероїдогенез, холестерин, кора надниркових залоз.

Кора надниркових залоз є однією з тканин-мішеней для естрогенів. У багатьох видів тварин та людини у адренкортикальній тканині охарактеризовано рецептори естрогенів [1-3]. Хоч кількість рецепторів естрогенів є невеликою порівняно до матки, вона достатня для реалізації фізіологічних ефектів гормонів [1]. Як відомо, естрогени здатні як до безпосередньої активації стероїдогенезу [4, 5], так і до опосередкованої через стимуляцію секреції АКТГ [6]. За недостатності естрогенів внаслідок кастрації знижується синтез кортикотропіну гіпофізом і зменшується концентрація кортикостерону в крові, а заміщувальне введення естрадіолу відновлює рівень АКТГ і кортикостерону до контрольних значень [6, 7]. Таким чином, існує можливість опосередкування дії естрогенів на кору надниркових залоз через гіпоталамо-гіпофізарну систему. Під впливом естрогенів в гіпофізі посилюється експресія проопіомеланокортинової мРНК, а відповідно, і секреція АКТГ гіпофізом [8]. Однак під впливом естрогенів значно знижується стимуляція кортикотропін-релізінг фактором продукції АКТГ [9].

За нашими даними, специфічне зв'язування мікросомами кори надниркових залоз АКТГ, міченого ^{125}I , значно зменшується у оварієктомованих щурів, а введення естрадіолу збільшує зв'язування кортикотропіну до величин, котрі значно перевищували контрольні [10].

Заміщувальне введення естрадіолу (E_2) оварієктомованим тваринам стимулює у адренкортикальній тканині проліферативну активність – активізує біосинтез ДНК та збільшує масу залози [11]. Естрадіол справляє також виразний анаболічний ефект на метаболізм білка, особливо чітко виражений при тривалих строках після оварієктомії [12]. Це, на наш погляд, свідчить про плейотропну дію гормону на кору надниркових залоз. У печінці естрадіол впливає на синтез та метаболізм холестерину [13, 14].

Метою цієї роботи було дослідження ефектів естрадіолу на стан холестеринового депо, а також стероїдогенез в корі надниркових залоз інтактних та оварієктомованих щурів.

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

Матеріали та методи

У досліджах використовували самок білих щурів масою 150-200 г, яких утримували за кімнатної температури та природного фотоперіоду. Виконували білатеральну овариєктомію, використовуючи дорзальний підхід. Прооперованих тварин використовували у дослідках, починаючи з 8-го тижня після операції. Стан репродуктивної системи контролювали шляхом мікроскопічного обстеження епітелію піхви. Естрадіол бензоат ("Koch-Light", Англія), розчинений у сливовій олії, вводили внутрішньом'язово в дозі 50 мкг на тварину в об'ємі 100 мкл протягом трьох діб як інтактним, так і овариєктомованим тваринам (ОВЕ). Контрольним тваринам вводили такий самий об'єм сливової олії.

Через добу після останньої ін'єкції тварин декапітували, з наважки кори надниркових залоз індивідуальних тварин отримували ізольовані та очищені адренкортикоцити [15]. До суспензії адренкортикоцитів (10^6 клітин на пробу) в середовищі 199 (Інститут поліомієліту, РФ), що містило 10 мМ HEPES та 5 мг/мл альбуміну великої рогатої худоби, вносили 0,925 МБк (25 мкКі/мл) [^3H]-холестерину і проводили інкубацію 30 хв при 37 °C та постійному струшуванні. Інкубацію зупиняли додаванням 10-кратного об'єму холодного хлороформу. Екстракцію хлороформом повторювали ще двічі, екстракти об'єднували та випарювали. Кортикостероїди фракціонували методом двоїрної тонкошарової хроматографії, радіоактивність синтезованих гормонів визначали в рідинному скінтіляційному лічильнику "Beckman"-LS 5000.

З іншої частини кори надниркових залоз екстрагували ліпіди [16] і фракціонували їх методом тонкошарової хроматографії. Холестерин та його ефіри ідентифікували за допомогою відповідних свідків, а їх кількість визначали, використовуючи біхроматний реагент [17].

При статистичному аналізі даних використовували t-критерій Стьюдента та критерій Фішера.

Результати та їх обговорення

В наших попередніх дослідженнях встановлено, що маса надниркових залоз внаслідок кастрації вірогідно зменшувалась, а триденне введення естрадіолу спричиняло відновлення маси залоз до контрольних величин [11]. Подібну залежність маси залоз від рівня естрогенів виявили також інші автори [18, 19]. У даній роботі спостерігалась атрофія кори надниркових залоз, маса залоз зменшувалась через вісім тижнів після овариєктомії (табл. 1), але цей показник не має статистично вірогідної різниці з контролем.

Результати визначення швидкості перетворення міченого холестерину до кортикостероїдів у надниркових залозах щурів після видалення яєчників наведені у табл. 2. Встановлено, що введення естрадіолу кастрованим тваринам призводить до збільшення включення [^3H]-холестерину до кортикостерону диспергованими клітинами надниркових залоз порівняно із овариєктомованими тваринами, що отримували ін'єкції олії. Подібний, але менш помітний ефект естрадіолу спостерігався також на інтактних тваринах. Характер мічення альдостерону був подібним до кортикостерону, проте варіабельність показників не дозволила статистично підтвердити наявність змін (табл. 2). Рівень

Таблиця 1. Вплив естрадіолу-17 β на вміст холестерину та його ефірів в корі надниркових залоз інтактних та овариєктомованих щурів ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Маса надниркових залоз, мг	Вміст холестерину, мкг/мг тканини			Співвідношення вільний холестерин/ефіри холестерину
		вільний	ефіри	сумарний	
Інтактні	46,7 $\pm$ 3,1	12,5 $\pm$ 1,2	46,3 $\pm$ 5,9	58,8 $\pm$ 7,0	0,28 $\pm$ 0,02
Інтактні + E ₂	48,5 $\pm$ 4,0	12,9 $\pm$ 1,8	42,1 $\pm$ 7,1	55,1 $\pm$ 8,8	0,32 $\pm$ 0,02
ОВЕ	40,7 $\pm$ 3,2	7,3 $\pm$ 0,3*	32,3 $\pm$ 6,7	38,4 $\pm$ 6,1*	0,27 $\pm$ 0,08
ОВЕ + E ₂	44,3 $\pm$ 3,8	7,0 $\pm$ 0,8	25,0 $\pm$ 3,6	30,8 $\pm$ 3,6	0,27 $\pm$ 0,06

Примітка. * – $P < 0,05$ – вірогідний ефект овариєктомії (критерій Стьюдента).

Таблиця 2. Вплив естрадіолу-17 β на включення [^3H]-холестерину до кортикостероїдів диспергованими адренокортикоцитами кори надниркових залоз інтактних та оварієктомованих щурів; радіоактивність холестерину та його ефірів ($M \pm m$)

Група тварин	Радіоактивність: розп./хв на 10^6 клітин ($\times 10^{-3}$) (n=6)			Питома радіоактивність вільного холестерину: розп./хв на мкг ($\times 10^{-3}$) (n = 4)
	кортикостерон	альдостерон	ефіри холестерину	
Інтактні	2,77 $\pm$ 0,45	1,25 $\pm$ 0,30	5,93 $\pm$ 0,70	4,37 $\pm$ 1,04
Інтактні + E ₂	3,75 $\pm$ 0,32*	1,45 $\pm$ 0,12	13,68 $\pm$ 3,03 ⁺	3,63 $\pm$ 0,69
ОВЕ	4,21 $\pm$ 0,26*	2,99 $\pm$ 0,81*	10,14 $\pm$ 3,56	6,05 $\pm$ 1,42
ОВЕ + E ₂	6,63 $\pm$ 0,95*	3,86 $\pm$ 1,61	13,64 $\pm$ 2,53	7,18 $\pm$ 2,27

Примітка. * – $P < 0,05$ – вірогідний ефект оварієктомії, # – $P < 0,05$ – вірогідний ефект естрадіолу (критерій Стьюдента); + – $P < 0,05$ – вірогідний ефект естрадіолу (критерій Фішера).

альдостерону у плазмі оварієктомованих щурів не змінюється при заміщувальному введенні естрадіолу, хоч естрадіол знижує експресію рецепторів ангіотензину II в корі надниркових залоз [20] .

Залежність стероїдогенезу від рівня естрогенів за умов *in vivo* та *in vitro* спостерігали також інші автори. Естрадіол бензоат *in vivo* посилював продукцію кортикостерону у оварієктомованих щурів. Рівень cAMP в клітинах, стимульованих форсколіном або додаванням ізобутилметилксантину (інгібітор фосфодіестераз) у поєднанні з форсколіном, АКТГ або пролактином, був вищим при виділенні клітин з надниркових залоз щурів, що отримували естрадіолу бензоат, у порівнянні з оварієктомованими щурами [7]. Це може свідчити про перенесення сигналу естрадіолу в клітинах надниркових залоз cAMP-залежною системою. У диспергованих адренокортикоцитах щурів з видаленими статевими залозами естрадіол-17 β *in vitro* здатний спричиняти зростання базальної секреції кортикостерону [21]. Естрадіол *in vitro* стимулював секрецію кортизолу у культивованих клітинах надниркових залоз, видалених у хворих з синдромом Іценка-Кушинга, за відсутності АКТГ [5]. За нашими даними, 4-годинна інкубація диспергованих адренокортикальних клітин оварієктомованих щурів з естрадіолом спричиняла збільшення специфічного зв'язування ^{125}I -пролактину; естрадіол також збільшував рівень пролактину в крові щурів [12], що свідчить про можливість опосередкування пролактином дії естрогенів *in vivo* на кору надниркових залоз.

Оварієктомія призводить до посилення включення [^3H]-холестерину в кортикостерон та альдостерон (табл. 2). Це спостереження на перший погляд протирічить нашим даним про активацію естрадіолом мічення кортикостерону (табл. 2), а також даним інших авторів [7, 21]. Раніше ми спостерігали посилення синтезу 11-оксикортикостероїдів в культивованих клітинах надниркових залоз поросят [22], і ці дані узгоджуються з результатами інших дослідників. Це протиріччя, що виявляється в активації стероїдогенезу як при кастрації, так і при введенні естрадіолу, проявилось в дослідженнях вмісту холестерину та його ефірів в корі надниркових залоз щурів після оварієктомії.

Внутрішньоклітинна концентрація холестерину регулюється балансом між його ендегенним синтезом, надходженням до клітин у складі ліпопротеїдів та використанням як попередника гормонів. Відомо, що в гепатоцитах естрадіол є регулятором процесів утворення холестерину і ліпопротеїдів [13, 14, 24]. Оварієктомія справляє істотний вплив на стан холестеринового депо в корі надниркових залоз (табл. 1). Кастрація призводить до чіткого зниження вмісту вільного холестерину в корі надниркових залоз щурів. Вміст вільного холестерину у наднирниках тварин через 8 тиж після оварієктомії знизився майже

у два рази (табл. 1). Внаслідок оваріектомії майже на третину зменшився також вміст ефірів холестерину, але статистичної різниці між цими значеннями немає, певно, через значну варіабельність цього показника. Внаслідок кастрації вірогідно зменшився вміст сумарного холестерину (табл. 1). В роботі Т. Duda та співавторів [19] оваріектомія, на відміну від наших даних, спричиняла зростання концентрації вільного та етерифікованого холестерину в гомогенаті надниркових залоз щурів. Проте кількість холестерину в цих дослідженнях відносили до маси білка і легко припустити, що оваріектомія знижувала вміст білка в тканині залоз. Заміщувальне введення естрадіолу оваріектомованим щурам протягом трьох днів не призводило в нашій роботі до зміни вмісту холестерину та його ефірів. Більше того, показники як вільного холестерину, так і його ефірів мали тенденцію до зменшення внаслідок введення естрадіолу. При введенні естрадіолу інтактним тваринам кількість холестерину не змінювалась. Введення значно більших доз естрадіолу ципіонату протягом двох тижнів знижувало вміст вільного та етерифікованого холестерину в гомогенаті надниркових залоз оваріектомованих щурів [19]. Проте припущення щодо можливої зміни вмісту білка в надниркових залозах при кастрації і введенні гормону легко пояснює відмінність результатів Т. Duda та наших даних. Використання 17α -етинилестрадіолу у дозах, що перевищують у 25 разів використані нами, різко знижувало вміст ефірів холестерину у надниркових залозах щурів [23]. Триденне введення естрадіолу підвищувало рівень ефірів холестерину та сумарну кількість холестерину в тканині печінки щурів поряд із значним гальмуванням синтезу холестерину з ацетату та мевалонату *in vivo* [13]. Додавання 17β -естрадіолу до середовища, в якому культивували гепатоцити людини, спричиняло дозозалежну стимуляцію синтезу холестерину; подібний ефект виявлено також для естрону та естріолу [24].

Оваріектомія або введення естрадіолу не мали помітного впливу на радіоактивність вільного холестерину (табл. 2). Проте зниження вмісту вільного холестерину в залозах при кастрації відобразилось на його питомій радіоактивності. В результаті змішування радіоактивного холестерину за 30 хв інкубації *in vitro* з нерадіоактивним холестерином в тканині утворюється сумарний пул холестерину, питома радіоактивність якого визначається, здебільшого, масою нерадіоактивного холестерину. Зниження вмісту холестерину в тканині за умов оваріектомії (табл. 1) призводить до незначного збільшення показника питомої радіоактивності (табл. 2). Зростання показника питомої радіоактивності холестерину може частково пояснити більше мічення кортикостерону у тварин, що отримували естрадіол.

Ймовірно, що однією з функцій естрогенів в аденокортикальній тканині є участь у депонуванні холестерину і вона не пов'язана безпосередньо з активацією або пригніченням стероїдогенезу. Привертає увагу значне збільшення радіоактивності ефірів холестерину в клітинах надниркових залоз контрольних щурів, що отримували естрадіол (табл. 2). Питома радіоактивність вільного холестерину у цих тварин не зростала. Оскільки у надниркових залозах наявна активна ацил-СоА-холестерол ацилтрансфераза, що каталізує синтез ефірів холестерину [23], виникає припущення щодо можливої активації цього ферменту естрадіолом. Одним з можливих механізмів впливу естрадіолу на утворення гормонів може бути також зміна в крові рівня ліпопротеїдів, які приносять холестерин до аденокортикальних клітин. Було показано, що під впливом низьких доз естрадіолу у плазмі крові щурів спостерігається збільшення рівня ліпопротеїдів високої щільності, основної форми холестерину, що утилізується стероїдогенними клітинами щурів [25].

Наведені факти дозволяють дійти висновку, що стероїдогенез та стан холестеринового депо в корі надниркових залоз щурів знаходяться в залежності від рівня естрадіолу в організмі.

Література

1. Cutler G.B.Jr., Barnes K.M., Sauer M.A., Loriaux D.L. Estrogen receptor in rat adrenal gland // *Endocrinology*. 1978, 102, N 1, 252-257.
2. Nakao M., Sato B., Koga M. et al. Biochemical and immunological characterization of estrogen binding components in human neoplastic adrenocortical tissues // *J. Steroid Biochem.* 1986, 25, N 1, 1-9.
3. Pelletier G. Localization of androgen and estrogen receptors in rat and primate tissues // *Histol. Histopathol.* 2000, 15, N 4, 1261-1270.
4. Юдаев Н.А., Микоша А.С. Влияние эстрогена на биосинтез гидрокортизона надпочечниками морской свинки *in vitro* // *Биохимия*. 1963, 28, № 3, 462-466.
5. Caticha O., Odell W.D., Wilson D.E. et al. Estradiol stimulates cortisol production by adrenal cells in estrogen-dependent primary adrenocortical nodular dysplasia // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1993, 77, N 2, 494-497.
6. Lesniewska B., Nowak M., Malendowicz L.K. Sex differences in adrenocortical structure and function. XXVIII. ACTH and corticosterone in intact, gonadectomized and gonadal hormone replaced rats // *Horm. Metab. Res.* 1990, 22, N 7, 378-381.
7. Lo M.J., Chang L.L., Wang P.S. Effects of estradiol on corticosterone secretion in ovariectomized rats // *J. Cell. Biochem.* 2000, 77, N 4, 560-568.
8. Pepe G.J., Davies W.A., Albrecht E.D. Activation of the baboon fetal pituitary-adrenocortical axis at midgestation by estrogen: enhancement of fetal pituitary proopiomelanocortin messenger ribonucleic acid expression // *Endocrinology*. 1994, 135, N 6, 2581-2587.
9. Cucinelli F., Soranna L., Barini A. et al. Estrogen treatment and body fat distribution are involved in corticotropin and cortisol response to corticotropin-releasing hormone in postmenopausal women // *Metabolism*. 2002, 51, N 2, 137-143.
10. Саутін Ю.Ю., Ковзун О.І., Тронько М.Д., Микоша О.С. Стимуляція пролактином та естрогенами рецепторів АКТГ // *Ендокринологія*. 1996, 1, № 2, 14-19.
11. Ковзун О.І. Вивчення впливу овариєктомії та естрадіолу на метаболізм ДНК, РНК та білка в корі надниркових залоз щурів // *Фізіол. журн.* 1996, 42, № 1-2, 53-58.
12. Sautin Yu.Yu., Tronko N.D., Kovzun H.I., Mikosha A.S. The possible involvement of prolactin in direct and indirect estrogen action on the adrenal cortex of the rat // *Ендокринологія*. 1998, 3, № 1, 25-34.
13. Uchida K., Nomura Y., Kadowaki M. et al. Stimulative and inhibitive effects of estrogen on cholesterol synthesis in rats // *Endocrinol. Japon.* 1973, 20, N 2, 129-134.
14. Bertolotti M., Spady D.K. Effect of hypocholesterolemic doses of 17 α -ethinyl estradiol on cholesterol balance in liver and extrahepatic tissues // *J. Lipid Res.* 1996, 37, N 8, 1812-1822.
15. Тронько Н.Д., Пушкарев В.М., Богданова Т.И. и др. Получение и фракционирование в градиенте перколл клеток коры надпочечников морских свинок и характеристика их функционального состояния // *Физиол. журн.* 1989, 35, № 4, 52-61.
16. Bligh E.G., Dayer W.I. A rapid method of total lipid extraction and purification // *Can. J. Biochem. Physiol.* 1959, 37, 911-917.
17. Amenta J.S. A rapid chemical method for quantification of lipid separated by thin-layer chromatography // *J. Lipid Res.* 1964, 5, N 2, 270-272.
18. Shinoda M., Latour M.G., Lavoie J.M. Effects of physical training on body composition and organ weights in ovariectomized and hyperestrogenic rats // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2002, 26, N 3, 335-343.
19. Duda T., Waliszewska A., Trzeciak W.H., Malendowicz L.K. Sex differences in adrenocortical structure and function-XX. The effects of gonadectomy and testosterone or estradiol replacement on cholesterol content and distribution in the gland // *J. Steroid Biochem.* 1985, 23, N 5A, 577-81.
20. Roesch D.M., Tian Y., Zheng W. et al. Estradiol attenuates angiotensin-induced aldosterone secretion in ovariectomized rats // *Endocrinology*. 2000, 141, N 12, 4629-4636.
21. Nowak K.W., Neri G., Nussdorfer G.G., Malendowicz L.K. Effects of sex hormones on the steroidogenic activity of dispersed adrenocortical cells of the rat adrenal cortex // *Life Sci.* 1995, 57, N 9, 833-837.
22. Микоша А.С., Ковзун Е.И., Гринченко Е.Н. Эстрадиол-17 β активизирует образование

- кортикостероидов и тормозит пролиферацию культивируемых клеток надпочечников свиней // Укр. биохим. журн. 2003, 75, № 1, 29-32.
23. Popplewell P.Y., Azhar S. Effects of aging on cholesterol content and cholesterol-metabolizing enzymes in the rat adrenal gland // *Endocrinology*. 1987, 121, N 1, 64-73.
24. Carr B.R., Simpson E.R. Cholesterol synthesis by human fetal hepatocytes: effects of hormones // *J. Clin. Endocr. Metab.* 1984, 58, N 6, 1111-1116.
25. Cinci G., Arezzini L., Terzuoli L. et al. Effect of estradiol on phospholipid lipoprotein levels and fatty acid composition in the rat // *Life Sci.* 1997, 61, N 3, 319-324.

Влияние эстрадиола и овариэктомии на стероидогенез и содержание холестерина в коре надпочечников крыс

Е.И.Ковзун, А.С.Микоша

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

Исследовано влияние эстрадиола на кору надпочечных желез у интактных и овариэктомированных крыс. Овариэктомия вызывает существенное снижение содержания свободного и суммарного холестерина в аденокортикоцитах. Включение меченого холестерина в кортикостерон и альдостерон у кастрированных животных увеличивается по сравнению с интактными. Трехдневное введение эстрадиола не восстанавливает содержание холестерина в ткани коры надпочечников овариэктомированных крыс, но вызывает значительное усиление включения меченого холестерина в кортикостерон как у интактных, так и у овариэктомированных крыс.

Ключевые слова: эстрадиол, овариэктомия, стероидогенез, холестерин, кора надпочечных желез.

Influence of estradiol and ovariectomy on steroidogenesis and cholesterol content in the rat adrenal cortex

O.I.Kovzun, A.S.Mikosha

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

The effects of estradiol on the adrenal gland cortex of intact and ovariectomized rats were studied. Ovariectomy caused a significant decrease in free and total cholesterol content of the adrenocortical cells. Incorporation of labeled cholesterol into corticosterone and aldosterone is increased in ovariectomized rats as compared to intact rats. 3-day treatment with estradiol did not reverse cholesterol content in the adrenal cortex of ovariectomized rats, but caused substantial elevation of labeled cholesterol incorporation into corticosterone both in ovariectomized and intact rats.

Key words: estradiol, ovariectomy, steroidogenesis, cholesterol, adrenal cortex.

(Надійшла 8.01.2003)

ЕПІФІЗ І ВІКОВІ ПОРУШЕННЯ РИТМІЧНИХ КОЛИВАНЬ ФУНКЦІЇ НАДНИРКОВИХ І СТАТЕВИХ ЗАЛОЗ У ТВАРИН

І.Ф.Лабунець*, Л.В.Магдич, В.О.Жеребицький

Інститут геронтології АМН України, 04114 Київ, Україна

Досліджено вплив пептидного фактора епіфіза епіталаміна на вікові зміни ритмічних коливань концентрації кортикостерону і тестостерону у самців щурів Вістар та мишей лінії СВА. Препарат вводили довготривало, починаючи з віку 6 міс у щурів і 4 міс у мишей. Встановлено, що у дорослих тварин найбільша концентрація кортикостерону і тестостерону реєструвалась вдень, тоді як вночі вона знижувалась. Рівні кортикостерону і тестостерону влітку значно перевищували показники восени і взимку. У старих тварин спостерігались порушення ритмічності функцій ендокринних залоз, які характеризувались відсутністю коливань показників (добовий ритм кортикостерону), зміщенням сезонної акрофази (ритм тестостерону), інверсією ритму (зростання концентрації тестостерону вночі), зменшенням амплітуди (рівень кортикостерону влітку) та десинхронізацією ритмів. У старих тварин після введення епіталаміну концентрація кортикостерону вночі знижувалась у 2 рази і з'являвся пік рівня гормону влітку. Зменшувались прояви інверсії циркадного та цирканнуального ритмів вмісту тестостерону. В механізмі впливу епіталаміну на ритми функцій ендокринних залоз мало значення зростання концентрації мелатоніну в епіфізах старих тварин (концентрація мелатоніну в епіфізах старих мишей, а також старих тварин, що отримували епіталамін, складала $104 \pm 35,2$ пг/залозу і $227 \pm 59,15$ пг/залозу, відповідно, проти $204 \pm 25,5$ пг/залозу у дорослих мишей).

Ключові слова: біоритми, старіння, епіфіз, кортикостерон, тестостерон.

Однією із рис, притаманних живому організму, є ритмічні коливання функцій багатьох фізіологічних систем, до яких належить і ендокринна система [1, 2]. Так, у людини і тварин концентрація деяких гіпофізарних гормонів (АКТГ, пролактин, гонадотропіни), глюкокортикоїдів, статевих та тиреоїдних гормонів ритмічно змінюється впродовж доби і сезонів року. З віком параметри ритмів функцій ендокринних залоз порушуються, а саме: знижується амплітуда ритмів, зміщується їх акрофаза і спектральний склад у бік ультрадіяних складових [3-5]. Вікові зміни внутрішньо- і міжсистемних фазових взаємодій призводять до десинхронізації ритмів, зниження адаптаційних можливостей ендокринної системи і можуть сприяти формуванню цілої низки патологічних станів, які супроводжують старіння [2]. Тому викликає інтерес вивчення механізмів вікових порушень ритмічних коливань функцій ендокринної системи, а також розробка на цій основі підходів до їх корекції.

Епіфіз є органом, який узгоджує біоритми функцій організму з умовами навколишнього середовища, які змінюються [6, 7]. Встановлено, що циркадні та цирканнуальні коливання в залозі концентрації основного гормону мелатоніну порушуються при старінні [6]. Останнім часом велика увага надається вивченню властивостей пептидного фактора епіфіза "епіталаміну" [8, 9]. Епіталамін підвищує тривалість життя лабораторних тварин, сповільнює розвиток у них деяких форм вікової патології, впливає на стан гіпоталамо-гіпофізарно-адренальної і гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної систем у тварин різного віку, значною мірою відновлює естральний цикл у старіючих самок щурів.

*Адреса для листування (Correspondence): Інститут геронтології АМН України, вул. Вишгородська, 67, 04114 Київ, Україна

Після ін'єкцій препарату рівень мелатоніну в залозі дорослих та старих щурів в нічний час доби зростає [10]. Разом з тим, питання про можливість дії пептидного фактора епіфіза на строки формування порушень біоритмів функцій ендокринної системи при старінні залишається недостатньо вивченим. Тому метою роботи стало дослідження впливу епіталаміну на вікові зміни циркадних та цирканнуальних коливань функцій надниркових і статевих залоз у щурів та мишей.

Матеріали і методи

Дослідження циркадних ритмів функцій ендокринної системи виконане на дорослих (віком 6-7, 8-9 і 11 міс, $n=58$), старіючих (віком 17 міс, $n=17$) і старих (віком 27-28 міс, $n=65$) самців щурів Вістар у денний (14.00) та нічний (2.00) час доби при фіксованому світловому режимі 12:12 (вмикання світла з 7.00 до 19.00). Частина досліджень циркадних ритмів проведена на самицях щурів Вістар у ранкові (9.00-10.00) і вечірні (16.00-18.00) години доби при природному режимі освітлення (ніч:день 14:10).

Дослідження цирканнуальних ритмів функцій ендокринної системи здійснено на дорослих (віком 3 міс, $n=43$) та старих (віком 23-24 міс, $n=90$) самців мишей лінії СВА/Са у ранковий час (9.00-10.00) упродовж року (зима, весна, літо, осінь). Всі тварини були взяті із розплідника Інституту геронтології АМН України.

Щурам епіталамін вводили, починаючи з 6-місячного віку, підшкірно, курсами. Курс складався із 5-ти щоденних ін'єкцій, разова доза препарату – 0,1 мг на 100 г маси тіла. Інтервал між курсами – 1 міс. Показано, що при такій схемі введення епіталаміну відбувається суттєве зростання концентрації мелатоніну в епіфізах щурів [9, 10]. У щурів, які отримували епіталамін, дослідження виконані у віці 11, 17 та 27 міс, через 2 тиж після останньої ін'єкції препарату.

Мишам епіталамін вводили, починаючи з 4-місячного віку, підшкірно, курсами, які включали 5 ін'єкцій, двічі на тиждень, з інтервалом 2-3 доби. Разова доза препарату складала 0,5 мг на 100 г маси тіла, інтервал між курсами – 2-3 міс, всього 6 курсів. Дослідження у мишей виконані у віці 23-24 міс, через 1 міс після останньої ін'єкції препарату. Ми раніше встановили, що при такій схемі введення епіталаміну у мишей спостерігається найефективніше відновлення деяких показників стану імунної та ендокринної систем, змінених з віком [11].

Контрольні групи щурів і мишей отримували аналогічну кількість ін'єкцій 0,9% розчину хлориду натрію в об'ємі $1,0 \cdot 10^{-3}$ л на 100 г маси тіла. Частина досліджень здійснена на інтактних дорослих і старих щурах та дорослих мишах.

В день дослідження щурів і мишей декапітували під ефірним наркозом. Сироватку зберігали при -20°C впродовж 1 міс. В ній радіоімунним методом визначали концентрацію кортикотропін-рилізінг-фактора (КРФ) і тестостерону за допомогою стандартних тест-наборів (фірм "DRG", США та "Белорис", Білорусія). Рівень кортикостерону визначали радіоімунним методом із використанням кортикостероїдзв'язуючого глобуліну самиць щурів [12].

Для визначення концентрації мелатоніну використовували хроматографічний метод [13]. Епіфізи, отримані при декапітації мишей, інкубували в $1,5 \cdot 10^{-4}$ л середовища 199 при $+37^{\circ}\text{C}$ впродовж 3 год в атмосфері, яка складалась із 95 % O_2 і 5 % CO_2 . Потім інкубат екстрагували $5 \cdot 10^{-4}$ л дихлорметану впродовж 2 хв і екстракт випарювали в потоку азоту при кімнатній температурі. Осад розчиняли в $1,2 \cdot 10^{-4}$ л 0,1 % розчину аскорбінової кислоти, фільтрували через мікрофільтри (діаметр пор 0,2 мкм) при 1000 g і аліквоти в об'ємі $5 \cdot 10^{-5}$ л вводили в хроматографічну колонку. Рухома фаза складалась із ацетонітрилу і ацетатного буфера (50 мМ ацетату натрію, 100 мМ оцтової кислоти, 0,1 мМ ЕДТА), рН 4,3 у співвідношенні 20:80, довжина хвилі збудження – 200 нм. Концентрацію гормону розраховували по відношенню до висоти піку стандарту мелатоніну. Рівень мелатоніну в культуральному середовищі епіфіза виражали у $\text{pg}/1,5 \cdot 10^{-4}$ л середовища 199/залозу [14]. Дослідження виконували восени.

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою критерію t Стьюдента [15].

Результати та їх обговорення

1. *Циркадні коливання концентрації кортикостерону і тестостерону у щурів при старінні та вплив на них епіталаміну.*

У 6-7-місячних інтактних самців щурів рівень кортикостерону вдень та вночі складав $73,06 \pm 8,72$ нмоль/л ($n=12$) і $72,20 \pm 13,86$ нмоль/л ($n=11$), відповідно [16]. Індивідуальний аналіз показав, що у денний час рівень гормо-

ну до 55 нмоль/л реєструвався у 3 із 12 дорослих щурів, а в нічний – вже у 7 із 11 тварин ($P < 0,05$). При цьому в останніх показник становив $44,74 \pm 2,37$ нмоль/л і значно відрізнявся від середніх його значень у денний період доби ($P < 0,05$).

У дорослих інтактних щурів 6-7-місячного віку концентрація тестостерону вдень і вночі складала $2,60 \pm 0,97$ нмоль/л ($n=12$) і $1,40 \pm 0,28$ нмоль/л ($n=12$), відповідно ($P > 0,05$). При цьому значення показника до 0,7 нмоль/л реєструвались вночі у 42 % тварин, тоді як вдень – лише у 27 % випадків.

Результати досліджень вікових змін концентрації кортикостерону і тестостерону у самців щурів та вплив на них епіталаміну наведені в табл. 1. Хоча у дорослих (11-місячних) щурів та старіючих (17-місячних) щурів, які отримали 0,9 % розчин хлориду натрію, різниця в концентрації кортикостерону вдень та вночі не досягала рівня вірогідності, рівень гормону до 55 нмоль/л реєструвався частіше вночі (у 86 % і 80 % щурів, відповідно), ніж вдень (у 33 % і 50 % щурів, відповідно). У старих (27-місячних) щурів різниця між рівнем кортикостерону вдень та вночі відсутня, а показник вночі суттєво перевищував величини у 17-місячних щурів в цей час доби ($P < 0,05$).

Таблиця 1. Вплив епіталаміну на концентрацію кортикостерону і тестостерону у сироватці крові щурів різного віку в залежності від часу доби ($M \pm m$)

Вік щурів, міс	Щури, яким вводили 0,9% розчин хлориду натрію		Щури, яким вводили епіталамін	
	День ($n=6$)	Ніч ($n=7$)	День ($n=6$)	Ніч ($n=7$)
Кортикостерон, нмоль/л				
11	$88,3 \pm 16,2$	$50,8 \pm 8,7$	$76,8 \pm 16,7$	$66,7 \pm 6,9$
17	$66,7 \pm 15,3$	$43,6 \pm 5,5$	$57,7 \pm 19,6$	$44,2 \pm 8,4$
27	$61,2 \pm 6,6$	$62,1 \pm 6,6\#$	$62,6 \pm 4,6$	$38,1 \pm 8,1^{*}\#$
Тестостерон, нмоль/л				
11	$1,15 \pm 0,24$	$1,04 \pm 0,28$	$2,26 \pm 0,24^{\wedge}$	$1,01 \pm 0,21^{*}$
17	$1,25 \pm 0,42$	$0,87 \pm 0,21$	$1,25 \pm 0,28^{**}$	$1,49 \pm 0,38$
27	$0,10 \pm 0,03^{**}\#$	$1,63 \pm 0,21^{*}\#$	$0,35 \pm 0,17^{**}\#$	$0,90 \pm 0,21^{\wedge}$

Примітка: * – різниця між показниками вдень та вночі у тварин одного і того ж віку в межах кожної експериментальної групи вірогідна ($P < 0,05$); ** – $P < 0,05$ у порівнянні з віком 11 міс; # – $P < 0,05$ у порівнянні з віком 17 міс; $\wedge$ – $P < 0,05$ у порівнянні з тваринами того ж віку і часу доби, які отримали 0,9 % розчин хлориду натрію; в дужках – кількість тварин.

Введення епіталаміну не вплинуло на концентрацію кортикостерону у тварин 11-місячного та 17-місячного віку, які отримували 0,9 % розчин хлориду натрію (табл. 1). Концентрація тестостерону вночі у цих тварин не зменшувалась, а у щурів у віці 27 міс суттєво зростала у порівнянні не тільки з показником вдень у тварин цього віку, але й його значеннями вночі у щурів віком 17 міс ($P < 0,05$).

У старих щурів різниця між добовими значеннями концентрації тестостерону складала 16 разів, а по відношенню до значень показника вдень у 11-місячних щурів – 11 разів. Після ін'єкцій епіталаміну у 11-місячних щурів концентрація тестостерону зростала вдень ($P < 0,05$) у порівнянні із щурами контрольної групи і при цьому добові значення показника відповідали величинам, характерним для щурів у віці 6 міс.

Концентрація тестостерону у старіючих (17-місячних) щурів, які отримали епіталамін, не відрізнялась від показника у щурів того ж віку, яким вводили 0,9 % розчин хлориду натрію. Після ін'єкцій епіталаміну у старих (27 міс)

щурів різниця між добовими значеннями концентрації тестостерону зменшувалась до 3 разів, а різниця між денними величинами показника у порівнянні із 11-місячними щурами – до 6 разів.

Таким чином, у інтактних щурів при старінні циркадні ритми концентрації кортикостерону і тестостерону порушуються. Введення епіталаміну сприяє появі добових коливань концентрації кортикостерону. Препарат сповільнює формування вікових змін циркадного ритму концентрації тестостерону у 11-місячних щурів і зменшує прояви інверсії ритму показника у старих щурів.

Ми також встановили, що у дорослих інтактних самиць щурів у віці 8-9 міс концентрація КРФ вранці (9.00-10.00) і ввечері (16.00-18.00) складала відповідно $10,0 \pm 8,5$ пг/мл ($n=4$) і $30,0 \pm 9,2$ пг/мл ($n=4$), тоді як у старих інтактних тварин віком 27-28 міс в ці години доби – $20,0 \pm 7,8$ пг/мл ($n=4$) і $17,5 \pm 7,2$ пг/мл ($n=4$), відповідно. Хоча різниця між добовими значеннями рівня КРФ у щурів різного віку не досягала рівня вірогідності, у дорослих щурів ввечері значення показника до 1 нг/мл зустрічались у 25 % випадків, а у старих щурів в цей час доби – вже у 75 % випадків.

2. Вікові особливості циркануальних коливань функцій надниркових і статевих залоз у мишей та їх зміни під впливом епіталаміну

У дорослих (віком 3 міс) інтактних мишей рівень кортикостерону весною, влітку, восени та взимку складав $43,0 \pm 7,9$ нмоль/л ($n=6$), $151,65 \pm 13,76$ нмоль/л ($n=6$), $54,25 \pm 18,47$ нмоль/л ($n=10$) і $96,59 \pm 27,2$ нмоль/л ($n=5$), відповідно. Показник влітку вищий, ніж весною і восени ($P < 0,05$) [17].

Рівень тестостерону у крові дорослих інтактних мишей віком 3 міс влітку значно вищий, ніж взимку ($P < 0,05$), і складав $3,12 \pm 1,04$ нмоль/л ($n=8$) і $0,24 \pm 0,10$ нмоль/л ($n=8$), відповідно [17].

Результати досліджень циркануальних коливань концентрації кортикостерону у старих мишей та їх зміни під впливом довготривалого введення епіталаміну наведені у табл. 2. У старих мишей віком 23-24 міс, які отримали 0,9% розчин хлориду натрію, на відміну від дорослих тварин літній пік концентрації кортикостерону відсутній, а різниця значень показника взимку і восени становила не 1,8 раза, а 3,6 раза. Після ін'єкцій епіталаміну спостерігається зменшення концентрації кортикостерону взимку і підвищення значень показника влітку, хоча і не до рівня дорослих інтактних мишей. При цьому різниця між концентрацією кортикостерону восени і взимку зменшувалась до 1,2 раз, а характер циркануальних коливань концентрації кортикостерону нагадував такий, що був у мишей у віці 12 міс [17].

Таблиця 2. Вплив епіталаміну на циркануальні коливання концентрації кортикостерону (нмоль/л) у старих мишей ($M \pm m$)

Умови експерименту	Весна ($n=5$)	Літо ($n=8$)	Осінь ($n=6$)	Зима ($n=8$)
Кортикостерон, нмоль/л				
0,9% розчин NaCl	$33,27 \pm 1,99^*$	$41,6 \pm 15,62$	$17,32 \pm 4,33$	$62,7 \pm 5,88^*$
Епіталамін	$17,14 \pm 8,83^{**}$	$53,0 \pm 10,5$	$27,12 \pm 4,33^{**}$	$30,9 \pm 8,34^\#$

Примітка: * – $P < 0,05$ у порівнянні з осінню; ** – $P < 0,05$ у порівнянні із літом; # – різниця між показниками у тварин, що отримували 0,9% розчин хлориду натрію і епіталамін в межах одного сезону ($P < 0,05$); в дужках – кількість тварин.

У старих мишей віком 23-24 міс, які отримали 0,9 % розчин хлориду натрію, рівень тестостерону, на відміну від дорослих мишей, влітку нижчий, ніж взимку і склав відповідно $0,0011 \pm 0,0003$ нмоль/л ($n=8$) і $1,49 \pm 0,42$ нмоль/л ($n=8$, $P < 0,05$). При цьому величини показника суттєво відрізнялись від тих,

що реєструвались у дорослих мишей в аналогічні сезони року ($P < 0,05$). Після ін'єкцій епіталаміну концентрація тестостерону у старих мишей значно зростала влітку (до $0,35 \pm 0,10$ нмоль/л, $n=8$) порівняно зі старими мишами, які отримували 0,9 % розчин NaCl ($P < 0,05$). Взимку показник дещо зменшувався у порівнянні із старими мишами контрольної групи і склав $0,94 \pm 0,27$ нмоль/л ($n=8$). Разом з тим, у старих мишей після ін'єкцій епіталаміну концентрація тестостерону залишається зниженою по відношенню до дорослих мишей ($P < 0,05$).

Тобто, властиві дорослим мишам цирканнуальні коливання концентрації кортикостерону і тестостерону з віком змінюються. У старих мишей введення пептидного фактора епіфіза сприяє зміщенню сезонної акрофази концентрації кортикостерону на літній період року, а також ослаблює прояви інверсії ритмічних коливань концентрації тестостерону.

У дорослих (3 міс) інтактних мишей концентрація мелатоніну в культуральному середовищі епіфіза склала $204 \pm 25,5$ пг/залозу ($n=6$). У старих тварин віком 23-24 міс, які отримували 0,9 % розчин хлориду натрію, а також після ін'єкцій епіталаміну показник склав $104 \pm 35,2$ пг/залозу ($n=6$) і $227 \pm 59,15$ пг/залозу ($n=6$). Якщо у старих мишей контрольної групи концентрація мелатоніну в культуральному середовищі епіфіза істотно зменшується по відношенню до дорослих інтактних мишей ($P < 0,05$), то у старих тварин, що отримували епіталамін, зростає і не відрізняється від останніх.

Таким чином, в результаті проведених нами досліджень встановлено, що у тварин при старінні основними проявами змін циркадних та цирканнуальних ритмів функцій надниркових та статевих залоз є їх монотонність, інверсія, зміщення акрофази, зміна амплітуди і десинхронізація. Перші ознаки таких змін реєструються вже у дорослих 11-місячних тварин і посилюються з віком. В той же час введення епіталаміну, який посилює мелатонінсинтезуючу функцію епіфіза, значною мірою зменшує прояви вікових порушень ритмічних коливань концентрації кортикостерону і тестостерону, хоча і не відновлює ці показники до рівня 3-місячних мишей і 6-місячних щурів в окремі сезони року або проміжки доби.

Одним із механізмів порушень ритмів функцій надниркових і статевих залоз з віком можуть бути зміни взаємовідносин в ланці епіфіз-супрахіазматичне ядро (СХЯ) гіпоталамуса [1, 18]. Відомо, що в СХЯ є рецептори до мелатоніну, а чутливість ядра до останнього коливається впродовж різних періодів доби [18]. В результаті взаємодії цих структур відбувається синхронізація ендогенних ритмів функцій ендокринної системи з коливаннями чинників навколишнього середовища [1]. При старінні знижується амплітуда нічного зростання концентрації мелатоніну в епіфізі, а в СХЯ змінюється чутливість до регуляторного впливу з боку центральних мозкових структур і периферичних сигналів [6, 19]. Характерно, що зміни впливу пейсмеркерів на добові коливання КРФ існують вже у дорослих щурів у віці 10-12 міс, що сприяє формуванню порушень циркадних коливань концентрації АКТГ і кортикостерону в крові у щурів більш старшого віку [20]. Ми також показали, що найвиразніші вікові зміни добового ритму концентрації кортикостерону спостерігаються у старих щурів.

Довготривале введення епіталаміну підвищує вміст мелатоніну в епіфізах старих мишей до рівня дорослих тварин. У старих щурів, які отримали курс ін'єкцій епіталаміну, спостерігається активація нейросекреторних елементів в деяких ядрах гіпоталамуса [9]. Оскільки ці зміни співпадають із відновленням чутливості структур гіпоталамуса до дії глюкокортикоїдів і статевих гормонів у тварин при старінні, можна вважати, що виявлений нами позитивний вплив епіталаміна на порушені з віком ритмічні коливання концентрації кортикостерону і тестостерону у щурів і мишей носить центральний характер і реалізується на рівні вищезгаданих мозкових структур. Наші дані узгоджуються із результатами, отриманими іншими авторами [8]. Так, встановлено,

що курсове введення епіталаону-тетрапептиду, отриманого шляхом направлено-го хімічного синтезу на основі амінокислотного аналізу епіталаміну, відновлює у старих мавп у вечірні години зростання в крові концентрації мелатоніну і падіння концентрації кортикостерону. На думку авторів, це може бути зумовлене модулюючим впливом препарату на ослаблену при старінні чутливість мелатонінсинтезуючої регулюючої системи.

Незважаючи на те, що після введення епіталаміну функціональний стан ендокринних залоз у старих тварин в окремі строки досліджень не відповідав стану тварин більш молодого віку, поліпшення ритмічних коливань функцій надниркових і статевих залоз, а також зменшення проявів внутрішньосистемної десинхронізації у таких тварин може мати важливе значення для сповільнення розвитку у них вікової патології [2, 5, 9]. При цьому довготривалість збереження циркадної організації розглядається як маркер величини біологічного віку і може характеризувати адаптаційні можливості системи [5]. Наприклад, великі амплітуди ритмів є віддзеркаленням високого ступеня внутрішньої та зовнішньої упорядкованості часової організації [1, 2]. З віком амплітуда багатьох ритмів значно зменшується, хоча зустрічається і суттєве її зростання [5]. Ми встановили, що пептидний фактор епіфіза значною мірою реалізує свою дію шляхом регуляції величини амплітуди. При цьому у випадку зменшення останньої (наприклад, рівень кортикостерону вночі і влітку) препарат її підвищував, а в разі її збільшення (концентрація кортикостерону взимку) спостерігалось зменшення величини показника. Ці результати дають змогу оцінити дію епіталаміну на ритмічні коливання функції ендокринних залоз як модулюючу.

Демонстративні результати збереження ритмічних коливань концентрації гормонів під впливом епіталаміна отримані нами у дорослих 10-11-місячних щурів, у яких циркадні ритми концентрації тестостерону були схожими з 6-місячними щурами. Цей факт підтверджує дані літератури про більшу ефективність сповільнюючої дії пептидного фактора епіфіза на швидкість старіння у тварин в разі його використання, починаючи із дорослого, а не середнього віку [8, 9].

У старих тварин, які довготривало отримували епіталамін, змінюються також і міжсистемні циркадні і цирканнуальні взаємодії. Так, ми раніше встановили, що у щурів поліпшуються відносини між ритмічними коливаннями функції кори наднирників і тимуса, а у мишей – між цирканнуальними ритмами функції кісткового мозку і числом CD4⁺ і CD8⁺-клітин у селезінці [16, 17].

Таким чином, отримані результати є ще одним доказом ролі епіфіза в механізмах вікових порушень ритмів функцій надниркових і статевих залоз. Пептидні фактори епіфіза можуть використовуватись поруч із мелатоніном в якості фармакологічних засобів, які поліпшують порушені при старінні біоритми функцій ендокринних залоз шляхом зміни фази і/або амплітуди їх ритмів [21].

Висновки

1. Функція надниркових та статевих залоз у дорослих тварин підвладна циркадним та цирканнуальним ритмам.

2. У старих тварин ритми функцій ендокринних залоз порушуються і характеризуються монотонністю, зміщенням акрофази, зміною амплітуди, інверсією і десинхронізацією.

3. Довготривале введення епіталаміну призводить до появи добових коливань концентрації кортикостерону і його літньої акрофази, а також зменшує прояви інверсії циркадного і цирканнуального ритмів вмісту тестостерону у сироватці крові.

4. Одним із механізмів сповільнюючого впливу епіталаміну на вікові зміни ритмічності функцій надниркових і статевих залоз є зростання концентрації мелатоніну в епіфізах старих тварин.

Робота виконана при сприянні Фонду фундаментальних досліджень. Грант 5.4/352 "Епіфіз і біоритмічна активність імунної і ендокринної систем при старінні".

Література

1. Ашофф Ю. Обзор биологических ритмов // В кн.: Биологические ритмы. Под ред. Ю.Ашоффа. Т.1. М.: Мир, 1984, 12-22.
2. Комаров Ф.И. (ред.). Хронобиология и хрономедицина. М.: Медицина, 1989. 400 с.
3. Touitou Y. Effects of aging on endocrine and neuroendocrine rhythms in humans // *Horm. Res.* 1995, 43, N 1, 12-19.
4. Casale G., P. de Nicola. Circadian rhythms in the aged: a review // *Arch. Gerontol. Geriatr.* 1984, 3, N 3, 267-284.
5. Губин Г.Д., Вайнерт Д. Биоритмы и возраст // *Успехи физиол. наук.* 1991, 22, N 1, 77-96.
6. Reiter R.J. The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data // *Exp. Gerontol.* 1995, 30, N 3-4, 199-212.
7. Nelson R.J., Demas G.F. Role of melatonin in mediating seasonal energetic and immunologic adaptations // *Brain Res. Bull.* 1997, 44, N 4, 423-430.
8. Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Пептиды эпифиза и тимуса в регуляции старения. СПб.: ИКФ "Фолиант", 2001. 160 с.
9. Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Роль пептидов эпифиза в регуляции гомеостаза: 20-летний опыт исследования // *Успехи соврем. биол.* 1993, 113, вып. 6, 752-762.
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, N 2, 194-195.
11. Лабунец И.Ф., Терешина О.П., Максук Т.В. и др. Новые подходы к применению эпиталамина и тималина в стареющем организме // *Фармакол. вісник.* 1997, N 1, 45-47.
12. Henning S.G. A sensitive and convenient method for measurement of corticosterone in rat serum // *Steroids.* 1980, 35, N 6, 673-683.
13. Vieira R., Miguez J., Lema M., Aldegunde M. Pineal and plasma melatonin as determined by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection // *Anal. Biochem.* 1992, 205, 300-305.
14. Richardson B.A., Yaga K., Reiter R.J., Morton D.J. Pulsed static magnetic field effects on in-vitro pineal indolamine metabolism // *Biochem. Biophys. Acta.* 1997, 1137, 59-64.
15. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1973. 343 с.
16. Лабунец І.Ф., Магдич Л.В. Вплив епіталаміну на формування вікових змін циркадних взаємовідносин функції тимусу та кори надниркових залоз у тварин // *Матер. наук-практ. конф., присв. 80-річчю Укр. НДІ фармакотерапії ендокринних захворювань* // *Ендокринологія.* 1999, 4, N 2, с. 250.
17. Labunets I., Magdich L., Maksyuk T., Butenko G. The pineal hyperfunction retards the aging disturbances of immune and endocrine systems circadian rhythms // *Abst. 2nd Eur. Congress Biogerontology. Advances in Gerontol. (St-Petersburg).* 2000, 5, 63-64.
18. Gillette M.U., Medanic M., Mcarthur A.J. et al. Intrinsic neuronal rhythms in the suprachiasmatic nuclei and their adjustment // *In: Circadian clocks and their adjustment. Series: Ciba Foundation Symposia* 183. 1995, 134-144.
19. Старение мозга. Под общ. ред. акад. АН УССР В.В. Фролькиса. Л.: Наука, 1992. 277 с.
20. Cai A., Wise Ph.M. Age-related changes in the diurnal rhythm of CRH gene expression in the paraventricular nuclei // *Am. J. Physiol.* 1996, 270, N 2, pt. 1, 238-243.
21. Turek F.W., Pinto L.H., Vitaterna M.H. et al. Pharmacological and genetic approaches for the study of circadian rhythms in mammals // *Frontiers in Neuroendocrinology.* 1995, 16, N 3, 191-223.

Эпифиз и возрастные нарушения ритмических колебаний функций надпочечниковых и половых желез у животных

И.Ф.Лабунец, Л.В.Магдич, В.М.Жеребицкий

Институт геронтологии АМН Украины, 04114 Киев, Украина

Исследовано влияние пептидного фактора эпифиза эпителина на возрастные изменения ритмических колебаний концентрации кортикостерона и тестостерона у самцов крыс Вистар и мышей линии СВА. Препарат вводили длительно, начиная с возраста 6 мес у крыс и 4 мес у мышей. Установлено, что у взрослых животных наибольшая концентрация кортикостерона и тестостерона регистрировалась днем, тогда как ночью она уменьшалась. Уровни кортикостерона и тестостерона летом значительно превышали показатели осенью и зимой. У старых животных наблюдались нарушения ритмичности функций эндокринных желез, которые характеризовались отсутствием колебаний показателей (суточный ритм кортикостерона), смещением сезонной акрофазы (ритм тестостерона), инверсией ритма (увеличение концентрации тестостерона ночью), уменьшением амплитуды (уровень кортикостерона летом) и десинхронизацией ритмов. У старых животных после введения эпителина концентрация кортикостерона ночью уменьшалась в 2 раза и появлялся пик уровня гормона летом. Уменьшались проявления инверсии циркадного и цирканнуального ритмов содержания тестостерона. В механизме влияния эпителина на ритмы функций эндокринных желез имело значение увеличение концентрации мелатонина в эпифизах старых животных (концентрация мелатонина в эпифизах старых мышей, а также старых животных, получавших эпителин, составила $104 \pm 35,2$ пг/железу и $227 \pm 59,15$ пг/железу, соответственно, против $204 \pm 25,5$ пг/железу у взрослых мышей).

Ключевые слова: биоритмы, старение, эпифиз, кортикостерон, тестостерон

The pineal gland and the age-related disturbances of rhythmical fluctuations of adrenal and gonadal function in animals

I.F.Labunets, L.V.Magdich, V.M. Zhrebitsky

Institute of Gerontology of AMS, 04114 Kyiv, Ukraine

The influence of pineal peptide factor epithalamine on age-related changes of rhythmical fluctuations of corticosterone and testosterone levels in Wistar rats and CBA mice was studied. Epithalamine was injected chronically beginning at month 6 in rats and month 4 in mice. In young animals we observed peaks of corticosterone and testosterone concentration in the daytime, and at night the values were decreased. The levels of corticosterone and testosterone in summer were higher than in autumn and winter. There were circadian disturbances of endocrine secretion in old animals, characterized by loss of fluctuations (24-hour corticosterone level), displacement of the seasonal acrophase (rhythm of testosterone), diminished amplitude (corticosterone level in summer) and desynchronization of rhythms. In old animals after epithalamine injections corticosterone level was two times less at night, and the summer peak of hormone level appeared. Manifestations of the inversion of testosterone circadian and circannual rhythms reduced. An increase of melatonin level in the pineal gland of old animals plays the role in the improvement of endocrine glands rhythms (melatonin concentration in the pineal gland of old mice and old animals who received epithalamine, was $104 \pm 35,2$ pg/gland and $227 \pm 59,15$ pg/gland, respectively, vs $204 \pm 25,5$ pg/gland in adult mice).

Key words: biorhythms, aging, pineal gland, corticosterone, testosterone.

(Надійшла 4.04.2002; надійшла в остаточній формі 9.09.2002)

ВПЛИВ L-АРГІНІНУ І БЛОКАТОРА СИНТАЗИ ОКСИДУ АЗОТУ N^ω-НІТРО-L-АРГІНІНУ НА РІВЕНЬ КАТЕХОЛАМІНІВ ТА ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У КРОВІ МУРЧАКІВ ЗА УМОВ АДАПТАЦІЇ ДО ІНТЕРВАЛЬНОЇ ГІПОКСІЇ

Н.М. Кургалюк*, Т.М. Мишуніна¹

Львівський національний університет ім. І. Франка, 79005 Львів; ¹Інститут
ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, 04114
Київ, Україна

Досліджено вплив інтервальної гіпоксії, а також введення попередника біосинтезу оксиду азоту L-аргініну і блокатора синтази оксиду азоту N^ω-нітро-L-аргініну (L-NNA) на концентрацію катехоламінів та ТБК-реагуючих продуктів перекисного окиснення ліпідів у крові мурчаків. Встановлено, що під впливом сеансів інтервальної гіпоксії впродовж 5-ти, 10-ти та 15-ти діб спостерігалися фазні зміни вмісту адреналіну та ТБК-реагуючих продуктів, що супроводжувалося на заключному етапі гіпоксичних тренувань значним підвищенням рівня дофаміну. На цьому тлі для впливу L-аргініну на пізніх строках гіпоксичних тренувань було характерно зростання концентрації у крові адреналіну та продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, а для дії L-NNA – значний вплив на рівень норадреналіну у всі строки експерименту.

Ключові слова: катехоламіни, перекисне окиснення ліпідів, окис азоту, інтервальна гіпоксія.

Останнім часом все більше уваги приділяють вивченню можливості застосування гіпоксії в терапії захворювань [1]. З'ясування механізмів дії зниженого вмісту кисню у повітрі відкриває можливості для розробки практичних методів підвищення стійкості організму [2], а прийом одночасно із гіпоксією біологічно активних речовин протекторної, антигіпоксичної дії може сприяти скороченню терміну адаптації, підвищенню міцності компенсаторних механізмів, мінімізації небажаних ефектів гіпоксії на функції окремих систем й органів.

Відомо, що симпато-адреналова система однією з перших включається у процеси формування адекватної відповіді організму на вплив стресорного чинника. Крім того, за умов гіпоксії особливе значення, певно, має участь катехоламінів у механізмах розвитку ланцюгових вільнорадикальних процесів [3]. З іншого боку, до стрес-лімітуючих систем організму відносять систему оксиду азоту (NO), який, зокрема, має антиоксидантні властивості та може впливати на перебіг процесів адаптації до гіпоксичних навантажень [4]. В той же час в літературі відсутні дані про зміни активності симпато-адреналової системи за умов інтервальної гіпоксії, поєднаної із модуляцією стану NO-системи.

Зважаючи на викладене, метою роботи було визначити концентрацію катехоламінів, а також продуктів перекисного окиснення ліпідів у крові мурчаків, які піддавалися щоденним сеансам гіпоксії та гіпоксії на тлі введення препаратів, що змінюють стан системи NO – метаболічного попередника NO L-аргініну та блокатора синтази NO N^ω-нітро-L-аргініну (L-NNA). Вибір об'єкта дослідження був обумовлений тим, що мурчак є високорезистентними до гіпоксії і здатні переносити значну кисневу недостатність у вдихуваному повітрі [5].

*Адреса для листування (Correspondence): Львівський національний університет ім. І. Франка, вул. Університетська, 1, 79005 Львів, Україна

Методика

Дослідження виконані на 60 мурчаках-самцях масою 0,4-0,45 кг, які утримувались у віварії на стандартному раціоні. Перед дослідженням тварин поділили на контрольну (6 тварин) та 3 дослідні групи, а кожну з них – на 3 підгрупи по 6 тварин у кожній. Тварини останніх груп були використані у досліді після курсу інтервальних гіпоксичних тренувань (ІГТ). Сеанс гіпоксії включав 15-хвилинне перебування кожної з підгруп тварин у камері, яка вентильовалась сумішшю кисню (10 %) та азоту, з наступним 15-хвилинним диханням мурчаків атмосферним повітрям. Такі сеанси повторювали п'ять разів на день для кожної групи. З метою поглинання вуглекислого газу і водяних парів у камері використовували адсорбент. Мурчакам дослідних підгруп за 30 хв до початку першого з щоденних сеансів інтервальної гіпоксії парентерально вводили в об'ємі 1 мл фізіологічного розчину L-аргінін (600 мг/кг, "Sigma", США) або L-NNA (35 мг/кг, "Sigma", США). Термін адаптації до гіпоксії в інтервальному режимі становив 5, 10 та 15 днів з декапітацією тварин на наступний день. Концентрацію катехоламінів у крові визначали за флуориметричним методом [6]. Активність процесів перекисного окиснення ліпідів оцінювали за вмістом у крові продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактивні продукти) [7]. Результати досліджень обробляли статистично із використанням критерію t Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Курс інтервального гіпоксичного тренування упродовж 15 діб супроводжувався фазними змінами рівня адреналіну у крові мурчаків, а саме: за умов 5-денних сеансів його вміст підвищувався, 10-денних – знижувався, а 15-денних – повторно збільшувався (табл.). На перших етапах гіпоксичних тренувань (5 та 10 діб) не спостерігали суттєвих змін вмісту інших катехоламінів та їх попередника ДОФА, тоді як за умов 15-денної інтервальної гіпоксії концентрація дофаміну була значно підвищеною поряд із тенденцією до зниження вмісту ДОФА ($0,1 > P > 0,05$). Відомо, що фазність змін гормональної функції надниркових залоз є характерною ознакою процесу адаптації організму до дії хронічного стресорного чинника, а різке (на 111%) зростання рівня дофаміну на заключному етапі курсу інтервальних гіпоксичних тренувань може бути пов'язане як із посиленням синтезу першого із метаболічного ланцюжка катехоламінів внаслідок підвищеної їх потреби за умов тривалої дії гіпоксії, так і з участю периферичного дофаміну у регуляції процесів дихання у разі нестачі кисню [8].

Активізація гормональної ланки симпато-адреналової системи при 5-денних тренуваннях супроводжувалася деяким зменшенням інтенсивності перекисного окиснення ліпідів ($0,1 > P > 0,05$), а зниження вмісту адреналіну при 10-денних сеансах відбувалося поряд із суттєвим підвищенням вмісту ТБК-реагуючих продуктів у крові мурчаків, яке частково зберігалось і при 15-денних сеансах ($0,1 > P > 0,05$). Таким чином, одержані результати можуть свідчити на користь гіпотези про інгібуючий вплив катехоламінів на процеси перекисного окиснення ліпідів [9], хоча в літературі існує і протилежна думка [10].

Введення L-аргініну за умов 5-денного курсу інтервальних гіпоксичних тренувань попереджувало підвищення концентрації адреналіну та викликало збільшення рівня дофаміну при тенденції ($0,1 > P > 0,05$) до падіння вмісту у крові ДОФА (табл.). Концентрація ТБК-реагуючих продуктів у крові при цьому залишалася на рівні контролю. На подальших термінах інтервальної гіпоксії концентрація адреналіну у крові мурчаків під впливом L-аргініну зростала у порівнянні з тваринами, які піддавалися дії лише гіпоксії. Крім того, L-аргінін за умов 10-денних тренувань призводив до зниження рівня ДОФА, а 15-денних – дофаміну. Зміни інтенсивності перекисного окиснення ліпідів під впливом L-аргініну були неоднозначними: концентрація ТБК-реагуючих продуктів при 10-денних гіпоксичних тренуваннях зменшувалася, а 15-денних – збільшувалася. Отже, L-аргінін на початкових стадіях адаптації організму мурчаків до гіпоксії обмежував стресову активацію гормональної ланки сим-

Таблиця. Концентрація катехоламінів (нмоль/л) та ТБК-реагуючих продуктів (нмоль/л) у крові мурчаків за умов курсу інтервальної гіпоксії різної тривалості та введення L-аргініну і L-NNA ($M \pm m$, $n=6$)

Умови досліджу	Адреналін	Норадреналін	Дофамін	ДОФА	ТБК- реагуючі продукти
Контроль	28,49±1,44	49,60±4,01	21,93±1,33	53,50±4,58	3,38±0,36
ПТ, 5 діб	45,10±3,96*	56,26±3,79	18,52±1,06	50,37±5,33	2,45±0,34
L-аргінін і ПТ, 5 діб	28,60±2,74**	65,15±7,01	33,79±3,06**	37,17±2,60	3,85±0,45**
L-NNA і ПТ, 5 діб	38,99±3,51	109,93±8,53**	43,87±4,00**	34,61±3,11**	3,36±0,20**
ПТ, 10 діб	17,24±2,42*	49,90±3,04	20,28±2,03	49,38±4,22	14,75±0,90*
L-аргінін і ПТ, 10 діб	27,30±2,06**	45,28±3,44	23,20±1,96	31,65±3,28**	11,62±0,88**
L-NNA і ПТ, 10 діб	19,85±1,93	28,90±2,79**	28,01±4,01	32,36±2,82**	10,05±0,96**
ПТ, 15 діб	35,60±2,54*	39,01±3,02	46,28±3,96*	41,88±3,15	4,49±0,41
L-аргінін і ПТ, 15 діб	49,71±3,66**	49,78±3,91	34,25±3,51**	47,16±3,96	6,13±0,53**
L-NNA і ПТ, 15 діб	20,41±2,61**	24,13±1,29**	40,52±3,36	32,51±3,52	4,32±0,33

Примітка: * – зміни вірогідні щодо інтактного контролю, ** – щодо інтервальної гіпоксії.

пато-адrenalової системи. У подальшому його вплив був спрямований на збільшення секреції адреналіну, можливо, за рахунок зміни процесів синтезу катехоламінів (зменшення рівня ДОФА та дофаміну), а також на певне гальмування різко збільшеної у середній термін курсу гіпоксичних тренувань інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів.

Відмінним від дії попередника NO на концентрацію катехоламінів у крові виявився ефект блокатора ферменту його синтезу. Так, L-NNA не впливав на рівень адреналіну за умов 5- та 10-денних курсів інтервальних гіпоксичних тренувань і запобігав підвищенню його концентрації при 15-денному (табл.). Вміст дофаміну підвищувався при 5-, а концентрація ДОФА зменшувалася при 5- та 10-денних тренуваннях. У той же час L-NNA суттєво впливав на рівень норадреналіну: за умов 5-денних тренувань він був різко збільшеним, а у подальшому – зменшеним порівняно з тваринами, що піддавалися дії однієї гіпоксії. Суттєва відмінність у дії L-NNA порівняно із дією L-аргініну на вміст ТБК-реагуючих продуктів була зареєстрована лише при 15-денному курсі інтервальних гіпоксичних тренувань.

Відомо, що генетично детермінована стабільно висока стійкість організму до зниженого pO_2 пов'язана із підвищеною активністю парасимпатичної ланки вегетативної нервової системи [5]. Медіатор останньої – ацетилхолін має певний вплив на обмін катехоламінів, а це, у свою чергу, може бути фактором, що сприяє модифікації дії останніх на вільнорадикальні процеси та систему NO у тварин з високою (мурчаки) та низькою (щери) стійкістю організму до гіпоксії. Можна припустити, що вища холінергічна "залежність" мурчаків порівняно зі щурами може поєднуватися також із високим рівнем NO-залежних механізмів. Можливо тому, формування адаптативних реакцій на гіпоксичний вплив супроводжувалося в наших дослідах у мурчаків на початкових етапах адаптації не зростанням, а навіть деяким обмеженням вільнорадикальних реакцій поряд із підвищенням рівня адреналіну. Подібну спрямованість змін концентрації адреналіну та ТБК-реагуючих продуктів спостерігали і на середній стадії адаптації до гіпоксії за умов додаткового утворення NO внаслідок введення L-аргініну.

Як засвідчують результати наших попередніх досліджень [11], ефекти гіперпродукції NO на інтенсивність процесів енергозабезпечення та перекисного окиснення ліпідів у печінці, які супроводжують гостру гіпоксію у мурчаків (але не у щурів лінії Вістар), попереджувалися введенням блокатора синтази NO L-NNA. У цьому дослідженні за умов інтервальної гіпоксії це прослідковується щодо змін вмісту адреналіну у крові на пізній та ТБК-реагуючих продуктів – на середній стадії експерименту. В той же час, для модуляції рівня норадреналіну можна припустити існування альтернативних механізмів. Так, відомо, що катехоламіни можуть утворювати з NO сполуки (6-нітрокатехоламіни), які мають властивість змінювати продукцію NO через вплив на її синтазу [3]. Це може модифікувати звичну стратегію адаптаційних змін.

Таким чином, одержані результати дозволяють припустити, що спрямований вплив на генерацію NO може певною мірою виявитися перспективним засобом профілактики негативних наслідків гіпоксичних станів, зокрема, значного підвищення рівня адреналіну та інтенсифікації процесів перекисного окиснення ліпідів. При цьому обов'язково необхідно враховувати індивідуальну фізіологічну реактивність організму. В першу чергу це стосується особин з підвищеною активністю холінергічних механізмів регуляції, що вже володіють значним "запасом" адаптаційних можливостей. Ймовірно, що певна фармакологічна корекція продукції активних форм кисню у мурчаків, а також нормалізація секреції гормонів мозкового шару надниркових залоз за цих умов може бути пов'язана як з підвищенням рівня NO, так і зі зменшенням ефектів NO, система якого у них є природно високою, що частково експериментально підтверджується, зокрема, результатами застосування блокатора синтази NO L-NNA.

Автори вдячні д.б.н. Т.В. Сребровській і к.б.н. Є.Є. Колесніковій за допомогу у проведенні досліджень.

Література

1. Serebrovskaya T., Karaban I., Kolesnikova E. et al. Old men and patients with Parkinson's disease under intermittent hypoxic training // 11th Internat. Hypoxic Symposium, Febr. 28- March 3, 1999, Jasper-Alberta, Kanada, p. 148.
2. Prabhakar N.R. Physiological and genomic consequence of intermittent hypoxia. Invited review: Oxygen sensing during intermittent hypoxia: cellular and molecular mechanisms // J. Appl. Physiol. 2001, 90, 1986-1994.
3. Palumbo A., Astarita G., Ischia M. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase by 6-nitrocatecholamines, putative reactions products of nitric oxide with catecholamines under oxidative stress conditions // Biochem. J. 2001, 356, 105-110.
4. Бондаренко О.Н., Бондаренко Н.А., Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Антистрессорный эффект оксида азота // Известия РАН. Серия биологическая. 2001, № 3, 459-466.
5. Березовский В.А., Левашов М.И. Введение в оротерапию. К: Изд-во Академии проблем гипоксии РФ, 2000. 76 с.
6. Jacobowich P.M., Richardson J.S. Method for the rapid determination of norepinephrine, dopamine and serotonin in the same brain region // Pharmacol. Biochem. Behavior. 1979, 8, № 5, 515-519.
7. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.П., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Вопросы мед. химии. 1987, 33, № 1, 118-122.
8. Колеснікова Є.Є., Сребровська Т.В., Мишуніна Т.М. та ін. Роль дофаміну в периферичних механізмах регуляції дихання // Нейрофізіологія. 1999, 31, № 1, 18-22.
9. Andorn A., Pappolia M. Catecholamines inhibit lipid peroxidation in young, aged, and Alzheimer's disease brain // Free Radic. Biol. Med. 2001, 31, № 3, 315-320.
10. Кондрашова М.Н., Григоренко Е.В., Бабский А.М., Хазанов В.А. Гомеостазирование физиологических функций на уровне митохондрий // Молекулярные механизмы клеточного гомеостаза. Новосибирск: Наука, 1990, 40-66.
11. Сребровська Т.В., Кургалюк Н.М., Носар В.І., Колеснікова Є.Є. Вплив інтервальних гіпоксичних тренувань та екзогенного оксиду азоту на процеси енергозабезпечення та ліпопероксидації у печінці щурів за умов гострої гіпоксії // Фізіол. журн. 2001, 47, № 1, 85-92.

Влияние L-аргинина и блокатора синтазы оксида азота N⁰-нитро-L-аргинина на уровень катехоламинов и продуктов перекисного окисления липидов в крови морских свинок в условиях адаптации к интервальной гипоксии

Н.Н. Кургалюк, Т.М. Мишунина¹

Львовский национальный университет им. И. Франко, 79005 Львов; ¹Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев, Украина

Исследовано влияние интервальной гипоксии, а также введения предшественника биосинтеза окиси азота L-аргинина и блокатора синтазы окиси азота N⁰-нитро-L-аргинина (L-NNA) на концентрацию катехоламинов и ТБК-реагирующих продуктов перекисного окисления липидов в крови морских свинок. Установлено, что под влиянием сеансов интервальной гипоксии на протяжении 5-, 10- и 15 суток наблюдались фазные изменения содержания адреналина и ТБК-реагирующих продуктов, сопровождающиеся на заключительном этапе гипоксических тренировок значительным увеличением уровня дофамина. На этом фоне влияние L-аргинина на поздних стадиях гипоксических тренировок характеризовалось увеличением в крови концентрации адреналина и ТБК-реагирующих продуктов, а действие L-NNA – значительным влиянием на уровень норадреналина во все сроки эксперимента.

Ключевые слова: катехоламины, перекисное окисление липидов, окись азота, интервальная гипоксия.

The effect of L-arginine and nitric oxide synthase blocker N^ω-nitro-L-arginine on catecholamine level and contents of products of lipid peroxidation in guinea pigs blood under adaptation to intermittent hypoxia

N.N.Kurhalyuk, T.M. Myshunina¹

I. Franko Lviv National University, 79005 Lviv; ¹V.P.Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 04114 Kyiv, Ukraine

Concentrations of catecholamines and products of lipid peroxidation in blood of intact guinea pigs, those under adaptation to intermittent hypoxia and after injections of L-arginine, precursor of nitric oxide biosynthesis, or nitric oxide synthase blocker N^ω-nitro-L-arginine (L-NNA) were studied. It has been established that intermittent hypoxia during 5, 10, 15 days selectively changed adrenaline level and contents of products of lipid peroxidation in blood of guinea pigs. It was accompanied by increasing dopamine content at late stages of intermittent hypoxia. Prior injection of L-arginine under these conditions increased adrenaline level and products of lipid peroxidation contents, while L-NNA effected noradrenaline content at all periods of intermittent hypoxia.

Key words: catecholamines, lipid peroxidation, intermittent hypoxia, nitric oxide.

(Надійшла 26.03.2002)

МАРКЕРИ МАЛІГНІЗАЦІЇ В СУЧАСНІЙ ДООПЕРАЦІЙНІЙ ЦИТОЛОГІЧНІЙ ДІАГНОСТИЦІ КАРЦИНОМ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ І ВЛАСНІ ДАНІ)

Ю.М.Божок*, Г.В.Зелінська, Г.М.Кулініченко, Г.Я.Устименко

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

В роботі розглянуто методичні проблеми доопераційної цитологічної діагностики карцином щитоподібної залози. Представлено дані про ефективність використання різних маркерів малігнізації фолікулярного епітелію – морфологічних, цитохімічних, імуноцитохімічних, каріометричних та цитогенетичних. Окреслено шляхи наближення точності цитологічної діагностики до рівня післяопераційного патогістологічного дослідження.

Ключові слова: щитоподібна залоза, пухлини, тонкогolkова аспіраційна біопсія, маркери малігнізації.

Як показав світовий досвід, тонкогolkова аспіраційна біопсія (ТАБ) з наступним цитологічним дослідженням пункційного матеріалу є найефективнішим методом доопераційної діагностики злоякісних новоутворень щитоподібної залози (ЩЗ). Однак доопераційна цитологічна діагностика (ДЦД) має свої проблеми, пов'язані з надійністю цитологічних ознак малігнізації. Справа в тім, що цитолог не може використати для диференціації аденом і карцином чіткі гістологічні критерії малігнізації (проростання капсули чи інвазії в судини), оскільки дослідити гістологічну будову пухлини на матеріалі ТАБ неможливо. Натомість, цитолог повинен робити свої висновки, виходячи з особливостей будови окремих клітин або фрагментів епітелію, що містяться у пункційному матеріалі з новоутворень ЩЗ.

Емпірично було знайдено цілий ряд цитоморфологічних ознак малігнізації тиреоїдного епітелію. Наприклад, для найбільш поширеного папілярного раку характерними є такі морфологічні особливості будови тиреоцитів: збільшення та варіації в розмірах ядер, "вуглувата" форма та гіпохромність ядер, пиловидний хроматин, наявність заповнених цитоплазмою інвагінацій ядерної оболонки (так звані псевдовключення цитоплазми у ядро), наявність ядерних борозен (лінійних заглиблень ядерної оболонки) [1].

Жодна з цитоморфологічних ознак малігнізації не може вважатись абсолютною, тому що з тою чи іншою частотою зустрічається в клітинах доброякісних новоутворень. Прикладом може слугувати найчіткіша цитологічна ознака малігнізації фолікулярного епітелію – псевдовключення цитоплазми у ядро. Ці структури зустрічаються у 82-83 % папілярних карцином [2, 3] із середньою частотою 1 псевдовключення на кожні 100 ядер. Але такі самі псевдовключення описані в клітинах тиреоїдного епітелію в окремих випадках аутоімунного тиреоїдиту, кістковидної дегенерації та тубулярних аденом [1,4]. Вони ж характерні для гіалінізуючих трабекулярних аденом [5]. Що стосується пух-

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

лин з клітин Ашкіназі-Гюртля, то за даними деяких авторів [6], псевдовключення цитоплазми у ядро зустрічаються приблизно з однаковою частотою як в аденомах, так і в карциномах.

Аналогічну ситуацію маємо з ядерними борознами, що характерні для клітин папілярних карцином, але зустрічаються у 16 % тиреоцитів при автоімунному тиреоїдиті та у 8 % – при колоїдному зобі [7]. Вони завжди наявні в гіалінізуючих трабекулярних аденомах [5].

Обмежена точність цитоморфологічних ознак малігнізації зумовила розробку і запровадження в практику цитохімічних, імуноцитохімічних та цитогенетичних методів досліджень пункційного матеріалу. В результаті було запропоновано цілу низку нових маркерів малігнізації. Розглянемо їх систематично.

1. Ферменти

Як було помічено в біохімічних дослідженнях, у пухлинах ЩЗ відбуваються зміни активності деяких ферментів. Серед них найцікавішими є два: дипептидиламінопептидаза IV та йодпероксидаза.

Дипептидиламінопептидаза (DAP IV) – ензим клітинних мембран, що гідролізує N-терміналі пролінових пептидів. В нормальній ЩЗ його активність помітна лише в ендотелії капілярів [8]. У фолікулярних, а особливо в папілярних карциномах активність DAP IV стає високою у фолікулярному епітелії [9]. На цій підставі запропоновано застосовувати виявлення активності DAP IV для цитологічної діагностики папілярних карцином [10].

Хоча автори згаданих досліджень з ентузіазмом сприймають свої результати, є підстави з обережністю відноситись до цього маркера малігнізації. При вивченні кріостатних зрізів новоутворень ЩЗ виявилось, що активність DAP IV спостерігається у фолікулярному епітелії 60 % аденом, в деяких випадках сягаючи рівня, притаманного папілярним карциномам [11]. Приблизно 10 % папілярних та 50 % фолікулярних карцином, 53 % фолікулярних аденом і 19 % аденоматозних вузлів мають однакову середню активність DAP IV. Все це утруднює практичне використання DAP IV в якості маркера малігнізації. Намагаючись обійти цю проблему, автори методу пропонують підраховувати на цитологічних препаратах відсоток клітин з активністю DAP IV і вважати зловиякісними ті пухлини, в яких цей відсоток вищий за певну межу. Проте значна “забрудненість” пунктів новоутворень ЩЗ макрофагами заважає таким підрахункам.

Йодпероксидаза, або тиреоїдна пероксидаза (ТПО), притаманна А-клітинам фолікулярного епітелію і забезпечує зв'язування йоду у ЩЗ. Біохімічні дослідження показали, що активність ТПО зменшена в зловиякісних новоутвореннях ЩЗ [12]. Серед диференційованих папілярних та фолікулярних раків в 56 % випадків активність ТПО знижена до 0 [13]. Те ж саме було підтверджено імуногістохімічно за допомогою моноклональних антитіл до ТПО [14]. В результаті запропоновано використати підрахунок клітин, що містять ТПО, для діагностики папілярних карцином на пункційному матеріалі [15]. При цьому відмічають, що в папілярних карциномах завжди менше 80 % клітин реагують з антитілами проти ТПО.

Потрібно відмітити, що імуноцитохімічні методи дозволяють виявити лише наявність ТПО, а не активність цього ферменту. Однак згадані вище базові біохімічні дані щодо ТПО, як маркера малігнізації, стосуються саме активності пероксидази. Тому в нашій лабораторії було зроблено дослідження, яке показало можливість цитохімічного виявлення активності ТПО в епітелії з пунктів пухлин ЩЗ за допомогою модифікації бензидинового методу. Продемонстровано придатність цього методу для диференційної діагностики доброякісних вузлів та папілярних карцином [16].

На жаль ТПО, як і DAP IV, не можна вважати абсолютно надійним маркером малігнізації тиреоїдного епітелію. По-перше, близько 20 % папілярних і фолікулярних карцином мають високу активність ТПО (навіть вищу за норму) [13]. По-друге, необхідність виконання імуноцитохімічних або цитохімічних процедур на нефіксованих мазках утруднює морфологічну ідентифікацію груп макрофагів (які, природно, не містять ТПО) та атипових ракових клітин.

2. Металопротейни

У якості маркерів малігнізації фолікулярного епітелію запропоновано використовувати ряд металопротейнів – лактоферин, антиген р97 та трансферин [17-19]. За даними цих дослідників, згадані металопротейни імуногістохімічно не виявляються у фолікулярних аденомах, але в різній кількості наявні в диференційованих папілярних та фолікулярних карциномах. В анапластичних раках лактоферин знаходили в місцях фокальної диференціації. Хоча опубліковані результати здавались обнадійливими, вони не були підтверджені іншими авторами в незалежних дослідженнях. Незважаючи на це, є спроби застосувати лактоферин в ДЦД. Правда і тут вказується, що лактоферин виявляється в 30,7 % пунктів аденом.

3. Білки цитоскелету

Відомо, що малігнізація епітеліальних клітин може призводити до зміни спектру специфічних білків у їхньому цитоскелеті – цитокератинів [20]. З огляду на це, різними групами дослідників вивчалися зміни в складі цитокератинів при малігнізації тиреоїдного епітелію.

Цитокератин 19. Згідно з даними ряду авторів, цитокератин 19 міститься у фолікулярному епітелії 92 % папілярних карцином і лише в 3 % доброякісних новоутворень [21, 22]. На цій підставі робиться висновок про високу ефективність використання цитокератину 19, як маркера папілярних карцином у ДЦД. В той же час попередні дослідники [23-25] відмічали експресію цитокератину 19 як в карциномах, так і в доброякісних новоутвореннях ЩЗ, а крім того – при тиреоїдиті і фокально – в нормальному фолікулярному епітелії. Знайдено його також в гіалінізуючих трабекулярних аденомах [26].

Цитокератин 17. В нашій лабораторії досліджували експресію в новоутвореннях ЩЗ одного з рідкісних цитокератинів – цитокератину 17 [27]. Імуногістохімічні реакції на кріостатних зрізах показали, що у доброякісних новоутвореннях цитокератин 17 містять не більше 1,7 % епітеліальних клітин. У той же час у папілярних та фолікулярних раках експресія цитокератину 17 сягає 36 % епітеліальних клітин, а у дифузно-склерозуючих раках – 100 %.

При дослідженні матеріалу тонкогілкових аспіраційних біопсій клітини з цитокератином 17 були знайдені у пунктатах 15 % аденом і аденоматозних вузлів ЩЗ, де їх вміст не перевищував 0,25 % всіх клітин фолікулярного епітелію. У пунктатах злоякісних новоутворень клітини з детермінантами цитокератину 17 були виявлені у 90 % випадків, а їх вміст сягав 55 % тиреоцитів [28]. Таким чином, пухлину можна вважати злоякісною, якщо в її пунктатах вміст клітин з цитокератином 17 перевищує 0,5 % від загальної кількості тиреоцитів. Слід зазначити, що за розробленим нами методом [29] цитокератин 17 імуноцитохімічно виявляють на препаратах, попередньо фіксованих і пофарбованих за MGG. Це дозволяє при підрахунках точно розрізняти епітеліальні клітини і макрофаги.

Використання цитокератину 17 у якості імуноцитохімічного маркера злоякісності має певні обмеження у випадку кістозно-дегенеративних вузлів. В таких доброякісних пухлинах ми спостерігали значну експресію цитокератину 17 у сплосченому епітелії, що вистилає порожнини кіст.

4. Білки міжклітинної адгезії

Передумовою для утворення метастазів є втрата окремими клітинами нормальних зв'язків з епітеліальним пластом, що дозволяє їм в той чи інший спосіб мігрувати за межі пухлини. Вивчення експресії білків, відповідальних за міжклітинну адгезію, допомогло знайти серед них "кандидатів" на роль маркерів малігнізації.

ICAM-1 ("молекула міжклітинної адгезії 1", або CD54) – поверхневий глікопротеїн, що відіграє важливу роль у функціонуванні лімфоїдних клітин. Крім того, його експресія відмічена на ендотеліальних клітинах, фібробlastах, макрофагах, лімфоцитах, а також в епітелії при різних неопластичних процесах, в тому числі в пухлинах ШЗ. За даними ряду дослідників [30, 31], експресія ICAM-1 інтенсивна в епітелії папілярних карцином і відсутня в тиреоцитах фолікулярних карцином, фолікулярних аденом та нормальної ШЗ. Це дало надії на застосування ICAM-1 в ДЦД для диференціальної діагностики папілярних карцином. Проте існують роботи з протилежними результатами [32-34]. Згідно з ними, експресія ICAM-1 спостерігається у фолікулярному епітелії в зонах лімфоїдної інфільтрації при хворобі Грейвса та автоімунному тиреоїдиті і повністю відсутня в карциномах ШЗ.

Е-кадгерин забезпечує Ca^{2+} -залежне злипання латеральної поверхні сусідніх клітин в епітеліальних пластах. На думку ряду дослідників [35-38], в клітинах папілярного та фолікулярного раку, на відміну від доброякісних новоутворень, спостерігаються значні варіації експресії Е-кадгерину, аж до повного його зникнення в анапластичних карциномах. Крім того, помічено зміни у розміщенні Е-кадгерину в клітинах фолікулярного епітелію при малігнізації. Якщо в нормальній ШЗ або у фолікулярних аденомах Е-кадгерин знаходиться на бічній поверхні тиреоцитів, то в карциномах цей білок дифузно розподілений в цитоплазмі клітин [38]. Такі зміни добре помітні на цитологічних препаратах пункційного матеріалу, що дозволяє авторам згаданих досліджень передбачати використання цього феномену в ДЦД.

Н-САМ (CD44) – клітинний рецептор для гіалуронової кислоти. В літературі існує повідомлення про знаходження антигену CD44 у пунктатах 88 % папілярних карцином і лише 7 % доброякісних новоутворень [39]. Однак ці дослідження виконано на незначному за обсягом матеріалі, і поки що вони не мають незалежних підтверджень. В той же час в роботі інших авторів [40] вказується, що транскрипти, які містять екзони CD44, знайдено у 75-92 % карцином та 28-59 % доброякісних новоутворень ШЗ.

Десмосомальні протеїни. А.В. Lang та ін. [41] отримали моноклональні антитіла ZK 31, які реагують з епітопами протеїнів повних десмосом, що з'єднують клітини між собою, і не реагують з гемідесмосомами, які зв'язують клітини з базальною мембраною. За допомогою антитіл ZK 31 в нашій лабораторії було виконане дослідження експресії десмосомальних протеїнів (ДП) на криостатних зрізах доброякісних і злоякісних новоутворень та нормальної паренхіми ШЗ [42].

В нормальному фолікулярному епітелії ДП знаходились виключно на бічній поверхні апікальної зони клітин у вигляді дрібних гранул. В епітелії папілярних раків спостерігалось збільшення кількості гранул ДП та ненормальний розподіл десмосомальних білків у вигляді дифузного матеріалу в базальній частині цитоплазми клітин. Локалізація ДП в базальній частині цитоплазми тиреоцитів зустрічалась у 57 % папілярних карцином і лише у 7 % аденоматозних вузлів. При дифузно-склерозуючому варіанті папілярного раку ДП часто були дифузно розподілені по всій цитоплазмі і не утворювали гранул на поверхні клітин. Такі ж картини можна було спостерігати на цитологічних препаратах пунктатів пухлин після реакції з антитілами ZK 31 [16]. Таким чином, порушення локалізації десмосомальних протеїнів можна розглядати як перспективний маркер для диференційної цитологічної діагностики папілярних карцином.

5. Лектини

Галектин. Галектин-1 та галектин-3 (бетагалактозидзв'язуючий лектин) є посередниками взаємодії поверхні клітин з екстрацелюлярним матриксом. В декількох імуногісто- та цитохімічних дослідженнях [43-45] було показано, що галектин-3 відсутній в нормальній тиреоїдній тканині, гіперпластичних вузлах при вузловому зобі та фолікулярних аденомах. В той же час він експресується в папілярних карциномах, фолікулярних та анапластичних карциномах, а також в частині медулярних карцином. Експресія галектину-1 спостерігається у папілярних та анапластичних карциномах і відсутня або слабка у фолікулярних карциномах та аденомах [46]. Таким чином, галектини можна було б розглядати як перспективні маркери малігнізації в ДЦД. Але цьому заважають інші дані [47, 48], згідно з якими експресія галектину-3 спостерігається в уражених тиреоїдитом ділянках нормальних чи доброякіснозмінених тканин ЩЗ і в третині фолікулярних аденом.

ВРА. При вивченні зв'язування багатьох лектинів рослинного походження полісахаридами фолікулярного епітелію важливі результати було отримано лише з лектином *Bauhinia purpurea* (ВРА) [49]. В нормальній залозі та аденомах він дуже рідко і слабо реагує з фолікулярним епітелієм. В папілярних карциномах, навпаки, ВРА чітко зв'язується з апікальною поверхнею та цитоплазмою ракових клітин. У фолікулярних карциномах зв'язування також інтенсивне, але дифузно розподілене по цитоплазмі. Зв'язування ВРА збільшується в клітинах злоякісних новоутворень після обробки нейрамінідазою. Як поводить себе цей аглютинін при тиреоїдитах автори не повідомляють.

6. Полісахариди та глікопротеїни, пов'язані з групами крові

СА 19-9. Антиген СА 19-9 (сіалізована лакто-N-фукопентоза) спочатку був знайдений в карциномах підшлункової залози та в гастроінтестинальних пухлинах [50]. Згодом його знайшли також в злоякісних новоутвореннях ЩЗ [51]. Імуноцитохімічні дослідження на пункційному матеріалі [52] показали, що експресія СА 19-9 не помітна в фолікулярних аденомах і відмічається в клітинах 60 % папілярних карцином (за іншими даними – у 38 % [53]). Утім, цей маркер є в деяких вузлових зобах [52], а також у фолікулярному епітелії ЩЗ, ураженому аутоімунним та підгострим тиреоїдитом [54].

HBME-1 – антиген поверхні мезотеліальних клітин, був знайдений в епітелії 100 % папілярних та фолікулярних карцином при імуногістохімічних дослідженнях операційного матеріалу [55]. У вузлових зобах, або при папілярній гіперплазії він виявляється фокально приблизно в третині випадків. На матеріалі тонкогілкових аспіраційних біопсій [52] HBME-1 був виявлений в 100 % папілярних карцином. Але, незважаючи на виняткову чутливість до папілярних раків, цей антиген не може бути надійним маркером малігнізації, тому що знаходиться приблизно в 25 % аденом та вузлових зобів.

CD15 – епітоп, що входить до Lewis X-групових антигенів крові і є комплексом глікопротеїнів та гліколіпідів поверхні клітин. Реактивність CD15 в пухлинах ЩЗ схожа на таку HBME-1, хоча вона проявляється на меншій кількості клітин папілярних карцином, і лише у 50 % фолікулярних раків. Оскільки цей епітоп добре представлений в клітинах ембріональної ЩЗ, його розглядають як онкофетальний відносно тиреоїдного епітелію [55]. На пункційному матеріалі CD15 був знайдений у 70 % папілярних карцином, 5 % вузлових зобів та аденом. Тут він проявляє себе як менш чутливий, але більш точний маркер малігнізації, ніж HBME-1 [52].

7. Маркери, пов'язані з проліферацією клітин

NOR. Так звані “ділянки організаторів ядерць” (NOR) є петлями ДНК, на

яких відбувається транскрипція рибосомальної РНК. Їх можна виявити цитохімічно спеціальним методом (AgNOR) завдяки аргірофілії зв'язаних з ними протеїнів [56]. Для багатьох пухлин різної локалізації кількість NOR в ядрах клітин відображає проліферативну та синтетичну активність і корелює з проявом інших маркерів проліферації. На гістологічному матеріалі було показано, що в ядрах клітин злоякісних пухлин виявляється значно більше NOR, ніж в доброякісних [57]. Результати, отримані на пункційному матеріалі в різних лабораторіях, не співпадають. За одними даними [58, 59], підрахунок кількості NOR в ядрах клітин фолікулярного епітелію дає статистично вірогідну різницю між фолікулярними карциномами та фолікулярними аденомами. Результати інших досліджень [60, 61] ставлять під сумнів діагностичне значення NOR в ДЦД новоутворень ЩЗ.

Ki-67. Антитіла Ki-67 впізнають ДНК-зв'язаний ядерний протеїн, який наявний в ядрах в G1, S, G2 та M-фазах клітинного циклу і відсутній у фазі G0. В злоякісних пухлинах ЩЗ антитілами Ki-67 мітилось близько 40 % клітин, а в доброякісних – біля 10 % [62]. На думку авторів цього дослідження, прийнявши 20 % клітин, мічених Ki-67, за межу між доброякісними та злоякісними пухлинами, можна визначати малігнізацію на пункційному матеріалі з чутливістю 82 % та точністю – 84 %. Але такі показники практично не вищі за чутливість та точність цитоморфологічних маркерів малігнізації.

MIB-1. Антитіла MIB-1 аналогічні Ki-67, але менш чутливі до денатурації під час фіксації клітин. У папілярних карциномах з ними реагувало 1,83 % клітин, в аденоматозних зобах – 0,73 % [63]. Не було знайдено вірогідної різниці між фолікулярними карциномами та солідно-трабекулярними аденомами.

PCNA. PCNA ("proliferating cell nuclear antigen") – ядерний протеїн, асоційований з ДНК-полімеразою. Статистично значну різницю у вмісті PCNA порівняно з іншими новоутвореннями ЩЗ знайдено лише для анапластичних раків [64]. До того ж, при хворобі Graves та лімфоцитарному тиреоїдиті відсоток PCNA-позитивних клітин був явно вищим, ніж у багатовузлових зобах і аденомах.

Теломераза. Теломераза – ензим, за допомогою якого синтезуються TTAGGG-послідовності теломерної ДНК хромосом. Теломераза експресується в багатьох малігнізованих клітинах, але неактивна в більшості нормальних соматичних клітин, за винятком проліферуючих стовбурних, активованих лімфоцитів та деяких інших. Серед вузлових зобів теломеразну активність знайдено у 14-30 % новоутворень, серед фолікулярних аденом – у 22-29 %, папілярних карцином – у 52 %, фолікулярних карцином – у 91-100 % [65, 66]. В нормальній тканині ЩЗ теломеразна активність не проявляється. Виходячи із зазначеної різниці в активності теломераз, деякі дослідники пропонують використовувати її як маркер малігнізації на матеріалі ТАБ [67, 68]. Але наявність теломеразної активності в значній кількості доброякісних новоутворень ЩЗ суттєво зменшує точність методу.

8. Цитогенетичні маркери малігнізації

Анеуплоїдія. Як відомо, одним з проявів генетичної нестабільності популяції клітин пухлини є анеуплоїдія. Вимір вмісту ДНК на цитологічних препаратах аспіраційних біопсій показав відсутність анеуплоїдії в клітинах непухлинних уражень ЩЗ. Анеуплоїдія спостерігалась в 45 % доброякісних та 40,5 % злоякісних неоплазій [69]. Таким чином, анеуплоїдія не може бути використана як маркер малігнізації тиреоїдного епітелію, однак може виступати в якості маркера неоплазій.

Мікроядра. Відомо, що під впливом іонізуючої радіації, мутагенів або кан-

до полюсів клітин під час мітозу. Такі хромосоми не включаються до складу новоутворених ядер, а залишаються в цитоплазмі, де формують окреме маленьке ядро, розташоване поруч з основним.

В нашій лабораторії досліджувались мікроядра в клітинах фолікулярного епітелію на матеріалі тонкогілкових пункційних біопсій пухлин ЩЗ [71]. Ми не виявили впливу радіаційного опромінення під час аварії на ЧАЕС на наявність мікроядер у папілярних карциномах ЩЗ. В той же час папілярні карциноми достеменно відрізнялись від доброякісних новоутворень вищим вмістом тиреоцитів з мікроядрами у фолікулярному епітелії. Мікроядра були наявні у пунктатах 19 % доброякісних вузлів і 73 % папілярних карцином. Максимальний вміст клітин з мікроядрами у доброякісних пухлинах не перевищував 0,2 %, а у злоякісних сягав 1,1 % тиреоцитів. Таким чином, підрахунок відсотка тиреоцитів з мікроядрами можна використовувати для визначення малігнізації, вважаючи злоякісними ті пухлини, в пунктатах яких цей відсоток перевищує 0,2. Оскільки кореляція між частотою появи мікроядер та наявністю псевдовключень цитоплазми у ядрах папілярних карцином відсутня, мікроядра можна розглядати як незалежний маркер малігнізації тиреоцитів. До того ж, для виявлення мікроядер підходять звичайні цитологічні мазки, пофарбовані стандартним методом Май-Грюнвальда-Гімза.

Онкогени. В сучасних дослідженнях процесів малігнізації тиреоїдного епітелію значну увагу приділено онкогенам. Незважаючи на велетенський обсяг опублікованих наукових досліджень із цієї теми, корисних в діагностичному плані результатів тут небагато з огляду на суттєву експресію згаданих онкогенів у доброякісних новоутвореннях. Наприклад, крапкові мутації протоонкогена *ras* спостерігаються в 50-60 % фолікулярних карцином, але виявляються також у 17-80% фолікулярних аденом [72, 73]. Збільшення експресії *c-myc* і *c-fos* частіше зустрічається в аденомах, ніж в карциномах [74]. Крапкові мутації *gsp* відзначені в диференційованих карциномах ЩЗ, але є також в не меншому відсотку аденом і вузлових зобів [75, 76]. Значну експресію *c-met* спостерігали у 100 % папілярних карцином, а також у 25 % аденоматозних вузлів та 44 % фолікулярних аденом [77].

Перебудови в гені *ret* і його активація знайдені в папілярних карциномах [78]. Що ж стосується доброякісних новоутворень, то за одними повідомленнями такі перебудови відсутні [79], інші ж автори знаходили їх у значному відсотку випадків [80].

Очевидно, найбільш специфічними для карцином є мутації в гені *p53*, який задіяний у трансформації високодиференційованого тиреоїдного раку в анапластичний [81]. Мутації в гені *p53* зустрічаються в 25 % диференційованих і 86 % анапластичних карцином [72]. Тож має сенс використовувати цей онкоген тільки як прогностичний чинник, оскільки цитоморфологічна діагностика малодиференційованих і анапластичних раків не важка.

9. Каріометричні критерії малігнізації

Поява спеціалізованих програм комп'ютерної морфометрії ядер клітин стимулювала пошук "каріометричних маркерів" малігнізації тиреоїдного епітелію. Аналізують такі параметри, як периметр та площа ядра, розмір довгої та короткої вісі, фактор форми та округлість, ядерно-ядерцеве співвідношення, анізокаріозис (стандартне відхилення цих параметрів). В результаті таких досліджень на матеріалі ТАБ відмічено суттєве зростання розміру ядер в ряду новоутворень – нетоксичні вузлові зоби, фолікулярні аденоми, токсичні вузлові зоби, лімфоцитарні тиреоїдити, папілярні та фолікулярні раки, анапластичні раки [82]. Урахування анізокаріозису суттєво збільшує вірогідність правильного цитологічного діагнозу.

Для ядерних морфометричних перемінних статистично вірну різницю було знайдено між раками і гіперпластичними вузлами, а також між раками й аденомами [83]. Каріометричний аналіз може стати в нагоді при диференціальній діагностиці аденом та карцином з клітин Ашкіназі-Гюртля, оскільки ці пухлини суттєво відрізняються за фактором форми ядра [84].

Усе ж реальна діагностична ефективність комп'ютерної морфометрії ще недостатня. Так, із 19 пухлин, визначених за ядерними морфометричними параметрами підозрілими на малігнізацію, після патогістологічного дослідження злоякісними виявилися лише 9 [85].

Підсумовуючи огляд морфологічних, цитохімічних, імуноцитохімічних та цитогенетичних маркерів малігнізації фолікулярного епітелію, можемо зазначити наступне.

Незважаючи на значну кількість запропонованих маркерів, жоден з них не задовольняє повною мірою практичні потреби ДЦД. Суттєвою вадою перелічених маркерів є наявність їх у значному відсотку доброякісних новоутворень. Це зменшує точність цитологічних діагнозів, встановлених з їх допомогою. З другого боку, такі маркери малігнізації не проявляються в певній частині злоякісних пухлин, внаслідок чого зменшується чутливість цитологічної діагностики. Нарешті, маркери малігнізації, як правило, "не спрацьовують" саме в складних для діагностики випадках – пухлинах з Б-клітин, вузлах на тлі тиреоїдиту та кістовидної дегенерації, трабекулярних аденом тощо. На наш погляд, існують дві причини такого стану речей.

По-перше, більшість маркерів малігнізації як морфологічних, так і імуноцитохімічних, не мають прямого відношення до процесів інвазії чи метастазування. Їх поява в клітинах карцином скоріше за все викликана мутаціями регуляторних генів і порушеннями епігенетичного контролю за експресією структурних генів. Внаслідок цього починається синтез білків, нехарактерних для тиреоцитів (цитокератину 17 та 19, DAP IV, CA 19-9 та ін.), або припиняється продукція функціонально важливих речовин (наприклад, йодпероксидази). Тобто, більшість маркерів малігнізації фолікулярного епітелію по своїй суті є маркерами генетичної або епігенетичної нестабільності популяції тиреоцитів. Але саме завдяки такій нестабільності в пухлині виникають клони клітин, здатних до міграції, інвазивного росту та метастазування. Отже, маркери малігнізації, які ми розглядали, вказують на наявність передумов для появи в пухлині злоякісних клонів, однак самі ці клони вони не позначають.

По-друге, навіть ті маркери, що мають пряме відношення до значущої передумови злоякісного росту – порушення адгезії клітин (ICAM-1, H-CAM, E-кадгерин, десмосомальні протеїни), не забезпечують необхідну точність діагностики. І це цілком природно. Адже інвазія та утворення метастазів відбувається завдяки скоординованому в часі синтезу великої кількості протеїнів та ферментів, необхідних для руйнації базальних мембран, лізису міжклітинного матриксу, забезпечення переміщення клітин, проникнення їх у кровоносні судини, захисту від атак лімфоцитів, формування емболів, ексвазії з наступним припиненням міграції та морфогенезом метастатичної пухлини. Відсутність хоча б одного з компонентів цього складного процесу блокує метастазування. Тобто, для надійного встановлення злоякісності клітин треба одночасно визначити в них експресію всіх необхідних для цього протеїнів. Таке практично неможливе.

З цих міркувань напрошується висновок про відсутність перспективи принципового поліпшення точності цитологічної діагностики карцином ШЗ. Однак вихід із такого положення підказує практична патогістологія. Адже післяопераційні патогістологічні діагнози мають високу точність завдяки тому, що гістолог на своїх препаратах спостерігає не окремі особливості будови елементів пухлини, а результати агресивного поведіння ракових клітин – інвазію судин, проростання капсули новоутворення і т.п.

Аналогічний підхід можливий і в ДЦД. Для цього необхідно використовувати в якості маркерів продукти специфічного для злоякісних пухлин агресивного морфогенезу. Наприклад, морфогенетичним вираженням інвазивного росту злоякісних клітин дифузно-склерозуючого варіанту папілярної карциноми є формування ними емболів у лімфатичних судинах, що дренують паренхіму ЩЗ. Ці емболи є складно організованими комплексами, що містять епітеліальні клітини, макрофаги та кальцифікати [86].

Подібні комплекси були виявлені нами в пунктатах ряду папілярних карцином [87]. Це особливі утворення, що складаються з невеличкого кальцифікату, оточеного епітелієм з ознаками жирової дистрофії. Вони зустрічаються винятково в пунктатах злоякісних новоутворень і є надійною незалежною ознакою малігнізації. Щоправда, чутливість цього маркера невелика (16 % папілярних карцином), адже такі структури утворюються лише у певного підтипу папілярного раку.

Нарешті, існує можливість прямого визначення здатності до інвазивного росту клітин з пунктатів новоутворень ЩЗ. В експериментальній онкології існують досить ефективні тести на інвазивність в культурах *in vitro* [88]. Для цього використовують штучні або натуральні базальні мембрани, через які вибірково проходять клітини злоякісних клонів. Але для такого тестування потрібні живі неушкоджені клітини. В роботах нашої лабораторії показано, що з пунктатів тонкоголкових аспіраційних біопсій карцином ЩЗ можна отримати первинні культури тиреоцитів [89]. У таких культурах спостерігається як проліферація, так і міграція клітин фолікулярного епітелію. На наш погляд, подальші розробки в цьому напрямку можуть відкрити принципово нові перспективи для доопераційної цитологічної діагностики.

Література

1. Kini S.R. Thyroid. Guedes to clinical aspiration biopsy. Series ed. T.S.Kline. N.Y.: Igaku-Shoin, 1987. 368 p.
2. Shurbaji M.S, Gupta P.K, Frost J.K. Nuclear grooves: a useful criterion in the cytopathologic diagnosis of papillary thyroid carcinoma // *Diagnostic Cytopathol.* 1988, 4, N 2, 91-94.
3. Gamboa-Dominguez A., Candanedo-Gonzalez F., Uribe-Uribe N.O., Angeles-Angeles A. Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma – A cytohistologic correlation // *Acta Cytol.* 1997, 41, N 3, 672-676.
4. Francis I.M., Das D.K., Sheikh Z.A. et al. Role of nuclear grooves in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. A quantitative assessment on fine needle aspiration smears // *Acta Cytol.* 1995, 39, N 3, 409-415.
5. Kaleem Z., Davila R.M. Hyalinizing trabecular adenoma of the thyroid – A report of two cases with cytologic, histologic and immunohistochemical findings // *Acta Cytol.* 1997, 41, N 3, 883-888.
6. Blumenfeld W., Nair R., Mir R. Diagnostic significance of papillary structures and intranuclear inclusions in Hurthle-cell neoplasms of the thyroid // *Diagnostic Cytopathol.* 1999, 20, N 4, 185-189.
7. Petribiasi F., Sapino A., Papotti M., Bussolati G. Cytologic feature of poorly differentiated insular carcinoma of the thyroid, as revealed by fine-needle aspiration biopsy // *Am. J. Clin. Patol.* 1990, 94, N 6, 687-692.
8. Gossrau R. Histochemical and biochemical distribution of dipeptidylpeptidase IV (DPP IV) // *Histochemistry.* 1979, 60, 231-248.
9. Kotani T., Aratake Y., Ogata Y. et al. Expression of dipeptidyl aminopeptidase IV activity in thyroid carcinoma // *Cancer Lett.* 1991, 57, 203-208.
10. Aratake Y., Kotani T., Tamura K. et al. Dipeptidyl aminopeptidase IV staining of cytologic preparations to distinguish benign from malignant thyroid diseases // *Anat. Pathol.* 1991, 96, N 3, 306-310.
11. Iwabuchi H., Toriya K., Mimura T. et al. Staining for dipeptidyl aminopeptidase IV activity in nodular thyroid disease // *Acta Cytol.* 1996, 40, N 2, 158-163.
12. Mizukami Y., Matsubara F. Correlation between thyroid peroxidase activity and

- histopathological and ultrastructural changes in various thyroid diseases // *Endocrinol. Japon.* 1981, 28, N 4, 381-389.
13. Fragu P., Nataf B.M. Human thyroid peroxidase activity in benign and malign thyroid disorders // *JCE & M.* 1977, 45, N 5, 1089-1096.
 14. De Micco C., Ruf J., Chrestian M.A. et al. Immunohistochemical study of thyroid peroxidase in normal, hyperplastic, and neoplastic human thyroid tissue // *Cancer.* 1991, 67, 3036-3041.
 15. Henry J.F., Denizot A., Porcelli A. et al. Thyroperoxidase immunodetection for the diagnosis of malignancy on fine-needle aspiration of thyroid nodules // *World J. Surg.* 1994, 18, N 4, 529-534.
 16. Божок Ю.М., Зелінська Г.В., Устименко Г.Я. Перспективи поліпшення доопераційної цитологічної діагностики злоякісних новоутворень щитоподібної залози. Матер. VI з'їзду ендокринологів України // *Ендокринологія.* 2001, 6, додаток, с. 25.
 17. Tuccari G., Barresi G. Immunohistochemical demonstration of lactoferrin in follicular adenomas and thyroid carcinomas // *Virchows Arch. (Pathol Anat).* 1985, 406, 67-74.
 18. Tuccari G., Barresi G. P97 in thyroid follicular tumors // *Pathol. Res. Pract.* 1989, 185, N 1, 163-169.
 19. De Camargo R.Y.A., Longatto A., Alves V.A.F. et al. Lactoferrin in thyroid lesions – Immunoreactivity in fine needle aspiration biopsy samples // *Acta Cytol.* 1996, 40, N 3, 408-413.
 20. Гельштейн В.И., Чипышева Т.А., Ермилова В.Д. и др. Иммуногистохимическое исследование опухолей молочной железы человека с помощью моноклональных антител к белкам промежуточных филаментов. Рак молочной железы // *Архив патологии.* 1986, вып. 8, 14-22.
 21. Baloch Z.W., Abraham S., Roberts S., LiVolsi V.A. Differential expression of cytokeratins in follicular variant of papillary carcinoma: an immunohistochemical study and its diagnostic utility // *Human Pathology.* 1999, 30, N 10, 1166-1171.
 22. Nasser S.M., Pitman M.B., Pilch B.Z., Faquin W.C. Fine-needle aspiration biopsy of papillary thyroid carcinoma // *Cancer.* 2000, 90, N 5, 307-11.
 23. Schroder S., Wodzinski A., Padberg B. Cytokeratin expression of benign and malignant epithelial thyroid gland tumors. An immunohistologic study of 154 neoplasms using 8 different monoclonal cytokeratin antibodies // *Pathologie.* 1996, 17, N 6, 425-32.
 24. Dockhorn-Dworniczak B., Franke W.W., Schroder S. et al. Patterns of expression of cytoskeletal proteins in human thyroid gland and thyroid carcinomas // *Differentiation.* 1987, 35, N 1, 53-71.
 25. Fonseca E., Nesland J.M., Hoeie J., Sobrinho-Simoes M. Pattern of expression of intermediate cytokeratin filaments in the thyroid gland: an immunohistochemical study of simple and stratified epithelial-type cytokeratins // *Virchows Archiv.* 1997, 430, N 3, 239-245.
 26. Fonseca E., Nesland J.M., Sobrinho-Simoes M. Expression of stratified epithelial-type cytokeratins in hyalinizing trabecular adenomas supports their relationship with papillary carcinomas of the thyroid // *Histopathology.* 1997, 31, N 4, 330-335.
 27. Божок Ю.М., Зелінська А.В., Василько В.В. Клетки, експресуючі детермінанти цитокератина 17, в злоякісних і доброякісних новообразованиях щитовидної залози людини // *Експерим. онкологія.* 1994, 16, N 2-3, 154-158.
 28. Зелінська А.В., Божок Ю.М. Використання іммуноцитохімічного виявлення детермінант цитокератина N 17 в доопераційній цитологічній діагностиці злоякісних новообразованиях щитовидної залози // *Онкологія.* 2000, 2, N 1-2, 56-60.
 29. Bozhok Y.M., Tavokina L.V., Abramenko I.V., Belous N.I. Immunocytochemical method for the detection of cell's antigens after May-Grunwald-Giemsa (MGG) staining // *Acta Cytol.* 1995, 39, N 2, p.278.
 30. Nakashima M., Eguchi K., Ishikawa N. et al. Expression of adhesion molecule ICAM-1 (CD54) in thyroid papillary adenocarcinoma // *J. Endocrinol. Invest.* 1994, 17, N 11, 843-848.
 31. Tanda F., Cossu A., Bosincu L. et al. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) immunoreactivity in well-differentiated thyroid papillary carcinomas // *Modern Pathol.* 1996, 9, N 1, 53-56.
 32. Weetman A.P., Cohen S., Makgoba M.W., Borysiewicz L.K. Expression of an intercellular

- adhesion molecule, ICAM-1, by human thyroid cells // *J. Endocrinol.* 1989, **122**, N 1, 185-191.
33. Bagnasco M., Caretto A., Olive D. et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) on thyroid epithelial cells in Hashimoto's thyroiditis but not in Graves' disease or papillary thyroid cancer // *Clin. Exp. Immunol.* 1991, **83**, N 2, 309-313.
 34. Betterle C., Presotto F., Caretto A. et al. Expression of class I and II human leukocyte antigens by thyrocytes and lymphocytic infiltration on human thyroid tumors. An immunofluorescence study // *Cancer.* 1991, **67**, p. 977.
 35. Brabant G., Hoang-Vu C., Kelker W. et al. Gen expression of the epithelium-specific cell-cell adhesion molecule, E-cadherin, in normal thyroid and thyroid carcinomas // *J. Endocrinol. Invest.* 1992, **15** (Suppl. 2), N 10, p.10.
 36. Brabant G., Hoang-Vu C., Cetin Y. et al. E-cadherin: a differentiation marker in thyroid malignancies // *Cancer Res.* 1993, **53**, N 20, 4987-4993.
 37. Von Wasielewski R., Rhein A., Werner M. et al. Immunohistochemical detection of E-cadherin in differentiated thyroid carcinomas correlates with clinical outcome // *Cancer Res.* 1997, **57**, N 12, 2501-2507.
 38. Serini G., Trusolino L., Saggiorato E. et al. Changes in integrin and E-cadherin expression in neoplastic versus normal thyroid tissue // *J. Natl. Cancer Inst.* 1996, **88**, N 7, 442-449.
 39. Chhieng D.C., Ross J.S., McKenna B.J. CD44 immunostaining of thyroid fine-needle aspirates differentiates thyroid papillary carcinoma from other lesions with nuclear grooves and inclusions // *Cancer.* 1997, **81**, N 3, 157-162.
 40. Aogi K., Kitahara K., Urquidí V. et al. Comparison of telomerase and CD44 expression as diagnostic tumor markers in lesions of the thyroid // *Clin. Cancer. Res.* 1999, **5**, N 10, 2790-2797.
 41. Lang A.B., Odermatt B.F., Ruettner J.R. Monoclonal antibodies to human cytokeratins: application to various epithelial and mesothelial cells // *Exp. Cell. Biol.* 1986, **54**, N 2, 61-72.
 42. Божок Ю.М. Експресія десмосомальних білків в епітеліальних клітинах доброякісних та злоякісних пухлин щитовидної залози людини // *Журн. АМН України.* 1999, **5**, N 2, 319-327.
 43. Fernandez P.L., Merino M.J., Gomez M. et al. Galectin-3 and laminin expression in neoplastic and non-neoplastic thyroid tissue // *J. Pathol.* 1997, **181**, N 1, 80-86.
 44. Inohara H., Hongo Y., Yoshii T. et al. Expression of galectin-3 in fine-needle aspirates as a diagnostic marker differentiating benign from malignant thyroid neoplasms // *Cancer.* 1999, **85**, N 11, 2475-2483.
 45. Xu X.C., el-Naggar A.K., Lotan R. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications // *Amer. J. Pathol.* 1995, **147**, N 3, 815-822.
 46. Chiariotti L., Berlingieri M.T., Battaglia C. et al. Expression of galectin-1 in normal human thyroid gland and in differentiated and poorly differentiated thyroid tumors // *Intern. J. Cancer.* 1995, **64**, N 3, 171-175.
 47. Orlandi F., Saggiorato E., Pivano G. et al. Galectin-3 is a presurgical marker of human thyroid carcinoma // *Cancer. Res.* 1998, **58**, N 14, 3015-3020.
 48. Cvejić D., Savin S., Paunović I. et al. Immunohistochemical localization of galectin-3 in malignant and benign human thyroid tissue // *Anticancer Res.* 1998, **18**, N 4A, 2637-2641.
 49. Sarker A.B., Akagi T., Teramoto N. et al. Bauhinia purpurea (BPA) binding to normal and neoplastic thyroid glands // *Pathol. Res. Pract.* 1994, **190**, N 11, 1005-1011.
 50. Koprowsky H., Herlyn M., Steplewski Z., Sears H.F. Specific antigen in serum of patients in colon carcinoma // *Science.* 1981, **212**, 55-56.
 51. Vierbuchen M., Schroder S., Uhlenbruck G. CA 50 and CA 19-9 antigen expression in normal, hyperplastic, and neoplastic thyroid tissue // *Labor. Invest.* 1989, **60**, 726-732.
 52. Van Hoesen K.H., Kovatich A.J., Miettinen M. Immunocytochemical evaluation of HBME-1, CA 19-9, and CD-15 (Leu-M1) in fine-needle aspirates of thyroid nodules // *Diagnostic Cytopathol.* 1998, **18**, 93-97.
 53. Larena A., Vierbuchen M., Schroeder S. et al. Blutgruppenantigenexpression in papillären Karzinomen der Schilddrüse. Eine immunhistochemische und klinische Studie ueber das Vorkommen von Lewis-, ABO- und verwandten Antigenen // *Langenbecks Archiv für Chirurgie.* 1996, **381**, N 2, 102-113.

54. Schmid K.W., Ofner C., Ramsauer T. et al. CA 19-9 expression in subacute (de Quervain's) thyroiditis: an immunohistochemical study // *Modern Pathol.* 1992, 5, 268-272.
55. Miettinen M., Karkkainen P. Differential reactivity of HBME-1 and CD-15 antibodies with benign and malignant thyroid tumors. Preferential reactivity with malignant tumors // *Virch. Arch.* 1996, 429, 213-219.
56. Brustmann H., Riss P., Naude S. Nuclear organizer regions as marker of endometrial proliferation: a study of normal, hyperplastic and neoplastic tissue // *Human Pathol.* 1995, 26, N 6, 664-667.
57. Iuele R., Gallippi G., Giacchetto C. Thyroid pathology: evaluation of the average value of NORs and its potential diagnostic and prognostic application // *Pathologica.* 1994, 86, N 5, 525-7.
58. Karmakar T., Dey P. Role of AgNOR in diagnosis of thyroid follicular neoplasms on fine-needle aspiration smears // *Diagn. Cytopathol.* 1995, 12, N 2, 148-149.
59. Shechtman L., Koren R., Horowitz A. et al. Diagnostic value of AgNOR staining in thyroid cytology // *Analit. Quantitat. Cytol. Histol.* 1998, 20, N 3, 187-191.
60. Nairn E.R., Crocker J., McGovern J. Limited value of AgNOR enumeration in assessment of thyroid neoplasms // *J. Clin. Pathol.* 1988, 44, 509-514.
61. Khan E.M., Pandey R. Differential diagnosis of fine needle aspiration smears of thyroid nodules // *Acta Cytol.* 1996, 40, 959-962.
62. Horii A., Yoshida J., Sakai M. et al. Ki-67 positive fractions in benign and malignant thyroid tumours: application of flow cytometry // *Acta Otolaryngol.* 1999, 119, N 5, 617-620.
63. Katoh R., Bray C., Suzuki K. et al. Growth activity in hyperplastic and neoplastic human thyroid determined by an immunohistochemical staining procedure using monoclonal antibody MIB-1 // *Human Pathol.* 1995, 26, N 2, 139-145.
64. Athanasiou E., Ioachim E., Malamou-Mitsi V., Agnantis N.J. Immunohistochemical demonstration of PCNA/cyclin, EGF receptor and c-erbB-2 oncogene product in neoplastic and non-neoplastic thyroid tissues // 3rd Intern. Conf. of the Mediterranean Society of Tumor Marker Oncology (MESTMO), October 26-29, 1994, Athens, Greece, A30.
65. Cheng A.J., Lin J.D., Chang T., Wang T.C.V. Telomerase activity in benign and malignant human thyroid tissue // *Brit. J. Cancer.* 1998, 77, N 12, 2177-2180.
66. Umbricht C.B., Saji M., Westra W.H. et al. Telomerase activity: a marker to distinguish follicular thyroid adenoma from carcinoma // *Cancer Res.* 1997, 57, N 11, 2144-2147.
67. Saji M., Westra W.H., Chen H. et al. Telomerase activity in the differential diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid // *Surgery.* 1997, 122, N 12, 1137-1140.
68. Saji M., Xydas S., Westra W.H. et al. Human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene expression in thyroid neoplasms // *Clin. Cancer. Res.* 1999, 5, N 6, 1483-1489.
69. Nadjari B., Motherby H., Pooschke T. et al. DNA aneuploidy as a specific marker of neoplastic cells in FNAB of the thyroid // *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1999, 21, N 6, 481-488.
70. Нерсисян А.К.. Микроядерный тест в эксфолиативных клетках человека как метод изучения действия мутагенов/канцерогенов // *Цитология и генетика.* 1995, 30, N 5, 91 - 95.
71. Божок Ю.М., Соколов О.О. Микроядра, як маркер малигізації фолікулярного епітелію щитовидної залози людини // *Журн. АМН України.* 2003, 9, № 1, 141-149.
72. Farid N.R., Shi Y., Zou M. Molecular basis of thyroid cancer // *Endocr. Rev.* 1994, 15, N 2, 202-232.
73. Oyama T., Suzuki T., Hara F. et al. N-ras mutation of thyroid tumor with special reference to the follicular type // *Pathol. Internat.* 1995, 45, N 1, 45-50.
74. Terrier P., Sheng Z.M., Shlumberger M. et al. Structure and expression of c-myc and c-fos proto-oncogenes in thyroid carcinomas // *Brit. J. Cancer.* 1988, 57, 43-47.
75. Suarez H.G., du Villard J.A., Caillu B. et al. CGP mutations in human thyroid tumours // *Oncogene.* 1991, 6, 677-679.
76. O'Sullivan C., Barton C.M., Staddon S.L. et al. Activating point mutations of the gsp oncogene in human thyroid adenomas // *Mol. Carcinogen.* 1991, 4, 345-349.
77. Oyama T., Ichimura E., Sano T. et al. c-Met expression of thyroid tissue with special reference to papillary carcinoma // *Pathol. Internat.* 1998, 48, N 10, 763-768.
78. Lam A.K., Montone K.T., Nolan K.A., Livolsi V.A. Ret oncogene activation in papillary

- thyroid carcinoma: prevalence and implication on the histological parameters // *Hum. Pathol.* 1998, 29, N 6, 565-568.
79. Jhiang S.M., Caruso D.R., Gilmore E. et al. Detection of the PTC/ret TPC oncogene in human thyroid cancer // *Oncogene*. 1992, 7, N 7, 1331-1337.
 80. Ishizaka Y., Kobayashi S., Ushijima T. et al. Detection of ret TPC/PTC transcripts in thyroid adenomas and adenomatous goiter by an RT-PCR method // *Oncogene*. 1991, 6, N 9, 1667-1672.
 81. Simon D., Goretzki P.E., Gorelev V. et al. Significance of p53 in human thyroid tumors // *World J. Surg.* 1994, 18, N 4, 535-541.
 82. Slowinska-Klencka D., Klencki M., Sporny S., Lewinski A. Karyometric analysis in the cytologic diagnosis of thyroid lesions // *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1997, 19, N 6, 507-513.
 83. Tseleni-Balafouta S., Kavantzias N., Paraskevaki H., Davaris P. Computerized morphometric study on fine needle aspirates of cellular follicular lesions of the thyroid // *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 2000, 22, N 4, 323-326.
 84. Pambuccian S.E., Becker R.L., Ali S.Z. et al. Differential diagnosis of Hurthle cell neoplasms on fine needle aspirates – Can we do any better with morphometry? // *Acta Cytol.* 1997, 41, N 1, 197-208.
 85. Fadda G., Minimo C., Rabitti C. et al. Role of planimetric analysis in diagnosing thyroid follicular lesions on fine needle aspiration biopsies – A study with histologic correlation // *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1998, 20, N 3, 192-198.
 86. Божок Ю.М. Участь макрофагів в морфогенезі деяких епітеліальних структур дифузно-склерозуючих папілярних карцином щитовидної залози людини // *Експерим. онкологія*. 1997, 19, N 3, 217-220.
 87. Божок Ю.М., Хоруженко А.І., Зелінська Г.В. Шляхи вдосконалення доопераційної діагностики карцином щитовидної залози на основі вивчення змін адгезивності клітин при малигнізації // *Журн. АМН України*. 1995, 1, N 2, 344-351.
 88. Albini A., Iwamoto Y., Kleinman H.K. et al. Rapid in vitro assay for quantitating the invasive potential of tumor cells // *Cancer Research*. 1987, 47, 3239-3245.
 89. Bozhok Y.M., Khoruzhenko A.I., Nikonenko A.G. Primary cell cultures of fine needle aspirates from human thyroid tumors // *Experim. Oncol.* 1997, 19, N 2, 157-161.

Маркеры малигнизации в современной дооперационной цитологической диагностике карцином щитовидной железы (обзор литературы и собственные данные)

Ю.М.Божок, А.В.Зелінська, Г.Н.Кулиниченко, А.Я.Устименко

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

В работе рассмотрены методические проблемы дооперационной цитологической диагностики карцином щитовидной железы. Представлены данные об эффективности использования различных маркеров малигнизации фолликулярного эпителия – морфологических, цитохимических, иммуноцитохимических, кариометрических и цитогенетических. Определены пути приближения точности цитологической диагностики к уровню послеоперационного патогистологического исследования.

Ключевые слова: щитовидная железа, опухоли, тонкоигльная аспирационная биопсия, маркеры малигнизации.

Markers of malignancy in modern preoperative cytologic diagnostics of thyroid carcinomas

Y.M.Bozhok, A.V.Zelinskaya, G.N.Kulinichenko, A.Ya.Ustimenko

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

Methodical problems of preoperative cytologic diagnostics of thyroid carcinomas are considered. Various markers of malignancy of the follicular epithelium – morphological, cytochemical, immunocytochemical, karyometric and cytogenetic – are described. The ways of improving the accuracy of cytologic diagnostics up to a level of postoperative histopathologic examinations are proposed.

Key words: thyroid gland, neoplasm, fine needle aspiration biopsy, markers of malignancy.

(Надійшла 10.01.2003)

ДИFUЗНИЙ ТОКСИЧНИЙ ЗОБ У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ: ЕТІОЛОГІЯ, ПАТОГЕНЕЗ, ХІРУРГІЧНЕ ЛІКУВАННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ТА ВЛАСНІ ДАНІ)

Б.Б. Гуда

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

В огляді літератури висвітлені сучасні погляди на причини виникнення та патогенез дифузного токсичного зоба і тиреотоксичної офтальмопатії. Проаналізовані показання та протипоказання, ефективність та безпечність існуючих видів лікування (хірургічне, терапевтичне, радіойодне) та їх ускладнень. Зроблено ретроспективний аналіз власних даних про клінічні прояви захворювання у дітей і підлітків та наслідки їх лікування.

Ключові слова: дифузний токсичний зоб, хронічний тиреоїдит, тиреотоксикоз, тиреотоксична офтальмопатія, хірургічне лікування, терапевтичне та радіойодне лікування, ускладнення.

Тиреотоксичний зоб є відносно рідкісним захворюванням у дітей та підлітків [1-3]. З віком кількість випадків тиреотоксикозу збільшується і становить приблизно 0,1 на 100 000 у дітей та 3,0 – на 100 000 у підлітків. Вищезазначене захворювання суттєво впливає на фізичний та інтелектуальний розвиток, стан імунної системи [1] у пацієнтів даної вікової групи. Тому рання діагностика, застосування оптимальних і адекватних методів терапії мають першорядне значення.

Дотепер немає єдиного тлумачення причин розвитку дифузного токсичного зоба (ДТЗ). Так як і у дорослих, розвиток тиреотоксичного зоба у дітей пов'язують із різними причинами. Є дані про інфекційну природу захворювання. Найчастішими причинами виникнення хвороби є інфекції (ГРВІ, ангіна, загострення хронічного тонзиліту і т. п.), гіперінсоляція, психічна травма. Важливим етіологічним чинником є спадковість [4]. Також є схильність до даного захворювання в період статевого дозрівання у зв'язку із складною нейрогуморальною перебудовою організму [5, 6]. Важливе значення у розвитку дифузного токсичного зоба мають порушення діяльності центральної нервової системи.

Головну роль в патогенезі відіграє підвищення функціональної активності щитоподібної залози (ЩЗ), гормони якої поступають у кров у надмірній кількості, спричиняючи зміни у багатьох системах та органах, а також тиреоїдний стимулятор (LATS), який утворюється у вилочковій залозі, лімфоцитах [6, 7]. Безпосередньою патогенетичною причиною дифузного токсичного зоба є антитіла до рецепторів тиреотропного гормону (ТТГ), які імітують дію самого тиреотропіну. Зв'язування ліганда з рецептором призводить до активізації аденилатциклази і синтезу тиреоїдних гормонів, а також до збільшення розмірів ЩЗ. Антитіла, що блокують рецептори ТТГ, навпаки, перешкоджають активуючій дії ТТГ на аденилатциклазу [8]. Як тиреостимулюючі, так і тиреоблокуючі антитіла взаємодіють з позаклітинним доменом рецептора ТТГ, але з різними епітопами цього рецептора.

Вивчення антигенів гістосумісності (HLA-антигенів) показує, що наявність гаплотипів HLA-Dw3 і HLA-DR3 в 3,86 і 5,9 раз, відповідно, підвищує ризик захворювання у порівнянні з наявністю тільки генів HLA-B8 [9]. Недавні до-

слідження дозволили встановити найчастіше поєднання ДТЗ з антигенами HLA – DQA1*0501 [10]. Вказані гаплотипи беруть участь у спадкуванні ДТЗ, проте ці та інші дослідження виявили, що у спадкуванні ДТЗ, окрім генів системи HLA, беруть участь і інші гени. Засвідчено, що якщо один із монозиготних близнюків хворий на ДТЗ, то для іншого ризик захворювання складає 60 %; у випадку дизиготних пар цей ризик становить лише 9 % [11].

Ймовіріше, у випадках ДТЗ має місце багатофакторний (полігенний) тип успадкування. Дійсно, подальший пошук генів-кандидатів показав, що в успадкуванні схильності до ДТЗ бере участь ген 14 хромосоми, який розміщений поблизу локуса MNG-1, ген 20 хромосоми – локус 20q11.2 та ген, що локалізується на X-хромосомі [12].

Останнім часом вдалося ідентифікувати 6 локусів, які залучені у спадкування автоімунних захворювань ЩЗ – ДТЗ та автоімунного тиреоїдиту. На 6 хромосомі локалізується тільки один локус, який називається АЗЩЗ-1 (AITD-1). Він близько розміщений від HLA-локуса, проте його місцезнаходження не ідентичне локусу гістосумісності. Другий локус схильності до автоімунних захворювань ЩЗ (АЗЩЗ) ідентифіковано на 13 хромосомі, він пов'язаний із схильністю до автоімунного тиреоїдиту; третій локус – на 12 хромосомі і також поєднується із схильністю до автоімунного тиреоїдиту; три інших локуси – на 14 хромосомі (локус GD-1), на 20 хромосомі (GD-2) і на X-хромосомі (GD-3). Таким чином, встановлено, що ДТЗ та автоімунний тиреоїдит генетично є гетерогенними захворюваннями і мають тільки один загальний локус, що локалізується на 6 хромосомі. Три локуси беруть участь у передачі схильності до ДТЗ, причому другий локус (GD-2) – локалізований на 20 хромосомі. У відповідності до генетичної схильності, сімейні форми ДТЗ та автоімунного тиреоїдиту зустрічаються у вигляді трьох форм: 1) сім'ї, де зустрічається тільки ДТЗ; 2) сім'ї, де зустрічається тільки автоімунний тиреоїдит; 3) сім'ї, в яких зустрічаються обидва захворювання [8].

У розвитку дифузного токсичного зоба головна роль належить порушенню різних ланок імунної системи, що проявляється, у першу чергу, лімфатичною інфільтрацією ЩЗ. У хворих з ДТЗ встановлена [13] вірогідна асоціація цитотоксичного Т-лімфоцитопоеднуючого 4 гена (CTLA-4), який локалізується на хромосомі 2q33. Молекули CTLA-4 відносяться до родини клітинно-поверхневих молекул, таких як CD28, яка комплексується з геном HLA B7. Комплекс CTLA-4/B7 є конкурентним стосовно CD28/B7, внаслідок чого до Т-клітин надходить негативний сигнал, який відповідає за Т-клітинну інфільтрацію, утворення цитокінів та імунологічну відповідь. При цьому активація та проліферація Т-лімфоцитів спричиняється клітинною адгезією до клітин-антигенів антигеннезалежним та антигензалежним чином. Імуноцитохімічні дослідження дозволили встановити, що у тиреоцитах ЩЗ у хворих з ДТЗ відбувається підвищена експресія внутрішньоклітинних адгезивних молекул 1 типу (ВКАМ-1 або ICAM-1), які належать до класу IgG. Ці молекули є лігандами до лімфатичного антигена-1 (ЛФА-1 чи LFA-1). Експресія ВКАМ-1 регулюється низкою цитокінів запалення, у тому числі γ -інтерфероном, інтерлейкіном-1 β , α -фактором некрозу пухлин та ін. Якщо експресія ЛФА-1 зустрічається тільки на лімфоцитах, то експресія ВКАМ-1 має місце на багатьох клітинах, у тому числі і на тиреоцитах у випадках ДТЗ. Взаємодія ВКАМ-1 і ЛФА-1 є критичною подією між імунними клітинами та тканинними клітинами-мішенями для ініціації імунного процесу, що має місце у випадках дифузного токсичного зоба та при інших автоімунних захворюваннях [8].

Т.Агао і співавт. [14] вперше доказали, що інфільтрація лімфоцитами, які продукують γ -інтерферон, стимулює проліферацію тиреоцитів ЩЗ у випадках ДТЗ через адгезію ВКАМ-1 та ЛФА-1. Це є головним чинником, що призводить до збільшення об'єму ЩЗ і розвитку зоба.

В-лімфоцити, які також разом з Т-лімфоцитами наявні у ЩЗ, беруть участь в утворенні аутоантитіл до різних антигенів ЩЗ, у т.ч. до рецептора ТТГ. Ідентифіковано дві різновидності антитіл до рецепторів ТТГ: тиреоїдстимулюючі антитіла, які є причиною гіпертиреозидизму у випадках ДТЗ, та тиреоїд-блокуючі антитіла, що призводять до гіпотиреозу.

Іноколи тиреоїдстимулюючі антитіла (належать до класу IgG) можуть мати тільки один із двох ефектів ТТГ на ЩЗ. Ця дисоціація дозволяє пояснити ріст деяких зобів, незважаючи на супресію ТТГ високими дозами лівотироксину. Вона також пояснює, чому гіпертиреоз може розвиватися на тлі незбільшеної ЩЗ. Гетерогенність імуноглобулінів класу G, поліклональний характер імунологічних реакцій можуть спричинити перехід між ДТЗ та аутоімунним тиреоїдитом, перехід мікседеми в гіпертиреоз.

У рідкісних випадках гіпертиреоз буває наслідком функціонуючої аденоми ЩЗ, за якої рецептори ТТГ самі по собі мають підвищену активність. Головними відмінними рисами токсичної аденоми ЩЗ є: відсутність ендокринної опухавини, відсутність у сироватці крові тиреостимулюючих і інших антитіл, часте збільшення вмісту у крові T_3 , рідкість вираженого схуднення [5, 6, 8]. Іноколи гіпертиреоз зумовлений неадекватно підвищеною секрецією ТТГ (ТТГ-секретуюча аденома гіпофіза). Клінічні стани, аналогічні тиреотоксикозу, можуть спостерігатися у гострій фазі тиреоїдиту (як правило, триває недовго – до 1-3 міс), або у випадках надмірного вживання тиреоїдних гормонів (ятrogenний тиреотоксикоз).

Тиреотоксикоз новонароджених розвивається у дітей, матері яких хворіють на дифузний тиреотоксичний зоб і значно рідше – на хронічний тиреоїдит. Таке явище спостерігається приблизно у дітей 2 % матерів, хворих на вищевказані захворювання. Тиреоїдні гормони руйнуються плацентарними ферментами, але тиреостимулюючі антитіла проходять плацентарний бар'єр і спричиняють гіпертрофію і гіперфункцію ЩЗ плода. Втрата маси у ранньому післяродовому періоді, що перевищує фізіологічні показники, тахікардія, підвищена збудливість є проявами захворювання. Про тиреотоксикоз новонароджених слід думати у випадку прогресуючої втрати маси тіла при відсутності шлунково-кишкових розладів і достатній кількості молока, а також при наявності ДТЗ у матері. Тривалість цього стану складає 1,5-2 міс, поки материнські тиреостимулюючі антитіла не зникнуть із крові дитини. До короткотривалого застосування тиреостатиків звертаються лише у випадках вираженого схуднення та тахікардії [8, 15, 16].

Патоморфологічна картина у випадках дифузного токсичного зоба у дорослих вивчена добре. Значно менше відомі морфологічні порушення аналогічного захворювання у дітей. Встановлено, що при хворобі Грейвса розвиваються значні морфологічні зміни. Типова морфологічна картина ДТЗ складається із поліморфізму фолікулів, перехідних ділянок кубічного епітелію в циліндричний, наявності численних потовщень з одночасним утворенням папілярних виростів у просвітах фолікулів. Колоїд переважно рідкий і містить вакуолі. Між фолікулами є осередки здебільшого циліндричного епітелію, скупчення лімфоцитів, часто з утворенням центрів розмноження. У випадках помірної проліферації поліморфізм фолікулів виражений менше. Колоїд місцями густий, місцями рідкий, з вакуолями. Папіломатозні розростання зустрічаються рідко. Епітелій кубічний та циліндричний. Можлива осередкова лімфоїдна інфільтрація. У випадках слабо вираженої інфільтрації виявляють будову макро- чи мікрофолікулярного зоба з густим, рівномірно забарвленим колоїдом. Епітелій низький, з щільними ядрами, місцями зустрічаються потовщення у вигляді подушечок, слабо виражена лімфоїдна інфільтрація. Проте у випадках ДТЗ в дитячому та підлітковому віці не завжди вдається встановити паралелі між тяжкістю клінічного перебігу і морфологічними змінами у ЩЗ.

Вчені порівняли клініку та морфологічні зміни у ЩЗ і відзначили відповідність тяжкості клінічних симптомів глибини морфологічних змін в залозі тільки у 50-60 % випадків [5, 7].

У клініці нашого Інституту протягом 1989-2002 років було оперовано 137 дітей та підлітків з тиреотоксичним зобом. До цієї групи входили 115 (83,9 %) дівчат та 22 (16,1 %) хлопців. Співвідношення осіб жіночої та чоловічої статі становило 5,2 : 1. Вік хворих коливався у межах 7-18 років і у середньому дорівнював 14,9 років. За стандартними віковими критеріями були виділені групи дітей до 14 років – 58 (42,3 %) та підлітків 15-18 років – 79 (57,7 %).

Згідно з класифікацією ВООЗ (1986) збільшення ЩЗ Іб ступеня було виявлене у 5 (3,6 %) хворих; серед них – у 4 дітей та у 1 підлітка, ІІ ступеня – у 75 (54,7 %) – 30 дітей та 45 підлітків, ІІІ ступеня – у 57 (41,6 %) – 23 дітей та 34 підлітків.

Тяжка форма тиреотоксикозу зустрічалась у 35 (25,5 %) випадках, причому приблизно з однаковою частотою була виявлена як у дітей (19), так і у підлітків (16). Тиреотоксикоз середньої тяжкості було встановлено у 102 (75,5 %) випадках; дітей було практично у 2 рази менше (36 випадків), ніж підлітків (66). Прямої кореляції між розмірами ЩЗ та ступенем тяжкості тиреотоксикозу не спостерігалось. А саме, кількість хворих з токсикозом середньої тяжкості (63 особи – 45,9 %) та зобом ІІ ступеня було майже удвічі більше, ніж осіб із зобом ІІІ ступеня (36 осіб – 26,2 %). Тяжка форма тиреотоксикозу спостерігалась з такою ж частотою у хворих з ІІ та ІІІ ступенем збільшення ЩЗ (відповідно у 14,1 % та у 13,5 %).

Важливим симптомом гіпертиреозу, який визначає як тактику лікування, так і впливає на віддалені наслідки захворювання, є офтальмопатія [17, 18]. Протягом десятків років офтальмопатія описувалась під назвами: набряковий екзофтальм, злоякісний екзофтальм, нейродистрофічний екзофтальм, ендокринний екзофтальм, тиреотоксичний екзофтальм. Вищезгадані назви відображають спроби зв'язати патогенез офтальмопатії з переліченими станами. Тільки в останні роки отримані переконливі дані на користь автоімунного генезу офтальмопатії. Проте автоімунна офтальмопатія може зустрічатися як самостійне, незалежне від тиреотоксикозу, захворювання. Описані численні поєднання автоімунної офтальмопатії з автоімунним тиреоїдитом, що протікає з нормальною або пониженою функцією ЩЗ. За даними різних авторів [19, 20], частота автоімунної офтальмопатії у поєднанні з ДТЗ у дітей та підлітків складає від 20 до 60 %, за даними спостережень у нашому Інституті – 62,7 % (86 хворих). При цьому офтальмопатія виявлялася практично з однаковою частотою як у дітей (40 випадків), так і у підлітків (46).

До сьогодення часу в ретробульбарних тканинах не ідентифікований антиген, з яким пов'язане утворення автоантитіл і всіх наступних змін, характерних для офтальмопатії. Зроблені дослідження дозволяють вважати, що в орбітальних тканинах може локалізуватися (або експресуватися) екстраклітинна частина рецептора до ТТГ, яка проявляє властивості нефункціонуючого автоантигена. Ці дані підтверджуються дослідженнями, в яких показано, що фібробласти ретробульбарної тканини містять РНК, котра кодує позаклітинний домен рецептора ТТГ. У випадках автоімунної офтальмопатії вдалося виявити локальну мутацію, що спричиняє заміну треоніна на пролін в екстраклітинному домені рецептора ТТГ [21]. Такий мутантний рецептор до ТТГ, що виявляється у фібробластах при офтальмопатії та при претибіальній мікседемі, яка поєднується з ДТЗ, може мати унікальні імуногенетичні властивості і брати участь у патогенезі автоімунної офтальмопатії. Цей автоантиген фібробластів може розпізнаватися лімфоцитами, спрямованими проти рецептора ТТГ у випадках ДТЗ. Наступна інфільтрація тканин орбіти активованими цитокінінпродукуючими лімфоцитами супроводжується надлишковим синтезом гід-

рофобних глікозаміногліканів та додатковою проліферацією фібробластів. Збільшення об'єму ретробульбарних тканин, таким чином, є вторинним по відношенню до місцевого набряку тканин і утворенню нових жирових клітин із клітин-попередників. Попередники адипоцитів були ізольовані із стромально-судинної фракції жирової та сполучної тканини, взятої як у новонароджених, так і у дорослих осіб [22].

Оригінальними дослідженнями R.S.Valyaseli і співавт. [23] показано, що преадипоцитні фібробласти людини під впливом стимуляції, на даний момент неідентифікованими чинниками, диференціюються у зрілі адипоцити, які експресують підвищену кількість рецепторів до ТТГ. Рецептор до ТТГ у цих тканинах та за таких умов експресії може бути тканинним антигеном. Внаслідок цього збільшується кількість ретробульбарних тканин і відбувається накопичення комплексів рецептор ТТГ-Т-лімфоцити. Це обумовлює звільнення у вказаних тканинах медіаторів запалення – цитокінів, антитіл проти рецепторів до ТТГ, а також інших місцевих чинників, які підсилюють наступний адипогенез, стимуляцію синтезу глікозаміногліканів та експресію імуномодуляторів білків всередині орбіти. Виникає свого роду “*circulus viciosus*”, що призводить до збільшення жирової та сполучної тканини в ретробульбарній ділянці, внаслідок чого виникає екзофтальм, порушення м'язів орбіти та набряк [8, 11].

Автоімунні механізми розвитку офтальмопатії підтверджені численними дослідженнями. У м'язах очей та ретробульбарної клітковини відзначена характерна для автоімунних процесів інфільтрація лімфоцитами CD4+ і CD8+ та макрофагами. На фібробластах із тканин орбіти виявляється експресія генів HLA II класу. Автоактивовані лімфоцити CD4+ і CD8+ за участю макрофагів і різноманітних цитокінів (гамма-інтерферон, інтерлейкін, β -трансформуючий фактор росту та ін.) стимулюють місцеві фібробласти, які підсилюють синтез глікозаміногліканів, що є гідрофобними структурами. Це обумовлює набряк очних м'язів, ретробульбарної клітковини. Останнє сприяє місцевій гіпоксії, яка, в свою чергу, підсилює синтез глікозаміногліканів [8].

Не існує залежності між ступенем офтальмопатії та тяжкістю тиреотоксикозу. Американська асоціація із захворювань ЩЗ пропонує очні симптоми у випадках ДТЗ розділити на наступні класи:

- 0 – відсутність змін;
- 1 клас – тільки ретракція верхньої повіки, яка досить виражена при наявності тиреотоксикозу і спонтанно зникає при еутиреозі;
- 2 клас – до вказаних вище змін приєднується набряк м'яких тканин (преорбітальний набряк), інколи з набряком та почервонінням кон'юнктиви;
- 3 клас – до перелічених вище симптомів приєднується екзофтальм і протрузія очного яблука збільшується на 3-4 мм;
- 4 клас – збільшення протрузії очного яблука на 5-7 мм у порівнянні з нормою і залучення у запальний патологічний процес очних м'язів;
- 5 клас – ураження рогівки (кератит) внаслідок екзофтальма;
- 6 клас – пониження гостроти зору внаслідок змін на очному дні і залучення у процес зорового нерва.

Таким чином, в останній класифікації до власне офтальмопатії слід віднести класи 3-6, тоді як класи 0-2 відображають очні прояви тиреотоксикозу.

При обстеженні за допомогою комп'ютерної томографії виявлено декілька варіантів патологічних змін в орбіті: збільшення головним чином об'єму око-рухових м'язів, переважне збільшення ретробульбарної клітковини та змішаний тип патологічних змін, при якому практично однаковою мірою збільшуються м'язи та клітковина [8].

Більшість авторитетних вчених в царині тиреології сходяться на думці, що ідеальне лікування у випадках ДТЗ як у дітей, так і у дорослих повинно забезпечувати швидке усунення клінічних симптомів тиреотоксикозу і супро-

воджуватись мінімальним ризиком ускладнень для хворого. На жаль, на даний час у клінічній практиці немає методу лікування, який би повною мірою відповідав цим вимогам. Вибір методу лікування ДТЗ здебільшого визначається власним досвідом спеціалістів у застосуванні того чи іншого методу лікування, особливостями конкретного лікувального закладу, а також віком хворого, варіантами клінічного перебігу захворювання, побажаннями пацієнта та низкою інших чинників. Слід зазначити, що рекомендації, які дають спеціалісти провідних країн Європи, США та Японії, різні. Консервативна терапія антигіпероїдними препаратами досить широко розповсюджена у країнах Європи, проте невисока частота досягнення стійкої та тривалої ремісії захворювання не задовольняє ендокринологів. У 5-14 % дітей лікарські препарати спричиняють токсичні реакції (еритематозне висипання, кропивницю, артралгії). Рідше зустрічаються і більш серйозні ускладнення, такі як гепатит, вовчакоподібний синдром, тромбоцитопенія та агранулоцитоз. Більшість побічних ефектів виражені слабо і не перешкоджають продовженню лікування. Ризик розвитку гепатиту та агранулоцитозу найвищий у перші 3 міс терапії, коли застосовуються найбільші дози препаратів [11, 24].

Терапія радіоактивним йодом, що широко використовується в США, є досить ефективним методом лікування ДТЗ [11, 25-27], проте з плином часу призводить до розвитку гіпотиреозу практично у всіх хворих. Також необхідно враховувати ризик розвитку раку ЩЗ, доброякісних аденом [11, 28]. В 1 % випадків розвивається радіаційний тиреоїдит, який інколи супроводжується болем в ділянці ЩЗ і може тривати 2-3 тиж, при цьому може спостерігатися загострення гіпертиреозу. Тому у дітей не рекомендується використовувати радіоїодтерапію в якості початкового лікування [11, 29-31]. Протипоказанням до радіоїодтерапії є вагітність. Ризик генетичних ускладнень складає 0,005 %, тобто значно менший спонтанного ризику генних мутацій (0,8 %).

Показаннями до хірургічного лікування ДТЗ у дітей та підлітків, на думку багатьох авторів, є зоб значних розмірів, ознаки компресії оточуючих органів та анатомічних структур, поєднання ДТЗ з неопластичними процесами у ЩЗ, тяжкий перебіг тиреотоксикозу, відсутність стійкого ефекту від комплексної консервативної терапії, непереносимість тиреостатиків, тиреотоксичне серце, наявність загрози зоба [11, 19, 32]. Крім того, деякі дослідники вважають виправданим оперативне втручання при неможливості постійного контролю за консервативним лікуванням хворої дитини. Хірургічне лікування займає значне місце в терапії ДТЗ, забезпечуючи пацієнту найшвидше досягнення еутиреоїдного стану, проте, як будь-яке оперативне втручання, супроводжується низкою характерних ускладнень. Однак в Японії тиреоїдектомія вважається основним методом лікування Базедової хвороби [19].

На даний час немає єдиної точки зору щодо об'єму операції у випадках Базедової хвороби, чітко не визначені чинники, що сприяють розвитку післяопераційного рецидиву захворювання чи гіпотиреозу. У якості критеріїв прогнозу післяопераційного функціонального стану ЩЗ автори розглядають стать, вік початку захворювання, доопераційний рівень антимікросомальних антитіл, масу тканини залози, що вирізається, та об'єм залози, що залишається, ступінь її лімфоцитарної інфільтрації. На сьогодні існують такі види операцій: субтотальна резекція ЩЗ за О.В.Ніколаєвим (залишається кукса, приблизно 3-4 г тканини ЩЗ з обох боків від трахеї, що прикриває зворотні гортанні нерви), операція Хартлі-Данхіла (гемітиреоїдектомія на одній стороні і субтотальна резекція протилежної долі, з якої залишається приблизно 4-5 г тиреоїдної тканини) та тиреоїдектомія і практично тотальна тиреоїдектомія [11, 17, 33, 34].

Публікації останніх років свідчать про те, що у спеціалізованих хірургічних стаціонарах післяопераційної летальності і розвитку післяопераційного

тиреотоксичного кризу та інших ускладнень оперативного лікування практично не спостерігається, що у першу чергу зумовлено оптимізацією передопераційної підготовки хворих, кваліфікованим виконанням операції, адекватною інтенсивною терапією у ранньому післяопераційному періоді [11, 33, 34]. Існують специфічні (транзиторна гіпокальціємія, гіпопаратиреоз, тиреотоксична реакція, тиреотоксичний криз, порушення функції гортані) та неспецифічні, тобто загальнохірургічні (післяопераційна кровотеча, загноєння рани), ускладнення.

Грізним ускладненням є кровотеча в ділянці операційної рани, яка може призвести до летального наслідку в результаті розвитку гематоми та асфіксії і тому потребує негайного повторного втручання з евакуацією крові та згустків із рани і зупинкою кровотечі. Також може бути пошкоджений зворотний гортанний нерв, верхній гортанний нерв (зовнішня гілка). У випадку одностороннього пошкодження зворотного гортанного нерва розвивається дисфонія, яка зазвичай проходить протягом кількох тижнів, а при двобічному пошкодженні може розвинутих обструкція верхніх дихальних шляхів (параліч гортані), яка вимагає накладення трахеостоми. Частота такого ускладнення, за даними різних авторів, від 0,5 % до 4,4 % [19, 35]. У нашій клініці такого типу ускладнень у обстежуваній групі (діти і підлітки віком від 7 до 18 років) не було. Верхній гортанний нерв, як правило, пошкоджується при мобілізації верхніх полюсів ЩЗ. При цьому може розвинутих незначна охриплість голосу і неможливість "взяти верхні ноти". Післяопераційний гіпопаратиреоз може бути транзиторним або постійним. Транзиторний гіпопаратиреоз (транзиторна гіпокальціємія) розвивається в результаті вирізання частини прищитовидних залоз та порушення кровопостачання залоз, що залишилися. Симптоми гіпопаратиреозу розвиваються на 1-7 день після операції і зумовлені зниженням вмісту кальцію у крові; проявляються клінічно наявністю парестезій та підвищеною нервово-м'язовою збудливістю з розвитком приступів тетанії, появою характерних симптомів Хвостека, Трусса, Вейса, Шлезінгера. Частота цього ускладнення не перевищує 5 % [19, 35]. За власними даними, у дітей та підлітків, які були оперовані з приводу ДТЗ, транзиторний гіпопаратиреоз становив 4,5 %. У таких випадках рекомендовано застосовувати препарати кальцію у поєднанні з вітаміном D₃. У випадку, коли вищеописані прояви тривають понад 6 міс, такий гіпопаратиреоз вважають перманентним. На думку деяких вчених [17], операції з приводу ДТЗ є технічно складнішими порівняно з такими у випадках еутиреоїдної патології, навіть за наявності ряду злоякісних пухлин ЩЗ. Щоб уникнути таких ускладнень, операцію повинен робити хірург, який має досвід саме у тиреоїдній хірургії.

До пізніх післяопераційних ускладнень відносять рецидив тиреотоксикозу, частота якого сягає від 0,6 % до 17,9 % [19, 35]. Деякі автори не розглядають післяопераційний гіпотиреоз у хворих, оперованих з приводу ДТЗ, як ускладнення, визнаючи його свідченням ефективності операції [19].

Більшість дослідників вважають, що маса тканини ЩЗ, що залишається, є одним із основних чинників, які впливають на розвиток дисфункції ЩЗ. За нашими міркуваннями, маса тиреоїдного залишку є не єдиним і не головним чинником, що впливає на результати оперативного лікування ДТЗ. Провідну роль, перш за все, відіграє активність автоімунних процесів, відображенням яких є ряд лабораторних та інструментальних показників. У випадках хірургічного лікування маса тканини ЩЗ, що залишається, коливається від 1-2 до 10 г [11, 19, 35]. Слід зазначити, що точно встановити об'єм кукси долей ЩЗ важко. На основі значного клінічного досвіду ми вважаємо, що визначення маси тиреоїдного залишку є суб'єктивним. Важливим моментом під час операції для профілактики післяопераційного гіпотиреозу є збереження інтактними нижніх щитовидних артерій. На думку більшості авторів, первинний об'єм

ЩЗ не має прогностичного значення для розвитку рецидиву тиреотоксикозу чи гіпотиреозу, а об'єм кукси ЩЗ не повинен залежати від об'єму ЩЗ до операції.

Тобто, обговорюючи загальні тенденції у випадках хірургічного лікування ДТЗ, слід зазначити, що в останні роки хірурги рекомендують залишати менше тканини ЩЗ, вважаючи, що рецидив тиреотоксикозу є тяжким ускладненням. Більшість авторів сходяться на думці про доцільність залишати 4-5 г тиреоїдної тканини [1, 11, 17, 19, 36]. Ступінь лімфоїдної інфільтрації ЩЗ слід розглядати в якості чинника ризику післяопераційного гіпотиреозу. Відзначено вплив лікарських препаратів на вираженість лімфоїдної інфільтрації, а саме, лікування анаприліном у передопераційному періоді.

Слід зазначити, що в літературі з'явилися рекомендації щодо збільшення об'єму оперативного втручання у випадках ДТЗ аж до тиреоїдектомії. Дослідження доказують, що субтотальна резекція ЩЗ чи тиреоїдектомія з наступною замісною терапією є методом вибору у випадках хірургічного лікування Базедової хвороби у зв'язку з тим, що існує пряма кореляція між частотою рецидиву та об'ємом операції, причому рецидиви виключаються при вирізання якомога більшої частини ЩЗ, а вірогідної різниці у частоті ускладнень після субтотальної резекції чи тиреоїдектомії не виявлено.

Важливою проблемою у реабілітаційному періоді після лікування з приводу ДТЗ залишається лікування офтальмопатії. Найчастіше порівнюють лікування радіоактивним йодом та хірургічне втручання. Після тиреоїдектомії у більшості дітей відзначається різного ступеня покращення перебігу офтальмопатії [17, 33]. Провідні фахівці [17] в галузі тиреоїдології у випадках наявності тиреотоксичної офтальмопатії рекомендують робити тиреоїдектомію навіть при незначному ступені дифузного збільшення ЩЗ. Причому наявність офтальмопатії служить показанням до хірургічного лікування Базедової хвороби.

Для вибору правильної тактики лікування цієї складної категорії хворих необхідне їх зосередження у спеціалізованих терапевтичних та хірургічних стаціонарах, що працюють у тісному контакті і мають значний досвід діагностики та лікування пацієнтів з різними захворюваннями ЩЗ.

Література

1. Witte J., Goretzki P.E., Roher H.D. Surgery for Graves disease in childhood and adolescents // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. 1997, **105**, N 4, 58-60.
2. Rudberg C., Johansson H., Akerstrom G. et al. Graves disease in children and adolescents. Late results of surgical treatment // *Eur. J. Endocrinol*. 1996, **134**, N 6, 710-715.
3. Moeis T.S., Simanjuntak T.M. Surgical management of thyrotoxicosis in young children // *Paediatr. Indones*. 1990, **30**, N 1-2, 59-64.
4. Boiko J., Leger J., Raux-Demay M.C. Basedow disease in children: clinical and evolutive aspects // *Arch. Pediatr*. 1998, **5**, N 7, 722-730.
5. Блунк В. Детская эндокринология: М.: Медицина, 1981. 304 с.
6. Жуковский М.А. Детская эндокринология. М.: Медицина, 1982. 448 с.
7. Холодова Е.А. (ред.) Справочник по клинической эндокринологии. Минск: Беларусь, 1996. 510 с.
8. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний: Руководство. М.: Медицина, 2002. 752 с.
9. Manglabruks A., Cox N., DeGroot L.J. Genetic factors in autoimmune thyroid disease analyzed by restriction fragment length polymorphisms of candidate genes // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 1991, **73**, N 2, 236-244.
10. Yanagawa T., Manglabruks A., DeGroot L.J. Strong association between HLA-DQA1*0501 and Graves' disease in a male Caucasian population // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 1994, **79**, N 1, 227-229.

11. Браверман Л.И. Болезни щитовидной железы. М.: Медицина, 2000. 432 с.
12. Tomer Y., Barbesino G., Greenberg D.A. et al. A new Graves disease-susceptibility locus maps to chromosome 20q11.2. International Consortium for the Genetics of Autoimmune Thyroid Disease // *Am. J. Hum. Genet.* 1998, 63, N 6, 1749-1756.
13. Heward J.M., Allahabadia A., Armitage G. et al. The development of Graves' disease and the CTLA-4 gene on chromosome 2q33 // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 1999, 84, N 7, 2398-2401.
14. Arao T., Morimoto I., Kakinuma A. et al. Thyrocyte proliferation by cellular adhesion to infiltrating lymphocytes through the intercellular adhesion molecule-1/lymphocyte function-associated antigen-1 pathway in Graves' disease // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000, 85, N 1, 382-389.
15. Lavard L., Ranlov I., Perrild H. et al. Incidence of juvenile thyrotoxicosis in Denmark, 1982-1988. A nationwide study // *Eur. J. Endocrinol.* 1994, 130, N 6, 565-568.
16. Polak M. Hyperthyroidism in early infancy: pathogenesis, clinical features and diagnosis with a focus on neonatal hyperthyroidism // *Thyroid.* 1998, 8, N 12, 1171-1177.
17. Alsanea O., Clark O. Treatment of Graves' disease: the advantages of surgery // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 2000, 29, N 2, 321-337.
18. Gruters A. Ocular manifestations in children and adolescents with thyrotoxicosis // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 1999, 107, N 5, 172-174.
19. Балаболкин М.И., Ветишев П.С., Петунина Н.А. и др. Хирургическое лечение диффузного токсического зоба и возможности прогнозирования его результатов // *Клин. эндокринолог.* 2000, N 6, 34-38.
20. Gruters A. Ocular manifestation in children and adolescents with thyrotoxicosis // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 1999, 107, N 5, 172-174.
21. Bahn R.S., Dutton C.M., Heufelder A.E., Sarkar G. A genomic point mutation in the extracellular domain of the thyrotropin receptor in patients with Graves' ophthalmopathy // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994, 78, N 2, 256-260.
22. Sorisky A., Pardasani D., Gagnon A., Smith T.J. Evidence of adipocyte differentiation in human orbital fibroblasts in primary culture // *J. Clin. Endocrin. Metabol.* 1996, 81, N 7, 3428-3431.
23. Valyaseli R.W., Erickson D.Z., Harteneck D.A. et al. Differentiation of human orbital preadipocyte fibroblasts induces expression of functional thyrotropin receptor // *J. Clin. Endocrin. Metabol.* 1999, 84, N 5, 2557-2262.
24. Braverman L.E., Utiger R.D. (eds.) *The thyroid: a fundamental and clinical text.* 8th ed. Wolters Kluwer Company: Lippincott Williams and Wilkins, 2000. 1080 p.
25. Hamburger I. Management of hyperthyroidism in children and adolescents // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1985, 60, N 5, 1019-1024.
26. Freitas J., Swanson D., Gross M. Iodine-131 optimal therapy for hyperthyroidism in children and adolescents // *J. Nucl. Med.* 1979, 20, N 8, 847-850.
27. Clark J., Gefland M., Elgazzar A. Iodine-131 therapy of hyperthyroidism in pediatric patients // *J. Nucl. Med.* 1995, 36, N 3, 442-445.
28. Тронько Н.Д., Богданова Т.И. Рак щитовидной железы у детей Украины (последствия Чернобыльской катастрофы). К: Чернобыльинтеринформ, 1997. 200 с.
29. Foley T., Charon M. Radioiodine treatment of juvenile Graves disease // *Exp. Clin. Endocrin. Diabetes.* 1997, 105, N 4, 61-65.
30. Pavia Sesma C., ViHanueva Lamas J., Torres Lacruz M. et al. Graves' disease in childhood and adolescence: clinical and biochemical aspects in 49 patients // *An. Esp. Pediatr.* 2000, 59, N 1, 6-11.
31. Raza J., Hindmarsh P.C., Brook C.G. Thyrotoxicosis in children: thirty years' experience // *Acta Paediatr.* 1999, 88, N 9, 937-941.
32. Shulman D.L., Muhar I., Diamond B.B., Root A.M. Autoimmune hyperthyroidism in prepubertal children and adolescents: comparison of clinical and biochemical features at diagnosis and responses to medical therapy // *Thyroid.* 1997, 5, N 5, 755-760.
33. Csaky G., Balazs G., Bako G. Late results of thyroid surgery for hyperthyroidism performed in childhood // *Prog. Pediatr. Surgery.* 1991, 26, N 4, 31-40.
34. Witte J., Goretzki P., Rother H. Surgical procedure for hyperthyroidism in children and adolescents // *Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Kongressbd.* 1998, 115, 1048-1050.
35. Mobius E., Niermann B., Zielke A., Rothmund M. Postoperative complication and long-

term result of the surgical treatment of immunogenetic Basedow's disease // Dtsch. Med. Wochenschr. 1998, 123, N 4, 1297-1302.

36. Soreide J., van Heerden J., Lo C. et al. Surgical treatment of Graves' disease in patients younger than 18 years // World J. Surg. 1996, 20, N 7, 94-99.

Диффузный тиреотоксический зоб у детей и подростков: этиология, патогенез, хирургическое лечение (обзор литературы и собственные данные)

Б.Б. Гуда

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

В обзоре литературы отображены современные взгляды на причины возникновения и патогенез диффузного тиреотоксического зоба, тиреотоксической офтальмопатии. Проанализированы показания и противопоказания, эффективность и безопасность существующих методов лечения (хирургическое, терапевтическое, радиоiodное) и их осложнений. Проведен ретроспективный анализ собственных данных о клинических проявлениях и исходах лечения заболевания у детей и подростков.

Ключевые слова: диффузный токсический зоб, хронический тиреоидит, тиреотоксическая офтальмопатия, хирургическое лечение, терапевтическое и радиоiodное лечение, осложнения.

Graves' disease in children and adolescents: ethiology, pathogenesis, surgical treatment (a review of literature, own data)

B.B.Guda

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

In the review of literature modern views on ethiology and pathogenesis of Graves' disease and ophthalmopathy are given. The indications and contra-indications, efficiency and safety of the existing methods of treatment (surgical treatment, antithyroid drugs, radioiodine treatment) and their complications are analyzed. The authors made a retrospective analysis of own data of clinical manifestations and results of disease treatment in children and teenagers

Key words: Graves' disease, chronic thyroiditis, Graves' ophthalmopathy, surgical treatment, antithyroid drugs, radioiodine treatment, complication.

(Надійшла 16.01.2003)

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІПІНУ ПРИ ДІАБЕТИЧНІЙ ПЕРИФЕРИЧНІЙ ПОЛІНЕЙРОПАТІЇ

*І.О. Мосендз**

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

Діабетична периферична полінейропатія (ДН) – одне із самих ранніх та найпоширеніших ускладнень цукрового діабету (ЦД). Вона суттєво погіршує якість життя хворого та перебіг захворювання. Нейропатія збільшує ризик ампутацій у хворих на ЦД в 1,7 рази [1]. Патогенез ДН включає численні етіологічні фактори: метаболічні, судинні, гіпоксичні, генетичні, автоімунні, оксидативний стрес тощо [1, 2]. Вищезгадані чинники призводять до порушення трофіки та гіпоксії в нервових волокнах [3].

Діагностика цього ускладнення ЦД у першу чергу базується на клінічних проявах. Головним інструментальним методом діагностики ДН є електронейроміографічне (ЕМГ) дослідження – реєстрація коливань електричних потенціалів в скелетних м'язах, що дозволяє об'єктивно дослідити стан ураження периферичного нейромоторного апарата. За його допомогою здійснюється:

1. Оцінка параметрів максимальної амплітуди моторної М-відповіді (АМ-В) м'язів кінцівок, зниження якої є діагностичним критерієм ураження аксона.
2. Визначення швидкості розповсюдження збудження (ШРЗ) по руховому волокну в дистальних відділах нервів кінцівок. Сповільнення ШРЗ спостерігається при демієлінізації нервових волокон [4].

За даними літератури, при комплексній ЕМГ у 96,3 % хворих на ЦД виявлені ознаки ураження периферичних нервів зі зниженням ШРЗ та АМ-В [5]. Відомо також, що у хворих з периферичною нейропатією різної етіології, в т.ч. і діабетичної, виявлені антимиєлінові антитіла, які відносяться до класу IgM, і зумовлюють пошкодження шванівських оболонок нервів, тобто демієлінізацію [6].

Лікування ДН має бути спрямоване на патогенетичні механізми її розвитку.

Вітчизняний препарат ліпін (ліофілізований яєчний фосфатидилхолін в ліпосомах) діє на рівні плазматичних мембран клітин, відновлюючи їх функціональну активність; окрім цього, поліпшує реологію крові та мікроциркуляцію, підсилює активність системи антиоксидантного захисту, неспецифічний імунітет, має детоксикаційні властивості [7]. Вже деякий час цей препарат досить успішно застосовується в пульмонології, кардіології, гастроентерології, педіатрії, оториноларингології, офтальмологічній і акушерській практиці. Ефективність ліпину вивчалась при периферичних нейропатіях різного генезу [8]. За даними дослідників, ліпін має позитивний вплив на диференціювання сполучної тканини, підсилення ремієлінізації аксонів, збільшує швидкість та амплітуду проведення потенціалів дії по нервових волокнах. Електрофізіологічні показники, отримані в результаті цих досліджень, свід-

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

чили про позитивну динаміку з боку нервово-м'язового апарата та периферичного кровообігу. Автори зробили висновок, що ліпін стимулює процеси відновлення структури та функції нервово-м'язових утворень, уражених внаслідок різноманітних етіологічних причин [8, 9]. Підсумовуючи все вищесказане, метою роботи стала оцінка ефективності ліпіну за допомогою ЕМГ при ДН.

Матеріали та методи

Обстежено 70 хворих на ЦД віком від 19 до 60 років в стані компенсації та субкомпенсації вуглеводного обміну. У всіх хворих діагностовано ДН, з них на ЦД 1 типу страждало 33 особи, на ЦД 2 типу – 37 осіб. Окрім того, хворі були розділені на 2 групи за віком: перша група – 48 пацієнтів до 50-ти років та друга група – 22 пацієнти понад 50 років. Середня тривалість захворювання становила $7 \pm 3,2$ років.

Діагностика ДН здійснювалась на підставі скарг хворих, клінічних, лабораторних та інструментальних методів дослідження, до останніх належала ЕМГ, що виконувалася на міографі "Portline" 3000D (США). За допомогою ЕМГ вимірювали АМ-В м'язів ступнів (від піку до піку) та визначали ШПЗ по руховому волокну велико- і малогом'язового нервів. Досліджувався вміст IgM у сироватці крові методом нефелометрії на імунологічному аналізаторі фірми "Bekman" (США).

Обстежені пацієнти скаржились на відчуття жару або "льодяного" холоду в підошвах, "стріляючі" або "колючі" болі та парестезії в ногах, судоми гомілкових м'язів та пальців ніг, наявність трофічних уражень шкіри ніг (сухість, виразки). Інтенсивність болю в ногах зростала в спокої та вночі, що вказує на їх нейрогенний характер. Дані ЕМГ підтвердили наявність ДН у всіх обстежених нами хворих.

40 хворих отримували ліпін, як внутрішньом'язово (30 осіб), так і внутрішньовенно (10 осіб) за схемою. Ліпін розводився в 10 мл 2 % розчину новокаїну для внутрішньом'язового введення у початковій дозі 0,25-0,8 мг/кг маси, поступово збільшуючи її до 2,5-8,0 мг/кг маси протягом 3-5 днів. Далі цю дозу вводили курсом 10-15 діб. Для внутрішньовенного введення ліпін розводили 0,9 % розчином хлориду натрію.

Порівняння робили з групою 30-ти хворих на ЦД з ДН того ж віку, які отримували традиційну ангіопротекторну терапію (ТТ). До її складу входили препарати різноманітних фармакологічних груп, а саме: дезагреганти (дипіридамо́л та ін.), вітаміни групи В, антиоксиданти (аскорбінова кислота та α -токоферолу ацетат), гіполіпідемічні засоби (ліпоева та нікотинова кислоти), препарати для поліпшення реології крові (пен-токсифілін, реополіглюкін), сірковміщуючі засоби (тіосульфат натрію або унітіол) тощо.

Контрольну групу склали 30 здорових осіб того ж віку.

Отримані дані оброблені статистично, з обчисленням критерію t Стюдента.

Результати та їх обговорення

Ми відмітили значне зниження АМ-В у хворих на ЦД порівняно зі здоровими особами, як результат втрати аксонів довгих нервів і коротких нервових волокон (табл.1).

Таблиця 1. Динаміка показників ЕМГ у хворих на ЦД на тлі лікування ($M \pm m$)

Показник	Контроль (n=30)	До лікування (n=70)	Після лікування	
			Ліпін (n=40)	ТТ (n=30)
АМ-В, мВ	$6,9 \pm 0,55$	$0,84 \pm 0,22$ $P < 0,001$	$1,86 \pm 0,3$ $P_1 < 0,01$	$1,7 \pm 0,14$ $P_1 < 0,01$ $P_2 > 0,1$
ШПЗ, м/с	$50,9 \pm 0,6$	$37,0 \pm 1,05$ $P < 0,001$	$42,2 \pm 1,95$ $P_1 < 0,05$	$42,2 \pm 1,95$ $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,1$

Примітка: Р – вірогідність різниці у порівнянні з контролем;

P_1 – вірогідність різниці показників до та після лікування;

P_2 – вірогідність різниці після лікування ліпіном та традиційною терапією.

Дослідженнями цієї проблеми іншими авторами [6, 10] показано, що при ЦД 1 типу відмічається зниження АМ-В в 1,5 рази, а при ЦД 2 типу – навіть в 3 рази, що свідчить про ураження аксонів при ДН. Сповільнення ШРЗ у обстежених нами хворих підтверджує положення про те, що процеси демієлінізації також мають місце при ДН (табл.1). Розвиток демієлінізації нервів у хворих на ЦД 1 типу деякі автори пов'язують з лабільним перебігом захворювання, поганою компенсацією вуглеводного обміну протягом тривалого часу та порушеннями імунологічного статусу, а саме, наявністю у цих хворих підвищеного вмісту антимієлінових антитіл класу IgM у сироватці крові. Поеднання мієлінопатії та аксонопатії, на думку авторів, частіше зустрічається у хворих на ЦД 1 типу з лабільним перебігом та при довготривалому ЦД 2 типу [6].

Обстеження наших хворих на вміст IgM не підтвердило наявності антимієлінових антитіл у сироватці крові. Цей показник не відрізнявся від такого в контрольній групі ($1,27 \pm 0,3$ г/л проти $1,3 \pm 0,4$ г/л, $P > 0,1$).

Ретельний аналіз обстежених нами груп хворих показав, що в обох групах мало місце вірогідне зниження досліджуваних показників, це вказує на поєднання мієлінопатії та аксонопатії. Але мієлінопатія дещо переважає в першій групі хворих, бо показник ШРЗ в цій групі пацієнтів вірогідно нижчий від такого у хворих другої групи ($P < 0,001$) (табл.2). Показник АМ-В в 1-й групі хворих, навпаки, вищий, хоча й невірогідно ($0,05 < P < 0,1$), ніж у пацієнтів 2-ї групи, що відповідає даним літературних джерел [6] про переважне ураження аксонів у хворих похилого віку та переважання демієлінізації у молодих пацієнтів (табл. 2).

Після лікування, незалежно від його характеру, більшість хворих відчула поліпшення суб'єктивного стану: зникли або суттєво зменшились болі в ногах, відчуття парестезій, відновились больова та тактильна чутливість, прискорився процес загоєння трофічних нейропатичних виразок.

Результати ЕМГ після проведеного лікування також свідчать про позитивну динаміку з боку нервово-м'язового апарата незалежно від терапії. З табл.1 бачимо, що АМ-В вірогідно зросла в процесі лікування у всіх хворих ($P < 0,01$). Показник ШРЗ також змінився на краще у всіх хворих ($P < 0,05$), які отримали лікування.

Аналізуючи динаміку ЕМГ з урахуванням віку хворих (табл. 2), ми встановили, що курс ліпінотерапії виявився ефективніший, ніж загальноновживана терапія. Так, після лікування ліпіном у хворих 1-ї групи вірогідно зріс показник АМ-В ($P_1 < 0,001$), тоді як у хворих тієї ж вікової групи після ТТ він практично не змінився ($P_1 > 0,1$). Статистично визначена вірогідність різниці показника АМ-В після лікування ліпіном та після ТТ ($P_2 < 0,001$). У 2-й групі (пацієнти похилого віку) відмічається подібна закономірність. Динаміка змін ШРЗ на тлі лікування ліпіном у групі молодших хворих менш виражена, ніж у літніх осіб. Це можна пояснити більшим ступенем демієлінізації нервових волокон у хворих до 50-ти років. Дане припущення підтверджується наявністю вірогідної різниці між показниками початкової ШРЗ в обох вікових групах пацієнтів ($37,1 \pm 1,08$ м/с – 1 група, $44,1 \pm 1,08$ – 2 група, $P_3 < 0,001$) (табл. 2).

На підставі даних, наведених у табл. 2, ми виявили залежність ефективності лікування ліпіном від віку пацієнтів. Ефект зростає з віком хворих, можливо, за рахунок зменшення проявів атеросклерозу та поліпшення гемодинаміки у *vasa nervorum* під впливом препарату ліпін.

Механізм дії ліпіну при лікуванні ДН, на наш погляд, полягає в наступному: за рахунок антигіпоксичного ефекту ліпін прискорює швидкість дифузії кисню з крові в тканини; окрім того, знімає периваскулярний набряк, спричинений активацією процесів вільнорадикального окиснення; відновлює функції клітинних мембран ендотелію капілярів та периферичних нервів. Механізм відновлення цілісності мембрани за допомогою фосфоліпідвміщуючих препа-

Таблиця 2. Показники ЕМГ у різних вікових групах хворих на тлі лікування (M±m)

Показник	Контроль (n=30)	Група 1 (вік до 50-ти років)			Група 2 (вік понад 50 років)		
		До лікування (n=48)	Після лікування		До лікування (n=22)	Після лікування	
			Ліпін (n=28)	ТТ (n=20)		Ліпін (n=12)	ТТ (n=10)
АМ-В, мВ	6,9±0,55	0,84±0,14 P<0,001	2,02±0,1 P ₁ <0,001	1,06±0,2 P ₁ >0,1 P ₂ <0,001	0,72±0,3 P<0,001 P ₃ >0,1	3,92±0,2 P ₁ <0,001	1,45±0,17 P ₁ <0,05 P ₂ <0,001
ШРЗ, м/с	50,9±0,6	37,1±1,08 P<0,001	45,5±1,29 P ₁ <0,001	40,5±1,29 P ₁ <0,05 P ₂ <0,01	44,1±1,08 P<0,001 P ₃ <0,001	47,2±1,23 P ₁ <0,05	37,2±1,81 P ₁ <0,01 P ₂ <0,001

Примітка: Р, Р₁, Р₂ – те ж, що і в табл. 1; Р₃ – вірогідність різниці між 1 та 2 віковими групами до лікування.

ратів, а значить, і ліпіну, полягає в заповненні “щілин” у межах ліпідного шару, підвищенні вмісту фосфатидилхоліну у мембрані, що сприяє поліпшенню її метаболічного гомеостазу, підвищенню її плинності та активності мембранозв’язаних ферментів.

Таким чином, терапія препаратом ліпін за своєю ефективністю не поступається, а навіть має деякі переваги над доволі насиченою комплексною терапією, яка застосовується при лікуванні ДН.

Висновки

1. У всіх хворих на ЦД обох типів з наявністю ДН відмічаються зміни показників ЕМГ, які підтверджують наявність морфологічно-функціональних змін як у аксонах, так і у мієліновій оболонці периферійних нервових волокон.

2. Встановлено поліпшення функціонального стану периферійних нервів у хворих з ДН, які отримували ліпін (ліпосомальний фосфатидилхолін).

3. Показано більш суттєве поліпшення ЕМГ-показників у пацієнтів з ДН старшого віку на тлі лікування ліпіном.

Література

1. Vinik A.L., Park T.S., Stansberry K.B., Pittenger G.L. Diabetic neuropathies // *Diabetologia*. 2000, 4, 957-973.
2. Антонов И.П., Пономарева Е.Н., Гаврилина Т.В. Диагностика и тактика лечения больных диабетическими невропатиями // *Здравоохранение*. 1996, № 2, 3-5.
3. Ефимов А.С. Диабетические ангиопатии. М.: Медицина, 1989. 288 с.
4. Коларов С., Гатева В. (ред.). Функциональная диагностика в детском возрасте. Пер. с болг. София: Медицина и физкультура, 1979. 443 с.
5. Зиновьева О.Е., Горбачева Ф.Е., Парфенов В.А. К оценке функционального состояния периферического нейромоторного аппарата у больных сахарным диабетом // *Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 1991, 91, вып. 4, 18-20.
6. Горбачева Ф.Е., Зиновьева О.Е., Парфенов В.А. К оценке информативности комплексного электромиографического и иммунологического обследования больных диабетической невропатией // *Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 1991, 91, вып. 4, 20-21.
7. Стефанов О.В., Передерій В.Г., Бичкова Н.Г. Гепатопротекторний препарат – ліпін // *Актуальные вопросы внутренней медицины, медицинской этики и образования: Матер. симпозиум, посвященный 150-летию кафедры факультетской терапии Украинского Государственного медицинского Университета (Киев, 22-23 сент. 1994)*, К., 1994, с.112.
8. Самосюк И.З., Губенко В.П., Чайковский Ю.Б. и др. Комплексное лечение периферических нейропатий с применением липина // *Актуальные и прогнозируемые нарушения психического здоровья после ядерной катастрофы в Чернобыле: Тез. докл. междунар. конф. (Киев, 24-28 мая 1995, Украина)*. К., 1995, с.116.
9. Мосендз І.О., Корпачев В.В., Павлюк П.М. Патогенетичні аспекти застосування есенціальних фосfolіпідів в лікуванні ускладнень цукрового діабету // *Фармакол. вісник*. 1999, № 3, 46-50.
10. Ефимов А.С., Ткач С.Н. Электро-физиологическая характеристика диабетических полинейропатий // *Сов. медицина*, 1988, № 8, 3-5.

(Надійшла 25.11.2002)

ГЕМОЛИЗ И СТРУКТУРА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С НЕФРОГЕННОЙ АНЕМИЕЙ ВСЛЕДСТВИЕ ДИАБЕТИЧЕСКОГО ГЛОМЕРУЛОСКЛЕРОЗА ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ ЭРИТРОПОЭТИНОМ

Н.А. Зуева*, О.И.Лебедь¹, Т.И.Герасименко², А.С.Ефимов

Институт эндокринологии и обмена веществ им.В.П.Комиссаренко АМН Украины, 04114 Киев; ¹Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины, 03057 Киев; ²Медицинский институт Ассоциации народной медицины, 01030 Киев, Украина

У больных с хронической почечной недостаточностью (ХПН) на фоне диабетического гломерулосклероза анемия представляет собой серьезную проблему и является почти постоянным фактором, который дополнительно отягощает их состояние. Основной причиной анемизации этих пациентов является снижение синтеза эритропоэтина интерстициальными клетками почек [1]. Кроме снижения синтеза эритропоэтина, свой негативный вклад в формирование анемии у этих больных вносит сокращение длительности жизни эритроцитов из-за нарушения структуры и функции их мембран вследствие гликозилирования и нарушения липидного обмена [2, 3]. Недостаточность выработки эритропоэтина требует соответствующей заместительной терапии [1]. Поэтому целью работы было изучение осмотической резистентности эритроцитов и структуры их мембран до и после применения эритропоэтина- β в течение 1 месяца в комплексной терапии у больных с ХПН I-II стадии, развившейся на фоне прогрессирующей диабетической нефропатии в додиализном периоде.

Материалы и методы

Обследовано 2 группы пациентов с ХПН I-II стадии в возрасте 32-65 лет с длительностью диабета 15-25 лет в состоянии компенсации.

В I группе 6 больным вводили эритропоэтин- β по 1000 ед. подкожно 4 раза в неделю. Помимо эритропоэтина больные получали инсулин, препараты железа, фолиевую кислоту, витамин В₁₂, препараты кальция, препараты для удержания креатинина (леспенефрил, леспефлан, хофитол), сорбенты и гипотензивные средства. Пациенты наблюдались амбулаторно.

Во II группе 23 больным проводили вышеуказанную терапию без эритропоэтина. Пациенты находились на стационарном лечении в диabetологическом отделении.

Контрольную группу составили 30 здоровых лиц соответствующего возраста.

Показатели красной крови (количество эритроцитов, гемоглобина, гематокрит) изучали общепринятыми методами, осмотическую резистентность эритроцитов – по их гемолизу в гипотоническом (0,6 %) и изотоническом (0,9 %) растворах хлорида натрия. Эритроциты предварительно инкубировали при 37 °С в течение суток. Конформационное строение их мембран исследовали флуоресцентными методами. Оценивали собственную флуоресценцию белков, флуоресценцию зондов анилин-нафталин-8-сульфоната натрия (АНС) и пирена, индуктивно-резонансный перенос энергии (ИРПЭ) с белков на зонды, микровязкость по степени эксимеризации пирена, индекс полярности [4]. Статистическую обработку результатов проводили по Стьюденту.

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

Результаты и их обсуждение

Результаты изучения функции эритроцитарных мембран – осмотической резистентности по их гемолизу в гипотоническом (0,6 %) и изотоническом (0,9 %) растворах натрия хлорида приведены в табл. 1. У больных обеих групп с ХПН до лечения гемолиз эритроцитов выше как в гипотоническом, так и изотоническом растворах натрия хлорида. При этом у них отмечается снижение количества эритроцитов, гемоглобина и гематокрита. Через 1 мес лечения в I группе гемолиз существенно уменьшился и в гипотоническом, и в изотоническом растворах, улучшились показатели красной крови, хотя они и не достигали значений здоровых лиц. Во II группе изучаемые показатели остались без изменения.

Спектральные характеристики мембран эритроцитов изучали только у больных I группы до и после лечения. Анализируя показатели флуоресцентного зондирования мембран эритроцитов можно отметить следующее (табл. 2). При возбуждении флуоресценции на 280 нм (собственная флуоресценция мембранных белков – триптофанилов и тирозилов) у больных регистрируется увеличение коротковолнового крыла спектра и уменьшение длинноволнового. При этом положение максимума полосы флуоресценции остаётся неизменным. Согласно положениям о спектрально-флуоресцентной модели существования люминофоров в белках, уменьшение вклада длинноволнового крыла спектра общей белковой флуоресценции объясняется перемещением триптофанилов с поверхности в глубину макромолекул. Вследствие этого процесса увеличивается и полуширина коротковолнового крыла спектра тирозиловой флуоресценции, что свидетельствует о выходе тирозилов из интерьера макромолекул на их поверхность.

Спектральные параметры флуоресценции АНС не отличаются при зондировании эритроцитарных мембран здоровых и больных с ХПН, что указывает на примерно одинаковые физико-химические свойства поверхностных мембранных структур.

Измерение флуоресцентных характеристик пирена показало отсутствие линейной зависимости между концентрацией зонда и степенью его эксимеризации, что свидетельствует о его встраивании как в липидную, так и белковую зоны мембраны. Поскольку в белках пирен не эксимеризуется [5], степень эксимеризации отражает только подвижность в глубинных зонах липидного матрикса и обратно пропорциональна микровязкости в основном жирнокислотных хвостов фосфолипидов. Как показано в табл. 2, у больных отмечается снижение степени эксимеризации пирена, что соответствует увеличению микровязкости вышеуказанных отделов. Полярность глубинных слоёв мембран эритроцитов у здоровых и лиц с ХПН на фоне диабетического гломерулосклероза достоверно не отличается.

Эффективность ИРПЭ с белковых люминофоров на АНС у больных ниже, а на пирен – выше, чем у здоровых лиц. С одной стороны, такие изменения связаны с большим уровнем погружения белков в липидный матрикс у больных по сравнению со здоровыми, а с другой, подтверждают показатели собственной белковой флуоресценции (перемещение триптофанилов вглубь белковых макромолекул). Триптофанилы – основные доноры энергии – у больных расположены в интерьере белковых глобул и, соответственно, ближе к пирену, локализованному в глубоких слоях мембраны, и дальше от связанного на поверхности АНС. Это и обуславливает увеличение эффективности ИРПЭ на пирен и снижение на АНС.

После курса терапии эритропоэтином- β в течение месяца параметры собственной белковой флуоресценции, характеризующие конформационное состояние белковых макромолекул мембран эритроцитов больных, демонстрируют

Таблица 1. Показатели гемолиза эритроцитов, гематокрита, количества эритроцитов и концентрации гемоглобина у больных с ХПН до и после лечения в течение 4 недель с применением эритропоэтина- β (I группа) и без такового (II группа)

Показатель		Здоровые, n=30	I группа		II группа	
			до лечения, n=6	после лечения, n=6	до лечения, n=23	после лечения, n=23
Гемолиз, %	NaCl 0,6 %	0,4±0,1	5,1±0,7**	1,3±0,3*#	5,0±0,5**	4,8±0,5**
	NaCl 0,9 %	0,1±0,08	2,7±0,6**	0,6±0,2*#	3,0±0,4**	2,8±0,4**
Гематокрит, %		44,0±1,5	24,0±1,4**	31,0±1,3*#	26,0±1,47**	26,0±0,6**
Концентрация Нв, г/л		144,0±3,2	73,9±3,24**	97,2±5,7*#	81,5±6,6	85,0±3,2
Количество эритроцитов, × 10 ¹² /л		5,0±0,5	2,5±0,13*	3,0±0,16*#	2,5±0,51*	2,7±0,5*

Примечание: *, ** – наличие достоверных отличий по отношению к контрольной группе, $P \leq 0,05$ и $P \leq 0,01$; #, ## – наличие достоверных отличий после лечения ($P \leq 0,05$ и $P \leq 0,01$).

Таблица 2. Результаты изучения флуоресцентными методами структурных свойств эритроцитарных мембран у пациентов с ХПН вследствие диабетического гломерулосклероза до и после лечения эритропоэтином- β в течение 1 мес

Объект измерения	Спектральные характеристики	Длина волны возбуждения, нм	Значения спектральных показателей		
			Здоровые, n=7	Больные сахарным диабетом с ХПН до лечения, n=6	после лечения, n=6
Белковые люминофоры	Положение максимума спектра, нм	280	330,5 $\pm$ 0,5	330,0 $\pm$ 0,6	330,0 $\pm$ 0,4
	Относительное положение максимума спектра		0,98 $\pm$ 0,01	0,97 $\pm$ 0,02	1,00 $\pm$ 0,03
	Полуширина спектра, нм	280	60,0 $\pm$ 0,5	60,0 $\pm$ 0,6	60,0 $\pm$ 0,4
	Полуширина на коротковолновом крыле, нм	280	24,5 $\pm$ 0,8	28,0 $\pm$ 0,7*	25,0 $\pm$ 0,6 [#]
	Полуширина на длинноволновом крыле, нм	280	36,5 $\pm$ 0,5	30,0 $\pm$ 0,7**	35,0 $\pm$ 0,9 [#]
	Ассиметрия спектра	280	0,67 $\pm$ 0,01	0,93 $\pm$ 0,02**	0,71 $\pm$ 0,02 [#]
АНС	Интенсивность, %		47,0 $\pm$ 2,0	45,6 $\pm$ 1,2	47,5 $\pm$ 1,1
	Относительное положение максимума спектра	b	1,01 $\pm$ 0,01	1,04 $\pm$ 0,02	1,00 $\pm$ 0,02
ДАП: белковые люминофоры – АНС	Эффективность ИРПЭ	280	0,22 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,01*	0,18 $\pm$ 0,01**
Пирен	Индекс полярности	340	1,24 $\pm$ 0,06	1,07 $\pm$ 0,07	1,10 $\pm$ 0,08
	Степень эксимеризации		0,23 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01*	0,17 $\pm$ 0,01**
ДАП: белковые люминофоры – пирен	Эффективность ИРПЭ	280	-0,65 $\pm$ 0,03	0,75 $\pm$ 0,03*	0,68 $\pm$ 0,04 [#]

Примечания. 1. *, ** – $P \leq 0,05$ и $0,02$ – достоверность изменений относительно здоровых лиц. 2. [#] – $P \leq 0,05$ – достоверность различий до и после лечения. 3. ДАП – донорно-акцепторные пары. 4. Относительное положение максимума спектра определяли как соотношение интенсивности при длинах волн 320 и 340 нм – для белковой флуоресценции (а), при 460 и 480 нм – для флуоресценции АНС (b).

следующее (табл. 2). Достоверно уменьшается полуширина на коротковолновом крыле спектра, увеличивается – на длинноволновом, что отражает обратный процесс, приближающийся к показателям здоровых лиц, хотя и не достигает их значений. Достоверно снижается эффективность ИРПЭ на пирен, что показывает уменьшение уровня погружения белков в липидный матрикс, хотя и не достигает значения у здоровых людей. Также снижается микровязкость мембран. Подобные результаты ранее нами были получены у аналогичных больных, в схемы терапии которых был включён эритропоэтин- α (неопубликованные данные).

Таким образом, у пациентов с ХПН наблюдается повышение гемолиза эритроцитов как в гипотоническом, так и в изотоническом растворах хлорида натрия, что свидетельствует о снижении осмотической резистентности эритроцитарной мембраны как одной из её функций. При изучении структурного состояния мембран эритроцитов у больных отмечается выход тирозилов на поверхность и перемещение триптофанилов в интерьер белковых макромолекул, более глубокий уровень погружения белков в липидный матрикс, большая микровязкость гидрофобных участков мембран. Такого рода нарушения структуры мембран могут лежать в основе нарушения их функций. Применение эритропоэтина- β в течение месяца приводит к достоверному улучшению состояния мембран эритроцитов, хотя и не достигающему значений здоровых лиц.

Литература

1. Зуева Н.О. Фізіологічні аспекти дії еритропоєтину і корекція анемії при діабетичній нефропатії (мініогляд) // Ендокринологія. 1997, 2, N 1, 104 - 109.
2. Ефимов А.С., Скробонская Н.А. Клиническая диабетология. К.: Здоровья, 1998. 320 с.
3. Дедов И.И., Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия. М.: Универсал Паблшинг, 2000. 240 с.
4. Zuyeva N.A., Yefimov A.S. Structural properties of erythrocyte membranes in diabetic patients and non-diabetic persons who worked in 30-km zone of Chernobyl nuclear power station for a long time (1986 – 1994) // Diabetologia Croatica. 1999, 28, N 1, 33-36.
5. Демченко А.П. Люминесценция и динамика структуры белков. К.: Наукова думка, 1988. 280 с.

(Надійшла 21.03.2003)

ЛАЗЕРНАЯ КОАГУЛЯЦИИ СЕТЧАТКИ В ЛЕЧЕНИИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ ПРИ 1 И 2 ТИПАХ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Н.В. Пасечникова*

Киевская клиническая офтальмологическая больница, Центр микрохирургии глаза, 03680 Киев, Украина

Диабетическая ретинопатия (ДР) – тяжёлое сосудистое осложнение сахарного диабета – является основной причиной слепоты среди лиц трудоспособного возраста в развитых странах. Она составляет 80–90 % от всей инвалидности по зрению, обусловленной сахарным диабетом (СД). Тяжесть и необратимость снижения зрения при ДР определяют актуальность исследований в этом направлении [1, 2].

Характер развития ДР у больных СД 1 типа (инсулинзависимым) и СД 2 типа (инсулиннезависимым) связан с особенностями патогенеза этих типов заболевания. При СД 1 типа она редко выявляется в момент постановки диагноза, однако через 20 лет после начала заболевания практически все эти больные будут страдать ретинопатией, а примерно у 2/3 из них она будет выявляться в пролиферативной стадии. У 1/3 лиц, страдающих СД 2 типа, ретинопатия выявляется при установлении диагноза. Через 20 лет после начала заболевания ДР будет диагностирована примерно у 2/3 этих больных, при этом у пятой части – в пролиферативной стадии. Вследствие большей распространенности СД 2 типа, подавляющее большинство больных с диабетическими поражениями сетчатки – это больные этого типа диабета [3, 4].

Проблемой лазерного лечения ДР мы занимаемся с 1994 года. Первые результаты применения фокальной и панретиальной лазерной коагуляции у 155 пациентов (210 глаз) с ДР при наблюдении в течение 2 лет показали эффективность этого метода лечения. Фокальная лазерная коагуляция (ЛК) была эффективна у больных СД с ДР неproлиферативной стадии (60%). Такой же успех (60%) наблюдался у больных с проproлиферативной ДР при использовании панретиальной лазерной коагуляции (ПРЛК), а у больных с пролиферативной ДР применение ПРЛК дало положительный результат в 50% случаев. В дальнейшем, наблюдая за этими пациентами, мы убедились в нецелесообразности проведения фокальной лазерной коагуляции при неproлиферативной ДР, так как в последующем всем больным этой группы была проведена ПРЛК в связи с прогрессированием процесса на глазном дне.

Целью настоящей работы стало изучение эффективности лазерной коагуляции ДР у больных 1 и 2 типов СД.

Материалы и методы

Исследование успешности лечения ДР лазерной коагуляцией мы начали с изучения распространенности ДР при различных типах СД. С этой целью произведен анализ амбулаторных карт 2743 больных СД в поликлиниках г. Киева. Оказалось, что из всех больных СД 841 (30,6 %) страдали СД 1 типа, 1902 (69,4 %) – СД 2 типа. Среди больных СД 2 типа 1345 (70,7 %) принимали таблетированные сахароснижающие препараты, а 557 (29,3 %) – находились на инсулинотерапии.

*Адреса для листування (Correspondence): Центр мікрохірургії ока, просп. Комарова, 3А, 03680 Київ, Україна

Всем больным проводился комплекс офтальмологических исследований. Для оценки тяжести диабетической ретинопатии использовалась рекомендуемая ВОЗ классификация Е.М.Кohner и М.Porta [5], в которой выделяется три основных стадии: непролиферативная, препролиферативная и пролиферативная ретинопатия. Основным типом лазерного лечения была панретиальная лазеркоагуляция. Общее количество коагулятов, наносимое при ПРЛК, было в пределах от 2000 до 5000. Ухудшением считалось прогрессирование ретинопатии с переходом на следующий уровень.

Результаты исследований

Из 2743 пациентов с СД диабетическая ретинопатия была зарегистрирована у 1281 (46,7 %). Распределение было следующим: у 667 (24,3 %) пациентов ДР выявлялась на непролиферативной стадии, у 378 (13,8 %) – на препролиферативной и у 236 (8,6 %) – на пролиферативной. Важно отметить, что у 50,2 % больных с пролиферативной ретинопатией выявлялись факторы высокого риска значительной потери зрения (неоваскуляризация диска зрительного нерва больше 1/3 ДР, неоваскуляризация сетчатки больше 1/2 ДР, преретинальные или витреальные геморрагии).

Зависимость частоты ДР от длительности и типа СД представлены на рисунке. Как видно из приведенных данных, частота ДР у всех больных находится в прямой зависимости от длительности течения СД. У пациентов с СД 1 типа происходит резкое увеличение частоты ДР в промежутке 6–10 лет от начала заболевания (68 % против 10,5 % при продолжительности диабета менее 5 лет). Далее частота ДР среди таких больных возрастает постепенно, достигая своего максимума (91,4 %) к 30 годам от начала заболевания.

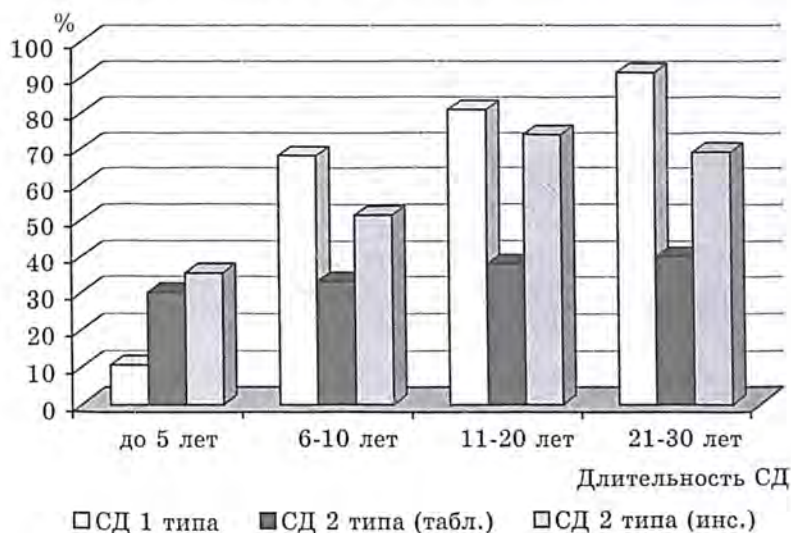


Рисунок. Частота ДР (%) в зависимости от длительности и типа СД.

У пациентов с СД 2 типа отмечается разница в распространенности ДР в зависимости от вида лечения. Если на ранних сроках диабета (до 5 лет) ДР возникает у 30 % пациентов, получающих таблетированные сахароснижающие препараты, и у 35,5 % больных, находящихся на инсулинотерапии, то с увеличением длительности заболевания частота ДР растет более интенсивно у лиц, получающих инсулин, достигая максимума в период 11–20 лет от начала диабета (38 % и 74 %, соответственно).

Для оценки эффективности проведения панретиальной лазеркоагуляции сетчатки было отобрано 452 человека. Из них 202 пациента страдали СД 1 типа, 250 – СД 2 типа. Оценка тяжести диабетического поражения сетчатки проводи-

лась по итоговой классификации ETDRS [6], которая позволяет определять прогрессирование процесса не только при переходе от препролиферативной к пролиферативной ретинопатии, но и в рамках одной пролиферативной стадии. Пациенты с СД 1 типа были разбиты на две группы. 139 человек (209 глаз) составили основную группу, в которой проводилась лазеркоагуляция, а 63 (87 глаз) – контрольную, которым лазеркоагуляция не выполнялась. Основную группу больных СД 2 типа составили 130 человек (180 глаз), которым проводилась ЛК, а контрольную – 120 человек (165 глаз), которым ЛК не выполнялась.

Результаты определения эффективности ПРЛК представлены в табл. 1.

Таблица 1. Стабилизация ДР после лечения при разных типах СД

Группа обследованных	СД 1 типа, стадия ДР		СД 2 типа, стадия ДР	
	препролиферативная	пролиферативная	препролиферативная	пролиферативная
Основная	69%	47,3%	82,5%	44,8%
Контрольная	37,2%	11,7%	56,9%	26%
	P<0,01	P<0,01	P<0,01	P<0,01

Из данных таблицы следует, что проведение ПРЛК в препролиферативной стадии более эффективно, чем в пролиферативной. В то же время ПРЛК, выполненная в пролиферативной стадии, эффективнее при СД 2 типа. При сравнении с контрольной группой основная группа имеет значительно лучшие результаты, что говорит об эффективности проведенной панретиальной лазерной коагуляции сетчатой оболочки у больных с ДР.

Изучая характер изменения остроты зрения в исследуемых группах, мы получили следующие результаты (табл. 2 и 3).

Таблица 2. Средняя острота зрения в динамике у больных СД 1 типа с ДР

Сроки обследования	Основная группа, 139 чел. (209 глаз)		Контрольная группа, 63 чел. (87 глаз)	
	Препролиф. стадия ДР	Пролиферат. стадия ДР	Препролиф. стадия ДР	Пролиферат. стадия ДР
До лечения	0,82±0,05	0,79±0,05	0,87±0,06	0,70±0,06
После лечения через 1 мес	0,85±0,05	0,85±0,05	0,88±0,07	0,78±0,07
После лечения через 1 год	0,71±0,05	0,64±0,05	0,68±0,07	0,60±0,06
После лечения через 3 года	0,65±0,05	0,55±0,05	0,31±0,04	0,24±0,03

Таблица 3. Средняя острота зрения в динамике у больных СД 2 типа с ДР

Сроки обследования	Основная группа, 130 чел. (180 глаз)		Контрольная группа, 120 чел. (165 глаз)	
	Препролиф. стадия ДР	Пролиферат. стадия ДР	Препролиф. стадия ДР	Пролиферат. стадия ДР
До лечения	0,70±0,08	0,40±0,05	0,69±0,05	0,35±0,05
После лечения через 1 мес	0,70±0,05	0,40±0,08	0,7±0,08	0,33±0,05
После лечения через 1 год	0,67±0,05	0,29±0,07	0,63±0,04	0,15±0,03
После лечения через 3 года	0,62±0,07	0,13±0,02	0,58±0,07	0,08±0,003

Сравнивая полученные данные через 3 года после лечения, необходимо отметить, что острота зрения у пациентов основной и контрольной групп как при СД 1 типа, так и СД 2 типа достоверно отличалась ($P < 0,001$). Эти отличия более выражены у больных с СД 1 типа, у которых после ПРЛК снижение остроты зрения у лиц основной группы было в 2 раза меньше, чем у больных контрольной группы. У больных СД 2 типа заметное замедление снижения остроты зрения под влиянием лазеркоагуляции наблюдалось лишь у лиц с пролиферативной ДР. Снижение зрения у больных основной группы с препролиферативной стадией ДР было обусловлено не прогрессированием диабетической ретинопатии, а возникновением диабетической макулопатии и катаракты. У больных же с пролиферативной стадией, особенно у больных СД 2 типа, острота зрения снизилась в связи с дальнейшим прогрессированием ДР, развитием осложненной катаракты, вторичной глаукомы и других осложнений.

Таким образом, частота возникновения диабетической ретинопатии находится в прямой зависимости от длительности и типа сахарного диабета, а также зависит от вида терапии при СД 2 типа. Панретиальная лазерная коагуляция является эффективным методом лечения диабетической ретинопатии при обоих типах сахарного диабета, причем в препролиферативной стадии ее эффективность выше при сахарном диабете 2 типа, а в пролиферативной стадии – при сахарном диабете 1 типа.

Литература

1. Кацнельсон Л.А. Клинические формы диабетической ретинопатии // Вестник офтальмол. 1979, № 5, 43–47.
2. Кацнельсон Л.А., Форофонова Т.И., Бунин А.Я. Сосудистые заболевания глаза. М., 1990, 126–137.
3. Балашевич Л.И. Лечебная эффективность фотокоагуляции глазного дна в зависимости от формы и стадии диабетической ретинопатии // Офтальмол. журнал. 1985, № 4, 209–211.
4. Шилова О.Г., Запускалов И.В., Екимов А.С. Метод аргонлазеркоагуляции при сахарном диабете // Лазерная рефракционная и интраокулярная хирургия: Сб. матер. Рос. научн. конф. СПб, 2002, 68–69.
5. Kohnner E.M., Porta M. Protocols for screening and treatment of diabetic retinopathy in Europe // Eur. J. Ophthalmol. 1991, 1, N 1, 45–54.
6. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research group (ETDRS). Report № 9. Early photocoagulation for diabetic retinopathy // Ophthalmology. 1991, 98, N 5, 766–785.

НЕЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ

О.В.Большова-Зубковська, В.А.Музь

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

Нецукровий діабет – це відносно рідкісне ендокринне захворювання, що дуже тісно пов'язане з ураженням гіпоталамуса [1] і супроводжується вираженою спрагою, частим і сильним сечовипусканням з виділенням сечі низької відносної щільності. Кількість сечі за добу може досягти 20 л, відносна щільність сечі не перевищує 1005.

Клінічно розрізняють 3 основні форми нецукрового діабету у дітей: ідіопатичну, симптоматичну (обидві нейрогенні) та вазопресинрезистентну (нефрогенну). Ключовим моментом патогенезу центрального (нейрогенного) нецукрового діабету є зниження секреції антидіуретичного гормону [2, 3].

Ідіопатичну форму нецукрового діабету можна підозрювати в тих випадках, коли відсутні ознаки ураження гіпоталамуса і не вдається встановити причину захворювання. Початку хвороби часто передують неспецифічні інфекції – грип, краснуха, тиф, пневмонія тощо. Приблизно у 50 % випадків діагностують ідіопатичну форму захворювання. Можна припустити, що у багатьох випадках ідіопатичного нецукрового діабету інфекційні чинники є своєрідним пусковим механізмом, який реалізує генетично зумовлену функціональну неповноцінність гіпоталамічних ядер стосовно синтезу або секреції антидіуретичного гормону (АДГ) [4]. Можливий третій патофізіологічний механізм розвитку ідіопатичного нейрогенного нецукрового діабету, пов'язаний із синтезом біологічно неактивного АДГ або синтезом патологічного нейрофізину – носія нейрогіпофізарних гормонів, міцніше зв'язаного з АДГ, завдяки чому дія гормону затрудняється. Не виключається також можливість імунopatологічного механізму розвитку центрального нецукрового діабету внаслідок аутоімунної деструкції певних гіпоталамічних ядер або в результаті утворення антитіл до АДГ [5].

Симптоматична форма нецукрового діабету появляється при різноманітних органічних порушеннях гіпоталамо-гіпофізарної зони, коли причиною недостатньої секреції АДГ стають пошкодження гіпоталамуса, зумовлені внутрішньоутробним ураженням, травмою, нейроінфекцією, порушенням кровопостачання або грануломатозно-запальним процесом.

У більшості дітей першими і основними симптомами захворювання є спрага, поліурія, кволість, поганий апетит. Хворі випивають від 3-4 до 12 л рідини за добу, вони надзвичайно дратівливі, часто плачуть і капризують, періоди значного обезводнювання організму супроводжуються підвищенням температури тіла з можливим розвитком судом, колапсу. Як правило, відсутнє виділення поту, відмічається виражена сухість шкіри, зниження маси тіла, відставання у фізичному, рідше – у психічному розвитку. Можуть траплятися головний біль, розлади сну, артралгії та гіперхромна анемія [5].

Діагноз нецукрового діабету ґрунтується на характерних симптомах полідипсії і поліурії (від 2 до 10 л/добу), до того ж сеча світла з низькою відотною щільністю (1000-1005); осмолярність сечі не підвищується при обмеженні введення рідини, вона завжди нижча осмолярності плазми.

З 1998 по 2002 р. у дитячому відділенні Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України обстежувалися та лікувалися 25 хворих на нецукровий діабет (14 хлопчиків та 11 дівчаток віком від 1 до 16 років). 19

хворих мали вік від 1 до 10 років, 3 – від 10 до 14 років і 3 – від 14 до 16 років.

Клінічна картина захворювання характеризувалася в основному такими симптомами як виражена спрага, кволість, поганий апетит, поліурія, сухість та блідість шкіри, відмічалось відставання у фізичному та статевому розвитку. Щодо фізичного розвитку, то 11 дітей (44 %), хворих на нецукровий діабет, були розвинені відповідно до віку, у 2 дітей встановлено субнанізм і у 2 дітей – нанізм. Поєднання нецукрового діабету з церебрально-гіпофізарним нанізмом відноситься до числа рідкісних. У 10 хворих (40 %) на нецукровий діабет спостерігалась низькорослість, тобто відставання у зрості від 1σ до 2σ.

При госпіталізації усім хворим, окрім збору анамнезу, робили загальноклінічні і біохімічні дослідження, протягом перебування хворого в клініці неодноразово брали проби сечі по Зимницькому. За даними ЕЕГ, у 80 % дітей відмічалися помірні загальнономозкові зміни біотоків мозку з ознаками дисфункції стовбурно-діенцефальних структур. Зміни на очному дні були зафіксовані у 3 пацієнтів, зниження гостроти зору – у 2. Усіх хворим робили рентгенографію або комп'ютерну томографію черепа і рентгенографію кистей рук. При рентгенографії черепа змін структури кісток не виявлено у 22 дітей, стоншення кісток черепа спостерігалось у 2 дітей і посилення пальцевих вдавлювань – у 1. Рентгенологічний вік відставав від паспортного у 6 дітей.

У 7 дітей початок захворювання пов'язують із перенесеною інфекцією (ГРВІ, коклюш, бронхіт). У 5 дітей хвороба розвинулася після черепно-мозкової травми, у 1 – після переляку, ще у 1 – після пологової травми.

У 9 пацієнтів був діагностований супутній астено-невротичний синдром, вроджена енцефалопатія, дисметаболічна енцефалопатія, гістіоцитоз, нейросекреторна глухота, тубулопатія, лускоподібний блефарит обох очей.

При запальному процесі у гіпоталамо-гіпофізарній ділянці проводили антизапальну, розсмоктувальну та дегідратаційну терапію. Як замісну терапію призначали адіуретин (1-2-3 краплі 2-3 рази на добу). На тлі терапії поліпшився загальний стан хворих: діти прибавляли у вазі, ставали спокійнішими; зменшилася спрага, знизився добовий діурез. Коливання відносної щільності сечі при виписці – 1006-1012.

Таким чином, найчастішими причинами нецукрового діабету були вірусні інфекції і травми черепа. Незалежно від причини захворювання при обстеженні хворого на нецукровий діабет необхідно виконувати рентгенологічне, неврологічне і офтальмологічне обстеження, у складних випадках – комп'ютерну томографію гіпоталамо-гіпофізарної ділянки. Такі хворі один раз на місяць повинні обстежуватися у ендокринолога.

Література

1. Gu F., Jin Z., Zhang. The etiology and clinical characteristics of central diabetes insipidus, a retrospective study // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2001, 81, N 19, 1166-1171.
2. Al-Agha A.E., Thomsett M.J., Ratcliffe J.F. et al. Acquired central diabetes insipidus in children: a 12-year Brisbane experience // *J. Paediatr. Child Health*. 2001, 37, N 2, 172-175.
3. Robertson G.L. Diabetes insipidus // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 1995, 24, 549-572.
4. Czernichow P., Pomarede R., Brauner R., Rappaport R. Neurogenic diabetes insipidus in children // *Front. Horm. Res.* 1985, 13, 190-209.
5. Mootha S.L., Barkovich A.J., Grumbach M.M. et al. Idiopathic hypothalamic diabetes insipidus, pituitary stalk thickening, and the occult intracranial germinoma in children and adolescents // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997, 82, 1362-1367.
6. Wang L.C., Cohen M.E., Duffner P.K. Etiologies of central diabetes insipidus in children // *Pediatr. Neurol.* 1994, N 11, 273-277.

(Надійшла 17.01.2003)

СЛУЧАЙ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАПИЛЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У РЕБЕНКА

В.А. Войнилович*, Д.М. Игнатенко¹, Н.Л. Зенченко¹

Черниговская областная больница, ¹Детская городская поликлиника №2,
14000 Чернигов, Украина

Современные представления об этиологической роли факторов риска в развитии рака щитовидной железы (РЩЖ) у детей и подростков основываются на доминирующей роли ионизирующей радиации – резкого возрастания радиационного фона, вызванного испытаниями ядерного оружия в атмосфере Земли, широкого использования источников искусственной радиоактивности в лечебных и диагностических целях, радиоактивного загрязнения территорий изотопами йода, цезия и стронция вследствие аварий на ядерных энергетических объектах. Кроме того, определенная роль отводится йодной недостаточности. Однако не следует забывать о существовании в этиологии заболевания и других канцерогенных факторов – питания, нарушения нейроэндокринного гомеостаза, предшествующей патологии щитовидной железы (ЩЖ), генетической предрасположенности и мутаций. В доаварийный период за всё время наблюдения в Черниговской области отмечен всего один случай РЩЖ у подростка.

РЩЖ – наиболее частая злокачественная опухоль эндокринных желез. Заболеваемость РЩЖ в Украине начала заметно расти с 1990 года, при этом особенно бурный рост отмечен среди детей, попавших под йодный удар Чернобыльской катастрофы. Пик заболеваемости пришёлся на 1994 год, когда в г. Чернигове было зарегистрировано 6 случаев папиллярной карциномы щитовидной железы у детей. Аналогичный всплеск заболеваемости РЩЖ отмечен и среди детей Гомельской (Беларусь) и Брянской (Россия) областей. После 1994 года заболеваемость РЩЖ в городе Чернигове составила 1-2 случая в год. В 2000 году отмечен новый подъём заболеваемости – зарегистрировано 3 случая папиллярной карциномы у детей и 3 – среди подростков. На этом фоне представляет большой клинический интерес случай РЩЖ, выявленный в 2001 году в Чернигове у мальчика, родившегося через 3,5 года после аварии на ЧАЭС.

Больной К. (родился 29. 11. 89 г.) наблюдается в детской городской поликлинике № 2 с рождения. Мальчик от II беременности, протекавшей с токсикозом II половины, II родов; асфиксия средней степени тяжести. Диагноз отделения патологии новорожденных: спинальная родовая травма, двусторонний верхний вялый парез, конъюгационная желтуха, нормохромная гипорегенераторная анемия лёгкой степени тяжести. Находился на естественном вскармливании, часто болел ОРВИ и ангинами. В 6 мес перенёс ветряную оспу. В 3 года после очередной ангины – инфекционно-аллергический миокардит. Впервые осмотрен эндокринологом в ноябре 1997, затем в декабре 1998 года – патологии не выявлено. В декабре 1999 впервые выявлено увеличение ЩЖ 1а степени без нарушения функции (клинически), дан совет по питанию и назначен контроль-

*Адреса для листування (Correspondence): ендокринологічне відділення обласної лікарні, вул. Волковича, 25, 14000 Чернігів, Україна

ный осмотр через 6 мес. На контрольный осмотр прибыл в октябре 2000 года. Диагноз: зоб 1а степени, эутиреоз. Назначено УЗИ ЩЖ (не сделано). В апреле 2001 года повторно направлен на консультацию к эндокринологу.

На момент осмотра 13.04.2001 г. физическое развитие выше среднего, гармоничное, пропорциональное. Пубертации нет. ЩЖ 16 степени, левая доля мягкая, правая – в виде плотноэластичного, безболезненного образования – узла, смещающегося при глотании. Проведено cito УЗИ ЩЖ: Расположение типичное. Контур правой доли деформирован. Капсула не уплотнена. Структура среднезернистая, изоэхогенная. Паренхима правой доли неоднородна из-за наличия единичного гипоехогенного образования с нечёткими контурами до 23 мм в диаметре. Объём правой доли 7,3 см³, левой – 6,1 см³, перешеек – 0,28 см (по Brunn). Установлен диагноз: правосторонний узловый зоб 16 степени, эутиреоз. Ребенок направлен в Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко для исключения РЩЖ.

24.04.2001 г. в г. Киеве произведена тиреоидэктомия и диссекция шеи справа. Патогистологическое заключение: Широкоинвазивная неинкапсулированная папиллярная карцинома ЩЖ, папиллярно-солидного строения с признаками выраженного распространения по тканям правой доли железы, наличием лимфатической и кровеносной инвазий, инфильтративного роста за пределы капсулы железы, множества псаммомных телец, выраженных очаговых фиброзно-склеротических изменений. Внеопухолевая ткань левой доли ЩЖ микро-скопически без особенностей. Метастазы обнаружены в одном лимфатическом узле паратрахеальной группы справа. Послеоперационный период протекал без особенностей.

12.06.2001 г. произведена скintiграфия, получил 2405 МБк Na¹³¹I; выявлена остаточная ткань ЩЖ и метастазы в лимфатические узлы шеи слева. Назначена пожизненная заместительная гормональная терапия L-тироксином в дозе 125 мкг/сут. Повторная скintiграфия в январе 2002 года – получил диагностическую дозу 185 МБк – участков накопления Na¹³¹I не определяется. Рекомендовано: L-тироксин в дозе 125 мкг/сут. Очередная скintiграфия в сентябре 2002 г. – участков накопления Na¹³¹I не определяется. Диагноз: состояние после комбинированного лечения по поводу папиллярной карциномы щитовидной железы. Послеоперационный гипотиреоз, тяжелая форма в стадии субкомпенсации. Рекомендовано: L-тироксин 125 мкг/сут и контроль ТТГ в декабре 2002 года.

При ультразвуковом исследовании ЩЖ матери в сентябре 2002 года в Институте эндокринологии (Киев) выявлен узловый зоб. Заключение тонкоигльной аспирационной биопсии: “Нельзя исключить малигнизацию”...

Таким образом, хотя в Черниговской области Украины и в городе Чернигове после аварии на ЧАЭС у детей и подростков отмечен отчетливый рост заболеваемости РЩЖ, генез которого, по всей вероятности, радиационный, не следует забывать о существовании в этиологии этого заболевания и других факторов.

Литература

1. Демидчик Е.П., Цыб А.Ф., Лушников Е.Ф. Рак щитовидной железы у детей. М., 1996.
2. Медицинские последствия Чернобыльской аварии. Научный отчет. ВОЗ, Женева, 1995.

(Надійшла 10.12.2002)

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

Для опублікування в журналі "Ендокринологія" приймаються клінічні та експериментальні праці з усіх аспектів ендокринології та споріднених дисциплін. Статті подаються українською, а також російською та англійською мовами. Журнал приймає оригінальні статті, огляди літератури, короткі повідомлення про дослідження з експериментальної, клінічної і профілактичної ендокринології, замітки і спостереження з практики, наукову хроніку (інформація про з'їзди і конференції, ювілеї, рецензії тощо).

У разі направлення статті до редакції треба дотримуватися таких правил.

Стаття повинна супроводжуватись офіційним листом від установи, в якій виконана праця, і мати візу керівника її. У супровідному листі автор повинен підтвердити, що матеріал статті раніше не публікувався і не направлений для опублікування в інші видання. Рукопис статті надсилають у двох примірниках на папері, до яких додається дискета.

Авторський оригінал складається з тексту, таблиць, малюнків чи фотографій, підписів до ілюстрацій, списку літератури. Для оригінальних статей і оглядів обов'язковим є реферат українською, російською та англійською мовами з ключовими словами.

Текст статті друкують на одному боці аркуша формату А4 (210 x 297 мм), поля з усіх боків – 20 мм. Текст слід розміщувати в межах зазначених полів без переносів: 30 строчок на сторінці, 66-67 знаків у строчці (з урахуванням пропусків між друкованими знаками). Бажано використовувати шрифт Times New Roman Cyr. У вікні "стиль" має стояти "звичайний". У разі використання виділень курсивом, жирним шрифтом чи підкресленнями, а також надрядкових чи підрядкових індексів, слід дотримуватись стильового оформлення журналу. Текст статті має подаватися у форматі текстового процесора Word for Windows. Дискета 3.5' мусить бути перевірена на віруси і надіслана у цупких палітурках.

На 1-й сторінці зазначається: 1) заголовок статті; 2) ініціали та прізвища авторів; 3) назва установи, де працюють автори, поштовий індекс і місто, країна; 4) реферат статті на мові, на якій подається рукопис; 5) ключові слова – від 5 до 10 слів або словосполучень, що розкривають зміст статті.

На останній сторінці тексту – власноручні підписи всіх авторів; прізвище, ім'я та по-батькові, поштова адреса і номери телефонів (службовий, домашній) автора, з яким редакція має спілкуватися.

Обсяг оригінальної статті не повинен перевищувати 15 сторінок рукопису, включно з таблицями (до 3), ілюстраціями (до 3), списком використаної літератури і рефератом.

Стаття, присвячена огляду літератури, може мати обсяг до 25 сторінок.

Короткі повідомлення: максимум 7 друкованих сторінок і 2 ілюстрації (таблиці або малюнки).

Замітки з практики: максимум 5 друкованих сторінок, включаючи посилання і 1 таблицю або 1 малюнок.

Оригінальні статті повинні мати такі розділи. У вступі стисло аналізують стан досліджуваного питання з посиланням на джерела і формулюють мету даної праці. Розділ "Матеріали та методи" має бути викладеним так, щоб можна було відтворити дослідження. На загальновідомі методи досить дати посилання.

Відповідно до Міжнародного Кодексу медичної етики клінічне дослідження на людині не може бути проведене без згоди цієї людини після відповідного роз'яснення. Тому автор повинен вказати на отримання згоди обстежуваних людей під час терапевтичних і нетерапевтичних клінічних досліджень. Забороняється публікувати будь-яку інформацію, що дозволяє ідентифікувати хво-

рого (письмові описи, фотографії, родовід), за винятком тих випадків, коли вона має велику наукову цінність і хворий (його родичі чи опікуни) дав на це письмову згоду. Чорна смужка, що закриває очі хворого на фотографіях, – недостатня гарантія анонімності. Не використовуйте прізвища, ініціали хворих чи номери історій хвороби, особливо на малюнках чи фотографіях.

Згідно зі стандартами гуманного поводження з тваринами, в експериментальних працях треба зазначити вид і кількість використаних тварин, застосовані методи знеболювання й евтаназії. При викладі експериментів на тваринах вкажіть, чи відповідало утримання і використання лабораторних тварин методам, які рекомендуються національними нормами з біоетики (нижче див. “Загальні етичні принципи експериментів на тваринах”).

У розділах “Результати” та “Обговорення результатів” бажано уникати повторення даних таблиць, а обговорення обмежити розглядом лише найважливіших із встановлених фактів з урахуванням попередніх відомостей із заторкнутих проблем. Слід включити в статтю всі результати досліджень, в тому числі й ті, що можуть суперечити досліджуваній гіпотезі. Автори беруть на себе відповідальність за якість і вірогідність наведених даних.

Таблиці слід друкувати на окремих сторінках кожну. Цифрові дані потрібно заокруглювати згідно з усталеними правилами та з урахуванням середньої похибки. Вірогідність відмінностей потрібно обґрунтувати статистичним аналізом.

Ілюстрації. Малюнки та фотографії подають у двох примірниках. Один із них не повинен мати ніяких надписів. Якість малюнків повинна бути такою, щоб їх можна було репродукувати на сторінках журналу. Товщина ліній та розмір малюнку повинні дозволяти їх зменшення у 2-3 рази. Лінії не повинні бути тоншими за 0,25 мм. Слід уникати дрібної (частіше 1 мм) чи напівтонової штриховки на графіках. Ілюстрації можна подавати у будь-яких графічних форматах (TIF, JPG, BMP та ін.). Малюнки слід подавати окремим файлом (не в тексті статті). Графіки та діаграми надавати побудованими у MS Word або Excel (доповнення Graph, що входить до складу MS Office). Фотографії повинні бути контрастні, їх слід виготовляти на глянсовому папері. Розмір та якість зображення повинні дозволяти його зменшення у 2-3 рази. На звороті кожної ілюстрації олівцем ставлять їхні порядкові номери, прізвище першого автора, скорочену назву статті, а також визначають верх і низ. У рукописі на лівому полі сторінки вказують місця таблиць та ілюстрацій.

Слід уникати скорочень слів, за винятком загальновідомих. Всі величини наводити в одиницях СІ. Скрізь у тексті латинські літери підкреслюють синім олівцем, грецькі – обводять червоним.

Бібліографічні посилання. Список використаної літератури складають за порядком згадування джерел у тексті (вони позначаються цифрами у квадратних дужках) і подаються у кінці статті на окремих сторінках. Порядок оформлення: для монографій – прізвище, ініціали, назва книги, місце видання, видавництво, рік, кількість сторінок; для статей із журналів і збірників – прізвище, ініціали, повна назва статті, стандартно скорочена назва журналу або назва збірника, рік видання, том (жирним шрифтом), номер, сторінки (початкова і остання), на яких розміщено статтю. Не можна посилатись на неопубліковані матеріали.

Реферат повинен найповніше відображати зміст статті і містити фактичний (цифровий) матеріал. При необхідності обсяг реферату може бути збільшений до одної сторінки. Якщо стаття подається українською мовою, то в кінці її на окремих сторінках додаються реферати російською і англійською мовами, і навпаки. Реферат містить ті ж 5 пунктів, що й 1-ша сторінка статті (заголовок, автори, установа, текст реферату, ключові слова).

Редакція залишає за собою право за необхідності на наукове і літературне редагування статті, а також скорочення її.

Просимо надсилати рукописи рекомендованим листом чи бандероллю із зворотним повідомленням про отримання. У випадку отримання статті, оформленої із порушенням пропонованих "Правил", редакція не розглядає статтю.

Журнал "Ендокринологія" приєднується до 5-ї редакції "Єдиних вимог до рукописів, що подані на розгляд у біомедичні журнали", розроблених Міжнародним комітетом редакторів медичних журналів. Звертаємось до наших авторів з проханням дотримуватись цих вимог, опублікованих у журналі "Український медичний часопис" (1998, № 1 (3), 131-142) за виданням "International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (Ann. Intern. Med., 1997, 126, 36-47).

У зв'язку з економічними труднощами редакція змушена просити авторів про матеріальну підтримку видання журналу. Після рецензування і редагування редакція направляє авторам повідомлення про прийняття статті до публікації із зазначенням суми, яку треба перерахувати на розрахунковий рахунок журналу.

Адреса редакції: 04114 Київ, вул. Вишгородська, 69, Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН України

Тел.: (044) 431-02-64

Факс: (044) 430-36-94.

ЗАГАЛЬНІ ЕТИЧНІ ПРИНЦИПИ ЕКСПЕРИМЕНТІВ НА ТВАРИНАХ*

Ухвалено Першим національним конгресом з біоетики 20 вересня 2001 р., Київ, Україна

Ці принципи розроблено у відповідності до основних засад біоетики та біоетичної експертизи в інтересах захисту людини і всього біологічного різноманіття світу. Вони узгоджуються з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985 р.).

І. Загальні положення

1. Біологічні та медичні експерименти на тваринах можуть проводитись лише у тих випадках, коли вони спрямовані на одержання нових наукових знань, сприятимуть поліпшенню здоров'я людини і тварин, збереженню живої природи, є вкрай необхідними для якісного навчання і підготовки фахівців, проведення судово-медичної та криміналістичної експертизи, не становлять загрози для здоров'я людини.

2. Експерименти на тваринах виправдані тоді, коли є достатні підстави сподіватись, що їхні результати суттєво сприятимуть досягненню хоча б однієї із зазначених вище цілей. Неприпустимо використовувати тварин з дослідницькими та навчальними цілями, якщо ці цілі можуть бути досягнені іншими шляхами, без використання тварин.

3. Слід уникати буквального дублювання вже проведених раніше досліджень на тваринах, якщо воно не зумовлено доцільністю експериментальної перевірки результатів.

4. Вибір виду тварин, їх кількості, методики досліджень має бути ретельно обґрунтовано до початку експериментів і одержати схвалення уповноваженої особи чи органу біоетичної експертизи.

* Документ розроблено робочою групою Конгресу під проводом чл.-кор. НАН і АМН України О.Г.Резнікова

Просимо надсилати рукописи рекомендованим листом чи бандероллю із зворотним повідомленням про отримання. У випадку отримання статті, оформленої із порушенням пропонованих "Правил", редакція не розглядає статтю.

Журнал "Ендокринологія" приєднується до 5-ї редакції "Єдиних вимог до рукописів, що подані на розгляд у біомедичні журнали", розроблених Міжнародним комітетом редакторів медичних журналів. Звертаємось до наших авторів з проханням дотримуватись цих вимог, опублікованих у журналі "Український медичний часопис" (1998, № 1 (3), 131-142) за виданням "International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (Ann. Intern. Med., 1997, 126, 36-47).

У зв'язку з економічними труднощами редакція змушена просити авторів про матеріальну підтримку видання журналу. Після рецензування і редагування редакція направляє авторам повідомлення про прийняття статті до публікації із зазначенням суми, яку треба перерахувати на розрахунковий рахунок журналу.

Адреса редакції: 04114 Київ, вул. Вишгородська, 69, Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН України

Тел.: (044) 431-02-64

Факс: (044) 430-36-94.

ЗАГАЛЬНІ ЕТИЧНІ ПРИНЦИПИ ЕКСПЕРИМЕНТІВ НА ТВАРИНАХ*

Ухвалено Першим національним конгресом з біоетики 20 вересня 2001 р., Київ, Україна

Ці принципи розроблено у відповідності до основних засад біоетики та біоетичної експертизи в інтересах захисту людини і всього біологічного різноманіття світу. Вони узгоджуються з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985 р.).

I. Загальні положення

1. Біологічні та медичні експерименти на тваринах можуть проводитись лише у тих випадках, коли вони спрямовані на одержання нових наукових знань, сприятимуть поліпшенню здоров'я людини і тварин, збереженню живої природи, є вкрай необхідними для якісного навчання і підготовки фахівців, проведення судово-медичної та криміналістичної експертизи, не становлять загрози для здоров'я людини.

2. Експерименти на тваринах виправдані тоді, коли є достатні підстави сподіватись, що їхні результати суттєво сприятимуть досягненню хоча б однієї із зазначених вище цілей. Неприпустимо використовувати тварин з дослідницькими та навчальними цілями, якщо ці цілі можуть бути досягнені іншими шляхами, без використання тварин.

3. Слід уникати буквального дублювання вже проведених раніше досліджень на тваринах, якщо воно не зумовлено доцільністю експериментальної перевірки результатів.

4. Вибір виду тварин, їх кількості, методики досліджень має бути ретельно обґрунтовано до початку експериментів і одержати схвалення уповноваженої особи чи органу біоетичної експертизи.

* Документ розроблено робочою групою Конгресу під проводом чл.-кор. НАН і АМН України О.Г.Резнікова

5. Тварини для експериментів повинні надходити з сертифікованого джерела їх розведення. Використання бродячих тварин протирічить принципам біоетики.

6. Визнаючи здатність тварин відчувати страждання і пам'ятати про них, при проведенні експериментів необхідно дотримуватись гуманності, уникати дистресу, болю, спричинення тваринам тривалої шкоди здоров'ю і полегшувати їхні страждання. Необхідно прагнути до максимального скорочення числа тварин і там де це є можливим, використовувати альтернативні методи, які не потребують їх участі.

7. Експериментальні роботи на тваринах має проводити кваліфікований дослідник (експериментатор), що обізнаний з правилами біоетики і дотримується їх. Використання тварин у навчальному процесі проводиться під наглядом фахівця-викладача.

8. Лабораторії, наукові та навчальні заклади і організації, де проводяться експерименти на тваринах, підлягають відповідній атестації повноважними органами. Зокрема, перевіряється відповідність стандартам "належної лабораторної практики" (GLP), що є міжнародною вимогою до проведення медико-біологічних та інших експериментальних досліджень.

II. Вид і кількість тварин

1. Вибір експериментатором того чи іншого виду тварин має бути ретельно обґрунтованим з урахуванням його адекватності меті роботи та можливості скорочення кількості тварин.

2. Експериментатор повинен прагнути до вибору виду тварин, які посідають нижче місце у філогенетичному ряду.

3. Моральним обов'язком експериментатора є досягнення відтворюваних результатів дослідження із використанням мінімальної кількості тварин. Для цього використовують стандартизованих тварин, математичні методи планування експерименту та обробки одержаних даних, комп'ютерні та математичні моделі, досліді *in vitro* на мікроорганізмах, тканинних та клітинних культурах та інші альтернативні методи. У навчальному процесі важливе місце посідають діючі моделі та імітуючі пристрої, макетування, використання аудіо- та відеоматеріалів.

4. Як правило, перевагу надають інбредним тваринам, стандартизованим за генетичними та мікробними параметрами, умовами утримання і харчування. Але слід враховувати, що екстраполяція одержаних таким шляхом даних на інші лінії тварин не завжди можлива, і тоді виникає необхідність повторювання експериментів на інших лініях.

5. Особи та організації, які розводять тварин для експериментальної та навчальної роботи, підлягають відповідній атестації уповноваженими органами.

6. Дані про джерело одержання для експерименту тварин та їхня біологічна характеристика мають бути документально зафіксовані експериментатором. Особливо це стосується собак і котів та їхніх батьків.

III. Утримання та догляд за тваринами

1. Гуманне ставлення до піддослідних тварин повинно проявлятися на всіх етапах роботи з ними, тобто транспортування, маркування, розміщення, проведення та закінчення експерименту, включаючи евтаназію.

2. Умови розміщення, утримання тварин та навколишнє середовище мають забезпечувати хоча б мінімальну свободу рухів, достатню кількість якісної їжі, води, повітря, належний санітарно-гігієнічний стан, що є запорукою збереження їхнього здоров'я та благополуччя.

3. Умови, в яких здійснюються розмноження, утримання та використання тварин, мають перевірятися щоденно.

4. Стан здоров'я та поведінка тварин повинні бути об'єктами уважної та часткої перевірки, щоб попередити біль, дистрес, страждання або звести до можливого мінімуму в тих випадках, коли неможливо їх уникнути.

5. Спеціальні заходи перестороги повинні прийматися у випадках, коли тварини є джерелом потенційної небезпеки для обслуговуючого персоналу, експериментатора та інших людей, для інших тварин, а також для навколишнього середовища.

6. Приміщення, де утримуються, використовуються експериментальні тварини, а також їх обладнання повинні відповідати зазначеним вище вимогам.

7. Для організації та контролю за здійсненням належного догляду за тваринами призначається адміністративно відповідальна особа (особи).

8. Догляд за тваринами здійснює персонал, який обізнаний із зазначеними вимогами та має досвід відповідної роботи.

9. У разі необхідності тваринам повинна надаватись кваліфікована ветеринарно-медична допомога.

10. Умови утримання тварин та догляду за ними повинні бути доступні для перевірки повноважними органами та особами, а також громадськими організаціями захисту тварин та іншими об'єднаннями громадян у межах чинного законодавства.

IV. Проведення експериментів

1. Вибір технології експериментів на тваринах проводиться таким чином, що перевага надається методам, які потребують мінімальної кількості тварин, якнайменше спричиняють біль, страждання, дискомфорт або тривалі негативні наслідки для здоров'я тварин, а також не створюють безпосередньої загрози для здоров'я експериментатора, технічного персоналу, інших людей, тварин та навколишнього середовища. Експериментальний метод обирається з урахуванням можливості одержання задовільних результатів.

2. Виходячи з принципу гуманного поводження з лабораторними тваринами, експериментатор і технічний персонал морально зобов'язані під час проведення експерименту звести до мінімуму можливу шкоду для тварини, яка зазначена у попередньому параграфі, особливо при проведенні хірургічних операцій.

3. З метою виконання цих вимог необхідно застосовувати загальний наркоз, загальне чи місцеве знеболювання, за винятком тих випадків, коли це є несумісним із цілями експерименту (моделювання травми, шоківих станів, опікової хвороби та інше). У такому випадку експериментатор зобов'язаний зробити відповідне письмове повідомлення (окремою заявою або в тексті наукового проекту) і одержати схвалення уповноваженого органу з біоетичної експертизи.

4. Якщо після закінчення експерименту відповідальною особою прийнято рішення залишити піддослідну тварину живою, необхідно прийняти усі можливі заходи щодо якнайшвидшого відновлення її здоров'я та благополуччя і повернення до належних умов утримання та догляду.

5. Не можна повторно використовувати тварину, яка вже була в експерименті, що супроводжувався болем чи стражданням, незалежно від застосування наркозу чи знеболювання, до відновлення задовільного стану здоров'я. Винятками є повторні експерименти, в яких тварина буде постійно знаходитись під загальним наркозом аж до її знеживлення, або такі, що пов'язані з мінімальним втручанням у здоров'я і благополуччя тварини.

V. Знеживлення тварини

1. Рішення про знеживлення тварини приймається експериментатором на етапі планування експерименту або наприкінці його виконання при виникнен-

ні несподіваних обставин, що є несумісними з життям тварини чи завдадуть в подальшому тривалого болю, дистресу або шкоди її здоров'ю. В останньому випадку доцільно одержати консультацію ветеринарного фахівця.

2. Знеживлення тварин повинно здійснюватись гуманним методом, тобто із спричиненням їй мінімального фізичного та емоційного страждання у відповідності до виду тварини.

VI. Доступ до інформації

1. Результати наукових досліджень на тваринах підлягають документуванню та оприлюдненню. Відповідна інформація є відкритою, за винятком тих випадків, коли вона не може бути розголошена в інтересах збереження державної, патентної, судової чи комерційної таємниці та охорони інтелектуальної власності.

2. Форма оприлюднення згаданої інформації має бути доступною для фахівців та громадськості.

VII. Відповідальність за порушення норм біоетики

1. У питаннях використання тварин для наукових та навчальних цілей експериментатор керується моральною відповідальністю перед суспільством та тваринним світом.

2. Неприпустимо проведення експериментів на тваринах, що можуть завдати їм болю, дистресу чи шкоди здоров'ю, з метою одержання особистої користі.

3. Дії експериментатора, що стосуються поводження з тваринами, не повинні суперечити нормам етики і законодавчим актам України та визнаним державою документам міжнародних організацій.

4. Адміністрація закладів, де проводяться експерименти на тваринах, особи, що проводять їх, організовують та здійснюють догляд за тваринами, несуть відповідальність за правильну організацію, проведення і поточний контроль наукової, експертної роботи або навчального процесу згідно діючих регламентних документів, що стосуються біоетики та біоетичної експертизи.

Науково-практичні конференції з ендокринології в Україні у 2003 році

№ п/п	Назва заходу	Міністерство, відомство, організація, телефон, факс, e-mail	Місце, термін проведення
1.	Актуальні питання експериментальної та клінічної ендокринології	Львівський державний медичний університет ім.Данила Галицького; т. (0322) 76-94-96, 75-95-10	Львів, 21-22 травня 2003 р.
2.	Інсуліни виробництва ЗАТ «ІНДАР» в терапії цукрового діабету та його ускладнень	ЗАТ «ІНДАР»; Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН України; т./ф. (044) 566-35-12, 566-36-01	Київ, 19-21 червня 2003 р.
3.	Актуальні проблеми ендокринології	Інститут проблем ендокринної патології ім.В.Я.Данилевського АМН України; т. (0572) 47-52-30, 47-81-02 ф. (0572) 47-51-21	Харків, 24-26 червня 2003 р.
4.	Ендокринна патологія та проблеми медичного обслуговування населення	Інститут проблем ендокринної патології ім.В.Я.Данилевського АМН України; т. (0572) 47-52-30, 47-81-02 ф. (0572) 47-51-21	Харків, 25-26 вересня 2003 р.
5.	Актуальні питання діагностики та лікування захворювань щитоподібної залози, хірургічний підхід до лікування	Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України; т./ф. (044) 560-83-69, 560-66-60	Київ, жовтень 2003 р.
6.	Сучасні проблеми ендокринологічної допомоги дітям	Інститут проблем ендокринної патології ім.В.Я.Данилевського АМН України; т. (0572) 47-52-30, 47-81-02 ф. (0572) 47-51-21	Харків, 27-28 листопада 2003 р.
7.	Сучасний стан в профілактиці, діагностиці і лікуванні цукрового діабету	ЗАТ «ІНДАР»; Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН України; т./ф. (044) 566-35-12, 566-36-01	Київ, 28 листопада 2003 р.
8.	Сучасні підходи до лікування хвороб ендокринної системи	Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН України; т./ф. (044) 239-07-58, 239-07-59	Київ, 5 грудня 2003 р.