

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

ЕНДОКРИНОЛОГІЯ

1997

Том 2, № 2

Науково-практичний журнал

Заснований у 1996 р.

Київ

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

Редакційна колегія:

ТРОНЬКО М.Д. (головний редактор), БЕЗВЕРХА Т.П.
(відповідальний секретар), ЕПШТЕЙН О.В., ЄФІМОВ А.С.
(заступник головного редактора з клінічної ендокринології),
ЗЕЛІНСЬКИЙ Б.О., КОНОНЕНКО В.Я., КОРПАЧОВ В.В.,
КРАВЧЕНКО В.І., МАРКОВ В.В., МІКОША О.С. (заступник

Редакційна рада:

БОЦЮРКО В.І., (Івано-Франківськ), ВЕНДЗИЛОВИЧ Ю.М. (Львів),
ВОЙНІЛОВИЧ 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), ПОЛТОРАК В.В. (Харків),
СЕЛІВАНОВА К.Ф. (Сімферополь), ТУРЧИН І.С. (Київ),
ЧЕБАН А.К. (Київ)

Адреса редакції:

254114 Київ, вул. Вишгородська, 69,
Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка,
тел.: (044) 430-36-94, 431-02-64
факс: (044) 430-37-18

Головним спонсором журналу є фірма

Hoechst 

Свідоцтво про державну реєстрацію - КВ № 1600 від 19.06.95

Здано до набору 1.09.97. Підп. до друку 6.10.97. Формат 70x108/16. Офсетний друк.
Ум.-друк. арк. 10,4. Тираж 250. Зам. № /97

Фірма "Ессе", 252142 Київ, просп. Акад. Вернадського, 34/1

ЗМІСТ

Оригінальні дослідження

- Активність інтерлейкінів-1,-2 у дітей, хворих на інсулінзалежний цукровий діабет, до та після лікування тимогеном 4
Г.А.Зубкова, Н.М.Котляренко, В.Ф.Чеботарьов
- Вплив препаратів тимусу на рівень інтерлейкінів-1,-2 при експериментальному цукровому діабеті І типу 9
Н.М. Котляренко, Г.А. Зубкова
- Ультраструктурні особливості ЮГА та деякі показники функції нирок у шурів з експериментальним цукровим діабетом І типу 18
М.М. Брагарник
- Ультраструктурні зміни в лівому шлуночку міокарда шурів в умовах експериментального цукрового діабету І типу 27
Т.І.Богданова, Л.Г.Воскобойник
- Вплив хронічного введення холецистокініну на функціональний стан бета-клітин підшлункової залози шурів у нормі і при експериментальному цукровому діабеті 36
А. В. Абрамов
- Синтез та вміст СТГ у гіпофізі молодих шурів у разі опромінення малими дозами 41
М.Д. Тронько, Л.М. Бикова, Д.С. Сидоренко, Л.І. Онищенко, О.В. Большова
- Структурні властивості мембран еритроцитів у здорових і хворих на цукровий діабет, що постійно працювали в 30-кілометровій зоні ЧАЕС у 1986-1994 рр. 45
Зуєва Н.О.
- Зміни активності енкефалінергічної опіоїдної системи мозку та функціонального стану гіпофізарно-надниркової системи шурів під впливом синтетичного аналогу лейцин-енкефаліну - даларгіну 50
Л.М.Калинська
- Особливості функціонування ентеринової гормональної системи у дітей з хронічною патологією гастродуоденальної зони 59
О. Д. Мороз
- Огляди
- Хірургічне лікування раку щитовидної залози 64
І.В. Комісаренко, С.Й. Рибаків, А.Є. Коваленко, О.Г. Лисенко, М.Д. Мельник, М.Ю. Болгов, А.М. Кваченюк, Р.М. Січинава, Б.Б. Гуда, С.Л. Шляхтич
- Аутоімунний тиреоїдит у дітей 74
В. В. Матюшенко
- Участь гамма-аміномасляної кислоти в регуляції функції системи гіпоталамус-гіпофіз-кора надниркових залоз 83
Т.М. Мишуніна, В.Я. Кононенко
- Короткі повідомлення
- Застосування у хворих з простою діабетичною ретинопатією антиоксиданту дибунолу 95
Н. С. Слюсаренко
- Комбіноване лікування цукрового діабету ІІ типу поєднанням глюкобаю і манінілу у разі розвитку вторинної сульфаніламідної резистентності 98
Г. Ф. Генделєка

Клінічні лекції

Принципи інсулінотерапії хворих на цукровий діабет 101
А. С. Єфімов, Н. А. Скоробонська

Історія вітчизняної ендокринології

Очерк об исследованиях по проблеме сахарного диабета, проводимых в 111
украинском нии фармакотерапии эндокринных заболеваний (из истории
развития отечественной эндокринологии)

В. В. Натаров, Е. П. Тихонова

Ювілей

Іван Семенович Турчин (до 60-річчя від дня народження) 116

Правила для авторів 118

АКТИВНІСТЬ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ-1,-2 У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ІНСУЛІНЗАЛЕЖНИЙ ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ, ДО ТА ПІСЛЯ ЛІКУВАННЯ ТИМОГЕНОМ

Г.А. Зубкова, Н.М. Котляренко, В.Ф. Чеботарьов

*Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН
України, 254114 Київ*

У дітей, хворих на інсулінзалежний цукровий діабет (ІЗЦД), вивчали стимульовану мітогенами активність інтерлейкінів-1,-2. Унаслідок проведених досліджень встановлено підвищення рівня інтерлейкіну-1, збереження нормального вмісту інтерлейкіну-2 у дітей з первинно виявленим діабетом (без ускладнень) та прогресивне зниження цих імунологічних показників у разі тривалого перебігу ІЗЦД, ускладненого ангіопатіями. Застосування тимогену з метою імунореабілітації діабету у дітей показало перспективність його використання для корекції дефіциту активності інтерлейкінів-1,-2.

Ключові слова: *інтерлейкіни-1,-2, інсулінзалежний цукровий діабет, ангіопатії, імунореабілітація, тимоген.*

Інсулінзалежний цукровий діабет супроводжується розвитком вторинного імунодефіциту, одним із проявів якого можуть бути зміни в системі інтерлейкінів - поліфункціональних молекул, які поряд із гормонами ендокринної системи беруть активну участь у регуляції імуногенезу, міжсистемних зв'язках та діють на життєвоважливі функції нелімфоїдних клітин [1].

Найбільшу увагу серед інтерлейкінів (цито-, моно- та лімфокінів), з точки зору впливу на ІЗЦД, привертають інтерлейкіни-1,-2 (Іл-1, Іл-2). На перший погляд суперечливі експериментальні та клінічні дані, що опубліковані, свідчать про багатогранність дії Іл-1, Іл-2 і висвітлюють деякі важливі особливості імунологічних процесів при діабеті [1,2]. Порушення продукції цитокінів, пов'язані з аномаліями на клітинному та гуморальному рівні, корелюють з дефіцитом імунологічної відповіді, розвитком аутоімунітету і пошкодженням бета-клітин [2]. Разом з цим Іл-1, Іл-2 вважаються імуносупресивними антидіабетичними агентами, що пригнічують аутоімунні реакції та забезпечують стан тривалої ремісії при ІЗЦД [1]. До останнього часу немає чітких уявлень про особливості продукції Іл-1, Іл-2 при діабеті I типу, тому метою наших досліджень було вивчення можливостей імунокомпетентних клітин, стимульованих мітогенами, синтезувати під впливом тимогену Іл-1, Іл-2 при цукровому діабеті у дітей.

Матеріали і методи

У дітей, що лікувалися в клініці інституту, вивчали здатність мононуклеарів периферичної крові вивільнювати Іл-1 та Іл-2. Дослідження проводили у дітей, хворих на цукровий діабет, в стадії компенсації до та після імунореабілітаційної терапії тимогеном. Діти були розподілені на групи залежно від тривалості та ускладнення перебігу цукрового діабету: I - контрольна (практично здорові, n = 10); II - з ІЗЦД без ускладнень (середній вік - $9,6 \pm 1,3$ роки, тривалість захворювання - $0,5 \pm 0,2$, n = 10); III - з ІЗЦД, ускладненим мікроангіопатіями I ступеня (середній вік - $12,0 \pm 0,9$ року, тривалість захворювання - $2,7 \pm 0,7$ року, n = 10); IV - з ІЗЦД, ускладненим мікроангіопатіями II ступеня (середній вік - $12,2 \pm 0,5$

року, тривалість захворювання - $4,0 \pm 0,5$ року, $n = 12$); V - з ІЗЦД, ускладненим макроангіопатіями I та II ступеня (середній вік - $12,7 \pm 1,1$ року, тривалість захворювання - $7,0 \pm 1,2$ року, $n = 10$).

Активність Іл-1 визначали за методом J.Cery та співавторів [3], Іл-2 - С. De Vos та співавторів [4], за здатністю посилювати проліферацію тимоцитів, стимульованих субоптимальними дозами мітогенів (ФГА - для Іл-1, Кон А - для Іл-2). Проліферацію клітин визначали за включенням ^3H -тимідину і виражали у відносних одиницях (індекс стимуляції - ІС). Тимоген дітям вводили внутрішньом'язово 7 разів через добу (по 30 мкг).

Результати та їх обговорення

Аналіз отриманих даних (таблиця) засвідчив значні зміни у вмісті цитокінів при ІЗЦД. Активність Іл-1 дітей з нещодавно виявленим неускладненим цукровим діабетом була вірогідно вищою за норму. Ускладнення та тривалість ІЗЦД сприяли зниженню інтерлейкінпродукуючих можливостей макрофагів (джерело Іл-1): у тих, хто довго хворів, мав мікроангіопатії II ступеня та макроангіопатії I і II ступенів, рівень Іл-1 був значно меншим, ніж у дітей з ІЗЦД без ускладнень. Продукція Іл-2 у хворих без ангіопатій не відрізнялась від показників контрольної групи, а діти з мікро- та макроангіопатіями I та II ступеня мали рівень лімфокіну вірогідно нижчий ніж здорові. У осіб з макроангіопатіями II ступеня виявлено найбільш істотне порушення секреції медіатора.

Таблиця. Мітогеніндукована продукція Іл-1, Іл-2 у дітей, хворих на ІЗЦД (ІС)

Група хворих		$M \pm m$	n	P_1	P_2	P_3
Контроль	Іл-1	$1,68 \pm 0,10$	10	-		
	Іл-2	$1,84 \pm 0,18$				
ІЗЦД без ускладнень	Іл-1	$2,67 \pm 0,06$	10	$< 0,001$		
	Іл-2	$1,73 \pm 0,14$				
"- + тимоген	Іл-1	$2,51 \pm 0,12$	10	$> 0,05$		$> 0,5$
	Іл-2	$1,81 \pm 0,23$				
Мікроангіопат. I ст.	Іл-1	$1,99 \pm 0,12$	10	$> 0,05$	$< 0,01$	
	Іл-2	$1,35 \pm 0,07$				
"- + тимоген	Іл-1	$2,17 \pm 0,22$	10	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$
	Іл-2	$1,57 \pm 0,18$				
Мікроангіопат. II ст.	Іл-1	$1,29 \pm 0,13$	12	$< 0,05$	$< 0,001$	
	Іл-2	$1,38 \pm 0,07$				
"- + тимоген	Іл-1	$2,29 \pm 0,03$	9	$< 0,01$	$> 0,05$	$< 0,001$
	Іл-2	$2,15 \pm 0,18$				
Макроангіопат. I, II ст.	Іл-1	$1,32 \pm 0,07$	10	$< 0,05$	$< 0,05$	
	Іл-2	$1,02 \pm 0,02$				
"- + тимоген	Іл-1	$2,59 \pm 0,18$	9	$< 0,01$	$< 0,05$	$< 0,001$
	Іл-2	$1,79 \pm 0,12$				

Примітки: P_1 - по відношенню до контрольних показників; P_2 - відносно показників групи дітей, хворих на ІЗЦД без ускладнень; P_3 - відносно показників відповідної групи, яким не вводили тимоген.

Проведені нами клінічні дослідження вмісту Іл-1, Іл-2 дають можливість зробити висновок, що на початку розвитку ІЗЦД найбільш вірогідними є підвищення активності макрофагів та лімфоцитів і посилення синтезу ними цих медіаторів. Встановлена синхронізація вивільнення Іл-2 у хворих з нещодавно виявленим цукровим діабетом без ускладнень та у здорових дітей, напевно, зумовлена підвищеною утилізацією Іл-2 у пацієнтів з ІЗЦД. Оpubліковані в літературі спостереження про наявність великої кількості розчинних рецепторів до Іл-2 у людей і тварин з ІЗЦД [1], дозволяють припустити такі механізми зниження активності Іл-2. По-перше, розчинні Іл-2-рецептори (Іл-2Рц) можуть слугувати зовнішньоклітинними акцепторами, які перехоплюють регуляторні сигнали від Іл-2, що конче потрібні для функціонування Іл-2Рц-позитивних клітин. Тобто за нормальної продукції Іл-2 його активність в досліджуваних нами супернатантах може не виявлятися завдяки зв'язуванню розчинними Іл-2Рц. По-друге, у разі порушення Т-клітинної ланки імунітету, про що свідчать отримані нами раніше дані [5], на нормальний потік регуляторної інформації дефектний Т-лімфоцит відповідає гіперреактивністю і підвищеною утилізацією Іл-2 [6]. На нашу думку, при аутоімунному діабеті вірогідне існування як високого рівня розчинних Іл-2Рц, так і порушення сприйняття інтерлейкінових стимулів, що робить активацію Т-клітин через Іл-2 випадковою і набагато менш імовірною.

У разі тривалого перебігу цукрового діабету I типу розвиток патологічного процесу та ускладнення основного захворювання сприяють зниженню активності імунокомпетентних клітин, вичерпанню резервів їх реагування і дефіциту у вивільненні Іл-1 та Іл-2.

Розглядаючи одержані нами результати та дані, отримані під час дослідження інших імунологічних показників [6], з позицій загальної імунорегуляції, можна висловити припущення, що на ранніх етапах розвитку цукрового діабету існують механізми, які забезпечують функціонування медіаторних молекул та клітин-продуцентів Іл-1, Іл-2, дефіцитної при ІЗЦД системи імунітету в режимі гіперактивації. Встановлені нами стадіоспецифічні зміни активності Іл-1 та Іл-2, напевно, є відображенням закономірностей розвитку патологічного процесу, який характеризується поглибленням імунодефіциту за наростання тривалості та ускладнень діабету.

Помічені нами зміни активності згаданих вище медіаторів поряд з іншими імунологічними аномаліями свідчать про значні порушення імуногенезу у дітей з компенсованим ІЗЦД. З метою відновлення імунологічного балансу організму проводили терапію тимогеном, який виявив свої регуляторні властивості під час корекції імунологічних показників в експерименті [7]. Імунотерапія практично не впливала на продукцію Іл-1 та Іл-2 у хворих з нещодавно виявленим ІЗЦД без ускладнень, але вірогідно відновлювала дефіцит медіаторів у пацієнтів з тривалим перебігом хвороби, ускладненим макроангіопатіями I, II ступеня.

Таким чином, нами було встановлено залежність інтенсивності секреції інтерлейкінів від тяжкості ускладнень цукрового діабету. На підставі отриманих даних про різноспрямованість змін рівнів Іл-1 та Іл-2 у дітей з нещодавно виявленим цукровим діабетом і неадекватність утворення цих медіаторів у дітей з ускладненнями та без них при ІЗЦД логічно припус-

тити не тільки порушення в системі мононуклеарних фагоцитів та Т-лімфоїдних клітин, а вважати імовірним обмеження взаємодії між цими цитокінами на всіх етапах розвитку захворювання. Включення в комплексне лікування хворих тимогену засвідчило здатність препарату регулювати активність Іл-1 та Іл-2, але інтенсивність його впливу визначалася особливостями імунопатологічної ситуації та ступенем порушень досліджуваних показників. Виражену відновну дію препарат виявляв у разі зниження вмісту Іл-1 та Іл-2 у дітей з тривалим перебігом діабету.

Висновки

1. Зміни активності Іл-1, Іл-2 у дітей з ІЗЦД залежать від тривалості та ускладнень захворювання. Нещодавно виявлений діабет без ускладнень супроводжується вірогідним підвищенням мітогеніндукованої активності Іл-1 і відсутністю змін щодо вивільнення Іл-2. Тривалий перебіг цукрового діабету з ангиопатіями супроводжується прогресивним зниженням рівнів цих медіаторів.

2. Імунореабілітація тимогеном найефективніша у групі дітей, хворих на цукровий діабет, при дефіциті вмісту Іл-1, Іл-2, що вказує на необхідність його включення у комплекс лікування ІЗЦД.

Література

1. Testa J., Cavarape A., Testa A. Interleuchine e diabete mellito // Clinica a laboratorio. 1989, 13, N3, 165-170.
2. Rey A., Besedovsky H. Antidiabetic effect of interleukin // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1989, 86, N15, 5943-5947.
3. Cery J., Cershon R.K., Waksman B.N. Potenting of the T-lymphocyte response to metogens. 1. The responding cell // J. Exp. Med. 1972, N136, 128-139.
4. De Vos C., Libert W. Simple rapid method for detection of IL-2 in physiological medium // J. Immunol. Meth. 1984, 74, N2, 374-384.
5. Чеботарев В.Ф., Зубкова Г.А., Замотаева Г.А. и др. Эндокринная функция тимуса и уровень сывороточного гамма-интерферона у детей больных инсулинзависимым сахарным диабетом, осложненным ангиопатиями 1 и 2 степени // Актуальные проблемы детской и подростковой эндокринологии: Тез. докл. (Харьков, 6-7 декабря 1995 г.). 1995, 138-139.
6. Mitchell M., Foon K. Lymphokines // Immunol. Allergy Clin. N. Amer. 1988, 8, N1, 121-137.
7. Чеботарев В.Ф., Давыдова Т.И., Замотаева Г.А. Возможности иммунокоррекции при различных формах экспериментального сахарного диабета // Актуальні проблеми екології, клінічної імунології та інфекційної патології: Мат. III наук. симпоз. Київ-Луганськ, 1995, 112-113.

Активность интерлейкинов-1,-2 у детей, больных инсулинзависимым сахарным диабетом, до и после лечения тимогеном

Г.А.Зубкова, Н.Н.Котляренко, В.Ф.Чеботарев

Институт эндокринологии и обмена веществ им.В.П.Комиссаренко АМН Украины, 254114 Киев

У детей, больных ИЗСД, изучали стимулированную митогенами активность интерлейкинов-1, -2. Нами установлено повышение уровня интерлейкина-1, сохранение нормального содержания интерлейкина-2 у детей с недавно диагностированным сахарным диабетом без осложнений и прогрессивное снижение этих иммунологических показателей при длитель-

ном течении болезни, осложненной ангиопатиями. Применение тимогена в иммунореабилитации диабета у детей показало перспективность его использования для коррекции дефицита активности интерлейкинов-1, -2.

Activity of interleukin-1,-2 in children with insulin-dependent diabetes mellitus before and after thymogen treatment

Zubkova G.A., Kotlyarenko N.N., Chebotarev V.F.

V.P.Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 254114 Kyiv, Ukraine

Mitogen-stimulated activity of IL-1, IL-2 in children with IDDM has been studied. An increase in IL-1 level, normal IL-2 contents in children with newly diagnosed diabetes mellitus without complications, and progressive decrease of these immunological findings in long-lasting diabetes complicated by angiopathies were revealed. Use of thymogen in immunorehabilitation of diabetes mellitus showed the perspectivity of its application for correction of interleukin-1,-2 activity deficiency.

УДК 616.379-008. 64–092.9: [615.37: 612. 438.4]: 612.017

ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ ТИМУСУ НА РІВЕНЬ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ-1,-2 ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ І ТИПУ

Н.М. Котляренко, Г.А. Зубкова

Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України, 254114 Київ

Отримано нові дані про вплив препаратів тимусу (загрудинної залози) на рівень інтерлейкінів-1,-2 (Іл-1, Іл-2) у тварин з аутоімунною і токсичною формами цукрового діабету І типу. Встановлено, що імунорегуляторна дія препаратів реалізується залежно від їх різновиду відповідно до конкретної патологічної ситуації в організмі, ефект препаратів також залежить від типу інтерлейкіну та ступеня пригнічення його активності. Показана вибірковість дії тималіну і тимоптину: тимоптин переважно стимулює вивільнення Іл-1, а тималін – Іл-2. Серед використаних препаратів в умовах дисбалансу та дефіциту Іл-1, Іл-2 при цукровому діабеті тимоген виявив себе як найбільш адекватний регулятор їх вмісту, що дозволило рекомендувати його для використання в клінічній практиці.

Ключові слова: *інтерлейкіни-1, -2, препарати тимусу, тимоген, тимоптин, тималін, вільозен, стрептозотоциновий діабет, алоксановий діабет.*

Інтерлейкіни-1,-2 можуть брати участь у патогенезі ІЗЦД, одночасно вони регулюють імуногенез, підтримують імунологічний гомеостаз та різноманітні процеси життєдіяльності, в тому числі ендокринний баланс [1–3]. Одержані нами у попередніх дослідженнях дані [4] засвідчили, що при експериментальному цукровому діабеті І типу відбуваються значні зміни мітогеніндукованої активності Іл-1, Іл-2, ступінь і напрямок яких визначаються патогенетичними особливостями досліджуваних моделей хвороби, а дефекти, встановлені під час дослідження вмісту цих важливих регуляторних чинників імунітету, можуть бути наслідком порушень імунологічного гомеостазу при діабеті. На користь імунологічного дисбалансу також свідчили результати, отримані в нашій лабораторії під час вивчення інших імунологічних показників [5]. Тому для відновлення стану збалансованої фізіологічної активності імунної системи було проведено імунокоригуючі заходи.

Тісний зв'язок між гормонами тимусу та інтерлейкінами в регуляції внутрішньотимічного розвитку, синергізм їх дії в межах імунної системи і зовні [6], а також позитивної досвід використання препаратів загрудинної залози для відновлення рівня Іл-1, Іл-2 при різноманітних захворюваннях [7] свідчать, що найбільш виправданою та фізіологічно прийнятною може бути регуляція рівнів Іл-1, Іл-2 за допомогою препаратів тимічного походження. Використання препаратів загрудинної залози також обумовлювалося позитивним досвідом їх застосування в нашій лабораторії (лабораторія ендокринної регуляції імуногенезу Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України) для корекції вмісту інтерферону, тимічного сироваткового фактору, натуральних кілерів [8].

Для регуляції рівнів Іл-1, Іл-2 при експериментальному аутоімунному та токсичному цукровому діабеті I типу було використано тимоген, тимоптин, тималін та вілозен. Ефекти імуномодуляторів вивчали також у інтактних мишей лінії C57BL/6.

Матеріали і методи

Для вивчення особливостей продукції інтерлейкінів -1,-2 при цукровому діабеті у мишей C57BL/6 за допомогою стрептозотоцину та алоксану індукували відповідно аутоімунну і токсичну форми інсулінзалежного цукрового діабету. Стрептозоточин вводили інтраперитонеально протягом 5 діб по 50 мг/кг маси тіла тварини у ізотонічному 0,9% розчині хлориду натрію, алоксан ін'єкували одноразово інтраперитонеально по 200 мг/кг маси тіла тварини. Після маніфестації діабету у піддослідних мишей вимірювали вміст глюкози у крові. Для вивчення активності Іл-1, Іл-2 при ІЗЦД обирали тварин з рівнем глюкози у крові в середньому $14,5 \pm 0,52$ ммоль/л.

Об'єктом дослідження були лімфоцити та макрофаги, вилучені з селезінки та лімфатичних вузлів піддослідних тварин.

Рівні Іл-1 та Іл-2 визначали відповідно в супернатантах культур клітин макрофагів і регіонарних лімфатичних вузлів в стимуляційному тесті проліферації тимоцитів мишей [9,10]. Активність інтерлейкінів оцінювали за їх спроможністю посилювати проліферацію тимоцитів, стимульованих субоптимальними дозами мітогенів. Принцип методу для визначення Іл-1 полягає в тому, що ні мітоген (ФГА), ні Іл-1 окремо не індукують проліферацію тимоцитів. Однак у разі одночасного додавання їх у культуру (костимуляція) спостерігається значна мітотична активність тимоцитів. Дослідження вмісту Іл-2 ґрунтується на його спроможності відновлювати блоковану низькими дозами гідрокортизону проліферативну відповідь тимоцитів мишей на конканавалін-А (Кон-А) («Calbiochem»).

Тимоцити з тестованими супернатантами інкубували 72 год в атмосфері з 5% CO₂ за температури +37°C. За 6 год до закінчення культивування в лунки вносили ³H-тимідин по 2 мкКі на лунку. Кожну пробу підраховували на β-лічильнику в імпульсах на хвилину (СРМ) і результати виражали як індекс стимуляції – ІС (індекс впливу), що дорівнював відношенню кількості імпульсів у пробах з тестованими зразками до кількості імпульсів у пробах, які не вміщували зразків.

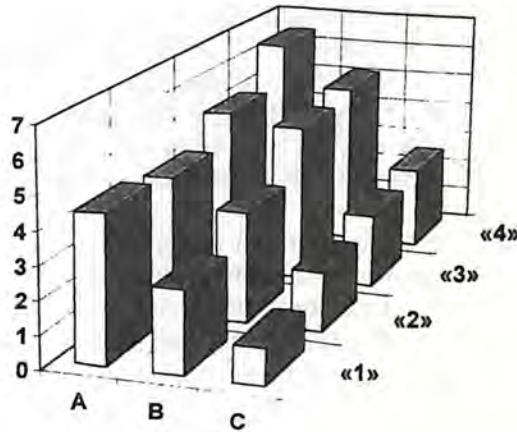
$$IC = \frac{\text{число імп/хв в ФГА-індукованій культурі тимоцитів з супернатантами клітин}}{\text{число імп/хв в ФГА-індукованій системі тимоцитів без супернатанту}}$$

Окремо кожний з препаратів тимусу вводили хворим на діабет та інтактним мишам у оптимальній дозі (1 мкг на мишу) 4 рази через 1 добу. Вміст інтерлейкінів досліджували на 3 добу після останньої ін'єкції. Тимоген та тималін ін'єктували внутрішньом'язово, вілозен – інтраперитонеально, тимоген – підшкірно. Комплексну терапію проводили тимогеном та тимоптином у дозах по 0,5 мкг на мишу; при одночасному лікуванні тималіном та вілозеном застосовували ці тимічні пептиди у кількості 0,5 та 10 мкг на мишу відповідно.

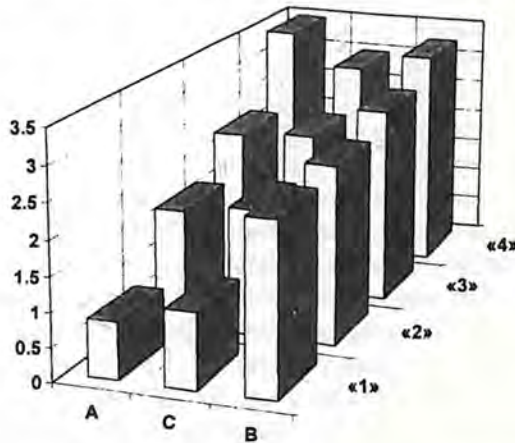
Статистичну обробку одержаних даних проводили за допомогою критерію Фішера-Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Як свідчать результати наших експериментів, серед препаратів найбільш суттєвий вплив на вміст Іл-1, Іл-2 виявили тимоптин та тималін (мал. 1,2). Тимоптин в усіх випадках стимулював вивільнення вищезгаданих цитокінів – продовжував підвищувати збільшений рівень Іл-1 при стрептозотоциновому ІЗЦД, посилював активність Іл-1, Іл-2 у інтактних мишей і тоді, коли ці показники були знижені при токсичній та аутоімунній формах захворювання. Тималін, на відміну від попереднього препарату, не впливав на первинно високий вміст Іл-1 у стрептозотоцинових мишей. Тимоптин та тималін виявляли вибірковість дії: перший з них переважно стимулював активність Іл-1, а другий – Іл-2, причому більшою мірою селективність



Мал. 1. Вплив препаратів тимусу на активність Іл-1 у мишей з аутоімунним (А) і токсичним (С) ІЗЦД та у інтактних тварин (В): «1» — миші, що не одержували препарати; «2» — після терапії тимогеном; «3» — після терапії тималіном; «4» — після терапії тимоптином.



Мал. 2. Вплив препаратів тимусу на активність Іл-2 у мишей з аутоімунним (С) і токсичним (А) ІЗЦД та у інтактних тварин (В): «1» — миші, що не одержували препарати; «2» — після терапії тимогеном; «3» — після терапії тимоптином; «4» — після терапії тималіном.

ефектів препаратів була помітною у мишей, хворих на діабет. Ці результати узгоджуються з даними літератури про виражений стимулюючий вплив тимоптину у разі пригнічення макрофагальної активності, в той час, як тималін насамперед впливає на Т-клітинну ланку імунітету [11].

Тимоген порівняно з попередніми двома препаратами менш помітно діяв на активність Іл-1, Іл-2 (мал. 1,2), але він, як справжній імунорегулятор, знижував підвищені (Іл-1 при стрептозотоциновому ІЗЦД) й підвищував знижені показники при діабеті та не впливав на нормальний рівень цих медіаторів у хворих на діабет і здорових мишей. Вілозен зовсім не діяв на досліджувані нами показники і в нормі, і при діабеті.

Найбільша інтенсивність ефектів препаратів спостерігалася у діабетичних мишей тоді, коли активність Їл-1, Їл-2 була первинно істотно зниженою. За нестачі Їл-1, Їл-2 тимоптин, тималін, і у більшості експериментів тимоген повністю відновлювали вміст медіаторів.

Таким чином, ефективність імунотерапії препаратами за грудинної залози під час корекції рівнів Їл-1, Їл-2 залежить від типу препарату, наявності діабету, моделі цього захворювання, різновиду цитокину та ступеня порушення його активності.

Одержані нами дані засвідчили неоднозначність характеру дії імуномодуляторів тимічного походження на різних моделях цукрового діабету, що, на нашу думку, пов'язано з особливостями патогенезу різних форм цього захворювання. Переконливий і глибокий позитивний ефект більшості використаних препаратів при дефіциті вивільнення цих цитокинів поєднувався з небажаною дією тимоптину на активність Їл-1 при стрептозотоциновому ІЗЦД (враховуючи сучасні уявлення про участь Їл-1, Їл-2 у розвитку захворювання) та не виправданою стимуляцією тимоптином і тималіном рівнів Їл-1, Їл-2 у інтактних тварин. Дослідження, проведені в нашій лабораторії свідчать, що одночасне застосування деяких з тимічних пептидів ефективніше, ніж їх окреме використання для відновлення імунологічного балансу при діабеті. Тому з метою підвищення імуно-реабілітуючих можливостей препаратів за грудинної залози при відновленні рівнів Їл-1, Їл-2 ми вивчали комплексний вплив пар препаратів (тимогену з тимоптином та тималіну з вілозеном) на активність Їл-1, Їл-2 у тварин з стрептозотоциновим діабетом та у інтактних мишей.

Одержані нами результати у здорових мишей лінії C₅₇BL/6 показали, що комплексна терапія тимогеном разом із тимоптином та вілозеном із тималіном сприяла стимуляції активності Їл-1 відносно показників тварин, які не отримували лікування. Дія першої пари препаратів була помітнішою ($p < 0,05$). Під час порівняння у здорових тварин сумісної дії наведених вище пар препаратів з їх поодиноким використанням ми встановили, що інтенсивність впливу на вміст Їл-1 обох комбінацій тимічних пептидів вірогідно не відрізнялася від їх дії при окремому застосуванні, але, за одночасного вживання тимогену та тимоптину спостерігалася тенденція до підвищення вивільнення Їл-1, тоді як комплекс тималіну з вілозеном, навпаки, знижував, хоча й не істотно, рівень цього медіатору (табл. 1).

Рівень Їл-1 в супернатантах культур макрофагальних (МФ) клітин при аутоімунному ІЗЦД вірогідно не змінювався після комплексної терапії вілозеном та тималіном ($p > 0,05$), Їл-1-продукуюча активність МФ посилювалася тільки у разі поєднання тимогену з тимоптином ($p < 0,001$). Таким чином, ми не виявили істотних позитивних зрушень в активності Їл-1 за одночасного застосування означених вище пар тимічних препаратів. Порівняння комплексного та ізольованого вживання тимогену, тимоптину, тималіну і вілозену засвідчило, що комбінація перших двох з них вірогідно ($p < 0,05$) посилювала вивільнення Їл-1, а використання тималіну з вілозеном, як у інтактних мишей, сприяло незначному зменшенню рівня даного цитокину (табл. 1).

Після комплексної терапії препаратами тимусу у інтактних мишей ми встановили підвищення активності Їл-2 ($p < 0,001$), причому ефект дії

Таблиця 1. Активність Їл-1 під впливом комплексної та окремої терапії препаратами тимусу у інтактних мишей та тварин з стрептозотоциновим діабетом

Група тварин	ЇС проліферації тимоцитів (M ± m)	n	P ₁	P ₂	P ₃
<i>Інтактні миші</i>	2,48 ± 0,54	10			
+ тимоген + тимоптин	5,68 ± 0,52	11	<0,001		
+ вілозен + тималін	4,29 ± 0,31	10	<0,05	<0,02	
+ тимоген	3,24 ± 0,28	11	>0,05	<0,001	
+ тимоптин	5,08 ± 0,12	10	<0,001	>0,05	
+ вілозен	3,12 ± 0,24	9	>0,05		>0,05
+ тималін	4,79 ± 0,37	12	<0,001		>0,05
<i>Стрептозотоц. діабет</i>	4,40 ± 0,24	10			
+ тимоген + тимоптин	7,71 ± 0,64	12	<0,001		
+ вілозен + тималін	5,10 ± 0,34	10	<0,05	<0,001	
+ тимоген	4,10 ± 0,29	9	>0,05	<0,001	
+ тимоптин	6,39 ± 0,36	12	<0,05	>0,001	
+ вілозен	4,48 ± 0,18	10	>0,05		>0,05
+ тималін	5,20 ± 0,16	9	<0,02		>0,05

Примітки: n – кількість тварин у групі; P₁ – вірогідність по відношенню до групи тварин, що не отримували препарати; P₂ – вірогідність по відношенню до групи після комплексної дії тимогену з тимоптином; P₃ – вірогідність по відношенню до групи після комплексної дії вілозену з тималіном.

вілозену у поєднанні з тималіном вірогідно не відрізнявся від ефекту пари тимогену з тимоптином. Звертаючись до результатів попередніх експериментів, коли вивчали ізольований вплив препаратів у здорових тварин, нами було встановлено майже однакову стимулюючу дію тільки тималіну та тимоптину на рівень Їл-2. При використанні цих тимічних пептидів у комплексі (порівняно з окремим їх вживанням) ми встановили посилення вивільнення Їл-2 тільки після лікування тимогеном з тимоптином (p<0,05). У мишей, які одержували тималін з вілозеном, вміст досліджуваного лімфокіну мав тенденцію до зниження (табл. 2).

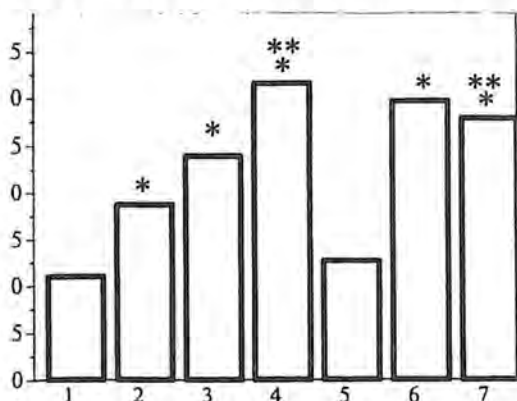
У мишей з стрептозотоциновим діабетом поєднане введення зазначених пар препаратів за грудинної залози супроводжувалося стимуляцією первинно зниженого рівня Їл-2, хоча не визначалося помітної різниці щодо інтенсивності дії між цими парами тимічних пептидів (p>0,05). Посилення ступеня активності кожного з імунomodуляторів за їх використання в комплексі спостерігалось тільки для тимоптину з тимогеном. Так, тимоген підвищував рівень Їл-2 у 1,7 раз, тимоптин – у 2,1, а обидва препарати разом – у 2,8 раз. Вплив тималіну з вілозеном вірогідно не відрізнявся від ізольованої дії активнішого з них – тималіну (мал. 3).

Таким чином, результати наших досліджень засвідчили, що ефекти поєднаного застосування тимогену та тимоптину були завжди більшими, тобто препарати посилювали вплив один одного. У разі комплексного введення тималіну з вілозеном спостерігалася позитивна тенденція до пригнічення дії активнішого з пари, тобто тималіну, напевно, за рахунок внеску

Таблиця 2. Рівень Іл-2 у супернатантах культур клітин регіонарних лімфатичних вузлів інтактних мишей після комплексної і окремої терапії препаратами за грудинної залози

Група тварин	ІС проліферації тимоцитів ($M \pm m$)	n	P ₁	P ₂	P ₃
Інтактні миші	2,49 ± 0,12	10			
+ тимоген + тимоптин	3,20 ± 0,06	11	<0,001		
+ вілозен + тималін	3,12 ± 0,32	12	<0,001	>0,05	
+ тимоген	2,61 ± 0,09	9	>0,05	>0,05	
+ тимоптин	2,87 ± 0,12	10	<0,05	<0,05	
+ вілозен	2,84 ± 0,17	9	>0,05		>0,05
+ тималін	3,23 ± 0,15	10	<0,001		>0,05

Примітки: n – кількість тварин в групі; P₁ – вірогідність по відношенню до групи інтактних тварин; P₂ – вірогідність по відношенню до групи після комплексної дії тимогену з тимоптином; P₃ – вірогідність по відношенню до групи після комплексної дії вілозену з тималіном



Мал. 3. Рівень Іл-2 у супернатантах культур регіонарних лімфатичних вузлів мишей з стрептозоточиновим діабетом після окремої та комплексної терапії препаратами за грудинної залози: 1 – стрептозоточиновий діабет; 2 – після терапії тимогеном; 3 – після терапії тимоптином; 4 – після терапії тимогеном та тимоптином; 5 – після терапії вілозеном; 6 – після терапії тималіном; 7 – після терапії вілозеном та тималіном; * – вірогідно порівняно з показниками 1 групи; ** – вірогідно при порівнянні окремого та комплексного вживання препаратів

вілозену, який був не активним при окремому вживанні, а у поєднанні з тималіном змінював регуляторні властивості пари. Встановлений нами феномен можливо пояснити, спираючись на літературні джерела. Як відомо [12,13], тималін у присутності адьювантів і без них за умов багаторазового введення може викликати формування негайної та уповільненої алергічної реакції. Не виключено, що у інтактних тварин в умовах збалансованої фізіологічної активності імунної системи введення тималіну сприяє сенсibiлізації організму, яка супроводжується підвищеним вивільненням цитокінів, особливо Іл-1, що накопичується у ефекторну стадію алергічного процесу. Вілозен має протиалергічну дію, його використовують для лікування негайних та уповільнених алергій [11]. Протилежність ефектів тималіну та вілозену в наших дослідженнях могла забезпечувати зменшення стимулюючого впливу тималіну на рівені Іл-1, Іл-2 у інтактних мишей та

за надлишку вивільнення Іл-1 у тварин з стрептозотоциновим діабетом. При діабеті на тлі дефіциту у вивільненні цих медіаторів переважали імунорегуляторні властивості тималіну.

На жаль, застосування запропонованої нами пари препаратів – тимогену та тимоптину – не розв'язало проблему зняття можливої негативної дії тимоптину на активність Іл-1 при стрептозотоциновому ІЗЦД (враховуючи те, що посилене вивільнення цього монокіну на початку аутоімунного діабету вважається стимулятором руйнування β -клітин). Але досвід використання тималіну з вілозеном вказує на перспективність пошуку оптимальних варіантів комплексного застосування тимічних пептидів для відновлення вмісту вищезгаданих медіаторів.

Як відомо, препарати загрудинної залози можуть діяти по трьох напрямках – через мобілізацію секреторної активності тимусу, стимуляцію функції щитовидної залози і безпосередній вплив на клітини-мішені (імунокомпетентні клітини) [15].

Пряма дія препаратів загрудинної залози короткочасна і, можливо, визначається набором гормональних факторів, з яких вони складаються. На сьогодні не встановлено, наскільки відповідає різноманітним ефектам препаратів дія їх окремих компонентів. Більше того, потрапляючи в організм, тимічні пептидні компоненти підлягають частковому протеолізу і розпадаються на активні фрагменти, які можуть включатися в систему пептидної регуляції в організмі [16]. Враховуючи багатогранність дії наведеного вище комплексу складових частин кожного з препаратів, стає зрозумілою неоднаковість їх впливу на активність Іл-1, Іл-2 у різних досліджуваних нами ситуаціях.

На думку деяких авторів, терапевтична ефективність імуномодуляторів визначається тим, у якому стані перебувають імунокомпетентні клітини, що зазнають впливу препаратів [14,16]. З цих позицій пояснюється стимуляція тимоптином вивільнення Іл-1 у мишей із стрептозотоциновим діабетом. Стосовно системи макрофагальних клітин-продуцентів Іл-1, то вважають, що за наявності великої кількості їх примішаних форм у осередку пошкодження введення імуномодулятора продовжує стимулювати функціональну активність макрофагів і вироблення ними Іл-1. Аутоімунний діабет характеризується подібною ситуацією в початковій стадії свого розвитку [1], тому введення тимоптину на цьому етапі захворювання може загострити перебіг патологічного процесу. При первинній гіпореактивності імунокомпетентних клітин препарати тимусу виявляють позитивну дію, про що свідчать літературні джерела [11] і одержані нами дані.

Стимуляція препаратами тимусу діяльності самого тимусу та щитовидної залози може сприяти додатковому вивільненню в циркуляцію тимічних і тиреоїдних гормонів [15]. Не виключена модулююча дія надлишку цих регуляторних факторів на інтерлейкінпродукуючу функцію імунокомпетентних клітин. Не можна також не враховувати імовірність посилення синтезу імунокомпетентними клітинами нейропептидів та гормонів після активації препаратами, ці речовини здатні впливати на секрецію Іл-1, Іл-2 [17].

Таким чином, окрім безпосередньої дії на імунокомпетентні клітини, препарати тимусу здатні індукувати в організмі складний комплекс процесів, що складаються з міжсистемних та міжклітинних взаємодій і утворен-

ня різноманітних активних субстанцій, які можуть змінювати Іл-1- та Іл-2-продукуючу функцію макрофагів і лімфоцитів.

Окреслені вище особливості дії препаратів загрудинної залози пояснюють неоднозначність їх ефектів, але не виключають перспективи та доцільності використання їх для корекції рівнів Іл-1, Іл-2 і імунореабілітації взагалі. Наведені міркування вказують тільки на необхідність індивідуального призначення тимічних пептидів хворим на цукровий діабет після дослідження різноманітних імунологічних показників і всебічної оцінки імунопатологічної ситуації.

Висновки

1. Препарати загрудинної залози виявляють неоднозначний вплив на активність Іл-1, Іл-2. Їх ефект залежить від типу препарату, наявності цукрового діабету, його моделі і різновиду цитокіну. За значного пригнічення вмісту Іл-1, Іл-2 тимоген, тимоптин, тималін повністю нормалізують рівень цих медіаторів.

2. Препарати тимусу виявляють різний спектр біологічної активності: тимоптин переважно стимулює вивільнення Іл-1, а тималін – Іл-2.

3. З'ясовано, що в експериментальних умовах найефективнішим для нормалізації рівня цитокінів при цукровому діабеті є тимоген.

4. Поєднане використання препаратів тимусу є реальним засобом підвищення їх імунореабілітуючих можливостей.

Література

1. Mandrup-Poulsen T. The role of interleukin-1 in the pathogenesis of IDDM //J. Diabetologia. 1996, **39**, №4, 1005-1029.
2. Testa J., Cavarape A. Interleukine e diabete mellito //Clinica e laboratorio. 1989, **13**, №3, 165-170.
3. Kennedy R.L., Jones T.H. Cytokines in endocrinology: their roles in health and in disease //Endocrinology. 1991, **129**, 167-178.
4. Чеботарьов В.Ф., Котляренко Н.М. Інтерлейкіни при токсичній та аутоімунній формах експериментального цукрового діабету //Доп. АМН України. 1995, №11, 1235-1239.
5. Chebotarev V.F., Zubkova G.A., Zacharchenco T.F. Thymic function and activity of NK cells in genetically determined diabetes mellitus in BB rats //Eur. J. Physiology. 1995, **430**, №4, 154.
6. Hadden J.W., Malec P.H., Soso M., Hadden E.M. The case for synergy of thymic hormones and interleukins in immune reconstitution // Combination Therapies, Plenum press, New York. 1992, 177-184.
7. Беляков И.М., Земсков В.М., Зажирай В.Д. Иммунокоррекция при экспериментальной ожоговой травме с помощью тимоптина // Иммунология. 1992, №4, 22-25.
8. Чеботарьов В.Ф., Зубкова Г.А., Степура Н.М., Захарченко Т.Ф. Фізіологічно активні препарати тимусу та селезінки в імунореабілітації цукрового діабету //Фундаментальні механізми розвитку патологічних процесів: Тези конф. мед. тов-ва патофізіологів. Дніпропетровськ, 1992, 140-141.
9. Conlon P.J. A rapid biological assay for detection of interleukin IL-1 //Immunology. 1983, **131**, №3, 1280-1282.
10. De Vos C., Libert W. A simple rapid method for detection of IL-2 in a physiological medium //Immunol. Meth. 1989, **74**, №2, 375-384.
11. Гриневиц Ю.А., Чеботарев В.Ф. Иммунобиология гормонов тимуса. К.: Здоров'я, 1989, 97-103.

12. Белокрылов П.А., Попов Б.В. Феномен экранирования тималином Т-клеток от действия антимозговой сыворотки // Иммунология. 1995, №1, 30-33.
13. Суходеева Г.С., Беклимишев Н.Д., Шамсутдинова Г.С. и др. Изучение сенсibiliзирующих свойств некоторых препаратов тимуса на морских свинках // Иммунология. 1994, №6, 9-41.
14. Чеботарев В.Ф. Эндокринная регуляция иммуногенеза. К.: Здоров'я, 1979, 138-139.
15. Замотаева Г.А. Эндокринная функция тимуса и возможность ее реабилитации при радиационном поражении щитовидной железы, вызванном инкорпорацией йод-131, в эксперименте: Дис. канд. биол. наук. К., 1993, 127-128.
16. Маянский Д.Н., Цирендоржиев Д.Д. Активация макрофагов // Успехи соврем. биол. 1990, 109, 3, 352-368.
17. Михайлова А.А. Участие медиаторов иммунитета в нейроиммунном взаимодействии // Иммунология. 199

Влияние препаратов тимуса на уровень интерлейкинов-1,-2 при экспериментальном сахарном диабете I типа

Котляренко Н.Н., Зубкова Г.А.

Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины

Получены ранее неизвестные данные о влиянии препаратов вилочковой железы на уровень интерлейкинов-1,-2 (Ил-1, Ил-2) у животных с аутоиммунной и токсической формами сахарного диабета I типа. Установлено, что иммунорегуляторное действие препаратов реализуется в зависимости от их разновидности в соответствии с конкретной патологической ситуацией в организме. Эффект препаратов также зависит от типа интерлейкина и степени угнетения его активности. Показана избирательность действия тималина и тимоптина: тимоптин преимущественно стимулирует высвобождение Ил-1, а тималин – Ил-2. Среди использованных препаратов в условиях дисбаланса и дефицита Ил-2, Ил-1 при диабете тимоген проявил себя как наиболее адекватный регулятор их содержания, что позволило рекомендовать его для использования в клинической практике.

Effect of thymic preparations on interleukin-1,-2 level in experimental type I diabetes mellitus

Kotlyarenko N.N., Zubkova G.A.

V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 254114 Kyiv, Ukraine

Previously unknown data about the effect of thymic preparations on interleukin-1,-2 level in animals with autoimmune and toxic forms of type I diabetes mellitus were obtained. It has been established that the immunoregulatory action of preparations is realized depending on their variety in accordance with particular pathological conditions of the organism and preparation effect was also dependent on interleukin type and extent of activity inhibition. Selectiveness of thymalin and thymopthin actions has been revealed: thymopthin stimulates preferably IL-1 release, while thymalin – that of IL-2. Among preparations used in IL-1, IL-2 dysbalance and deficiency in diabetes mellitus, thymogen has been shown to be the most adequate regulator of their content permitting to recommend it for the usage in clinical practice.

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ ЮГА ТА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІЇ НИРОК У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ І ТИПУ

М.М.Брагарник

*Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН
України, 254114 Київ*

Вивчено ультраструктурні особливості юктагломерулярного апарату (ЮГА) у динаміці експериментального цукрового діабету І типу на тлі деяких показників функції нирок. Доведено, що на ранніх етапах цукрового діабету відбувається активізація біосинтезу та секреції реніну в міоепітеліюїдних клітинах (МК) ЮГА. У разі тривалого перебігу захворювання відзначалися ознаки гальмування секреції реніну з розвитком ознак склерозу в даному утворенні. Зміна рівнів натрію в плазмі крові та сечі відбувалася паралельно з субмікроскопічними перебудовами в ЮГА. Висловлено припущення про участь ендокринних структур нирок у формуванні діабетичної нефропатії.

Ключові слова: юктагломерулярний апарат (ЮГА), міоепітеліюїдні клітини (МК), ультраструктура, водно-електролітний гомеостаз, натрій, експериментальний цукровий діабет.

Широко відомим є той факт, що одним з найтяжчих ускладнень цукрового діабету (ЦД) є діабетична нефропатія [1,2], яка, особливо при ЦД І типу, спостерігається у 30-50% хворих [3 - 7]. Спроби запобігти розвитку цього ускладнення не можна вважати досить успішними, оскільки воно все ще залишається причиною інвалідизації і смерті хворих на ЦД [6]. Труднощі у дослідженні патогенезу діабетичної нефропатії полягають у поліфакторності її виникнення, а також у деяких складнощах практичного характеру. У цьому розумінні використання моделей експериментального ЦД є важливим для вивчення багатьох аспектів розвитку діабетичних ангіопатій. В попередніх роботах [8 - 10] ми виявили ознаки діабетичної нефропатії у щурів із стрептозотоциновим ЦД, а саме - потовщення базальних мембран капілярів, глікогеновий некроз каналців, гломерулосклероз. В пропонованій праці наведено результати дослідження можливої ролі ендокринного утворення нирок - ЮГА у розвитку діабетичного ураження нирок. Свідчення літератури з цього питання поодинокі і належать до 60-70-х років [11 - 13]. Відповідний рівень виконання досліджень не дозволив визначити динаміку перебудови у ЮГА, автори обмежилися лише констатацією факту про ураження його у вигляді склерозування. Таким чином, видавалося за потрібне вивчити субмікроскопічні зміни в ЮГА при ЦД з визначенням окремих показників функції нирок, які мають регуляторний вплив на ЮГА.

Матеріал і методи дослідження

Експерименти проведено на щурах-самцях лінії Вістар віком 1-1,5 міс, з масою тіла 100-120 г, у яких ЦД І типу викликали одноразовим внутрішньочеревним введенням стрептозотину ("Upjohn", США), розведеного на цитратному буфері (рН 4,5), у дозі 65-75 мг/кг маси тіла. Строки ЦД дорівнювали 2 тиж, 1, 2, 4 та 6 міс. Інтактні тварини відповідного віку

складали контрольні групи. За добу напередодні забою шурів натще, але з вільним доступом до питної води, розміщували в індивідуальних обмінних клітках для визначення добового діурезу. Осмоляльність плазми крові та сечі вимірювали за допомогою осмометра ОМК-61 кріоскопічним методом. Вміст електролітів у плазмі крові та сечі досліджували з використанням методу полум'яної фотометрії. Також визначали масу тіла та нирки тварин і рівень глюкози в крові.

Для електронномікроскопічних досліджень шматочки тканини нирки фіксували у 2,5% розчині глютарового альдегіду, приготованого на какодилатному буфері з додаванням параформальдегіду. Далі проводили дофіксацію у 1% розчині осмієвої кислоти. Матеріал зневоднювали у спиртах зростаючих концентрацій та абсолютному ацетоні, заливали в епон-812. Блоки тканини різали на ультрамикротомі LKB-8800 (Швеція), напівтонкі зрізи нирок забарвлювали 1% розчином метиленового синього і у світловому мікроскопі визначали локалізацію ЮГА. Ультратонкі зрізи забарвлювали насиченим водним розчином уранілацетату та розчином цитрату свинця. Препарати вивчали в електронному мікроскопі JEM-100C (Японія). Усі дані було оброблено за допомогою методів варіаційної статистики із застосуванням t-критерію Стюдента та непараметричного U-критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні.

Результати та їх обговорення

У шурів в усі строки експерименту вірогідно підвищувався рівень глюкози в крові порівняно з відповідними контрольними показниками, що поряд із прогресивним і вірогідним зменшенням маси тіла (табл.1) свідчило про розвиток у цих тварин ЦД I типу [3,14]. Характерним, особливо у ранні строки захворювання, було підвищення абсолютної маси нирок [14,15]. Відносна маса нирок також значно збільшувалася в усі строки ЦД (див. табл.1), що можна пояснити підвищенням внутрішньосудинного об'єму рідини, посиленням кровообігу у нирках, зменшенням маси тіла тварин протягом розвитку ЦД.

Проведені дослідження продемонстрували розвиток порушень водно-електролітного обміну у шурів з ЦД. Це насамперед проявилось змінами добового діурезу і осмоляльності плазми крові. У експериментальних тварин відзначено спрагу. Добовий діурез у середньому перевищував контрольні показники в усі строки захворювання (табл.2). Осмоляльність плазми крові зростала протягом всього експерименту, але максимальне збільшення її (на 15,5%) спостерігалось через 1 міс після розвитку захворювання, а при тривалому перебігу ЦД (через 4 і 6 міс) - на 7,2%. Осмоляльність сечі коливалася у широких межах як у експериментальних, так і в контрольних групах. Будь-якої залежності цього показника від перебігу захворювання не виявлено.

Видавалося необхідним визначити вміст натрію у плазмі крові та в сечі шурів з ЦД, оскільки відомо, що він є одним з найважливіших подразників секреції реніну [16,17]. У дослідних тварин в усі строки ЦД спостерігалися коливання концентрації натрію у плазмі крові та його втрати з сечею (див. табл.2). На ранніх стадіях захворювання (ЦД 2 тиж - 1 міс) концентрація натрію у крові була на рівні контрольних показників або перевищувала їх, незважаючи на значні втрати його з сечею (через 2 тиж ЦД у 2,8 рази, через 1 міс - у 1,7 рази більше порівняно з відповідними контрольними показниками). Цей факт, на нашу думку, можна пов'язати з компенсаторними перебудовами, які на ранніх етапах ЦД, імовірно, мають відношення до перерозподілу натрію з тих депо, де він вільно обмінюється, тобто натрію з інтерстиціальної рідини і натрію, який надходить з продуктами харчування. Очевидно, у процесі беруть участь центральні

Таблиця 1. Зміни показників маси тіла, нирок та рівня глюкози у крові щурів з експериментальним ЦД

Група тварин	n	Маса тіла, г	Маса нирки		Рівень глюкози у крові, ммоль/л
			абсол., мг	відносн.	
Контроль	11	151 ± 7	649 ± 29	432 ± 16	5,1 ± 0,3
ЦД 2 тиж	12	133 ± 8 ^a	743 ± 33 ^a	570 ± 18 ^c	16,1 ± 2,0 ^d
Контроль	4	180 ± 12	710 ± 50	398 ± 33	5,9 ± 0,5
ЦД 1 міс	8	141 ± 12	912 ± 156	662 ± 58 ^b	20,2 ± 0,7 ^d
Контроль	8	222 ± 2	828 ± 73	377 ± 11	6,6 ± 0,5
ЦД 2 міс	12	150 ± 9 ^c	872 ± 34	596 ± 32 ^c	14,9 ± 1,7 ^f
Контроль	10	317 ± 16	1100 ± 49	350 ± 17	5,2 ± 0,4
ЦД 4 міс	9	222 ± 14 ^c	1184 ± 52	510 ± 28	20,6 ± 1,5 ^d
Контроль	8	359 ± 22	1174 ± 55	336 ± 23	6,1 ± 1,9
ЦД 6 міс	10	232 ± 20	1206 ± 33	545 ± 23 ^b	18,4 ± 1,3 ^e

Примітка. Відмінності статистично вірогідні порівняно з інтактним контролем: a - $P < 0,05$; b - $P < 0,005$; c - $P < 0,001$ за U-критерієм Вілкоксона-Манна-Уїтні; d - $P < 0,001$, e - $P < 0,01$, f - $P < 0,05$ за t-критерієм Стьюдента.

Таблиця 2. Зміни деяких показників функції нирок щурів у динаміці ЦД (M ± m)

Група тварин	n	Концентрація натрію в плазмі крові, ммоль/л	Осмоляльність плазми крові, ммоль/кг	Рівень глюкози в крові, ммоль/л	Вміст натрію у добовій сечі, ммоль/доб	Осмоляльність сечі, ммоль/кг	Добовий діурез, мл/добу
Контроль	3	147,0 ± 1,7	298 ± 2	5,1 ± 0,3	0,47 ± 0,01	1334 ± 282	3,5 ± 0,7
ЦД 2 тиж	5	145,5 ± 6,5	316 ± 4 ^b	16,1 ± 2,0 ^b	1,31 ± 0,14 ^a	1082 ± 51	16,2 ± 2,6 ^c
Контроль	4	142,1 ± 5,5	309 ± 2	5,9 ± 0,5	0,54 ± 0,10	879 ± 93	5,9 ± 0,6
ЦД 1 міс	3	153,3 ± 5,9	357 ± 16 ^a	20,2 ± 0,7 ^b	0,91 ± 0,25 ^a	1099 ± 243	17,8 ± 5,1 ^a
Контроль	5	155,5 ± 3,1	316 ± 5	6,6 ± 0,5	0,37 ± 0,07	899 ± 45	3,7 ± 0,7
ЦД 2 міс	5	131,9 ± 3,1 ^c	314 ± 2	14,9 ± 1,7 ^c	0,70 ± 0,07	1517 ± 180 ^b	8,4 ± 0,9 ^c
Контроль	5	131,4 ± 1,1	279 ± 5	5,2 ± 0,4	0,23 ± 0,04	1216 ± 77	5,2 ± 0,3
ЦД 4 міс	5	126,5 ± 1,7 ^a	299 ± 4 ^a	20,6 ± 1,5 ^b	0,40 ± 0,07 ^a	1061 ± 194	21,2 ± 6,5
Контроль	5	132,0 ± 3,2	293 ± 2	6,1 ± 1,9	0,57 ± 0,07	813 ± 49	9,9 ± 0,8
ЦД 6 міс	6	145,2 ± 7,0 ^a	314 ± 9 ^c	18,4 ± 1,3 ^f	0,79 ± 0,13	1121 ± 92 ^c	13,2 ± 1,2 ^a

Примітка. Відмінності статистично вірогідні порівняно з інтактним контролем: a - $P < 0,05$; b - $P < 0,01$; c - $P < 0,005$; d - $P < 0,001$ за U-критерієм Вілкоксона-Манна-Уїтні; e - $P < 0,05$; f - $P < 0,01$; g - $P < 0,001$ за t-критерієм Стьюдента.

механізми регуляції водно-електролітного обміну, а також МК ЮГА, що сприяє підвищенню вмісту натрію у плазмі крові.

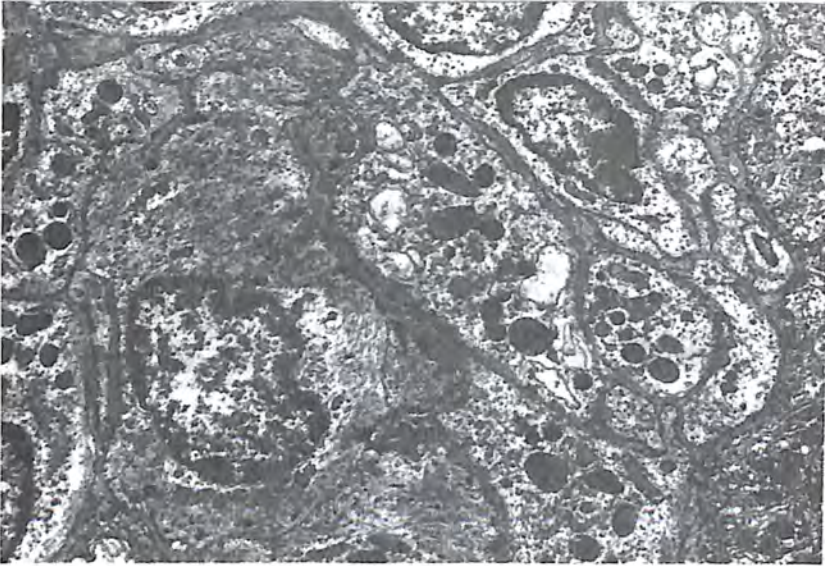
Строк ЦД 2 міс характеризувався значним виведенням натрію з сечею і вірогідним зниженням концентрації його у плазмі крові. Такі зміни (див. табл.2) можна кваліфікувати як порушення регуляторних механізмів гомеостазу води та електролітів у динаміці ЦД. Тривалий перебіг ЦД (до 6 міс) супроводжувався поступовим зменшенням втрат натрію з сечею та підвищенням його вмісту у плазмі крові. Останній факт може свідчити про порушення природного обміну натрію в організмі тварин з ЦД.

Морфологічні зміни в ЮГА щурів з ЦД відбувалися паралельно з порушеннями водно-електролітного гомеостазу, і, на нашу думку, відтворювали динаміку цих перебудов. Тонка структура МК ЮГА через 2 тиж після розвитку ЦД характеризувалася певними особливостями. Клітини у формі підкови або з круглястими контурами містили переважно еухроматинові ядра. Цитоплазма звичайно виглядала електронно прозорою, мала поодинокі каналці зернистої ендоплазматичної сітки, вигнуті, інколи розширені з вмістом невисокої електронної щільності та зернистої будови. Комплекс Гольджи (КГ) зустрічався досить рідко, частіше локалізувався біля ядра і був представлений переважно вакуолярним компонентом та великою кількістю мікровезикул. Мітохондрії невеликі, з щільним матриксом та чіткими кристами. У цитоплазмі визначалася невелика кількість гранул реніну. Щільність секреторного матеріалу була невисокою, часто неоднорідною. Будова, звичайно крупно- або дрібнозерниста, варіювала як серед окремих гранул, так і у межах однієї гранули (мал.1). Нерідко спостерігали кристалічну будову секрету гранул реніну. Більшість гранул мала нечітку оточуючу мембрану, що могло свідчити про виведення секрету. В окремих МК ЮГА спостерігалось накопичення гранул реніну з секретом невисокої електронної щільності, також виявлялися ознаки активзації біосинтезу реніну.

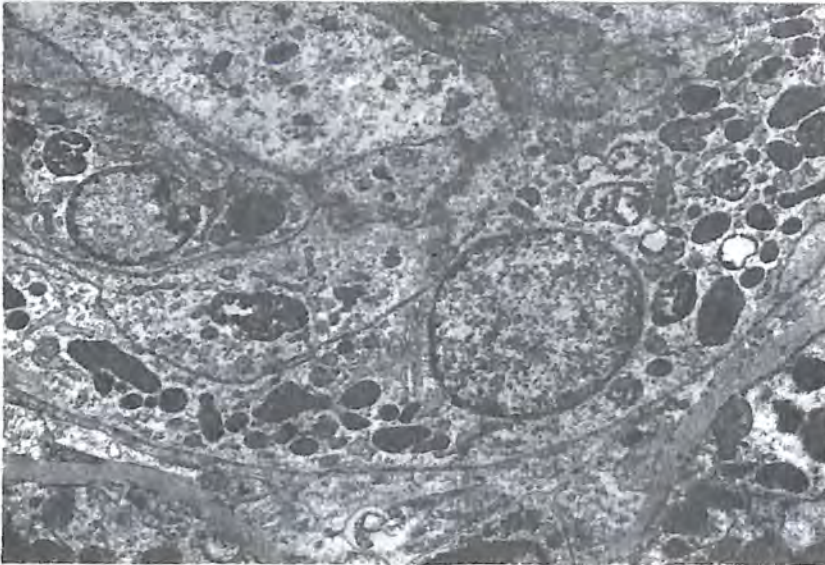
У строк ЦД 1 міс в ЮГА визначали МК, збільшені за розмірами, круглястої або неправильної форми, з великими, переважно еухроматиновими, ядрами. В електронно прозорій цитоплазмі містилася досить велика кількість гранул реніну, які мали круглясту форму з варіюючою електронною щільністю секреторного матеріалу. Деякі гранули мали тісний контакт з плазмалею. Такі ознаки характеризують клітини, в яких відбувається звільнення секреторного матеріалу. У декотрих МК відзначалися ознаки активзації біосинтезу реніну із збільшенням кількості каналців зернистої ендоплазматичної сітки з електроннощільним вмістом, рибосом та полісом, з концентрацією у таких ділянках великих мітохондрій з добре контурованими кристами на тлі майже повної відсутності структур КГ. Зазначене явище може бути пов'язаним з роз'єднанням окремих етапів біосинтезу реніну у часі чи просторі (тобто, ці етапи могли відбуватися у різних компартментах клітини). Проте, не можна також виключати можливості біосинтезу редукованої форми реніну, оминаючи КГ, оскільки з літератури відомо, що за потреби ренін може надходити з МК до неклітинного простору без перетворень у пластинчатому комплексі, зокрема за умови досить сильної стимуляції [18].

МК окремих ЮГА були в стані реутилізації секрету гранул реніну (мал.2), очевидно, внаслідок сильної стимуляції секреторних процесів на ранніх строках ЦД, яка зумовлювала біосинтез надмірної кількості реніну, що у свою чергу, може бути спричинене різкими порушеннями водно-електролітного гомеостазу. У цей період ЦД часто зустрічалися майже звільнені від гранул реніну, спустошені МК. Цікаво відзначити локалізацію сітки мікрофіламентів у МК, яка у досліджуваній строк ЦД має перпендикулярну у відношенні до плазмалеми орієнтацію мікрофібрил, а також їхній щільний контакт з гранулами реніну.

У ЮГА тварин з ЦД строком 2 міс зустрічалися невеликі за розмірами МК, переважно неправильної або вигнутої форми. Ядро містило



Мал. 1. Зниження кількості гранул реніну в МК шурів з ЦД 2 тиж. Збільшення 8600.



Мал. 2. Ознаки реутилізації секрету гранул реніну в МК шурів з ЦД 1 міс. Збільшення 8600.

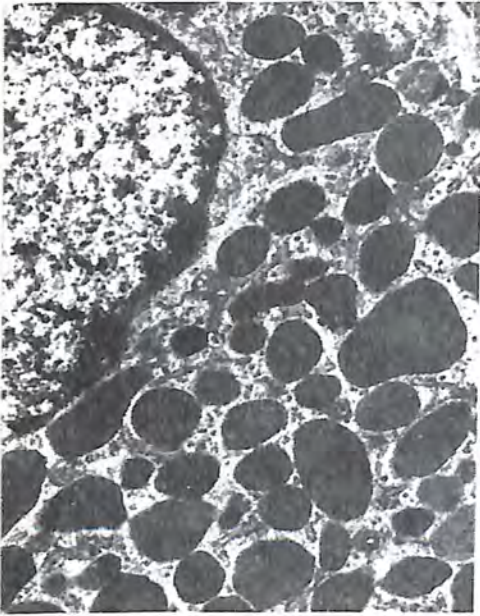
приблизно однакову кількість еу- та гетерохроматину, його форма наближалася до овальної. Цитоплазма МК виглядала дещо щільною, очевидно, за рахунок насичення органелами. Структури зернистої ендоплазматичної сітки мали вигляд вузьких, довгих каналців з електроннощільним вміс-

том, що поряд з великою кількістю рибосом та полісом свідчило про певний ступінь активізації біосинтетичних процесів у даних клітинах. КГ зустрічався досить рідко і мав вигляд купки ламел. Мітохондрії звичайно круглі або видовжені, мітохондріальний матрикс щільний, кристи практично не визначалися. У зазначений строк ЦД МК характеризувалися накопиченням гранул реніну, секреторний матеріал яких виглядав переважно щільним, аморфним. Гранули були обмежені чіткою мембраною. Таким чином, у щурів з ЦД 2 міс МК характеризувалися гальмуванням виведення реніну.

У разі тривалого перебігу ЦД (4-6 міс) в ЮГА можна було спостерігати гетерогенну картину. Частина МК мала досить великі розміри. Структури, які визначають біосинтез реніну, помірно розвинуті, цитоплазма містила невелику кількість мітохондрій. Гранули реніну заповнювали весь цитоплазматичний матрикс і розташовувалися більш-менш компактно (мал.3, а). Серед них переважно більшість складала досить великі неправильні форми з дрібнозернистою або гомогенною структурою та варіюючою електронною щільністю. Сітка з мікрофіламентів у примембранних ділянках локалізувалася паралельно базальній мембрані і відокремлювала від неї гранули реніну. Таким чином, в описаних міоепітеліюїдних клітинах спостерігалися ознаки гальмування секреції реніну.

Окремі, середні за розмірами клітини поряд з великими гранулами реніну із щільним секретом містили гранули, секреторний матеріал яких мав варіюючу електронну щільність і складався із ділянок дрібно- та крупнозернистої будови і був обмежений нечіткою мембраною. Зазначені гранули розташовувалися переважно біля плазмалеми і часто мали контакт з перпендикулярно орієнтованими мікрофібрилами (мал.3,б). Значно більша кількість таких гранул визначалася в цитоплазматичних відростках, які спостерігалися на межі з ендотелієм артеріол. На нашу думку і за даними літератури [19], такі ознаки пов'язані з виведенням секреторного матеріалу з гранул реніну. Виявлялися також поодинокі ЮГА, в яких базальні мембрани розросталися, стискали МК, і таким чином порушували їхню функцію, а також сприяли зменшенню розмірів останніх. У таких клітинах основну частину цитоплазми займало ядро з глибокими поодинокими інвагінаціями. Цитоплазма виглядала просвітленою і містила поодинокі каналці зернистої ендоплазматичної сітки, мізерний КГ, поодинокі щільні гранули реніну (мал.4).

У підсумку слід зазначити, що результати проведених досліджень свідчать про розвиток тонких змін у ЮГА внаслідок ЦД, які очевидно, мають відношення до патогенезу діабетичної нефропатії. Як показано у наших попередніх працях [8 - 10], тривалий перебіг ЦД I типу сприяє появі ознак діабетичної нефропатії з боку клубочкового та каналцевого відділів нефрона, що призводить до ішемії гломерул. Дослідження ЮГА при ЦД продемонструвало ушкодження МК та клітин "щільної плями" з розвитком ознак склерозування ЮГА, за рахунок чого порушується регуляторна функція цього утворення. Такі зміни разом із розладом кровообігу в клубочках та втратами натрію із сечею можуть грати певну роль у гіперпродукції реніну в МК ЮГА [19]. Є очевидним, що остання не нормалізує функціонування склерозованих гломерул, а навпаки, скоріше сприятиме більш швидкому зношуванню неушкоджених гломерул за



Мал. 3. А: Накопичення електроннощільних гранул реніну в МК шурів у разі тривалого перебігу ЦД (6 міс). Збільшення 17200. Б: Ознаки виведення секреторного матеріалу з гранул реніну в МК шурів з ЦД строком 6 міс. Збільшення 30400.



Мал. 4. Ознаки склерозу в ЮГА шурів при ЦД тривалістю 6 міс. Збільшення 7200. .

рахунок підвищення внутрішньоклубочкового тиску крові опосередковано через ангіотензин II [7]. Це наблизить термінальну стадію ниркової недостатності за умов ЦД I типу.

Висновки

1. У щурів субмікроскопічні зміни в ЮГА на ранніх строках стрептозоточиногового діабету (ЦД I типу 2 тиж і 1 міс) пов'язані з гіпертрофією МК, значним зменшенням кількості гранул у клітинах, ознаками посилення біосинтезу реніну.

2. За умов тривалого перебігу стрептозоточиногового діабету (4-6 міс) у щурів відзначали гіпертрофію МК з накопиченням переважно електронно щільних гранул реніну та слабо виражені ознаки вивільнення секрету з гранул, а також ознаки склерозу ЮГА.

3. Результати функціональних досліджень свідчать про порушення функції нирок за умов експериментального ЦД, що виявляється у посиленні добового діурезу на всіх стадіях хвороби, значних втратах натрію з сечею, коливаннях концентрації натрію у плазмі крові, порушенні її осмольності.

Література

1. Bruhl U., Taugner R., Forssmann W.G. Studies on the juxtaglomerular apparatus: Perinatal development of the renal juxta glomerular complex // *Cell Tissue Res.* 1974, **151**, 433-456.
2. Morris B.J., Johnston C.J. Isolation of renin granules from rat kidney cortex and evidence for an inactive form of renin // *Endocrinology.* 1976, **98**, 1466-1474.
3. Ефимов А.С. Диабетические ангиопатии. 2-е изд., доп. и перераб.: Медицина, 1989. 228с.
4. Жуков Н.А., Конвай В.Д., Совалкин В.И., Казаков С.А. Возможный механизм развития диабетической нефропатии // Омск. гос. мед. инст. Омск, 1993, 13 с. Деп. в ВИНТИ 05.02.93, N 287, В 93.
5. Шестакова М.В., Дедов И.И., Мухин Н.А., Шереметьева О.В. Мета болические и гемодинамические аспекты диабетической нефропатии // *Пробл. эндокринолог.* 1993, **39**, N 3, 55-57.
6. Mogensen C.E., Schmitz O. From hyperfiltration and microalbuminuria to end-stage renal failure // *Med. Clin. N. Amer.* 1988, **72**, N 6, 1465-1492.
7. Viberti G.C. Mechanisms of diabetic renal and cardiovascular disease // *Acta Diabetol. Latina.* 1990, **27**, 267-276.
8. Журнаджи Ю.Н., Ефимов А.С., Богданова Т.И. и др. Субмикроскопические перестройки в клубочковом отделе нефрона крыс при стрептозоточиновом диабете и возможность их медикаментозной коррекции // *Пробл. эндокринолог.* 1987, **33**, N 3, 54-59.
9. Журнаджи Ю.Н., Козырицкий В.Г., Богданова Т.И. и др. Морфофункциональная оценка экспериментального сахарного диабета // *Эндокринология.* К.: Здоров'я, 1991, вып.21, 64-71.
10. Брагарник М.М. Функціональна морфологія юктагломерулярного апарату нирок у динаміці експериментального цукрового діабету. Автореф. дис. канд. біол. наук. К., 1996. 24 с.
11. Bader H., Meyer D.S. The size of the juxtaglomerular apparatus in diabetic glomerulosclerosis and its correlation with arteriosclerosis and arterial hypertension: a morphometric light microscopic study on human renal biopsies // *Clin. Nephrology.* 1977, **8**, N 1, 308-311.
12. Christlieb A.R. Diabetes and hypertensive vascular disease: mechanism and treatment // *Amer. J. Cardiol.* 1973, **32**, N 4, 592-606.
13. Schindler A.M., Sommers S.C. Diabetic sclerosis of the renal juxtaglomerular apparatus // *Lab. Investig.* 1966, N 15, 877-884.

14. Nyengaard J.R., Rasch R. The impact of experimental diabetes mellitus in rats on glomerular capillary number and sizes // *Diabetologia*. 1993, **36**, 189-194.
15. Дедов И.И., Мухин Н.А., Шестакова М.В. и др. Патогенетические особенности диабетической нефропатии и ее ранняя диагностика // *Пробл. эндокринологии*. 1994, **36**, N 4, 57-63.
16. Наточин Ю.В. Молекулярная физиология почки и механизм интеграции ее функций // *Физиол. журн. им. И.М.Сеченова*. 1994, **80**, N 7, 42-54.
17. Sealy J.E., Laragh J.H. The integrated regulation of electrolyte balance and blood pressure by renin system In: *The regulation of sodium and chloride balance* (Ed. D.W. Seldin, G.Giebish). Raven Press: New-York, 1990.
18. Levine M., Lentz K.E., Kahn J.R. Studies on high molecular weight renin from hog kidney // *Circ. Res.* 1978, **242**, 368-375.
19. Lindop G.V.M. Morphological aspects of renin synthesis, processing, storage, and secretion // *Kidney Intern.* 1987, **231**, Suppl. 20, S18-S24.

Ультраструктурные особенности ЮГА и некоторые показатели функции почек у крыс с экспериментальным сахарным диабетом I типа

М.Н.Брагарник

Институт эндокринологии и обмена веществ им.В.П.Комиссаренко АМН Украины, 254114 Киев

Изучена ультраструктура ЮГА в динамике экспериментального сахарного диабета I типа на фоне некоторых показателей функции почек. Показано, что на ранних этапах сахарного диабета происходит активация биосинтеза и секреции ренина в миоэпителиоидных клетках ЮГА. При длительном течении заболевания отмечаются признаки торможения секреции ренина с развитием склеротических изменений в ЮГА. Изменение уровней ионов натрия в плазме крови и моче происходило параллельно субмикроскопическим перестройкам в ЮГА. Выдвигается предположение об участии эндокринных структур почек в формировании диабетической нефропатии.

Ultrastructure of JGA in dynamics of experimental type I diabetes mellitus in rats

М.М.Брагарник

V.P.Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 254114 Kyiv, Ukraine

The ultrastructure of juxtaglomerular apparatus and renal function were studied in dynamics of experimental type I diabetes mellitus. It has been shown that activation of biosynthesis and secretion of renin in myoepithelioid cells of juxtaglomerular apparatus took place at the early stages of diabetes. Long lasting type I diabetes mellitus results in inhibition of renin secretion and developing of scleroses of juxtaglomerular apparatus. Changes in sodium plasma levels and sodium urinary levels were observed simultaneously. Participation of ultrastructural changes of juxtaglomerular apparatus in evolution of diabetic nephropathy is suggested.

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ В ЛІВОМУ ШЛУНОЧКУ МІОКАРДА ЩУРІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ І ТИПУ

Т.І. Богданова, Л.Г. Воскобойник

Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України, 254114 Київ

Розвиток стрептозототинового інсулінозалежного діабету у експериментальних щурів супроводжується виразними ультраструктурними змінами в кардіоміоцитах та компонентах мікроциркуляторного русла, які стосуються як елементів судинної стінки, так і вмісту просвіту судин. Морфологічні зміни в міокарді реєструються вже на ранніх стадіях розвитку захворювання (2 тиж), помітно поглиблюються у разі тривалого перебігу його (2, 4, 6 міс) і можуть бути розцінені як ознаки прогресуючої діабетичної кардіоміопатії.

Ключові слова: експериментальний цукровий діабет, міокард, кардіоміоцит, судинна стінка, скорочувальна система, стрептозототин.

Цукровий діабет є одним з найпоширеніших тяжких ендокринних захворювань, яке супроводжується істотними порушеннями функціональної активності міокарда з подальшим розвитком діабетичної кардіоміопатії [1,2]. Проте в науковій літературі не припиняються дискусії з приводу того, чи зміни міокарда, які розвиваються при цукровому діабеті, є ускладненням цього захворювання, чи вони виникають одночасно з ним і в такому разі слід говорити про єдиний генералізований процес, тобто про діабетичний синдром.

З огляду на таку невизначеність поглиблене вивчення стану міокарда в умовах цукрового діабету зберігає свою актуальність. На особливу увагу заслуговують електронномікроскопічні дослідження, які дозволяють реєструвати зміни не тільки на клітинному рівні, але й тонку перебудову субмікроскопічних структур, котрі відбивають навіть мінімальні порушення метаболічної і скорочувальної активності міокарда під час формування й розвитку патологічного процесу. Саме електронна мікроскопія дозволяє визначити ультраструктури, які безпосередньо беруть участь у процесах обміну і забезпечують скорочувальну функцію органа.

Особливо актуальними є питання про стан мікроциркуляторного русла, тому що саме судинні порушення лежать у основі практично усіх змін в органах і тканинах при цукровому діабеті [1, 3, 4]. Крім того, оскільки серцево-судинні захворювання найчастіше стають причиною летального кінця при цукровому діабеті, прогноз цього захворювання визначається переважно характером і тяжкістю ураження серцево-судинної системи.

Матеріали і методи

Дослідження проведені на 78 щурах-самцях лінії Вістар віком 1 - 1,5 міс з масою тіла 100-120 г. У 42 тварин цукровий діабет, подібний до інсулінозалежного діабету І типу у людини, спричинили одноразовим внутрішньочеревним введенням стрептозототину ("Upjohn", США), розведеного на цитратному буфері (рН 4,5), у дозі 75 мг/кг маси тіла. Тривалість

хвороби становила 2 тиж, 1, 2, 4 і 6 міс. 36 тваринам відповідних контрольних груп вводили ізотонічний розчин натрію хлориду. Перед початком експерименту і забоем тварин зважували. Декапітацію проводили за допомогою гільотини. Після декапітації за допомогою декстрометра визначали рівень глюкози у крові. Для електронномікроскопічних досліджень з лівого шлуночка міокарда тварин виділяли шматочки тканини, які фіксували у 2,5% розчині глутарового альдегіду, приготованого на какодилатному буфері з додаванням параформальдегіду. Потім їх дофіксували у 1% розчині чотириокису осмію. Матеріал зневоднювали в етанолі, концентрація якого збільшувалася, та абсолютному ацетоні, заливали в епон-812 і проводили ступінчасту полімеризацію за температури 35 °С, 45 °С та 60 °С протягом 3 діб. Блоки тканини різали на ультрамікротомі LKB-8800 (Швеція). Ультратонкі зрізи контрастували насиченим водним розчином ураніацетату та розчином цитрату свинцю. Препарати вивчали за допомогою електронного мікроскопу JEM-100С (Японія).

Результати та їх обговорення

Вже через 2 тижні після введення стрептозоточину в лівому шлуночку міокарда шурів визначаються чіткі субмікроскопічні зміни, причому як у кардіоміоцитах, так і в компонентах мікроциркуляторного русла. Так, у навколяядерній зоні скорочувальних клітин спостерігаються нерівномірне розширення перинуклеарних цистерн, вакуолізація елементів саркоплазматичної сітки, комплексу Гольджі, просвітлення матриксу мітохондрій і локальне руйнування їхніх крист. У міофібрилярній зоні, яка виконує основне функціональне навантаження серцевих міоцитів, міофібрили, особливо поблизу нексусів, виразно потовщені, спостерігається їх розширення. Проте в окремих випадках відзначаються ознаки набряку скорочувальних елементів, аж до міолізу. Структура інших органел, які розташовані між міофібрилами, також порушена. Насамперед це стосується мітохондрій, які відповідають за рівень енергозабезпечення клітин. Ці органи характеризуються просвітленням матриксу та руйнуванням основної маси крист. Елементи саркоплазматичної сітки розширені, часом вакуолізовані. Подібні морфологічні зміни, навіть без додаткових функціональних досліджень, свідчать про ослаблення механічної роботи міокарда за рахунок порушення цілості скорочувального апарату міоцитів і пошкодження мітохондрій, які забезпечують енергією процеси розслаблення і скорочення міофібрил.

У кровоносних капілярах помітно розширений просвіт. Ендотеліоцити з осміофільною чи набряклого цитоплазмою і виразною нерівністю люмінальної поверхні. Нерідко можна спостерігати розходження ендотеліоцитів з ознаками проникнення в місцях порушення міжендотеліальних контактів лімфоїдних клітин і еритроцитів (мал. 1). Останні у вигляді масивних діapedезних крововиливів виявляються у набряклом перикапілярному просторі. У них також постійно виявляються і депозити неправильної форми, які заповнені аморфним вмістом. У разі руйнування обмежувальної мембрани їх вміст накопичується у вигляді слабо осміофільних мас поблизу надзвичайно тонких базальних мембран судин.

Оцінюючи наведені морфологічні порушення, перед усім слід зазначити, що на відміну від інших дослідників [4 - 6], ми виявили низку помітних ультраструктурних змін у кардіоміоцитах і компонентах судинної стінки вже на ранніх етапах розвитку цукрового діабету (2 тиж). До них можна зарахувати ознаки порушення судинної проникності за рахунок ослаблення міжендотеліальних контактів, стоншення базальних мембран, набряку перикапілярного простору, наявності еритродіapedезних кровови-

ливів і лімфоїдної інфільтрації. Подібні зміни, як і деструктивні процеси, що стосуються скорочувальної системи кардіоміоцитів, можуть бути пояснені наслідками токсичної дії стрептозотоцину на міокард. Разом із тим накопичення в перикапілярному просторі депозитів швидше за все пов'язане з початковим етапом формування ангіопатій. Локальні порушення кровопостачання міокарда на ранніх стадіях розвитку експериментального діабету (4 тиж) зауважили також інші автори [7]. Про можливість порушення кровопостачання органа на ранніх етапах цукрового діабету свідчать і дані про наявність мікроангіопатій у хворих з латентним перебігом захворювання, тобто до виявлення порушень процесів обміну [8].

Через 1-2 міс хвороби деструктивні зміни в міокарді в цілому мають осередковий характер, хоча рівень глюкози в крові залишається таким самим (таблиця). Виявляються ознаки як каріопікнозу, так і набряку нуклеоплазми. Зустрічаються також і двоядерні клітини. У навколоядерній



Мал. 1. Розходження ендотеліоцитів з ознаками проникнення в перикапілярний простір еритроцитів. ПКП - перикапілярний простір, Ер - еритроцит. X 24000

Таблиця. Рівень глюкози (ммоль/л) в крові у щурів з цукровим діабетом I типу

Тривалість експерименту	n	Контрольна група	n	Тварини з цукровим діабетом
2 тиж	8	4,8 ± 0,41	8	15,6 ± 1,98***
2 міс	10	6,1 ± 0,34	15	16,2 ± 1,46***
4 міс	10	5,3 ± 0,34	9	18,3 ± 1,08***
6 міс	8	6,1 ± 0,22	10	18,4 ± 1,25***
	36		42	

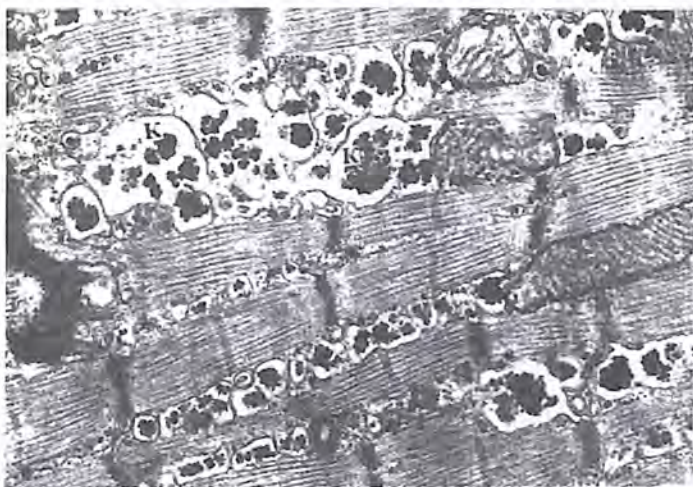
Примітка: *** - $p < 0,001$ у тварин з експериментальним цукровим діабетом порівняно з відповідними показниками контрольної групи

зоні кардіоміоцитів спостерігаються осередкове стоншення міофібрил, різноспрямовані зміни структури мітохондрій (одні з них набрякли, з поодинокими кристами, інші - осміофільні, зморшкуваті), порушення структури вставних дисків з розширенням щілини між їхніми пластинами. Всі ці ознаки є морфологічним підтвердженням зниження механічної функції серця. Крім того, у клітинах підвищений вміст ліпідних крапель, особливо поблизу нексусів, а навколо ліпідів, мітохондрій і в сарколемних аркадах визначаються скупчення гранул глікогену. Скрізь виявляються ознаки контрактури м'язових волокон, через що стирається чіткість малюнка їхніх дисків, а підсарколемний шар має більш звивистий вигляд. Таким чином, зміни міокарда, які супроводжують розвиток цукрового діабету і зустрічаються у всіх трьох зонах кардіоміоцитів (навколоядерній, підсарколемній, міофібрилярній), призводять до порушення метаболічної і скорочувальної функції м'язових клітин.

Розвиток цукрового діабету супроводжується також і пошкодженнями капілярів міокарда. Ендотелій потовщений і характеризується осміофільною цитоплазмою з ознаками ослабленого мікроціноцитозу. Просвіти судин нерідко звужені, і в них визначаються скупчення еритроцитів. Базальні мембрани нерівномірно потовщені, ознаки лімфоїдної інфільтрації і еритродіapedезу зберігаються і навіть посилюються. Всі ці ознаки свідчать про порушення процесів мікроциркуляції за рахунок зміни проникності судин, у першу чергу, стінок капілярів, що веде до порушення транспортної функції ендотеліальних клітин, яке, в свою чергу, ускладнює доставку кисню до кардіоміоцитів і виділення їхніх метаболітів. Подібні зміни судин виявляються практично в усіх органах і тканинах хворих на цукровий діабет, що дає привід говорити про діабетичну генералізовану ангіопатію [1, 8, 9], тобто про наявність діабетичного синдрому.

Через 4 міс цукрового діабету субмікроскопічні зміни, які спостерігалися при цукровому діабеті протягом 2 міс, зберігаються, причому найбільш демонстративні вони у тварин з високим рівнем глюкози в плазмі крові (16-22 ммоль/л; рівень глюкози в цієї групи тварин коливався від 12 до 22 ммоль/л). У ядрах кардіоміоцитів визначаються ознаки вакуолеподібної дегенерації, в каналцях саркоплазматичної сітки виявляють відкладання кальцію (мал. 2); в саркоплазмі зростає вміст глікогену. Чітко виражена мозаїчність деструктивних процесів у клітинах. Частина кардіоміоцитів дуже набрякли, інші, навпаки, осміофільні, з ознаками контрактури м'язових волокон. Більше того, навіть у межах одного міоциту спостерігаються чергування зон релаксації і контрактури, різке зменшення мітохондрій, чи навпаки, ознаки набряку. З'являються й гігантські мітохондрії, які, можливо, утворюються внаслідок злиття кількох органел. Подібна мозаїчність є характерною і для ендотеліоцитів капілярів. Частина ендотеліальних клітин перебуває в стадії набряку, що призводить до їх вибуху в просвіт судин; інші ендотеліоцити різко осміофільні, з чіткими ознаками десквамації. Базальні мембрани капілярів потовщені і фібротизовані. У просвіті судин визначаються еритродіapedезні сладжі, а в перикапілярному і міжклітинному просторі - лімфоцити і макрофаги.

Деякі автори [4] ділять морфологічні зміни в міокарді на два типи. До першого вони зараховують значну втрату скорочувальних білків, вакуолізацію елементів саркоплазматичної сітки, руйнування мітохондрій,

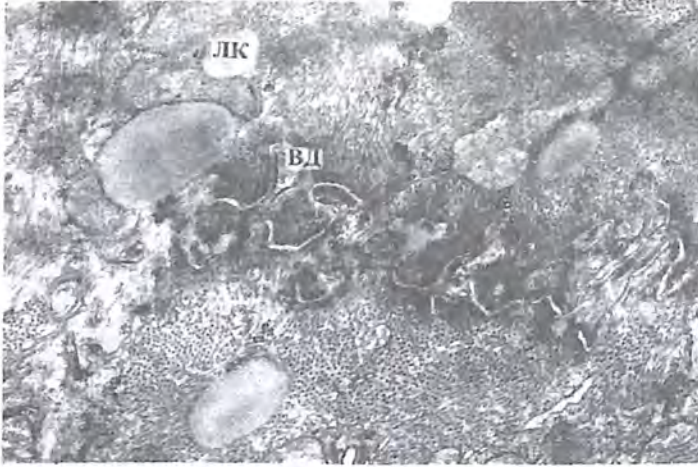


Мал. 2. Відкладання кальцію в розширених каналцях саркоплазматичної сітки. К - відкладання кальцію. X 9500

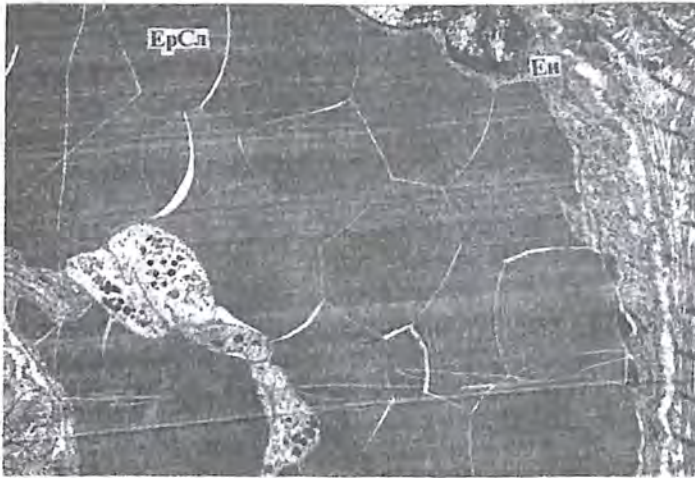
підвищення вмісту глікогену. Другий тип осередкових пошкоджень, за їх даними, характеризується появою контрактурних зон, руйнуванням вставних дисків, розширенням перинуклеарних цистерн, збільшенням вмісту ліпідних крапель, гранул глікогену. На підставі отриманих даних ми вважаємо таку інтерпретацію недоречною, тому що обидва типи пошкоджень зустрічаються одночасно і зрештою призводять до порушення єдиної системи метаболічних, синтетичних і скорочувальних процесів, які відбуваються в кардіоміоцитах.

Через 6 міс мозаїчність гістологічної картини зростає, причому незалежно від рівня глюкози в плазмі крові. Деструктивні зміни найчіткіше виражені в набряклих кардіоміоцитах, особливо в скорочувальній системі, і характеризуються різким стоншенням і розшаруванням міофібрил, а також пошкодженням міжклітинних контактів, особливо вставних дисків (мал. 3). Скрізь у великих кількостях виявляються гранули глікогену. Особливо багато таких скупчень поблизу мітохондрій, що можна розцінити як додаткову морфологічну ознаку порушення енергетичної і метаболічної функцій цих органел. У розширених каналцях саркоплазматичної сітки накопичуються аморфні шари кальцію, що свідчить про порушення мінерального обміну, в тому числі про значні зміни кальцієвого гомеостазу. За даними літератури, подібні процеси призводять до нестачі кальцію в цитозолі, який регулює процеси розслаблення і скорочення м'язових волокон, а відтак – і до порушення механічної роботи органа [10, 11].

Для стану мікроциркуляторного русла характерною є ще більш виражена обтурація просвіту судин еритроцитарними складками (мал. 4). Більшою мірою потовщені й фібротизовані базальні мембрани, деструктивно змінені періцити, а міжклітинні проміжки розширені й наповнені осміофільним вмістом. На цьому тлі зберігаються ознаки лімфоїдної інфільтрації і еритродіapedезу.



Мал. 3. Порушення структури вставних дисків з накопиченням поблизу них ліпідних краплин. ВД - вставні диски, ЛК - ліпідні краплини. *X 26000*



Мал. 4. Обтурація просвітів судин еритроцитарними сладжами. Ен - ендотелій, ЕрСл - еритроцитарний сладж. *X 10000*

Суцільна обтурація просвіту судин еритроцитарними сладжами і продуктами десквамації ендотеліоцитів в умовах тривалого перебігу цукрового діабету свідчить, крім того, про порушення реологічних властивостей крові та морфофункціональні зміни її клітин, передусім еритроцитів [12, 13]. Порушення функції еритроцитів відіграє важливу роль у генезі діабетичних мікроангіопатій, підтримуючи гіпоксію тканини внаслідок зменшення здатності вивільняти зв'язаний кисень, що зумовлює посилену тромбопластичну активність [12, 13]. Саме зниження пластичності еритроцитів при цукровому діабеті та їхня підвищена здатність до агрегації утруднюють кровотік. Тим самим змінюються реологічні властивості крові, тиск на

стілки капілярів, що спричиняє розвиток генералізованої діабетичної мікроангіопатії.

Отже, розвиток стрептозотоцинового інсулінозалежного діабету у експериментальних тварин супроводжується виразними ультраструктурними змінами мікроциркуляторного русла міокарда, які стосуються всіх компонентів судинної стінки і просвіту судин. При цьому такі зміни визначаються вже на ранніх стадіях розвитку захворювання, тобто через 2 тиж після введення стрептозоточину, і помітно зростають у разі тривалого перебігу цукрового діабету (6 міс). Це можна розцінювати як ознаки прогресуючої діабетичної кардіоміопатії. Посилене пошкодження елементів мікроциркуляторного русла поєднується з прогресуючими деструктивними змінами в міокарді, причому з боку як вуглеводного (інтенсивне накопичення глікогену), так мінерального (нагромадження кальцію в каналцях саркоплазматичної сітки), та жирового (відкладання ліпідів) видів обміну. Це підтвержується і даними інших дослідників, які вказують на наявність значних деструктивних змін у міокарді у разі тривалого перебігу діабету [4, 14, 15], здатність кардіоміоцитів переключати обмін у даних умовах з вуглеводного типу на жировий [13, 16–18], а також порушення кальцієвого гомеостазу [19, 20], що зумовлює значне ослаблення механічної діяльності серця і порушення його трофіки.

Висновки

1. На ранніх етапах розвитку цукрового діабету (2 тиж) ультраструктурні зміни в кардіоміоцитах та елементах мікроциркуляторного русла відображають осередкові деструктивні процеси і спрямовані на посилення судинної проникності (звуження базальних мембран, порушення контактів клітин, лімфо- та еритродіapedез).

2. За тривалого цукрового діабету (2, 4, 6 міс) ультраструктурні зміни в лівому шлуночку міокарда щурів мають протилежне спрямування і пов'язані з ослабленням судинної проникності (потовщення базальних мембран судин, набряк перикапілярного простору, наявність лімфоїдної інфільтрації, звуження просвіту судин з присутністю еритродіapedезних сладжів).

3. В умовах тривалого перебігу цукрового діабету також мають місце порушення реологічних властивостей крові та морфологічні зміни її клітин, що вказує на порушення кровопостачання серця.

4. Зміни міокарда, які супроводжують розвиток цукрового діабету, зустрічаються у всіх трьох зонах кардіоміоцитів (навколоядерній, міофібрилярній та підсарколемній), а також у всіх елементах судинної стінки і можливо призводять до порушення метаболічної і скорочувальної функцій м'язових клітин та міокарда в цілому.

Література

1. Ефимов А.С. Диабетические ангиопатии. М.: Медицина, 1989. 288с.
2. Левина Л.И. Сердце при эндокринных заболеваниях. Л.: Медицина, 1989. 263с.
3. Schaffer S.W. Cardiomyopathy associated with noninsulin-dependent diabetes // Mol. Cell. Biochem. 1991, **107**, 1-20.

4. Jackson C., McRath G., Tahiliani A. et al. A functional and ultrastructure analysis of experimental diabetic rats myocardium // *Diabetes*. 1985, **34**, N 9, 876-884.
5. Tasca C., Stefaneanu L., Vasilescu C. The myocardial microangiopathy in human and experimental diabetes mellitus (a microscopic, ultrastructural morphometric and computer-assisted symbolic-logic analysis)// *Rev. Roum. Med. Endocrinol.* 1986, **24**, N 2, 56-69.
6. Seitz S., Syed Ali S., Strodter D. Angioarchitecture in the heart of rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus// *Anatomischer Anzeiger*. 1993, **175**, N 3, 285-289.
7. Rosen R., Beck E., Rosen P. Early vascular alterations in the diabetic rat heart // *Acta Physiol.Hung.* 1988, **72**, N 1, 3-11.
8. Yoe D.K., McLeman s.v., Turtle J.R. Pathogenesis of diabetic microangiopathy: the roles of endothelial cell and basement membrane abnormalities// *Diabet. Med.* 1992, **9**, N 3, 218-228.
9. Paltsev M.A., Severgina E.S., Ponomarev A.B. et al. The morphological aspects of insulin-dependent diabetes mellitus// *Constituent. Cong. Int. Soc. for Pathophysiol.* Kuopio, (Moskow, May 28-June 1,1991). Moskow, 1991, p.211.
10. Noda N., Yayashi H., Miyata H. et al. Intracellular Ca^{2+} concentration and pH of diabetic rat myocytes during metabolic inhibition // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1990, **22**, p.39.
11. Edes I., Talosi L., Kraniias E.G. Sarcoplasmic reticulum function in normal heart and in cardiac disease // *Heart Failure*. 1991, **6**, N 6, 221-237.
12. Ефимов А.С., Плешанов Е.В., Гогина И.Ф. Морфофункциональные изменения эритроцитов при сахарном диабете // *Пробл. эндокринолог.* 1988, **34**, N 2, 13-15.
13. McRury S.M., Lowe G.D. Blood rheology in diabetes mellitus// *Diabet. Med.* 1990, **7**, N 4, 285-291.
14. Gotzsche O. Myocardial cell dysfunction in diabetes mellitus. A review of clinical and experimental studies// *Diabetes*. 1986, **35**, N 10, 1158-1162.
15. Pasyk S., Wojnicz R., Szafranek A. et al. Cardiomyopathy in diabetes. Ultrastructural examinations // *Kardiologia Polska*. 1993, **39**, N 12, 439-445.
16. Morike R. Interaction between glucose utilization and left ventricular heart function in type I diabetics// *Acta Physiol. Hung.* 1988, **7**, N 2, 233-241.
17. Cameron N.E., Cotter M.A., Robertson S. Effects of experimental diabetes on cardiac muscle contractile properties in rats: Dysfunction related to polyol pathway activity// *J. Physiol.* 1989, **409**, p.89.
18. Gilbert E.F. The effects of metabolic diseases on the cardiovascular system// *Amer. J. Cardio. Pathol.* 1987, **1**, N 2, 189213.
19. Allo S.N., Lincoln T.M., Wilson G.L. et al. Non-insulin-dependent diabetes-induced defects in cardiac cellular calcium regulation//*Amer. J. Physiol.* 1991, **260**, N.1, 1165-1171.
20. Schaffer S.W., Mozaffari M.S., Artman A., Wilson G.L. Basis for myocardial mechanical defects associated with non-insulin-dependent diabetes// *Amer. J. Physiol.* 1989, **256**, N 1, E25-E30.

Ультраструктурные изменения в левом желудочке миокарда крыс при экспериментальном сахарном диабете I типа

Т.И.Богданова, Л.Г.Воскобойник

Институт эндокринологии и обмена веществ им.В.П.Комиссаренко АМН Украины, 254114 Киев

Развитие стрептозототинового инсулинозависимого диабета у экспериментальных крыс сопровождается выраженными ультраструктурными изменениями в кардиомиоцитах и компонентах микроциркуляторного русла, которые затрагивают как элементы сосудистой стенки, так и внутрисосудистое содержимое. Морфологические изменения в миокарде определяются уже на ранних стадиях развития заболевания (2 нед), существенно нарастают по мере продолжительности эксперимента (2, 4, 6 мес) и могут быть расценены как признаки прогрессирующей диабетической кардиомиопатии.

Ultrastructural changes in the left ventricle of the myocard from rats with experimental type I diabetes mellitus

T. Bogdanova, L. Voskoboinik

V.P.Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 254114 Kyiv, Ukraine

The ultrastructural changes in cardiomyocytes and small blood capillaries were found in experimental rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. These changes effect all components of vascular wall and intravascular contents. The morphological changes in the myocard were observed at early stages of diabetes mellitus (2 wk), and they became more pronounced in later periods (2,4,6 mo). These abnormalities may be considered as signs of the progressing diabetic cardiomyopathy.

ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО ВВЕДЕННЯ ХОЛЕЦИСТОКІНІНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН БЕТА-КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ У НОРМІ І ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

А.В. Абрамов

Запорізький державний медичний університет, 330035 Запоріжжя

У експериментах на щурах досліджували вплив хронічного 10-добового інтрацеребровентрикулярного та інтраперитонеального введення холецистокініну тетрапептиду (30-33) на функціональний стан бета-клітин у нормі і при стрептозотоциніндукованому діабеті. Встановлено, що у здорових щурів холецистокінін стимулює синтез інсуліну і не впливає на рівень глюкози в крові. Введення холецистокініну хворим на діабет щурам посилює ступінь деструкції бета-клітин, зменшує синтез інсуліну і підвищує рівень глюкози в крові, порівняно з контрольною групою уражених діабетом тварин. У нормі і при діабеті інтрацеребровентрикулярне введення холецистокініну дає більш виражений ефект на бета-клітини підшлункової залози.

Ключові слова: бета-клітини підшлункової залози, холецистокінін, інсулін, експериментальний цукровий діабет.

У наших попередніх дослідженнях доведено, що розвиток експериментального цукрового діабету у щурів призводить до збільшення кількості ідентифікованих холецистокінінсинтезуючих нейронів у гіпоталамусі паралельно з підвищенням рівня власне нейропептиду у клітинах [1]. Враховуючи літературні дані про стимулюючий вплив холецистокініну (ХЦК) на синтез інсуліну в культурі бета-клітин [2-4], нами було висловлено припущення, що активація ХЦК-пептидєргічної системи гіпоталамуса при цукровому діабеті є одним із механізмів компенсації дефіциту інсуліну. Для підтвердження цього припущення ми вивчали вплив хронічного центрального і периферичного введення ХЦК на інсулінсинтезуючу функцію бета-клітин підшлункової залози у здорових та хворих на діабет щурів.

Методика

Дослідження проведено на 96 щурах-самцях лінії Вістар з масою тіла 250-270 г. Цукровий діабет у щурів моделювали одноразовим введенням стрептозотоцину (SIGMA Chemical, США) в дозі 50 мг/кг в 0,5 мл 0,1 М цитратного буфера (рН 4,5) внутрішньочеревинно. Для центрального - інтрацеребровентрикулярного - введення пептиду експериментальним тваринам заздалегідь імплантували сталеву канюлю в правий латеральний шлуночок мозку за координатами AP=9,5 мм; L=1,5 мм; H=4,5 мм [5]. Для хронічного введення використовували синтетичний холецистокініну тетрапептид (30-33) (Peninsula Laboratories Inc., США), який, будучи специфічним стосовно бета-клітин, за інсулінстимулювальним ефектом не поступається іншим аналогам ХЦК [4]. Введення ХЦК хворим на діабет щурам починали на 25-ту добу після введення стрептозотоцину, позаяк уже у цей період у тварин спостерігалися розвиток деструкції острівців, гіперглікемія і гіпоінсулінемія [6]. Доза для інтрацеребровентрикулярного введення ХЦК протягом 10 днів складала 20 пМ в об'ємі 3 мкл 0,9% розчину NaCl. Інтраперитонеально ХЦК вводили щоденно у дозі 10 нМ в 0,5 мл 0,9% розчину NaCl протягом 10 днів. Окремі групи здорових і хворих на цукровий діабет тварин за аналогічною схемою у тому ж обсязі вводили тільки 0,9% розчин NaCl. Через 24 год після останнього введення пептиду (після 16-годинного голодування) тварин декапітували під

етаміналовим наркозом (40 мг/кг) і відбирали кров для визначення концентрації глюкози, вилучали підшлункову залозу, яку фіксували в рідині Буена і після стандартної гістологічної обробки заливали в парафін. Визначення вмісту інсуліну в бета-клітинах підшлункової залози здійснювали за методом непрямой іммунофлюоресценції за допомогою набору фірми Peninsula Laboratories Inc. (США) відповідно до протоколу, що додається. Кількісне визначення вмісту інсуліну в бета-клітинах проводили за допомогою комп'ютерної цитофлуориметричної системи ЛЮМАМ-И2 (ЛОМО, Росія) за методикою, яка була описана раніше [7]. При цьому автоматично реєстрували кількість клітин у кожному островці і вміст гормону в кожній з них (в умовних мікроодинах - мКОД). Концентрацію глюкози в крові визначали за глюкозооксидазним методом за допомогою набору "ДИАКОМ Глюкоза ГО" (ДИАКОМ-СИНТЭКО, Росія). Статистичну оцінку експериментальних даних і вірогідність змін у групах визначали за допомогою t-критерія Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Було встановлено, що як інтрацеребровентрикулярне, так і інтраперитонеальне введення ХЦК протягом 10 днів здоровим тваринам збільшувало вміст інсуліну в бета-клітинах підшлункової залози. При цьому кількість бета-клітин у островцях не змінювалась, так само як і концентрація глюкози в периферичній крові (табл.). Слід зазначити, що інсулінстимулювальний ефект був помітнішим у разі центрального введення ХЦК, ніж у разі периферичного ($p < 0,0001$). Інсулінстимулювальний ефект ХЦК, який ми спостерігали в хронічному експерименті на здорових тваринах, відповідає результатам досліджень, проведених раніш на культурі бета-клітин [4, 7] і підшлункових залозах в умовах перфузії [3].

Таблиця. Концентрація глюкози в крові, кількість бета-клітин у островцях Лангерганса і вміст у них інсуліну в інтактних та уражених діабетом щурів при хронічному введенні холецистокініну тетрапептиду (30-33) ($M \pm m$)

Група тварин	Концентрація глюкози в крові, ммоль/л	Кількість бета-клітин в островцях	Вміст інсуліну в бета-клітинах, мКОД
Інтактні щури	$3,59 \pm 0,06$	$49,9 \pm 2,3$	$1893,5 \pm 4,9$
Щури з ЦВ-введенням 0,9% розчину NaCl	$3,64 \pm 0,07$	$49,0 \pm 2,7$	$1897,1 \pm 5,2$
Контрольні щури з ІП-введенням ХЦК	$3,99 \pm 0,14$	$48,4 \pm 2,2$	$2502,2 \pm 7,2^{a,c}$
Контрольні щури з ЦВ-введенням ХЦК	$4,17 \pm 0,25$	$47,8 \pm 2,8$	$2728,0 \pm 6,2^{a,b}$
Хворі на діабет щури	$8,49 \pm 0,41^{a,b,c}$	$15,3 \pm 1,4^{a,b,c}$	$1389,6 \pm 7,3^{a,b,c}$
Хворі на діабет щури з ЦВ-введенням 0,9% розчину NaCl	$8,52 \pm 0,47^{a,b,c}$	$14,0 \pm 1,7^{a,b,c}$	$1392,4 \pm 6,9^{a,b,c}$
Хворі на діабет щури з ІП-введенням ХЦК	$18,17 \pm 1,61^{a,b,c,d}$	$8,6 \pm 0,3^{a,b,c,d}$	$1118,1 \pm 6,1^{a,b,c,d}$
Хворі на діабет щури з ЦВ-введенням ХЦК	$23,13 \pm 0,72^{a,b,c,d,e}$	$8,9 \pm 0,4^{a,b,c,d,c}$	$920,6 \pm 7,0^{a,b,c,d,e}$

Примітка: ЦВ - інтрацеребровентрикулярне, ІП - інтраперитонеальне введення. а - $p < 0,05$ порівняно з інтактними щурами і з ЦВ-введенням тваринам 0,9% розчину NaCl; б - $p < 0,05$ порівняно з контрольними щурами з ІП-введенням ХЦК; с - $p < 0,05$ порівняно з контрольними щурами з ЦВ-введенням ХЦК; d - $p < 0,05$ порівняно з щурами із експериментальним діабетом; e - $p < 0,05$ при порівнянні показників групи тварин з експериментальним цукровим діабетом у разі ІП та ЦВ введення їм ХЦК.

Розвиток цукрового діабету у щурів супроводжувався деструкцією острівців Лангерганса, що характеризувалось зменшенням середньої кількості бета-клітин в острівцях і зниженням вмісту в них інсуліну. Наслідком цього було закономірне підвищення концентрації глюкози в крові (див. табл.). Однак, на відміну від інсулінстимулювальної дії у здорових тварин, хронічне введення ХЦК при цукровому діабеті призводило до протилежних наслідків - зниження вмісту інсуліну в бета-клітинах і посилення гіперглікемії. При хронічному введенні ХЦК хворим на діабет тваринам спостерігали (табл.), порівняно з контрольними ураженими діабетом щурами, ще більше посилення деструкції острівців Лангерганса, зменшення кількості бета-клітин у них ($p < 0,001$), зниження вмісту інсуліну в бета-клітинах ($p < 0,0001$) і збільшення концентрації глюкози в крові ($p < 0,0001$). Звертало на себе увагу те, що і в цьому разі ефекти центрального введення ХЦК були виражені більшою мірою, ніж за умови його периферичного введення.

Таким чином, хронічне введення ХЦК тваринам у нормі і при експериментальному діабеті справляє протилежний вплив на інсулінсинтезуючу функцію підшлункової залози. Ці факти підтверджують раніш висловлені припущення [8, 9] про порушення нейрохімічних і ендокринних процесів регуляції функції периферичних ендокринних залоз за умов патології, у тому числі й при діабеті. Протилежна спрямованість ефектів хронічного введення ХЦК у здорових і хворих на діабет тварин, на наш погляд, може бути обумовлена кількома причинами.

Так, при діабеті можливо порушується зв'язування ХЦК із рецепторами бета-клітин, що може бути пов'язане як із зменшенням кількості самих рецепторів [10, 11], так і кількості функціонуючих бета-клітин в острівці Лангерганса при цій патології. Враховуючи, що в основі патогенезу стрептозототицинового діабету тварин первинно лежить вибіркове пошкодження бета-клітин з наступною аутоімунною деструкцією острівців Лангерганса, хронічна стимуляція ХЦК секреції інсуліну непошкодженими бета-клітинами, мабуть, призводить до їх виснаження, що ми і спостерігали в нашому дослідженні.

Крім того, у діабетичних тварин можливо змінюється внутрішньоострівцева взаємодія між ендокринними клітинами, що викликає порушення регуляції синтезу і секреції гормонів, тим більш, що при цій патології спостерігається гіпертрофія альфа- і дельта-клітин з відповідним підвищенням синтезу і секреції глюкагону та соматостатину в кров [6]. Можливо, що при цьому переважає стимулююча дія ХЦК на альфа-клітини підшлункової залози. Незважаючи на окремі дані про розвиток транзиторної гіперглікемії після одноразового центрального введення ХЦК [12], ми вважаємо, що це питання потребує спеціального дослідження.

При діабеті можливе також порушення процесів зв'язування ХЦК із специфічними рецепторами в гіпоталамусі і зміни інтенсивності його синтезу в пептидергічних нейронах. Відомо, що у здорових тварин при центральному або периферичному введенні ХЦК спостерігається виражений анорексичний ефект [12, 13]. Ймовірно, що зменшення споживання їжі пов'язане із стимулюючим впливом ХЦК на гіпоталамічний центр насичення, який топографічно збігається з вентромедіальним ядром. При експериментальному діабеті в гіпоталамусі, зокрема, в паравентрикулярному

ядри, збільшується кількість ХЦК-синтезуючих нейронів [1] з підвищенням у них вмісту мРНК до ХЦК [14]. Відомо, що ця структура здійснює еферентну іннервацію вентромедіального ядра [15], яке має високу щільність ХЦК-містких імунореактивних волокон і рецепторів до ХЦК [16]. У той же час, розвиток цукрового діабету супроводжується дегенерацією нейронів вентромедіального ядра у щурів [17] і мишей [7], що може бути одним із механізмів гіперфагії при цукровому діабеті і порушення гіпоталамічної регуляції харчової поведінки, в тому числі з участю нейропептидів.

Висновки

1. Хронічне введення холецистокініну тетрапептиду (30-33) здоровим щурам супроводжується підвищенням вмісту інсуліну в бета-клітинах підшлункової залози і не впливає на рівень глікемії.

2. Хронічне введення холецистокініну тетрапептиду (30-33) щурам з цукровим діабетом посилює деструкцію острівців Лангерганса, зменшує вміст інсуліну в бета-клітинах і збільшує рівень глікемії.

3. Вплив хронічного інтрацеребровентрикулярного введення холецистокініну тетрапептиду (30-33) на функціональний стан бета-клітин виражений значно більшою мірою, ніж інтраперитонеального.

Література

1. Колесник Ю.М., Абрамов А.В., Мельникова О.В. Взаимоотношения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и пептидергической систем гипоталамуса у животных с экспериментальным сахарным диабетом // Пробл. эндокринологии. 1996, 42, N 1, 34-37.
2. Федотов В.П., Садовникова Н.В. Механизмы гормональной регуляции секреции инсулина // Сахарный диабет. Саратов, 1990, 46-52.
3. Kimura I., Nakashima N., Komori T. et al. Dependence of cholecystokinin-8-stimulated insulin release on high glucose levels is evidenced by pseudo-alpha-D-glucose in rat pancreas and islets // Japan J. Pharmacol. 1994, 64, N 2, 103-107.
4. Knittel J.J., Hafner B., Patel D.G., Verspohl E.J. Stimulation of insulin secretion from pancreatic islets by the cholecystokinin-tetrapeptide analogs Trp-Pro-Asp-Phe-NH₂ and Trp-Pro-Asp-Phe (4'-NO₂)-NH₂ // Pept. Res. 1990, 3, N 5, 224-227.
5. Paxinos G.B., Watson C.C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Sydney: Academic Press, 1986. 256 p.
6. Колесник Ю.М., Абрамов А.В. Эндокринная функция поджелудочной железы при экспериментальном сахарном диабете у крыс и ее особенности при адаптации к гипоксии // Пробл. эндокринологии. 1993, 39, N 5, 37-40.
7. Колесник Ю.М., Василенко Г.В., Абрамов А.В. Возможные механизмы гипоталамической регуляции эндокринной функции поджелудочной железы у мышей диабетической линии C57BL/KsJ // Архив патологии. 1994, 56, N 4, 56-60.
8. Федотов В.П., Садовникова Н.В., Чернушкина А.В. Инсулинотропные факторы в норме и при патологии // Пробл. эндокринологии. 1992, 38, N 5, 12-17.
9. Leibowitz S.F. Specificity of hypothalamic peptides in the control of behavioral and physiological processes // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1994, 739, 12-35.
10. Funakoshi A., Miyasaka K., Jimi A. et al. Little or no expression of the cholecystokinin-A receptor gene in the pancreas of diabetic rats (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty = OLETF rats) // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1994, 199, N 2, 482-488.
11. Funakoshi A., Miyasaka K., Kanai S. et al. Pancreatic endocrine dysfunction in rats not expressing the cholecystokinin-A receptor // Pancreas. 1996, 12, N 3, 230-236.
12. Williams G., Bloom S.R. Regulatory peptides, the hypothalamus and diabetes // Diabet. Med. 1989, 6, N 6, 427-485.

13. Bray G.A. Nutrient intake is modulated by peripheral peptide administration // *Obesity Res.* 1995, 3, N 1, S569-S572.
14. Sipols A.J., Baskin D.G., Schawartz M. Effect of intracerebroventricular insulin infusion on diabetic hyperphagia and hypothalamic neuropeptide gene-expression // *Diabetes.* 1995, 44, N 2, 147-151.
15. Swanson L.W., Sawchenko P.E. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei // *Ann. Rev. Neurosci.* 1983, 6, 269-324.
16. Schumacher M., Coirini H., McEwen B.S., Zaborszky L. Binding of [³H]cholecystokinin in the ventromedial hypothalamus is modulated by afferent brainstem projection but not by ovarian steroids // *Brain Res.* 1991, 564, N 1, 102-108.
17. Колесник Ю.М., Абрамов А.В., Василенко Г.В., Жулинский В.А. Участие различных отделов гипоталамуса в патогенезе экспериментального сахарного диабета у крыс // *Пробл. эндокринологии.* 1995, 41, N 5, 34-37.

Влияние хронического введения холецистокинина на функциональное состояние бета-клеток поджелудочной железы крыс в норме и при экспериментальном сахарном диабете

А.В.Абрамов

Запорожский государственный медицинский университет, 330035 Запорожье

В экспериментах на крысах исследовали влияние хронического 10-суточного интрацеребровентрикулярного и интраперитонеального введения холецистокинина тетрапептида (30-33) на функциональное состояние бета-клеток в норме и при стрептозотоцининдуцированном диабете. Установлено, что у здоровых крыс введение холецистокинина стимулирует синтез инсулина и не влияет на уровень глюкозы в крови. Введение холецистокинина крысам с экспериментальным диабетом усиливает степень деструкции бета-клеток, снижает синтез инсулина и повышает уровень глюкозы в крови, по сравнению с контрольной группой больных диабетом животных. В норме и при диабете интрацеребровентрикулярное введение холецистокинина оказывает более выраженный эффект на бета-клетки поджелудочной железы.

Effect of chronic cholecystokinin administration on functional state of pancreatic beta-cells in rats in the norm and experimental diabetes mellitus

A.V.Abramov

Zaporizhskiy State Medical University, 330035 Zaporizhzhya, Ukraine

The influence of chronic 10 day intracerebroventricular and intraperitoneal cholecystokinin tetrapeptide 30-33 (CCK) administrations on the functional state of beta-cells in the norm and streptozotocin-induced diabetes mellitus was studied in the experiments in rats. It was established that CCK administrations in normal rats stimulated insulin synthesis and did not make an influence on blood glucose level. CCK administrations in diabetic rats increased the degree of beta-cell destruction, reduced insulin synthesis and elevated blood glucose level in comparison with control diabetic animal group. It is revealed that CCK intracerebroventricular infusion makes more expressed effect on the pancreatic beta-cells both in the norm and diabetes.

УДК 615.361 1-084;614.876

СИНТЕЗ ТА ВМІСТ СТГ У ГІПОФІЗІ МОЛОДИХ ЩУРІВ У РАЗІ ОПРОМІНЕННЯ МАЛИМИ ДОЗАМИ

*М.Д. Тронько, Л.М. Бикова, Д.С. Сидоренко, Л.І. Онщенко,
О.В. Болъшова*

*Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН
України, 254114 Київ*

Досліджено вплив зовнішнього та внутрішнього опромінення в малих дозах на інтенсивність росту молодих тварин, синтез та вміст СТГ у їх гіпофізі. Встановлено, що дискретне опромінення молодих тварин протягом місяця загальною дозою в 4 Гр ушкоджує соматотропну функцію гіпофізу, що супроводжується затримкою росту. Внутрішнє опромінення тварин йодом-131 у малих дозах (навантаження на щитовидну залозу 5 Гр) не зумовлює глибоких змін соматотропної функції гіпофіза і не призводить до затримки росту.

Ключові слова: гіпофіз, гормон росту (СТГ), внутрішнє та зовнішнє іонізуюче опромінення, маса тіла тварин.

Гіпофіз дорослої особи розглядається як радіорезистентний орган. Для пригнічення його функції у дорослих тварин потрібні значні дози опромінення [1]. У молодому віці ця залоза чутливіша до опромінення. Так, загальне опромінення молодих білок у дозі 1 Гр супроводжувалося зменшенням маси тіла, а доза 6 Гр призводила до затримки росту дводобових щурів [2]. Стосовно організму людини в літературі є дані про те, що у разі опромінення дітей порушується соматотропна функція гіпофіза. Так, через 4-6 років після радіотерапії, проведеної з приводу різних пухлин головного мозгу у дітей, спостерігалася затримка їх росту. При цьому виявлено чітке зниження рівнів соматотропного та інших гормонів гіпофіза [3]. Гормональну недостатність цієї залози у молодих організмів, спричинену опроміненням, відзначено й іншими дослідниками [4, 5].

Чорнобильська катастрофа створила такі умови, за яких організм зазнає дії як внутрішнього, так і зовнішнього опромінення, тому вбачалось за потрібне вивчити вплив малих доз іонізуючого опромінення та інкорпорованого йоду-131 на синтез та вміст СТГ у гіпофізі

Матеріали і методи

Дослідження виконано на щурах-самках породи Вістар з масою тіла 90-100 г після їх дискретного опромінення в сумарній дозі 4 Гр. Тварин опромінювали на апараті РУМ-17 за таких умов: напруга - 180 кВ, сила струму - 15 мА, фільтри - 0,5 мм Си+1,0 мм АІ, фокусна відстань - 110 см; доза - 10 рентген за хвилину. Опромінення проводили через добу протягом місяця.

Йод-131 вводили доочередно молодим щурам-самцям лінії Вістар з розрахунку 0,860 кБк на 1 г маси тіла згідно з рекомендаціями лабораторії дозиметрії внутрішнього опромінення НДІ медичної радіології АМН Росії (м. Обнінськ), поглинена доза в щитовидній залозі складала 5 Гр.

Вміст соматотропіну в гіпофізі опромінених щурів визначали за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі за наявності натрію додецилсульфату [6]. Гелі забарвлювали 0,25 % розчином Кумасі голубим R-250, замість амідощварцу. Розчин Кумасі містив: 250 мг Кумасі, 45 мл метанолу, 9 мл оцтової кислоти та 46 мл дистильо-

ваної води. Кількість СТГ в гіпофізі визначали за допомогою денситометрії, як відсоток від кількості білків гіпофіза. Білоксинтезуючу здатність залози визначали шляхом вивчення інтенсивності включення ^{14}C -гідролізату білків хлорели в білки гіпофіза [7]. Підрахунок радіоактивності проводили на сцинтиляційному лічильнику LS 5000 TA фірми "Beckman" (США).

Результати досліджень та їх обговорення

Як свідчать дані таблиці, через місяць після першого опромінення вміст та синтез соматотропного гормону в гіпофізі щурів істотно не змінюються, але через 2,5 місяця після дії іонізуючого опромінення відмічається зниження як вмісту соматотропного гормону в гіпофізі опромінених щурів, так і інтенсивності синтезу його.

Контрольні зважування тварин протягом усього терміну експерименту засвідчили, що через місяць після початку опромінення приріст маси тіла опромінених щурів не відрізнявся від приросту маси тіла щурів контрольної групи. З часом інтенсивність росту опромінених щурів зменшувалася, і через 2,5 місяця приріст живої маси був значно менший, ніж у тварин контрольної групи.

Таблиця. Вплив зовнішнього та внутрішнього опромінення на вміст і синтез СТГ у гіпофізі та приріст живої маси молодих щурів у різні терміни опромінення ($M \pm m$; $n=5$)

Показники, що вивчалися	Рентгенівські промені				Інкорпорований йод-131			
	Коротка експозиція		Довга експозиція		Коротка експозиція		Довга експозиція	
	Конт-роль	Опромі-нення	Конт-роль	Опромі-нення	Конт-роль	Опромі-нення	Конт-роль	Опромі-нення
Вміст СТГ (% від вмісту білків у залозі)	28 ± 5	28 ± 2	31 ± 2	24 ± 1,3	38 ± 1,5	31 ± 1,3	40 ± 1	29 ± 1,9
	$P < 0,02$				$P < 0,02$		$P < 0,02$	
Синтез СТГ (імп/хв/мг білка)	27 ± 2,5	24 ± 2	29 ± 2,7	19 ± 1,4	77 ± 5,3	61 ± 9	49 ± 4	51 ± 5,9
	$P < 0,001$							
Приріст маси тіла, г	65 ± 3	62 ± 3,1	130 ± 4	105 ± 9	30 ± 3,4	32 ± 7,6	50 ± 15	66 ± 6
	$P < 0,05$							

Тобто через 2,5 місяця після початку опромінення приріст живої маси тварин зменшується адекватно зменшенню рівня СТГ в гіпофізі та включення мітки в білки цієї залози. Ці дані свідчать про те, що зміни в гіпофізі, спричинені опроміненням, мають глибокий характер і проявляються у більш віддалені строки, що підтверджує дані інших авторів [3,8].

Водночас дія інкорпорованого йоду-131 на функцію гіпофіза дещо відрізняється від впливу зовнішнього опромінення на цю залозу. Так, через 30 діб після введення радіоактивного йоду ми реєстрували зниження вмісту соматотропного гормону в гіпофізі щурів, за незмінної інтенсивності синтезу цього гормону.

Зменшення рівня СТГ в гіпофізі було тимчасовим і не призвело до затримки росту опромінених тварин (непрямым свідченням цього є показники приросту живої маси щурів). Через 2,5 місяця після введення йоду-

131 приріст живої маси опромінених тварин не відрізнявся від приросту живої маси контрольних тварин.

Радіаційний вплив можна розглядати як один із варіантів стресу, де важлива роль відводиться залозам внутрішньої секреції. В реакції організму на стрес обов'язково беруть участь і гормони гіпофіза, які сприяють нормальному функціонуванню щитовидної залози, надниркових залоз, яєчників [9]. Цілком імовірно, що на введення щурів радіоїоду гіпофіз відповів виведенням у кровообіг значної кількості соматотропного гормону (як реакція на стрес), тому ми реєстрували зниження вмісту СТГ в гіпофізі щурів. Оскільки стресорні реакції відносно короткочасні, то за сприятливого завершення стресу гормональні показники швидко нормалізуються, не спричиняючи помітних наслідків [9, 10].

Висновки

1. Зовнішнє дискретне опромінення молодих тварин протягом місяця загальною дозою в 4 Гр ушкоджує соматотропну функцію гіпофіза, що супроводжується затримкою росту.

2. Інкорпорований йод-131 в дозі 0,860 кБк/г, в щитовидній залозі - 5 Гр, не спричиняє глибоких змін соматотропної функції гіпофіза.

Література

1. Москалев Ю.М. Отдаленные последствия ионизирующих излучений. М.: Энергоатомиздат, 1991, 301-309.
2. Коггл Дж. Биологические эффекты радиации Пер. с англ. М.: Энергоатомиздат, 1986. 184 с.
3. Дедов В.И. Современные проблемы биологического действия малых доз ионизирующей радиации: реакция и состояние нейроэндокринной системы // Проблемы радиационной медицины: респ. межвед. сб. К.: Здоров'я, 1992, №6, 140-143.
4. Колодченко В.П. Особенности показателей конституции школьников г. Киева до аварии на ЧАЭС и после нее // Тез. докл. радиобиол. съезда. Пушино, 1993, 478-479.
5. Цыб А.Ф., Матвиенко Е.Г., Горобец В.Ф. Функциональное состояние гипофизарно - тиреоидной системы у детей и подростков, подвергшихся радиационному воздействию в результате аварии на ЧАЭС // Мед. радиол. 1991, N7, 4-7.
6. Мартыненко Ф.П. Соматотропная функция аденогипофиза и нарушение белкового обмена при гипо и гипертиреозе : Диссертация на соискание ученой степени доктора мед. наук. К., 1983, 31-57.
7. Мартыненко Ф.П., Литвиненко Е.А., Поликарпова Н.И. Влияние соматотропина на включение тимидина в ДНК и аминокислот в белки тимоцитов гипо- и гипертиреоидных крыс // ДАН УССР, сер Б. 1985, N4, 71-73.
8. Ильин В.Н., Борисова В.В., Ветух В.А. Отдаленные биологические эффекты комбинированного действия радионуклидов различной тропности. М.: Энергоатомиздат, 1991. 160 с.
9. Тронько Н.Д., Беникова Е.А., Олейник В.А. Радиоактивное излучение и железы внутренней секреции. К.: Здоров'я, 1990. 24 с.
10. Булдаков Л.А. Радиоактивные вещества и человек. М.: Энергоатомиздат, 1990. 160 с.

Синтез и содержание СТГ в гипофизе молодых крыс при облучении малыми дозами

Н.Д. Тронько, Л.М. Быкова, Д.С. Сидоренко, Л.И. Онищенко, Е.В.Большова

Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, 254114 Киев

Изучено влияние внешнего и внутреннего облучения в малых дозах на интенсивность роста молодых крыс, синтез и содержание СТГ в их гипофизе. Установлено, что дискретное облучение молодых крыс на протяжении месяца суммарной дозой в 4 Гр нарушает соматотропную функцию гипофиза, что сопровождается задержкой роста. Внутреннее облучение животных йодом-131 в малых дозах (нагрузка на щитовидную железу 5 Гр) не вызывает глубоких изменений соматотропной функции гипофиза и не приводит к задержке роста.

Synthesis and contents of growth hormone in the hypophysis of young rats after low dose irradiation

N.D. Tronko, L.M. Bykova, D.S. Sidorenko, L.I. Onischenko, E.V. Bolshova

V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 254114 Kyiv, Ukraine

The influence of low dose external and internal irradiation on the growth of young rats, synthesis and growth hormone contents in the hypophysis was studied. It was shown that discrete 10 irradiation of young rats during a month in a total dose of 4 Gy disturbed the somatotropic function of the hypophysis attended by growth delay. Internal low dose irradiation (irradiation dose of the thyroid gland is 5 Gy) does not cause deep changes of somatotropic function of the hypophysis and growth delay.

СТРУКТУРНІ ВЛАСТИВОСТІ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ У ЗДОРОВИХ І ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ, ЩО ПОСТІЙНО ПРАЦЮВАЛИ В 30-КІЛОМЕТРОВІЙ ЗОНІ ЧАЕС У 1986–1994 РР.

Н.О. Зуєва

Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, 254114 Київ

Досліджено флюоресцентними методами структурний стан плазматичних мембран еритроцитів і осмотичну резистентність еритроцитів 36 ліквідаторів наслідків аварії (ЛНА) на ЧАЕС (33 чоловіки і 3 жінки віком 25–45 років, сумарна поглинена доза складала 10–100 сГр) і 15 чоловіків контрольної групи такого самого віку, що перенесли психогенний стрес. У 10 ЛНА було вперше виявлено цукровий діабет II типу. Засвідчено значне зниження осмотичної резистентності еритроцитів у гіпотонічному та ізотонічному розчинах натрію хлориду в ЛНА, що страждають на цукровий діабет. Спостерігається виражена перебудова в мембранах еритроцитів, особливо білків. Висловлюється припущення про можливе порушення функціонування рецепторів до гормонів, зокрема, інсулінових. Такі зміни можуть зумовлюватись радіаційно індукованими причинами.

Ключові слова: цукровий діабет, мембрана еритроциту, наслідки аварії на ЧАЕС.

Клітинні мембрани являють собою основні субстрати і місце прикладання регуляторних ефектів більшості фізіологічних і патологічних чинників, у тому числі іонізуючого опромінення. Іонізуюче опромінення впливає на структурно-функційний стан клітини політропно. Залежно від дози радіаційні ефекти можуть мати протилежне спрямування стосовно окремих реакцій метаболізму чи конкретної функції. Висока чутливість клітин до радіаційного опромінювання в репродуктивній фазі зумовлена переважно геномними чинниками. Однак, за низького рівня впливу значний внесок в ефекти, що спостерігаються, вкладають епігеномні механізми, серед яких провідне місце належить мембранозалежним процесам [1, 2] Метою цього дослідження було вивчення структурного стану плазматичних мембран еритроцитів та осмотичної стійкості еритроцитів в ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, що постійно працювали у зоні з 1986 по 1994 рік. Серед них були здорові люди і хворі на цукровий діабет (ЦД).

Матеріали і методи

Показники визначали в гепаринізованій крові 36 ЛНА (33 чоловіка, 3 жінки віком 25–45 років, що постійно працювали у 30-кілометровій зоні з 1986–1987 рр. до 1993–1994 рр. і отримали сумарну поглинену дозу від 10 до 100 сГр). Обстеження проводили у 1994 р. У 10 з них було виявлено цукровий діабет II типу. До участі в ліквідації наслідків аварії ці люди були фізично здоровими. Загально прийнятим вважають, що найважливішими чинниками 30-кілометрової зони є психогенний стрес та дія іонізуючого опромінення [3]. Тому для групи порівняння відібрано 15 чоловіків відповідного віку - учасників бойових дій (УБД) в Афганістані, що у 1991–1994 рр. перенесли психогенний стрес війни і ніколи не зазнавали дії іонізуючого опромінення.

Плазматичні мембрани еритроцитів отримували за методом Dodge та співавторів [4]. Параметри спектрів флюоресценції реєстрували згідно з методом [5] на флюоресцентному

спектрофотометрі "Hitachi MPF-4" (Японія) в 1 см кюветі за температури 18°C. Концентрація мембран еритроцитів за білком складала 0,15 мг/мл, 8-аніліннафталінсульфонату (АНС) - $1,10^{-6}$ М і пірену - $1,10^{-5}$ М (обидва зонди фірми "Serva"). Довжина хвилі збудження при реестрації білкової флюоресценції і індуктивно-резонансного переносу енергії складала 280 нм, а для зняття спектрів флюоресценції АНС - 380 нм. Ширина вхідних і вихідних щілин у обох випадках дорівнювала 8 нм. Під час визначення індексу полярності (відношення інтенсивності смуг 373 нм і 393 нм) довжина хвилі збудження складала 340 нм, а ширина щілини монохроматора емісії - 0,75 нм, що дозволяло рееструвати структуру спектру флюоресценції пірену з достатнім дозволом. Концентрацію білка визначали за методом Lowry і співавторів. [6] Осмотичну резистентність еритроцитів визначали за методом [7]. У всіх осіб проводили загальноклінічний аналіз крові. Статистична обробка даних - за критерієм t Стьюдента [8].

Результати та їх обговорення

Першим етапом роботи було вивчення осмотичної резистентності еритроцитів за їх гемолізом у гіпотонічному (0,6%) та ізотонічному розчинах натрію хлориду. Як свідчать дані табл. 1, у ізотонічному розчині натрію хлориду гемоліз еритроцитів збільшувався у напрямі від рівня в УБД до ЛНА без діабету і ЛНА, хворих на цукровий діабет. При зниженні концентрації розчину до 0,6% спостерігається підвищення гемолізу еритроцитів у обстежених всіх груп, однак збільшення цього показника найвиразніше у представників групи ЛНА з ЦД.

При цьому загальна кількість еритроцитів і вміст гемоглобіну у всіх групах обстежених статистично не відрізнялись (табл. 2).

Таблиця 1. Показники гемолізу еритроцитів, %

NaCl, %	УБД n=15	ЛНА n=26	ЛНА з ЦД n=10
0,6	1,2 ± 0,4	4,9 ± 0,7	10,3 ± 0,9*
0,9	0,6 ± 0,1	2,9 ± 0,5*	7,7 ± 1,2*

Примітка: * - наявність вірогідних відмінностей по відношенню до контрольної групи (УБД), $P \leq 0,05$; n - кількість осіб у групі

Таблиця 2. Кількість еритроцитів і вміст гемоглобіну

Показник	УБД n=15	ЛНА n= 26	ЛНА з ЦД n=10
Кількість еритроцитів, $\times 10^{12}/\text{л}$	5,0±0,5	4,8±0,2	4,7±0,3
Концентрація гемоглобіну, г/л	145,0±4,1	140,0±5,2	141,1±4,9

Подальшим етапом роботи було вивчення флюоресцентними методами структурного стану плазматичної мембрани еритроцитів у тих самих осіб. Оцінювали такі параметри:

1. Інтенсивність власної флюоресценції мембранних білків, яка відображає їх конформаційний стан.

2. Інтенсивність флюоресценції пірену і АНС - зондів, що використовуються для оцінки гідрофобних (глибинних) і полярних (поверхневих) ділянок біомембран відповідно.

3. Ефективність індуктивно-резонансного переносу енергії (ІРПЕ) донорно-акцепторних пар (ДАП): білок-пірен і білок-АНС, що відображають білок-ліпідні і міжбілкові взаємодії в мембранах.

4. Ступінь ексимеризації пірену, що характеризує мікрров'язкість ліпідного бішару.

Результати дослідження наведено в табл. 3.

Таблиця 3. Результати дослідження флюоресцентними методами структурного стану плазмолемі еритроцитів в УБД, ЛНА без наявності цукрового діабету і ЛНА з цукровим діабетом

Об'єкт вимірювання	Довжина хвилі збудження, нм	Спектральні показники	Значення спектральних показників		
			УБД (15)	ЛНА (26)	ЛНА з ЦД (10)
Білкові люмінофори	280	Інтенсивність, %	83 ± 8	57 ± 10*	48 ± 11*
		Положення максимуму (нм)	330 ± 1,0	330 ± 1,0	330 ± 1,0
		Асиметрія спектра (нм)	0,55 ± 0,01	0,49 ± 0,03*	0,76 ± 0,04*
		Напівширина спектра (нм)	62 ± 1,0	68 ± 1,0	62 ± 1,0
		Напівширина на короткохвильовому крилі (нм)	22 ± 2,0	22,4 ± 1,0	27,5 ± 1,0*
		Напівширина на довгохвильовому крилі (нм)	40,0 ± 1,0	45 ± 1,0*	33,0 ± 1,0*
		Ефективність ІРПЕ	0,16 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,25 ± 0,03*
ДАП: білкові люмінофори – АНС	280	Ефективність ІРПЕ	0,37 ± 0,03	0,15 ± 0,01*	0,13 ± 0,02*
ДАП: білкові люмінофори – пірен	280	Індекс полярності	1,21±0,02	1,22±0,2	1,80±0,02
Пірен	340	Ступінь ексимеризації	0,38±0,03	0,25±0,02*	0,30±0,02*

Примітка: * - наявність вірогідних відхилень від контролю (УБД), $p \leq 0,05$; n - в дужках; ДАП - донорно-акцепторна пара; РПЕ - індуктивно-резонансне перенесення енергії.

Отримані дані можна пояснити з позицій спектрально-флюоресцентної моделі, що розроблена Е.А. Бурштейном [8]. За даними таблиці 3, суттєва тенденція до збільшення напівширини спектра в ЛНА (68,0±1,0 нм) порівняно з цим показником в УБД (62,0±1,0 нм) може свідчити про дезорганізацію структури білкових молекул і збільшення їх гетерогенності. При цьому незмінність короткохвильового (22,0±1,0 нм в УБД і 22,4±1,0 нм в ЛНА) і розширення довгохвильового крила спектра (40,0±1,0 нм і 45,0±1,0 нм відповідно), а також зменшення показника асиметрії спектральної лінії до 0,49±0,03 нм може свідчити про те, що у міру розпушування білків зменшується рівень їх занурення в ліпідний бішар, тобто про віддалення від

глибинно розташованого в ліпідному матриксі пірену. Водночас у хворих на ЦД спостерігається принципова різниця в спектральних показниках, що характеризують конформаційний стан мембран еритроцитів, порівняно з показниками інших ЛНА. Напівширина спектра білкової флюоресценції залишається незмінною, але істотно зростає його асиметрія внаслідок збільшення внеску короткохвильового його скату ($27,5 \pm 1,0$) і зменшення довгохвильового ($33,0 \pm 1,0$). Цей факт може бути пояснений переміщенням поверхневих триптофанів у інтер'єр білкових макромолекул. У той же час значне зниження вірогідності ІРПЕ на пірен, очевидно, свідчить про те, що у міру переміщення триптофанів усередину білків виникає переміщення тирозилів на поверхню глобули, що супроводжується зниженням рівня занурення в ліпідний бішар. Незмінність вірогідності ІРПЕ з люмінофорів на АНС може свідчити і ще раз підтверджувати дані власної флюоресценції білків. У міру конформаційних перебудов і змін ліпід-білкових взаємовідносин, що свідчать про зменшення об'ємних розмірів мембранних білків, компенсується зменшення відстані між ДАП: білкові люмінофори - АНС, тобто зменшується рівень їх занурення.

Таким чином, можна вважати, що зміни конформаційних властивостей мембрани, які відрізняються у різних категорій осіб, є молекулярною основою прояву їх мембранних макровластивостей. Це підтверджується результатами вивчення осмотичної резистентності еритроцитів. Оскільки під час дослідження спостерігалась односпрямована зміна осмотичної стійкості еритроцитів за їх гемолізом у послідовності, що знижується, в УБД, ЛНА без наявності ЦД і з наявністю останнього, тобто є підстави стверджувати, що стійкість мембран обумовлена насамперед ліпід-білковими взаємовідносинами і конформаційним станом мембранних білків. Глибша структурна перебудова в мембранних білках еритроцитів при ЦД, ніж у інших ЛНА свідчить про первинну роль таких порушень у збереженні цілісності мембран. У той же час не зайве наголосити, що як в ЛНА без наявності ЦД, так і в ЛНА, хворих на ЦД, виникають односпрямовані зміни ліпід-білкових взаємодій - зменшення рівня занурення білків у ліпідний матрикс. Подібні зміни структурного стану плазматичних мембран можуть обумовлювати найрізноманітніші мембранозалежні процеси, що регулюють функцію клітини, в т.ч. рецепцію різних гормонів, зокрема інсуліну.

Висновки

1. Осмотична резистентність еритроцитів істотно знижена в ЛНА з наявністю ЦД як у гіпотонічному, так і в ізотонічному розчинах натрію хлориду без статистичної різниці загальної кількості еритроцитів і вмісту гемоглобіну.
2. Осмотична резистентність еритроцитів, як показника функційного стану мембрани, зумовлена змінами конформаційних властивостей мембран, насамперед ліпідбілковими взаємовідносинами і конформаційним станом мембранних білків.
3. Глибша структурна перебудова в мембранних білках еритроцитів в ЛНА з наявністю ЦД, ніж у інших ЛНА може свідчити про важливу роль таких порушень у функціонуванні рецепторів, зокрема інсулінових.

4. Можна з певною часткою впевненості констатувати, що виявлена структурна модифікація мембран зумовлена радіаційно індукованими причинами.

Література

1. Коломийцева И.К. Радиационная биохимия мембранных липидов. М.: Наука, 1989. 181 с.
2. Kuzin A.M., Ruda V.P., Morgovoi E.J. The role of receptors in radiation hormesis // *Radiat. Environ. Biophys.* 1991, 30, N 4, 266.
3. Чернобыльская катастрофа. Под ред. акад. АМН Украины В.Г. Барьяхтара.: Наукова думка, 1995. 559.
4. Dodge J.T., Mitchell C.F., Hanahan D.S. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes // *Arch. Biochem. Biophys.* 1963, 100, N 1, 119-128.
5. Фрайфелдер Д. Физическая биохимия. М.: Мир, 1980, 415-449.
6. Lowry O.H., Rosebrond N.J., Farr A.L., Rendall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, N 1, 265-269.
7. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. Под ред. В.В. Меньшикова. М., Медицина, 1987, 119-120.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352.
9. Бурштейн Э.А. Собственная люминесценция белка // *Итоги науки и техники. Сер. биол.* М.: ВИНТИ, 1977, 7, 189.

Структурные свойства мембран эритроцитов у здоровых и больных сахарным диабетом, которые постоянно работали в 30-километровой зоне ЧАЭС в 1986-1994 гг.

Зуева Н.А.

Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, 254114 Киев

Исследованы флуоресцентными методами структурное состояние плазматических мембран эритроцитов и осмотическая резистентность эритроцитов 36 ликвидаторов последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС, 33 - мужчины и 3 женщины в возрасте от 25 до 45 лет, в т.ч. 10 человек с сахарным диабетом II типа, работавших в 30-км зоне ЧАЭС с 1986 по 1994 г., суммарная поглощенная доза 10-100 сГр, и 15 мужчин контрольной группы соответствующего возраста, перенесших психогенный стресс. Показано более значительное снижение осмотической резистентности эритроцитов в гипотоническом и физиологическом растворах хлорида натрия у ЛПА, страдающих СД. У этих же лиц наблюдаются более выраженные конформационные перестройки в мембранах эритроцитов, особенно белков. Делается предположение о возможном нарушении функционирования рецепторов к гормонам и, в частности, к инсулину. Такого рода изменения могут быть вызваны радиационно-индуцированными причинами.

Structural properties of erythrocyte membranes in diabetic patients and non-diabetic persons who worked within a 30-kilometers zone of the Chernobyl Atomic Power Station for a long time

N.A. Zuyeva

V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 254114 Kyiv, Ukraine

Osmotic erythrocyte resistance and structural properties of erythrocyte membrane was investigated using fluorescent methods in 36 clean-up workers (33 men and 3 women including 10 patients with type II diabetes mellitus aged 25-45) who worked in 1986-1994 within a 30-km zone of the Chernobyl Atomic Power Station (total absorbed dose 10-110 cGy) and in 15 men of the same age from control group who survived psychological stress. More significant decrease in osmotic erythrocyte resistance in hypotonic and physiological NaCl solution was shown in diabetic clean-up workers. In these persons more pronounced conformational changes in erythrocyte membrane proteins. It is proposed a possible disorders at the membrane receptor level function, including insulin receptors.

Such changes may result from radiation-induced causes.

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ЕНКЕФАЛІНЕРГІЧНОЇ ОПІОЇДНОЇ СИСТЕМИ МОЗКУ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ГІПОФІЗАРНО-НАДНИРКОВОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ СИНТЕТИЧНОГО АНАЛОГУ ЛЕЙЦИН-ЕНКЕФАЛІНУ - ДАЛАРГІНУ

Л.М. Калинська

Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН України, 254114 Київ

Виявлено, що активізація енкефалінергічних опіоїдних механізмів у гіпоталамусі і гіпофізі після периферичного введення синтетичного аналогу лейцин-енкефаліну - даларгіну щурам супроводжується гальмуванням кортикотропної функції аденогіпофізу в нормі та в умовах гіперсекреції АКТГ після адrenaлектомії.

Ключові слова: енкефалінергічна опіоїдна система, гіпофізарно-надниркова система, лейцин-енкефалін, даларгін, головний мозок, гіпофіз, адrenaлектомія.

У літературі, присвяченій пептидним регуляторам та взаємодії їх з гормонами, є свідчення про участь опіоїдів у регуляції функції гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи (ГГНС) [1-3]. Крім того, наводяться результати, які свідчать про вплив гормонів ГГНС на активність енкефалінергічних опіоїдних систем (ЕОС) мозку - вміст енкефалінів [4-6], а також на процеси їх вивільнення і синтезу [7-9], рецепції та інактивації [10-12]. Згідно з нашими даними, в умовах значного підвищення і зниження рівня кортикостероїдів включається опіоїдний антистресорний механізм шляхом активізації енкефалінергічної нейропередачі - посилення процесів вивільнення і інактивації лейцин-енкефаліну в гіпоталамусі, стріатумі і довгастому мозку та процесів транспорту пептиду в кров. Специфічною реакцією ЕОС на дію гормонів є зміна активності системи в аденогіпофізі - зниження рівня і рецепції лейцин-енкефаліну в умовах гіпокортицизму та підвищення їх в умовах гіперкортицизму [12-15]. Враховуючи характер змін енкефалінів мозку в умовах експериментального гіпокортицизму, цікаво було дослідити вплив надлишку екзогенного енкефаліну на активність ЕОС мозку і гіпофізу та на функціональний стан гіпофізарно-надниркової системи (ГНС) у інтактних і адrenaлектомованих щурів.

Матеріали і методи

Досліди проводили на щурах-самцях лінії Вістар з масою тіла 170-220 г. Даларгін (Д-ала²-лей⁵-арг⁶-енкефалін, Кардіологічний центр РАМН) - один із синтетичних аналогів лейцин-енкефаліну вводили внутрішньочеревно в дозі 100 мкг/кг маси тіла.

Першу і другу групу складали щури, яким одноразово та багаторазово (протягом 7 діб) вводили даларгін. Тварин декапітували через 4 год після одноразового введення препарату та через 24 год після останньої ін'єкції за багаторазового введення даларгіну.

Третю групу складали адrenaлектомовані щури, яким п'ятиразово на 7-му, 8-му і 9-ту добу після двобічної адrenaлектомії (починаючи з 7-ї доби після операції з інтервалом 12 год) вводили даларгін. Щурів декапітували на 10-ту добу після адrenaлектомії і 24 год після введення даларгіну.

Щурам контрольної групи одно- або багаторазово вводили ізотонічний розчин натрію хлориду. Двобічну адrenaлектомію проводили під ефірним наркозом. У дослідях з адrenaлектомованими щурами контролем були несправжньооперовані тварини.

Після декапітації тварин головний мозок виймали з черепної коробки, промивали охолодженим ізотонічним розчином натрію хлориду, звільняли від мозкових оболонок і кровоносних судин. Після цього виділяли гіпоталамус, стріатум, довгастий мозок і аденогіпофіз.

Вміст лейцин-енкефаліну визначали за методом радіоімунного аналізу за допомогою наборів фірми "Instar" (США) після екстракції опіюїдних пептидів із тканини мозку розчином оцтової кислоти (0,1 моль/л) [16].

Ступінь специфічного зв'язування ^3H -лейцин-енкефаліну (1,81 ТБк/ммоль, фірми "Amersham", Великобританія) з опіатними рецепторами у препаратах синаптичних мембран мозку [17] встановлювали за допомогою визначення різниці зв'язування мітки за відсутності (дослідна проба) й наявності (контрольна проба) в реакційній суміші неміченого ліганду. Розділення зв'язаного і вільного енкефаліну проводили за методом вакуумного фільтрування через фільтри "Sinpor" (Чехія). Величину специфічного зв'язування виражали у фемтомолях на 1 мг білка.

Активність енкефалінгідролізуючих ферментів - енкефалінази А, енкефалінази В і енкефалінамінопептидази, які каталізують розщеплення різних зв'язків у молекулі енкефаліну, визначали у фракції синаптичних мембран за рівнем радіоактивності продуктів ферментативної деградації ^3H -лейцин-енкефаліну (1,81 ТБк/ммоль, "Amersham" (Великобританія) за допомогою методу тонкошарової хроматографії [18]. Хроматографію здійснювали на пластинках "Silufol 254" (Чехія). Активність енкефалінази А виражали в пікомолях тир-глі-глі на 1 мг білка за 1 хв, активність енкефалінази В - в пікомолях тир-глі на 1 мг білка за 1 хв, енкефалінамінопептидази - в пікомолях тирозину на 1 мг білка за 1 хв.

Рівень кортикотропіну в плазмі крові встановлювали за допомогою радіоімунних наборів фірми "Amersham" (Великобританія) та "CIS" (Франція) і виражали у нанограмах на 1 л плазми. Вміст 11-ОКС у плазмі крові щурів визначали за допомогою флюорометричного мікрометоду [19] і виражали у наномолях на 1 л.

Вміст білка визначали за методом Lowry [20] після попередньої екстракції ліпідів органічними розчинниками. Одержані результати обробляли за методом варіаційної статистики, використовуючи критерій t Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Встановлено, що одноразове введення даларгіну інтактним щурам призводить до зниження специфічного зв'язування ^3H -лейцин-енкефаліну з синаптичними мембранами гіпоталамусу (табл.1), а також до зниження рівня гіпоталамічного лейцин-енкефаліну (табл.2). Це свідчить про проникнення препарату в гіпоталамус і зв'язування його з опіатними рецепторами. Одночасно з цим, у гіпоталамусі підвищується активність одного з енкефалінгідролізуючих ферментів - енкефалінази А (табл. 3). Зниження рівня лейцин-енкефаліну в гіпоталамусі відзначено також після багаторазового протягом 7 діб уведення даларгіну; в цій серії дослідів зниження вмісту пептиду спостерігається також у стріатумі (табл. 2). Відомо, що у разі дії надлишку екзогенних опіюїдних пептидів, зокрема морфіну, можуть гальмуватися процеси синтезу ендегенних енкефалінів і активізуватися процеси їх розщеплення [21, 22]. У довгастому мозку після введення даларгіну виразних змін специфічного зв'язування міченого лейцин-енкефаліну, вмісту пептиду та активності енкефалінгідролізуючих ферментів не виявлено (див.табл. 1 - 3).

У аденогіпофізі після введення даларгіну зниження вмісту лейцин-енкефаліну не помічено. Відбувається навіть деяке підвищення його рівня (див. табл. 2), що разом із підвищенням рецепторного зв'язування енкефаліну (див.табл. 1) і активності енкефаліназ (див. табл. 3) свідчить про активізацію ендегенної ЕОС аденогіпофіза, процесів метаболізму енкефаліну.

Таблиця 1. Специфічне зв'язування ^3H -лейцин-енкефаліну з рецепторами синаптичних мембран у різних структурах мозку і аденогіпофізі щурів після одноразового введення даларгіну ($M \pm m$, фмоль/мг білка, $n = 6$)

Об'єкт дослідження	Контроль	Даларгін
Гіпоталамус	$521,46 \pm 31,22$	$286,25 \pm 18,82$ $P < 0,001$
Стріатум	$625,89 \pm 34,58$	$518,72 \pm 32,58$ $0,1 > P > 0,05$
Довгастий мозок	$308,21 \pm 16,56$	$297,51 \pm 28,02$ $P > 0,5$
Аденогіпофіз	$732,51 \pm 33,03$	$958,38 \pm 31,25$ $P < 0,01$

Таблиця 2. Вміст лейцин-енкефаліну в структурах мозку, гіпофізі (пмоль/мг тканини) і плазмі крові (пмоль/мл) щурів після одно- і багаторазового введення даларгіну ($M \pm m$, $n=5$)

Об'єкт дослідження	Контроль	Даларгін
	<i>Одноразове введення</i>	
Гіпоталамус	$0,316 \pm 0,019$	$0,183 \pm 0,010$ $P < 0,001$
Стріатум	$1,017 \pm 0,054$	$0,932 \pm 0,062$ $P > 0,2$
Довгастий мозок	$0,323 \pm 0,019$	$0,309 \pm 0,010$ $P > 0,5$
Аденогіпофіз	$0,413 \pm 0,079$	$0,585 \pm 0,045$ $P = 0,05$
Плазма крові	$2,02 \pm 0,35$	$2,75 \pm 0,22$ $P > 0,1$
	<i>Багаторазове введення</i>	
Гіпоталамус	$0,674 \pm 0,101$	$0,258 \pm 0,065$ $P < 0,01$
Стріатум	$0,793 \pm 0,073$	$0,405 \pm 0,043$ $P < 0,01$
Довгастий мозок	$0,364 \pm 0,011$	$0,373 \pm 0,024$ $P > 0,5$
Аденогіпофіз	$0,292 \pm 0,027$	$0,467 \pm 0,070$ $P < 0,05$
Плазма крові	$1,82 \pm 0,37$	$1,97 \pm 0,51$ $P > 0,5$

Підвищення вмісту лейцин-енкефаліну в аденогіпофізі може бути пов'язано з активізацією процесів транспорту лейцин-енкефаліну з гіпоталамуса в аденогіпофіз та процесів акумулювання пептиду в залозі, враховуючи дані літератури про те, що лейцин- і метіонін-енкефаліни, які синтезуються в ядрах гіпоталамуса, можуть акумулюватися в аденогіпофізі, потрапляючи до нього через кровоносні судини ворітної системи гіпофіза [22, 23].

Таблиця 3. Активність енкефалінгідролізуючих ферментів у мозку і гіпофізі щурів після одноразового введення даларгіну ($M \pm m$, пмоль/хв/мг білка, $n = 5$)

Об'єкт дослідження	Контроль	Даларгін
<i>Енкефаліназа А</i>		
Гіпоталамус	0,80 ± 0,04	0,94 ± 0,04 P < 0,05
Стріатум	1,00 ± 0,07	1,18 ± 0,06 0,1 > P > 0,05
Аденогіпофіз	1,27 ± 0,08	1,53 ± 0,07 P < 0,05
<i>Енкефаліназа В</i>		
Гіпоталамус	0,63 ± 0,06	0,65 ± 0,07 P > 0,5
Стріатум	0,84 ± 0,09	0,89 ± 0,07 P > 0,5
Аденогіпофіз	1,59 ± 0,11	1,52 ± 0,14 P > 0,5
<i>Енкефалінамінопептидаза</i>		
Гіпоталамус	9,20 ± 0,24	8,77 ± 0,36 P > 0,5
Стріатум	13,40 ± 0,65	15,23 ± 0,70 0,1 > P > 0,05
Аденогіпофіз	14,60 ± 1,39	21,30 ± 1,75 P < 0,02
<i>Пептидилдипептидаза</i>		
Гіпоталамус	0,66 ± 0,05	0,69 ± 0,04 P > 0,5
Стріатум	1,10 ± 0,12	1,09 ± 0,09 P > 0,5
Аденогіпофіз	1,22 ± 0,10	1,32 ± 0,15 P > 0,5

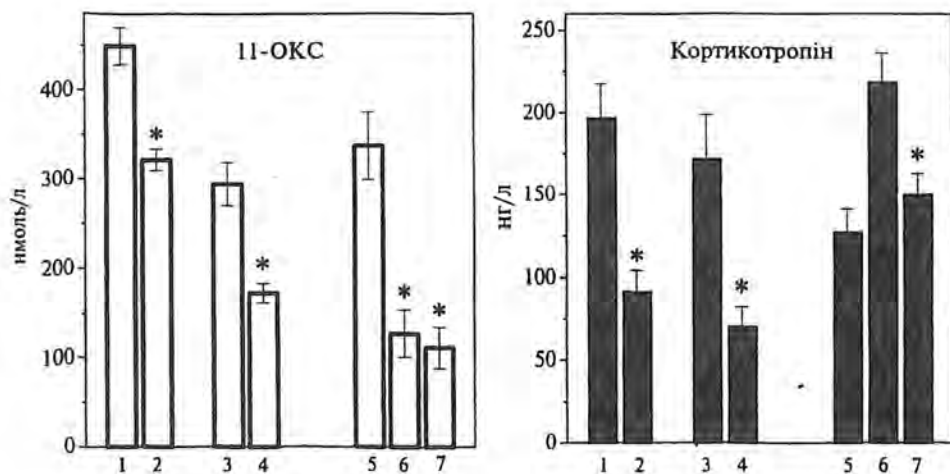
Введення даларгіну адреналектомованим щурам також призводить до підвищення рівня ендogenous лейцин-енкефаліну в аденогіпофізі (з $1,373 \pm 0,182$ пмоль/мг до $2,097 \pm 0,200$, $P < 0,05$) та до збільшення активності енкефалінамінопептидази в залозі (з $18,78 \pm 1,28$ пмоль/хв/мг білка до $24,75 \pm 0,98$, $P < 0,05$). Враховуючи це, а також зниження рівня специфічного рецепторного зв'язування ^3H -лейцин-енкефаліну в аденогіпофізі адреналектомованих щурів після введення їм даларгіну, можна говорити, що введення препарату призводить до активізації метаболізму гіпофізарних енкефалінів у адреналектомованих тварин. Разом із тим встановлено, що вміст лейцин-енкефаліну в структурах мозку адреналектомованих тварин (гіпоталамусі, стріатумі і довгастому мозку) після введення даларгіну істотно не змінюється.

Раніше нами було доведено, що після двобічної адреналектомії зміни рівня лейцин-енкефаліну носять двофазний характер: вміст пептиду зни-

жується в гіпоталамусі, стріатумі і аденогіпофізі на 7-му добу після операції внаслідок посилення вивільнення пептиду з нейросекреторних гранул та підвищується до нормального рівня на 10-ту добу після адrenaлектомії [11, 15]. Отже, введення даларгіну не впливає на процес нормалізації рівня нейропептиду в структурах мозку, що спостерігається на 10-ту добу після адrenaлектомії, але супроводжується підвищенням рівня енкефаліну в аденогіпофізі.

Таким чином, периферичне введення даларгіну в антистресорній дозі (100 мкг на кг) спричиняє істотні зміни специфічного зв'язування міченого лейцин-енкефаліну з опіатними рецепторами, а також зміни рівня лейцин-енкефаліну і активності енкефалінгідролізуючих ферментів в аденогіпофізі, гіпоталамусі та стріатумі інтактних і адrenaлектомованих щурів. Ці результати узгоджуються з даними літератури про проникнення даларгіну в мозок [24, 25, 26] і свідчать про здатність цього пептиду зв'язуватись з центральними опіатними рецепторами, а також про можливість використання синтетичного аналогу лейцин-енкефаліну - даларгіну для підвищення активності ЕОС в мозку і гіпофізі.

Враховуючи можливість дії периферично введеного даларгіну на опіодні системи в центрах регуляції ГНС - гіпоталамусі і аденогіпофізі, цікаво було дослідити на цих самих експериментальних моделях характер впливу препарату на активність гіпофізарно-надниркової системи. Встановлено, що внутрішньочеревне введення даларгіну в дозі 100 мкг/кг пригнічує активність гіпофізарно-надниркової системи у інтактних і адrenaлектомованих щурів. Зниження рівнів 11-ОКС і кортикотропіну в плазмі крові щурів встановлено через 4 год після одноразового та через 24 год після багаторазового протягом 7 діб внутрішньочеревного введення даларгіну інтактним тваринам (мал.).



Мал. Вплив одно- і багаторазового введення даларгіну на рівні 11-ОКС і кортикотропіну в плазмі крові інтактних і адrenaлектомованих щурів: 1 - контроль, 2 - одноразове введення даларгіну інтактним щурам, 3 - контроль, 4 - багаторазове введення даларгіну інтактним щурам, 5 - контроль, 6 - адrenaлектомія, 7 - багаторазове введення даларгіну адrenaлектомованим щурам; * - $P < 0,05$ - $P < 0,001$ по відношенню до відповідного контролю.

Після багаторазового введення даларгіну адреналектомованим щурам (на 7-му, 8-му і 9-ту добу після операції) встановлено зниження рівня кортикотропіну, підвищеного після двобічної адреналектомії. Рівень 11-ОКС, знижений у плазмі щурів після адреналектомії, під впливом даларгіну не змінюється (мал.). Однотипний характер змін рівня кортикостероїдів та кортикотропіну - зниження після одно- і багаторазового введення даларгіну інтактним щурам та зниження рівня тільки кортикотропіну, як це спостерігається при введенні препарату адреналектомованим тваринам, - свідчить про те, що гальмівний ефект даларгіну на секрецію гормонів реалізується шляхом взаємодії препарату з центральними енкефалінергічними системами гіпофіза і гіпоталамуса.

Не можна виключати також можливість взаємодії даларгіну з опіатними рецепторами в корі надниркових залоз, хоча рівень лейцин- і метіонін-енкефалінів у кірковому шарі цих залоз у людини і тварин, зокрема у щурів, дуже низький, не вищий за 3% від усіх енкефалінів надниркових залоз [27, 28].

Висновок про важливу роль центральної ЕОС гіпоталамуса і аденогіпофіза в реалізації ефекту даларгіну на функціональний стан ГНС узгоджується з даними літератури про те, що вплив блокаторів опіатних рецепторів, а також аналогів інших опіоїдних пептидів, зокрема, метіонін-енкефаліну - FK 33824 на секрецію кортикотропіну, здійснюється на гіпофізарному і гіпоталамічному рівнях [29 - 31].

З літератури відомо, що опіоїдні пептиди, зокрема даларгін, здатні обмежувати активізацію ГНС за деяких екстремальних станів - у разі гострої ішемії міокарда, стискування м'яких тканин, імобілізації [32, 33]. Одержані нами дані свідчать про можливість впливу периферично введеного даларгіну на активність гіпофізарно-надниркової системи в умовах експериментальної патології цієї системи - двобічної адреналектомії. Введення даларгіну помітно знижує рівень кортикотропіну, підвищений після видалення надниркових залоз.

Таким чином, враховуючи одержані нами дані щодо взаємодії даларгіну з центральними опіатними рецепторами та зв'язані з цим зміни вмісту лейцин-енкефаліну і процесів його інактивації в гіпоталамусі і аденогіпофізі, можна зробити висновок про можливість реалізації ефектів даларгіну на функціональний стан ГНС шляхом взаємодії з центральними енкефалінергічними системами. Підвищення активності ЕОС в аденогіпофізі, а отже інгібіторної дії енкефалінів на кортикотропну функцію гіпофіза після введення даларгіну, очевидно, є одним з механізмів зниження секреції кортикотропіну і кортикостероїдів у інтактних і адреналектомованих тварин під час дії препарату.

Той факт, що вплив даларгіну на рівень гормонів ГНС встановлено *in vivo* у інтактних тварин, за нормального функціонування цієї системи, а також в умовах адреналектомії, свідчить, що енкефаліни беруть участь у регуляції як тонічної, так і стимульованої секреції кортикотропіну.

Висновки

1. Периферичне введення аналогу лейцин-енкефаліну - даларгіну зумовлює зміни специфічного зв'язування ^3H -лейцин-енкефаліну, а також зміни рівня лейцин-енкефаліну і активності енкефалінгідролізуючих фер-

ментів у аденогіпофізі і гіпоталамусі інтактних і адреналектомованих щурів, що свідчить про взаємодію препарату з опіатними рецепторами і активізацію центральних опіоїдних механізмів.

2. Введення даларгіну призводить до гальмування активності гіпофізарно-надниркової системи - зниження рівнів 11-ОКС і кортикотропіну в крові інтактних щурів та зниження рівня кортикотропіну в крові адреналектомованих тварин.

Література

1. Buckingham J., Cooper T. Interrelationships of opioidergic and adrenergic mechanisms controlling the secretion of corticotrophin releasing factor in the rat // *Neuroendocrinology*. 1987, **46**, N 3, 199 - 206.
2. Grossmann A., Tsagarakis S. The hunt for the CIA: Factors which demonstrate corticotrophin-inhibitory activity // *J. Endocrinol.* 1989, **123**, N 2, 169 - 172.
3. l'Hereault S., Barden N. Regulation of proopiomelanocortin messenger RNA concentrations by opioid peptides in primary cell cultures of rat hypothalamus // *Mol. Brain. Res.* 1991, **10**, N 2, 115 - 121.
4. Gibson A., Ginsburg M., Hart S., Kitchen I. Effect of adrenalectomy and hypophysectomy on enkephalin content of the rat hypothalamus // *Brit. J. Pharmacol.* 1980, **70**, N 5, 561 - 569.
5. Glaser T., Hubner., Hamprecht B. Glucocorticoids elevate the level of enkephalin - like peptides in neuroblastoma x glioma hybrid cells // *FEBS Lett.* 1981, **131**, N 1, 63 - 67.
6. Hart S., Kitchen J. Potassium stimulated depletion of enkephalin in rat hypothalamus and its alteration by adrenocorticotropin and corticosterone // *Brit. J. Pharmacol.* 1980, **70**, N 1, 79 - 80.
7. Ha T., Kim Y., Song D. et al. Molecular mechanisms underlying the regulation of proenkephalin gene expression in cultured spinal cord cells // *Neuropeptides*. 1996, **30**, N 5, 506 - 513.
8. Sirinathsinghi D., Nikolarakis K., Herz A. Corticotropin-releasing factor stimulates the release of methionineenkephalin and dynorphin from the neostriatum and globus pallidus of the rat: in vitro and in vivo studies // *Brain Res.* 1989, **490**, N 2, 276 - 291.
9. Watts A., Sancher-Watts G. Region-specific regulation of neuropeptide mRNAs in rat limbic forebrain neurones by aldosterone and corticosterone // *J. Physiol.* 1995, **484**, N 3, 721 - 736.
10. Калинская Л.Н., Кононенко В.Я. Влияние гидрокортизона и АКТГ на активность энкефалин-гидролизующих пептидаз головного мозга крыс // *Докл. АН УССР*. 1986, N 10, сер. Б, 56- 58.
11. Калинская Л.Н. Изучение механизмов взаимодействия гормонов гипофизарно-адрено-кортикальной системы с опииодными пептидами // *Механизмы действия медиаторов и гормонов на эффекторные клетки*. Суздаль, 1989, 70 - 71.
12. Калинская Л.Н. Действие кортикостероидов на энкефалинергическую систему мозга и гипофиза крыс // *Эндокринология. К. Здоровье*, 1991, вып. 21, 112 - 119.
13. Kalinskaya L.N., Kononenko V.Ya. Interaction of angiotensins and enkephalins with hormones of hypothalamo-pituitary adrenal axis // *J. Endocrinol. Invest.* 1991, **14**, suppl 4 - 6, 231 - 232.
14. Калиньська Л.М. Органоспецифічність реакцій систем регуляторних пептидів на зміни гормонального статусу // *Сучасні проблеми експериментальної та клінічної ендокринології: [Тез.] V з'їзд ендокринологів України. Івано-Франківськ, 1994, К. 1994, 34 - 35.*
15. Калиньська Л.М., Кононенко В.Я. Активність енкефалинергічної системи мозку та гіпофізу за умов експериментального гіпокортицизму // *Фізіол. журн.* 1995, **41**, N 5-6, 61 - 66.
16. Жила В.А., Громов Л.А. Выделение опиоидных нейропептидов из мозга и крови и их количественное определение радиоим - муннологическим методом // *Укр. биохим. ж.* 1984, **56**, N 6, 661 - 663.

17. Рожанец В.В., Русаков Д.Ю., Данчев Н.Д., Вальдман А.В. Влияние хронического применения антидепрессантов на состояние бензодиазепиновых рецепторов головного мозга мыши // Бюлл. exper. биол. мед. 1983, **46**, N 7, 46 - 48.
18. Gorenstein В., Snyder S. Enkephalinases // Proc.Roy. Soc. 1980, **210**, N 2, 123 - 132.
19. Балашов Ю.Г. Флюориметрический микрометод определения кортикостероидов: сравнение с другими методами // Физиол. ж. СССР. 1990, **76**, N 2, 280 - 283.
20. Lowry O., Rosebrough N., Lewis A. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951, **193**, N 1, 265 - 275.
21. Shani J., Azov R., Weissman B.A. Enkephalin levels in rat brain after various regiments of morphine administration// Neurosci. Lett. 1979, **12**, N 2-3, 319 - 322.
22. Громов Л.А. Нейропептиды. К.: Здоров'я, 1992. 245 с.
23. Zamir N., Weber E., Palkovitz M., Brownstein M. Differential processing of prodynorphin and proenkephalin in specific regions of rat brain // Proc. Nat. Acad. Sci. 1984, **81**, N 21, 6886 - 6889.
24. Полонский В.М., Ярыгин К.Н., Кривошеев О.Г. Место приложения (центральное или периферическое) противоязвенного действия синтетического аналога эндогенных опиоидов даларгина в экспериментальной модели цистеаминовых дуоденальных язв у крыс // Бюл. эксперим. биол. мед. 1987, N 4, 433 - 435.
25. Zlokovic B., Begley D., Chain-Eliash D. Blood-brain barrier permeability to leucine-enkephalin, D-alanine2-D-leucine5-enkephalin and their N - terminal amino acid (tyrosine) // Brain Res. 1985, **336**, N 1, 125 - 132.
26. Zlokovic B., Segal M., Davson H., Mitrovic D. Unidirectional uptake of enkephalins at the blood-tissue interface of the blood-cerebrospinal fluid barrier: a saturable mechanism // Regul. Peptides. 1988, **20**, N 1, 33 - 44.
27. Vanase T., Nawata H., Higuchi K. Dexamethasone increases both catecholamines and methionine-enkephaline in cultured bovine adrenal chromaffin cells and human extramedullary pheochromocytoma cells // Life Sci. 1984, **35**, N 18, 1869 - 1855.
28. Viveros O., Diliberto E., Hazum E., Chang Kwen-Jen. Opiate-like materials in the adrenal medulla: evidence for storage and secretion with catecholamines // Mol. Pharmacol. 1979, **16**, N 3, 1101 - 1108.
29. Adamson W., Windh R., Blackford S., Kuhn C. Ontogeny of μ - and δ -opiate receptor control of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in rats // Endocrinology. 1991, **129**, N 2, 959 - 964.
30. Lamberts S., Bons S., Pozo E. The met-enkephalin analog FK 33-824 and naloxone do not directly influence cortisol secretion by cultured human adrenocortical cells // Life Sci. 1983, **32**, N 7, 755 - 758.
31. Wang X., Tresham Y., Scoggins B., Coghlan Y. Met-enkephalin and the enkephalin analogue FK-33824 centrally inhibit adrenocorticotrophin hormone secretion in sheep // Clin. Exp. Pharm. Physiol. 1988, **15**, N 11, 865 - 869.
32. Бобков А.И., Полонский В.М., Виноградов В.А. Влияние даларгина на содержание в крови стрессированных крыс эндорфинов, лейцин-энкефалина, АКТГ и кортикостерона // Бюл. эксперим. биол. мед. 1985, **100**, N 12, 715 - 717.
33. Лишманов Ю.Б., Слепушкин В.Д., Ельский В.Н. и др. О роли опиатного торможения функций гипоталамо - гипофизарно - надпочечниковой системы при стрессе // Бюл. эксперим. биол. мед. 1985, N 11, 638 - 643.

Изменение активности энкефалинергической опиоидной системы мозга и функционального состояния гипофизарно-надпочечниковой системы крыс под влиянием синтетического аналога лейцин-энкефалина - даларгина

Л.Н.Калинская

Институт эндокринологии и обмена веществ им.В.П.Комиссаренко АМН Украины, 254114 Киев

Показано, что активизация энкефалинергических опиоидных механизмов в гипоталамусе и аденогипофизе после периферического введения синтетического аналога лейцин-энкефалина - даларгина крысам сопровождается торможением кортикотропной функции гипофиза в норме и в условиях гиперсекреции АКТГ после адреналэктомии.

Changes in activity of enkephalinergic opioid system of the brain and in functional state of the hypophyseal-adrenal system in rats under the influence of dalargin, a synthetic analog of leu-enkephalin

L.M. Kalynska

V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS of Ukraine, 254114 Kyiv, Ukraine

It has been demonstrated that an activation of enkephalinergic opioid mechanisms in the hypothalamus and pituitary after peripheral administration of Dalargin, a synthetic analog of leu-enkephalin, to rats, were accompanied by inhibition of adenohipophyseal corticotrophin function in norm and under conditions of ACTH hypersecretion following adrenalectomy.

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ЕНТЕРИНОВОЇ ГОРМОНАЛЬНОЇ СИСТЕМИ У ДІТЕЙ З ХРОНІЧНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЇ ЗОНИ

О. Д. Мороз

Інститут педіатрії, акушерства і гінекології АМН України, 254050 Київ

Обстежено 165 дітей з хронічною патологією органів гастроудоденальної зони (в тому числі 89 хворих на хронічний гастроудоденіт, 76 - з функціональними розладами шлунка) та 30 дітей з 2-Б групи здоров'я (контрольна група). У всіх дітей визначали вміст у сироватці крові поліпептидів ентеринової гормональної системи (гастрин, секретин, вазоактивний інтестинальний пептид, гастроінгібуючий поліпептид). Виявлено, що у всіх хворих дітей порушена функція ентеринової гормональної системи - підвищений рівень гастрину за зниженої кислотоутворюючої функції шлунка, стабільний рівень секретину і гастроінгібуючого поліпептиду за підвищеної, нормальної та зниженої кислотопродукції в шлунку. Ці дані свідчать про участь гормональних чинників у формуванні хронічної патології гастроудоденальної зони у дітей вже на ранній, функціональній, стадії захворювання.

Ключові слова: ентеринова гормональна система, діти, хронічний гастроудоденіт, функціональні розлади шлунка.

Одним із головних патогенетичних механізмів, які зумовлюють розвиток патології гастроудоденальної зони, є порушення в ентериновій гормональній системі (ЕГС), яка забезпечує синхронну діяльність м'язового та секреторного апарату шлунка та дванадцятипалої кишки [1-3]. Порушення функціонування регуляторних поліпептидів, які належать до ЕГС, досліджені низкою вчених при хронічній патології органів травлення у дорослих і дітей [4, 5]. Але на даний час немає відомостей про стан ЕГС у дітей з функціональними розладами шлунка та про роль порушень цієї системи у подальшому розвитку органічної патології шлунка та дванадцятипалої кишки.

Мета дослідження - вивчення взаємозв'язку регуляторних поліпептидів ЕГС у дітей з хронічною патологією гастроудоденальної зони (ХПГЗ) органічного та функціонального характеру залежно від особливостей клінічного перебігу захворювання.

Матеріали та методи дослідження

Разом обстежено 195 дітей віком від 5 до 14 років, із них 89 хворих на хронічний гастроудоденіт (ХГД), 76 - з функціональними розладами шлунка (ФРШ) та 30 дітей з контрольної групи.

У всіх дітей визначали вміст у сироватці крові гастрину, секретину, вазоактивного інтестинального пептиду (ВІП), гастроінгібуючого поліпептиду (ГІП). Вміст у сироватці крові регуляторних поліпептидів ЕГС вивчали за методом радіоімунологічного аналізу з використанням наборів фірм "Seragen" (США), "Dry inter" (США), "Clinical assays" (США), "Sorig" (Франція), "Amersham" (Великобританія) та Інституту ядерних досліджень (Угорщина). Підрахунок радіоактивності кінцевих зразків радіоімунологічного аналізу проводили за допомогою автоматичного гамма-лічильника фірми "Гамма" (Угорщина) та рідинної сцинтиляційної системи "Марк-3" фірми "Тракор-Європа" (Нідерланди).

У всіх дітей проводили ендоскопічне обстеження слизової оболонки шлунка та дванадцятипалої кишки і досліджували кислотоутворюючу функцію шлунка за методами внутрішньошлункової рН-метрії та фракційного титраційного зондування.

Результати досліджень та їх обговорення

У 34 дітей (44,7%) з ФРШ виявлена підвищена кислотоутворююча функція шлунка, у 18 (23,7%) - знижена і у 24 дітей (31,6%) - нормальна. Серед дітей з ХГД підвищена кислотоутворююча функція шлунка виявлена у 36 (40,4%), знижена - у 24 (27%), нормальна - у 29 (32,6%).

Дані про вміст гастрину, секретину, ВІП та ГІП у сироватці крові дітей з ФРШ, ХГД та контрольної групи наведено у табл. 1.

Результати досліджень засвідчили відсутність різниці щодо вмісту гастрину у дітей з ФРШ та ХГД з нормальною та підвищеною кислотопродукцією. Виявлено значне підвищення рівня гастрину за зниженої кислотоутворюючої функції шлунка у дітей обох груп. Не знайдено різниці стосовно вмісту секретину за різних рівнів кислотопродукції у дітей як з ФРШ, так і з ХГД.

Враховуючи той факт, що фізіологічною властивістю гастрину є стимуляція секреції соляної кислоти у шлунку, а секретину - гальмування її, відсутність різниці між вмістом гастрину у дітей з нормальною та підвищеною кислотоутворюючою функцією шлунка, підвищення рівня гастрину за зниженої кислотоутворюючої функції шлунка та стабільний рівень секретину за різних типів кислотоутворюючої функції шлунка у дітей можуть свідчити про дисфункцію ЕГС стосовно взаємозв'язків між гастринною та секретинною її ланками.

Важливе місце в гормональній регуляції діяльності органів травлення займають ВІП, який є інгібітором секреції гастрину і посилює секрецію секретину та холецистокініну, та ГІП, який є інгібітором продукції соляної кислоти у шлунку [4, 6].

Вивчення вмісту ВІП у сироватці дітей засвідчило, що найвищий його рівень є у хворих з підвищеною кислотоутворюючою функцією шлунка як при ФРШ, так і при ХГД. Можна вважати, що це підвищення вмісту ВІП є компенсаторною реакцією у разі підвищеної кислотопродукції шлунку у дітей з ХПГЗ.

Що стосується вмісту ГІП у сироватці крові дітей з ХПГЗ, то не було виявлено різниці у його вмісті залежно від характеру кислотоутворюючої функції шлунка. Це може свідчити про порушення функціонального стану даної ланки ЕГС у дітей з ХПГЗ.

Встановлені порушення вмісту регуляторних поліпептидів ЕГС у сироватці крові дітей з ХПГЗ можуть свідчити про наявність дизрегуляції функціонального стану ентеринної системи.

Для перевірки цього припущення було проведено кореляційний аналіз між показниками, що характеризують рівень вмісту поліпептидних гормонів ентеринної системи у сироватці крові дітей з ФРШ, ХГД та контрольної групи. Про характер кореляційних зв'язків між різними парами досліджених поліпептидних гормонів можна судити за даними табл. 2.

Враховуючи величини коефіцієнтів (r) та їх стандартних помилок (Sr) у різних парах поєднань, можна дійти висновку, що інформація про кореляційну залежність у цих парах має достовірний характер. Звертає на себе

Таблиця 1. Вміст гастрину, секретину, ВІП і ГІП у сироватці крові дітей залежно від стану кислотоутворюючої функції шлунка (КФШ), пг/мл

Стан КФШ (ентеринові гормони)	ФРШ	ХГД	Контрольна група
1. Підвищена КФШ			
гастрин	68,99 ± 4,75	71,81 ± 3,04 ^b	
секретин	52,80 ± 3,0	53,60 ± 3,0	
ВІП	48,22 ± 1,18 ^{bc}	51,31 ± 1,91 ^{bc}	
ГІП	86,20 ± 4,0	88,20 ± 3,6	
2. Нормальна КФШ			
гастрин	64,69 ± 5,17	67,92 ± 3,98	59,34 ± 4,73
секретин	51,20 ± 3,0	50,10 ± 3,0	51,22 ± 3,62
ВІП	37,42 ± 1,13	38,33 ± 1,12	36,81 ± 1,48
ГІП	84,20 ± 3,9	86,50 ± 3,8	82,40 ± 4,69
3. Знижена КФШ			
гастрин	109,08 ± 5,62 ^{ab}	129,49 ± 10,62 ^{ab}	
секретин	53,90 ± 3,4	51,90 ± 3,6	
ВІП	36,44 ± 1,14	39,39 ± 2,11	
ГІП	88,10 ± 5,0	87,00 ± 4,1	

Примітка: ^a - вірогідна різниця ($p < 0,05$) порівняно з даними 1-ї та 2-ї груп; ^b - вірогідна різниця ($p < 0,05$) порівняно з даними контрольної групи; ^c - вірогідна різниця ($p < 0,05$) порівняно з даними 2-ї та 3-ї груп.

Таблиця 2. Коефіцієнти кореляції між вмістом у сироватці крові гастрину, секретину, ВІП і ГІП у дітей з ХПГЗ та контрольної групи

Порівнювані показники	Коефіцієнти кореляції ($r \pm Sr$)		
	Контрольна група	ФРШ	ХГД
Гастрин-секретин	0,88 ± 0,11	0,83 ± 0,11	0,82 ± 0,11
Гастрин-ВІП	-0,73 ± 0,16	-0,49 ± 0,13	-0,49 ± 0,11
Гастрин-ГІП	-0,75 ± 0,15	-0,35 ± 0,09	-0,37 ± 0,08
Секретин-ВІП	-0,82 ± 0,13	-0,64 ± 0,09	-0,59 ± 0,11
Секретин-ГІП	-0,80 ± 0,14	-0,69 ± 0,08	-0,70 ± 0,13
ВІП-ГІП	0,82 ± 0,13	0,51 ± 0,12	0,52 ± 0,07

увагу той факт, що у здорових дітей між дослідженими парами гормонів виявлено сильний (прямий чи зворотний) зв'язок, оскільки величини коефіцієнтів кореляції коливались у межах від 0,73 до 0,78. Пряма залежність виявлена у парах гастрин-секретин, ГІП-ВІП; у інших парах залежність має зворотний характер. Високі коефіцієнти кореляції підтверджують тезис про наявність причинної залежності між порівнюваними парами. Це дозволяє говорити про узгоджену діяльність ЕГС у здорових дітей, що, в свою чергу, забезпечує у них функцію органів гастродуоденальної зони.

Інший характер кореляційних зв'язків виявлено у дітей з ХПГЗ; як у разі функціональних, так і органічних захворювань сильна кореляційна

залежність була відзначена тільки у парі гастрин-секретин. У всіх інших парах зв'язки були або помірними (гастрин-ГІП), або значними (секретин-ВІП, секретин-ГІП, ВІП-ГІП).

Зменшення сили кореляційного зв'язку між ентеральними гормонами при гастродуоденальній патології у дітей можна пояснити порушенням функції ЕГС, що узгоджується з вищевикладеними даними про наявність розладів гормональної регуляції секреторної діяльності шлунка.

Таким чином, проведене дослідження вмісту регуляторних поліпептидів ентеринової системи у сироватці крові дітей з хронічними захворюваннями гастродуоденальної зони виявило, що у дітей з ФРШ, як і з ХГД, спостерігається підвищений рівень гастрину за зниженою кислотоутворюючою функцією шлунка та стабільний рівень секретину при різних типах кислотоутворюючої функції шлунка. Враховуючи те, що фізіологічною властивістю гастрину є стимуляція секреції соляної кислоти у шлунку, а секретину - гальмування її, виявлені зміни щодо вмісту гастрину та секретину у дітей, хворих на ХГД та ФРШ, можуть свідчити, що вже починаючи із стадії функціональних розладів у гастродуоденальній зоні, спостерігається дисфункція ЕГС, в першу чергу, стосовно взаємовідносин між гастриновою та секретиновою її ланками. Наявність дисфункції ентеринової гормональної системи підтверджується також стабільним рівнем ГІП при різних типах кислотоутворюючої функції шлунка у дітей.

Висновок

Виявлені зміни функціональної діяльності ентеринової гормональної системи у дітей з хронічними захворюваннями шлунка та дванадцятипалої кишки вже на ранніх стадіях захворювання при функціональних розладах шлунка, свідчить про важливу патогенетичну роль порушень діяльності регуляторних поліпептидів ЕГС у розвитку хронічної патології гастродуоденальної зони у дітей. Це обумовлює необхідність у розробці лікувально-профілактичних заходів, спрямованих на нормалізацію функціональної діяльності ЕГС на ранніх етапах розвитку хронічної патології органів гастродуоденальної зони - на стадії функціональних порушень.

Література

1. Балаболкин М.И. Гормональная функция желудочно-кишечного тракта // Терапевт. архив. 1987, N 7, 135-139.
2. Климов П. К. Пептиды и пищеварительная система. Гормональная регуляция органов пищеварительной системы. Ленинград: Наука, 1983. 272 с.
3. Ивашкин В. Т., Васильев В. Ю., Северин Е.С. Уровни регуляции функциональной активности органов и тканей. Ленинград: Наука, 1987. 262 с.
4. Геллер Л. И. Основы клинической эндокринологии системы пищеварения. Владивосток: Из-во Дальневост. университета. 1988. 151 с.
5. Магомедова А. М., Мосин В. И. Гормональные механизмы морфофункциональных изменений в слизистой оболочке желудка // Терапевт. архив. 1988, N 2, 22-27
6. Romualdi P., Rosenberger J. Vasoactive intestinal polypeptide carboxyterminal fragment, VIP and other fragments of VIP, in the central nervous system of the rat // Peptides. 1989, 10, N 3, 621-626

Особенности функционирования энтериневой гормональной системы у детей с хронической патологией гастродуоденальной зоны

А. Д. Мороз

Институт педиатрии, акушерства и гинекологии АМН Украины, 254050 Киев

Обследовано 165 детей с хронической патологией органов гастродуоденальной зоны (в том числе 89 больных хроническим гастродуоденитом, 76 - с функциональными расстройствами желудка) и 30 детей 2-Б группы здоровья (контрольная группа). У детей всех групп исследовано содержание в сыворотке крови полипептидов энтериневой гормональной системы (гастрин, секретин, вазоактивный интестинальный пептид, гастроингибирующий полипептид). Выявлено, что у больных детей обеих групп имеется нарушение функции энтериневой гормональной системы - повышение уровня гастрин при сниженной кислотообразующей функции желудка, стабильный уровень секретина и гастроингибирующего полипептида при повышенной, нормальной и сниженной кислотопродукции в желудке. Полученные данные свидетельствуют о том, что гормональные факторы участвуют в формировании хронической патологии гастродуоденальной зоны у детей уже на ранней, функциональной, стадии заболевания.

The enterine hormonal system functional activity peculiarities in children with chronic pathology of the gastroduodenal zone

A.D. Moroz

Institute of the Pediatrics, Obstetrics and Gynaecology of AMS, 254050 Kyiv, Ukraine

165 children with chronic pathology of the organs of the gastroduodenal zone (including 89 patients with chronic gastroduodenitis, 76 patients with gastric functional disorders) and 30 children of the 2-B health state control group were studied. In all children groups we studied blood serum contents of polypeptides of the enterine hormonal system (gastrine, secretine, vasoactive intestinal peptide, gastroinhibiting polypeptide).

In both patient groups the disorders in the enterine hormonal system functional activity were observed - the increase of gastrine level with reduced acidforming stomach function, stable secretine and gastroinhibiting polypeptide levels in cases of increased, normal and reduced acidproduction in the stomach. The obtained data testified to the involvement of the hormonal factors in chronic pathology formatich of the gastroduodenal zone in children at early, functional stage of disease.

Огляди

УДК: 616.441-006.6-089.87:617.533

ХІРУРГІЧНЕ ЛІКУВАННЯ РАКУ ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ

*І.В. Комісаренко, С.Й. Робаков, А.Є. Коваленко,
О.Г. Лисенко, М.Д. Мельник, М.Ю. Боллов, А.М. Кваченюк,
Р.М. Січинава, Б.Б. Гуда, С.Л. Шляхтич*

*Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН
України, 254114 Київ*

Узагальнено сучасні підходи до хірургічного лікування раку щитовидної залози. Відображено особливості оперативних втручань на щитовидній залозі та регіонарних колекторах лімфовідтоку залежно від форми захворювання, віку хворих, ступеня поширення пухлинного процесу. Розглянуто методи профілактики хірургічних ускладнень після радикального лікування хворих на рак щитовидної залози.

Ключові слова: рак щитовидної залози, хірургічне лікування.

За останні 30 років захворюваність на рак щитовидної залози збільшилась у 1,5 - 2 рази незалежно від наявності йодної ендемії [1]. До 5% усіх вузлів щитовидної залози є малігнізованими [2]. Багато дослідників підтверджують можливість розвитку раку щитовидної залози внаслідок несприятливих екологічних чинників, що зрештою може призвести не тільки до збільшення кількості, але і до зростання смертності від цієї недуги [1,3,4].

Нині визнано можливість розвитку радіоіндукованого раку щитовидної залози із мінімальним латентним періодом 3-5 років. Ризик розвитку пухлини у щитовидній залозі внаслідок впливу іонізованого опромінення зберігається протягом 40 років, він прямопропорційний дозі опромінення і зворотно - віку хворого [5-11].

Проаналізувавши наслідки аварії на Чорнобильській АЕС у масштабах України, багато авторів відзначили зростання кількості злоякісних новоутворень щитовидної залози у дітей та підлітків [5, 12-15]. Підтверджено їх радіаційний генез, підкреслено специфічні особливості їх клінічного та морфологічного перебігу [11, 12, 14].

Розглядаючи проблеми лікування раку щитовидної залози, треба наголосити на головній ролі хірургічного втручання. При цьому проблеми розробки показань до операції, вибору її методики та об'єму є принципово важливими [16-25]. Завдяки розвитку хірургії, розширення технічних можливостей підвищився онкологічний радикалізм оперативних втручань, зменшився ризик розвитку хірургічних ускладнень [26-33].

Розв'язання проблем ранньої діагностики та успішного лікування раку щитовидної залози нерозривно пов'язані з визначенням раціональної програми лікування доброякісних захворювань цього органа [16, 34-36]. Існує точка зору, що ймовірність виникнення та виявлення раку на тлі доброякісних захворювань щитовидної залози однакова при вузловому еутиреоїдному зобі, тиреотоксичному зобі, хронічному аутоімунному тиреоїдиті і складає 3-7% [1,4].

Під час розгляду показань до оперативного лікування осередкових утворень щитовидної залози найчастіше обговорюють їх онкологічну небезпеку. Виходячи з цих позицій, більшість хірургів під час вибору методу лікування доброякісних вузлових тиреоїдних процесів обстоюють активну хірургічну тактику [37, 38]. Відзначають необхідність у клінічній доопераційній оцінці будь-якого осередкового утворення у щитовидній залозі як потенційно можливого раку [19, 24, 29]. При

цьому всі хворі з вузловими утвореннями щитовидної залози мають бути обстежені не пізніше 10 діб з моменту взяття їх на облік [1].

Найінформативнішим методом доопераційної цитологічної діагностики є тонкогolgкова аспіраційна біопсія щитовидної залози, точність якої досягає 90% [3, 29, 39].

Велике значення під час визначення показань до оперативного лікування має оцінка ступеня поширення пухлини. Слід відзначити досить високу інформативність ультразвукового сканування і комп'ютерної томографії шиї та середостіння [6,16].

Хірургічна тактика лікування первинного раку щитовидної залози має низку дискусабельних положень. Летальність від раку щитовидної залози залежить від поширення пухлинного процесу та онкологічної адекватності первинного хірургічного втручання [1, 11, 23, 40, 41].

Слід зазначити різницю щодо термінології оперативних втручань на щитовидній залозі, що утруднює оцінку наслідків лікування [4,6,20]. Принципово важливим є відображення у назві оперативного втручання об'єму тиреоїдної тканини, що видаляється. Практично найбільш прийнятною є така класифікація оперативних втручань на щитовидній залозі [6]:

- 1) люмпектомія (видалення тільки вузла щитовидної залози);
- 2) часткова тиреоїдектомія (видалення вузла з частиною нормальної тканини щитовидної залози, що оточує уражений вузол);
- 3) субтотальна тиреоїдектомія (двобічне видалення понад 50% щитовидної залози);
- 4) лобектомія, або гемітиреоїдектомія (видалення повністю однієї частки щитовидної залози та перешийка);
- 5) майже тотальна тиреоїдектомія (тотальна лобектомія з одного боку із залишенням менш ніж 10% тканини задньої латеральної порції протилежної частки);
- 6) тотальна тиреоїдектомія (екстракапсулярне видалення всієї щитовидної залози).

Розглядаючи проблему об'єму оперативного втручання при солітарних вузлах у щитовидній залозі і неможливості виключити наявність ракового переродження, більшість клініцистів доходять думки, що за онкологічними міркуваннями мінімальним об'ємом втручання можна вважати екстрафасціальну лобектомію з видаленням перешийка щитовидної залози, а у разі локалізації пухлини у перешийку - з резекцією прилеглої 1/3 кожної частки [6].

Багато хірургів відстоюють органозберігаючу операцію у разі диференційованих форм раку щитовидної залози, оскільки вона зменшує хірургічні ускладнення і не впливає на виживання хворих [16, 23, 42]. Є повідомлення, що після тотальної екстрафасціальної тиреоїдектомії стійкий гіпаратиреоз досягає 24-30% [6, 16]. Враховуючи це, більшість хірургів країн СНД протягом останніх років відстоювали доцільність виконання гемітиреоїдектомії або субтотальної резекції щитовидної залози, поєднуючи їх з променевою та гормональною терапією [23, 42].

Отримано позитивні наслідки у разі первинного лікування папілярної тиреоїдної карциноми резекцією щитовидної залози без радикальної дисекції шиї у поєднанні із супресивною терапією тиреоїдними препаратами [23].

З метою зменшення ризику післяопераційних ускладнень у разі збільшення об'єму резекції тиреоїдної тканини було запропоновано оперативне втручання, що за об'ємом відповідає майже тотальній тиреоїдектомії із збереженням заднього латерального листка капсули з одного боку та кровопостачання прищитовидних залоз. Тиреоїдна тканина, що при цьому залишилась, підлягає подальшій радіоїдній абляції [6].

У останні роки, враховуючи значну кількість рецидивів після органозберігаючих операцій, у випадках раку щитовидної залози, значно збільшилась кількість

прихильників тиреоїдектомії [16, 19, 41, 43]. Відзначено зменшення кількості рецидивів та краще виживання хворих на диференційований тиреоїдний рак після тотальної тиреоїдектомії і радіоїодтерапії, ніж після органозберігаючих операцій [44, 45]. Частота рецидивів диференційованої тиреоїдної карциноми у частині щитовидної залози, що залишилась після органозберігаючих операцій, за деякими даними, коливається від 30 до 50% [23]. Крім цього, обґрунтування застосування тотальної тиреоїдектомії зумовлено чинником частого мультицентричного пухлинного ураження щитовидної залози [23, 43, 46].

Основні причини, які вимагають виконання тотальної тиреоїдектомії при карциномі щитовидної залози, викладено у праці О.Н.Слark [6].

1. За даними детальних морфологічних досліджень, білатеральний рак зустрічається у 30-85% хворих, і понад 80% хворих на папілярний тиреоїдний рак мають мікрокарциному у протилежній частці.

2. Локальні рецидиви раку щитовидної залози після тиреоїдектомії відзначаються рідше, ніж після операцій резекційного об'єму. Рецидив раку у протилежній частці спостерігається у 4,7-27% випадків (у середньому 7%).

3. У разі первинної пухлини понад 1,5 см у діаметрі виживання вище після тиреоїдектомії, ніж після органозберігаючих операцій.

4. Причиною летальності у 40-50% хворих, оперованих з приводу раку щитовидної залози, є локальні рецидиви пухлини з компресією життєво важливих органів шії.

5. Діагностика та лікування рецидивів і метастазів раку щитовидної залози радіоактивним йодом можливі після тотальної тиреоїдектомії.

6. Діагностичне визначення тиреоглобуліну для виявлення рецидивів раку можливе тільки після тиреоїдектомії.

7. Не завжди є можливість гормонального контролю за вмістом ТТГ, що є обов'язковим після органозберігаючих операцій.

До сьогодні більшість хірургів приймає індивідуалізовану тактику вибору об'єму оперативного втручання [1, 6, 11, 16, 18, 27, 33, 35]. Критеріями для визначення об'єму операції є розміри, морфологічна форма, характер і темп росту карциноми, наявність регіонарних метастазів та їх рухливість, вік хворого, ознаки інвазії в сусідні органи. Хірурги Беларусі, маючи досвід лікування пострадіаційного тиреоїдного раку у дітей та підлітків, вважають за можливе проведення органозберігаючих операцій типу субтотальної резекції щитовидної залози і гемітиреоїдектомії при диференційованих формах раку і первинній пухлині до 1 см в діаметрі, обмеженої тканиною щитовидної залози [11].

Слід зазначити, що всі хірургічні втручання на щитовидній залозі, незалежно від гістологічної форми раку, треба проводити екстрафасціально із видаленням притрахеальної клітковини шії [6, 11].

Дуже важливим прогностичним критерієм раку щитовидної залози є ступінь його інвазивності в сусідні тканини [11, 16, 18]. Найчастіше рак щитовидної залози проростає в трахею, гортань і стравохід, що треба враховувати під час підготовки хворого до операції. За найменшої підозри щодо інвазії в гортань і трахею потрібно провести ларингоскопію, трахеоскопію з біопсією та рентгеномографію шії. Виконання первинних радикальних операцій з резекцією трахеї, гортані у разі тиреоїдного раку супроводжується вищими показниками виживання хворих [16, 47].

Проблема необхідності виконання первинної радикальної резекції органів дихальної та травної систем при інвазивній тиреоїдній карциномі є дискусійною. Деякі автори обмежують показання до таких операцій у разі первинного лікування, мотивуючи це повільним перебігом більшості форм тиреоїдного раку та високою інвалідизацією хворих після резекційних втручань на органах дихальної та травної системи за однакових показників виживання [48, 49].

Відзначено, що контроль ступеня локальної інвазивності тиреоїдної карциноми за первинного хірургічного лікування та вибір адекватного об'єму втручання

помітно впливають на показники рецидивування раку і виживання цієї групи хворих. При цьому автори виділили три принципово різні хірургічні підходи щодо видалення пухлини щитовидної залози, які залежать від ступеня її інвазивності [49].

Перший, у випадках незначно поширених інвазій пухлини без ураження просвіту трахеї та стравоходу: повністю видаляють пухлину щитовидної залози за допомогою техніки "гоління" її від поверхні ураженої структури, включаючи видалення уражених м'язів, перихондрію гортані, трахеї, стравоходу, скелетизацію поворотного гортанного нерва в ділянці інвазії пухлини.

Другий, у випадках більш поширених інвазій тиреоїдної карциноми в сусідні органи: виконується тотальне видалення пухлини і парціальна чи тотальна ексцизія регіонарних органів. Тобто поєднується тиреоїдектомія з тотальною чи парціальною ларингектомією, парціальною резекцією трахеї, парціальною езофагальною резекцією, ексцизії поворотного гортанного нерва.

Третій, у випадках значного поширення пухлини за неможливості технічно її радикально видалити без пошкодження життєвоважливих структур шиї і середостіння: передбачені паліативні операції декомпресійного характеру у вигляді неповної ексцизії пухлини чи трахеостоми.

Вибір методики оперативного лікування з використанням чи без використання радикальної резекції органів дихальної та травної систем при локально-інвазивній високодиференційованій тиреоїдній карциномі суттєво не впливає на виживання пацієнтів.

Рак щитовидної залози вирізняється високою лімфоінвазивністю, тому проблема оперативного втручання на лімфатичних колекторах шиї є дискусійною та має принципове значення [50-52].

Виявлено, що першим лімфатичним колектором метастазування раку щитовидної залози є пре- і притрахеальні лімфовузли. Тому їх метастатичне ураження сприяє ранньому гематогенному метастазуванню, оскільки їх відвідні лімфатичні судини впадають у яремний лімфатичний стовбур або підключичну вену. Цим зумовлена необхідність виконання у разі первинного хірургічного лікування тиреоїдної карциноми серединної систематичної дисекції клітковини шиї з видаленням лімфатичних колекторів пре- і притрахеальної групи, клітковини переднього середостіння [11, 53].

Приблизники радикальної дисекції шиї обґрунтовують необхідність профілактичного видалення регіонарних колекторів лімфовідтоку частотою прихованого метастазування. Доведено, що у всіх випадках, де первинна пухлина у щитовидній залозі була більшою за 3 см, гістологічно виявлялись мікроскопічні метастази у шийних лімфовузлах [24, 53]. Близько у 80% дорослих та дітей під час гістологічного дослідження шийних лімфовузлів виявляють приховані метастази [23, 52]. Хоча при цьому, незважаючи на таку високу кількість прихованих метастазів, тільки у 10% хворих розвиваються метастатичні рецидиви захворювання [51].

Приблизники стриманого ставлення до профілактичної шийної дисекції стверджують, що зволікання з видаленням метастазів до їх пальпаторного виявлення не впливає на рівень виживання хворих [24].

Шийна лімфаденектомія технічно може бути виконана двома способами: із збереженням внутрішньої яремної вени (фасціальна-футлярна дисекція шиї) та з перев'язкою внутрішньої яремної вени (операція Крайля) [16]. На даний час визнано, що операція Крайля косметично менш вигідна, тому її застосування виправдане тільки у разі зрощення метастатичних пухлин з внутрішньою яремною веною [16].

Традиційна шийна дисекція за методом Крайля Van de Velde характеризується як видалення шийних лімфовузлів з резекцією підшкірної основи та лімфатичної тканини шиї, котра у деяких випадках включає видалення грудинно-ключично-соскового м'яза, внутрішньої яремної вени та спінального додаткового нерва [41].

Проте у даний час є тенденція до більш функціональнозберігаючих операцій, спрямованих на збереження м'язових, венозних та нервових елементів [6,50]. Так, виникла методика видалення шийних лімфовузлів, яку деякі автори називають консервативною [41,50]. Американські автори, котрі тривалий час не визнавали цього методу, тепер взяли його на озброєння, називаючи модифікованим [6]. Ця операція замінила традиційну з видаленням лімфовузлів, і у деяких випадках об'єм резекції може бути обмеженим завдяки проведенню на момент операції експрес-гістологічного дослідження різних відібраних лімфовузлів. Це дозволяє уникнути широкої дисекції шиї, наслідки якої небезпечні. Стандартна модифікована шийна дисекція передбачає видалення єдиним блоком тканин між першим і третім листками глибокої фасції шиї із збереженням спінального додаткового нерва, грудинно-ключично-соскового м'яза та внутрішньої яремної вени [6, 41]. При цьому засвідчено, що наслідки модифікованої радикальної дисекції шиї порівняльні з наслідками класичної радикальної дисекції шиї, але остання залишає гірший косметичний вигляд, що обмежує її застосування [50]. При цьому дисекцію шиї з профілактичною метою не проводять, а за наявності метастатичного процесу у передньо-верхньому середостінні верхню медіастинальну дисекцію виконують із шийного доступу без стернотомії [6, 51].

Групою хірургів Росії було запропоновано фасціально-футлярне видалення тканин шиї із збереженням внутрішньої яремної вени, грудинно-ключично-соскового м'яза і додаткового нерва. Операція не поступається за своєю радикальністю операції Крайля [16].

Досить актуальною залишається проблема хірургічного лікування рецидивів раку щитовидної залози. Повторні операції з приводу раку щитовидної залози є одними з найскладніших у хірургії [54-57]. Актуальність їх удосконалення очевидна у зв'язку з частим виконанням первинних операцій, що не відповідають характеру і ступеню поширення пухлини [16, 56, 57].

Смертність від локального рецидиву диференційованої тиреоїдної карциноми складає приблизно 30-50% [6, 16, 57]. При цьому на прогноз захворювання помітно впливають рання діагностика рецидиву захворювання і радикальність повторного хірургічного втручання [56, 57]. Розширення доступу за повторної операції та удосконалення оперативної техніки допоможутьвилікувати частину хворих, які вважались інкурабельними, або створити сприятливі умови для їх життя [16, 23].

Опубліковано небагато праць про вибір методу лікування хворих з рецидивом раку щитовидної залози. Деякі хірурги рекомендують комбіноване лікування [16, 44]. Зазначається, що провести радикальне хірургічне лікування можна тільки у 30% хворих, комбіноване - у 64% [6, 57]. Більшість авторів віддають перевагу радикальному хірургічному втручання [16, 49, 55, 56]. При цьому основними труднощами є розвиток рецидиву на тлі рубцевих змін тканин з порушенням анатомічної цілості капсули щитовидної залози і шляхів лімфовідтоку, тобто в умовах, що сприятливі для обмеження росту пухлини [6, 57]. Крім цього, несприятливим є зниження ступеня морфологічного диференціювання тканини з наростанням ознак анаплазії в багатьох випадках рецидивів раку щитовидної залози [16]. Слід наголосити на важливості знання характеру першої операції, морфології пухлини, ступеня поширення процесу [16].

Однією із найскладніших і зовсім нерозроблених проблем є визначення лікувальної тактики щодо хворих, оперованих нерадикально з приводу раку щитовидної залози за відсутності видимих проявів захворювання. Проблема повторних втручань на щитовидній залозі після "економних" операцій у літературі майже не висвітлена. Опубліковані поодинокі праці, які ґрунтуються на незначному матеріалі [16, 43]. Деякі автори у такому разі рекомендують одразу повторну операцію - остаточну тиреоїдектомію [16, 43]. При цьому слід врахувати, що рекомендація повторної операції через короткий термін після першого втручання

спричиняє тяжку психологічну травму [16,55]. Багато хірургів таких хворих не оперують, а залишають для спостереження, призначаючи супресивну гормонотерапію [6, 16, 23].

Найбільш раціональним є індивідуальний вибір тактики лікування [56, 57]. Під час визначення показань до повторного втручання треба враховувати загальні для всіх хворих на рак щитовидної залози дані про стать, вік, морфологію пухлини і характер її росту, об'єм попередньої операції, дані об'єктивного обстеження (пальпація, сканування, рентгенологічні дослідження). Якщо не видалена повністю уражена частка, треба ставити показання для повторного оперативного втручання при диференційованій формі раку з наявністю солідного компоненту, інвазивному росту пухлини з проростанням капсули, медулярному та недиференційованому раку, особливо у чоловіків, а також у людей похилого віку [43, 55, 56]. На прийняття рішення про повторну операцію впливає факт відсутності достатньої ревізії зон регіонарного метастазування під час первинного лікування, внаслідок чого зберігається високий ризик залишити метастази [51]. Крім цього, нерадикальна операція може сприяти трансформації пухлини та підвищенню ступеня її злоякісності. Тому за наявності показань повторну операцію слід проводити якомога раніше, поки пухлина не втратила клітинного диференціювання [16].

У разі хірургічного лікування раку щитовидної залози ускладнення різного характеру після первинної операції бувають у 2-10% випадків [1, 6, 21, 24, 25, 28, 29, 33, 41, 55].

Найчастішим ускладненням є одно- чи двобічний парез гортані, що виникає внаслідок пошкодження поворотних гортанних нервів під час операції або внаслідок механічного стиснення їх гематомою, запальним інфільтратом, рубцями, які утворилися після хірургічних втручань [21, 25, 55].

Пошкодження гортанних нервів належать до тяжких ускладнень, частота їх коливається від 0,1% до 18% [25]. Більшість авторів вбачають профілактику цього ускладнення у методично правильному виконанні операції [6,33,41]. Через незначну ефективність лікування пошкоджень гортанних нервів їх профілактика набуває надзвичайної актуальності. Багато зарубіжних авторів рекомендують з метою профілактики пошкодження гортанних нервів попередньо ідентифікувати їх під час тиреоїдектомії. Проводити "безкровне" оперування, особливо під час маніпулювання у небезпечних зонах - біля нижніх та верхніх полюсів залози та на задній поверхні її бокових часток [6, 33].

Другим ускладненням, яке призводить до інвалідизації хворих, є паратиреоїдна недостатність після тиреоїдектомії [1, 23, 28, 32]. Це найчастіше пов'язано із випадковим видаленням під час операції прищитовидних залоз, рідше - з порушенням їх кровопостачання, компресією гематомою, запальним інфільтратом і рубцями [28, 32]. У зв'язку з труднощами лікування післяопераційного гіпаратиреозу особливого значення набувають його профілактика, глибокі знання анатомічних взаємовідносин між щитовидною та прищитовидними залозами, удосконалення технічної підготовки хірурга взагалі і у тиреоїдній хірургії, зокрема [6, 32, 55]. Одним із способів профілактики видалення прищитовидних залоз є обережне ставлення до всіх вузликів утворень, які лежать біля щитовидної залози [21].

Можливе технічне виконання тотальної тиреоїдектомії з мінімальним рівнем гіпаратиреозу, менше за 3% [6]. При цьому має значення безпосередня техніка виконання оперативного втручання, яка полягає у шадній дисекції прищитовидних залоз від щитовидної залози і збереженні їх на судинній ніжці [1, 23, 33]. Відзначено також високий ризик щодо розвитку гіпаратиреозу при локально поширених пухлинах та у разі доповнення тиреоїдектомії шийною дисекцією [16].

Вельми привабливою є розробка методів попереднього виявлення місцезнаходження прищитовидних залоз. Перспективним у цьому плані є метод прижиттєвого фарбування залоз, що дає можливість побачити ці дрібні утворення у межах операційного поля. З цією метою успішно використовують толуїдиновий синій [1,

23, 24, 32]. Метод фарбування прищитовидних залоз 1% водним розчином толуїдинового синього досить ефективний, проте його застосування обмежене через можливість розвитку токсичних реакцій [1, 32].

Багато хірургів звертають увагу на необхідність інтраопераційної візуальної та морфологічної ідентифікації прищитовидних залоз і у разі вимушеного видалення чи очевидних ознаках порушення їх васкуляризації пропонують імплантувати їх одразу після втручання в один із привідних м'язів стегна, передпліччя, грудинно-ключично-соскового м'яза [16]. Слід зазначити, що як у разі трансплантації прищитовидних залоз, так і при всіх варіантах тотальної тиреоїдектомії з приводу раку щитовидної залози треба проводити медикаментозну корекцію для профілактики транзиторної гіпокальціємії, яка полягає у створенні депо кальція. Для цього до і після операції (протягом 2-4 діб) внутрішньовенно вводять 10% розчин кальцію хлориду, а потім протягом 1-2 тиж препарат застосовують перорально [11].

Проведений аналіз методів хірургічного лікування раку щитовидної залози на сучасному етапі дозволяє відзначити актуальність даної проблеми і необхідність проведення подальших наукових досліджень у цьому напрямку.

Література

1. Романчишен А.Ф. Актуальные вопросы диагностики и лечения рака щитовидной железы (обзор) // Клини. хирургия. 1991, N 5, 51-56.
2. Woeber K.A. Cost-effective evaluation of the patient with a thyroid nodule // Surg. Clin. N. Amer. 1995, 75, N 3, 357-363.
3. Feldt-Rasmussen U. Management of thyroid carcinoma // Thyroid international. 1. 1996. (Ed. G.Hennemann., E.P.Krenning). Rotterdam: Merck KGaA D-64271, Darmstadt.
4. Воронцовский И.Б. Лечение рака щитовидной железы (обзор) // Мед. радиол. 1990, 35, N 1, 53-57.
5. Тронько Н.Д., Марков В.В., Кашкадамов А.В. и др. Йод, йод-131 и некоторые вопросы тиреоидологии (обзор) // Пробл. эндокринологии. 1989, 35, N 6, 87-90.
6. Clark O.H., Duh Q-Y. Thyroid cancer in the thyroid gland. (Ed. Monte A.Greer). Raven Press, New York, 1990, 537-572.
7. Герасимов Г.А. Влияние ионизирующей радиации на щитовидную железу (обзор) // Пробл. эндокринологии. 1991, 37, N 4, 64-67.
8. Тронько Н.Д., Безверхая Т.П., Корнюшенко Н.П. Ионизирующее излучение и новообразования щитовидной железы (обзор литературы) // Врач. дело. 1992, N 6, 38-48.
9. Fraker D.L. Radiation exposure and other factors that predispose to human thyroid neoplasia // Surg. Clin. N. Amer. 1995, 75, N 3, 365-375.
10. Yoshimoto Y., Ezaki H., Etoh R. et al. Prevalence rate of thyroid diseases among autopsy cases of the atomic bomb survivors in Hiroshima, 1951-1985 // Rad. Res. 1995, 141, 278-286.
11. Демидчик Е.П., Цыб А.Ф., Лушников Е.Ф. Рак щитовидной железы у детей (последствия аварии на Чернобыльской АЭС) // М.: Медицина, 1996. 208с.
12. Диагностика, профилактика и лечение заболеваний щитовидной железы у лиц, подвергшихся радиационному воздействию в результате аварии на Чернобыльской АЭС: Метод. рекоменд. К., 1991. 12с.
13. Эпштейн Е.В., Олейник В.А., Тронько Н.Д. Возможные поражения щитовидной железы у детей, подвергшихся воздействию радионуклидов йода в результате аварии на Чернобыльской АЭС // Пробл. эндокринологии. 1992, 38, N 4, 21.
14. Williams E.D., Pinchera A., Karaoglou A., Chadwick K.H. Thyroid cancer in children living near Chernobyl. Expert panel report on the consequences of the Chernobyl accident. Commission of the European Communities: Report EUR 15248. 1993, 1-108.
15. Kumpusalo L., Kumpusalo E., Soimakallio S. et al. Thyroid ultrasound findings 7 years after the Chernobyl accident - A comparative epidemiological study in the Bryansk region of Russia // Acta Radiol. 1996, 37, N 6, 904-909.
16. Пачес А.И., Пропп Р.М. Рак щитовидной железы. М.: Медицина, 1984. 320с.

17. Badellino F., Margarino G., Scala M. et al. Surgical treatment of thyroid cancer // *Int. Surg.* 1991, **76**, 49-51.
18. Мышкин К.И., Амирова Н.М. Выбор объема операции у больных раком щитовидной железы // *Вопр. онкологии.* 1991, **37**, N 2, 219-224.
19. Чувилина Е.Г., Курмачева Н.А. Особенности течения и отдаленные результаты лечения при раке щитовидной железы у детей // *Актуальные вопросы диагностики и лечения злокачественных опухолей головы и шеи: Сб. науч. тр. Под ред. В.О.Ольшанского. М.: Б.и., 1991, 138-139.*
20. Akslen L.A., Haldorsen T., Thoresen S.O. et al. Survival and causes of death in thyroid cancer: A population-based study of 2479 cases from Norway // *Cancer Res.* 1991, **51**, N 15, 1234-1241.
21. Cady B. Surgery of thyroid cancer // *World J. Surg.* 1991, **5**, N 1, 3-12.
22. Salvesen H., Njolstad P.R., Akslen L.A. et al. Thyroid carcinoma: Results from surgical treatment in 211 consecutive patients // *Acta Chir. Eur. J. Surg.* 1991, **157**, N 9, 521-526.
23. Mazzaferi E.L., Jhiang S.M. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer // *Am. J. Med.* 1994, **97**, 418-428.
24. Mazzaferi E.L. Impact of initial tumor features and treatment selected on the long-term course of differentiated thyroid cancer // *Thyroid today.* 1995, **18**, 1-13.
25. Patwardham N., Cataldo T., Braverman L.E. Surgical management of the patient with papillary cancer // *Surg. Clin. N. Amer.* 1995, **75**, N 3, 449-464.
26. Samuel A.M., Sharma S.M. Differentiated thyroid carcinomas in children and adolescents // *Cancer.* 1991, **67**, N 8, 2186-2190.
27. Shaha A.R., Loree T.R., Shah J.P. Intermediate-risk group for differentiated carcinoma of thyroid // *Surgery.* 1994, **116**, N 6, 1036-1041.
28. Flanders J.A. Surgical therapy of the thyroid // *Vet. Clin. N. Amer. Small Anim. Pract.* 1994, **24**, N 3, 607-621.
29. Dor P. Diagnosis and treatment of differentiated carcinoma of the thyroid gland (letter) // *Acta Chir. Belg.* 1995, **95**, N 6, 301-302.
30. Ain K.B. Papillary thyroid carcinoma: Etiology, assessment, and therapy // *Endocr. Metab. Clin. N. Amer.* 1995, **24**, N 4, 711.
31. Grebe S.K.G., Hay I.D. Follicular thyroid cancer // *Endocr. Metab. Clin. N. Amer.* 1995, **24**, N 4, 761.
32. Udelsman R., Lakatos E., Ladenson P. Optimal surgery for papillary thyroid carcinoma // *World J. Surg.* 1996, **20**, N 1, 88-93.
33. Torre G., Borgonovo G., Amato A. et al. Differentiated thyroid cancer: surgical treatments of 190 patients // *Eur. J. Sur. Oncol.* 1996, **22**, N 3, 276-281.
34. Романчишен А.Ф., Романчишена Е.С. Хирургическая тактика лечения заболеваний щитовидной железы с онкологических позиций // *Пробл. эндокринологии.* 1992, **38**, N 6, 27-29.
35. Harness J.K., Thompson N.W., McLeod M.K. et al. Differentiated thyroid carcinoma in children and adolescents // *World J. Surg.* 1992, **16**, N 4, 547-554.
36. Noguchi S., Yamashita H., Murakami N. et al. Small carcinomas of the thyroid. A long-term follow-up of 867 patients // *Arch. Surg.* 1996, **131**, N 2, 187-191.
37. Mc Henry C.R., Raeburn C., Strickland T., Marty J.J. The utility of routine frozen section examination for intraoperative diagnosis of thyroid cancer // *Am. J. Surg.* 1996, **172**, N 6, 658-661.
38. Bramley M.D., Harrison B.J. Papillary microcarcinoma of the thyroid gland // *Br. J. Surg.* 1996, **83**, N 12, 1674-1683.
39. Marvin L., Rallison M.D., Brown M. et al. Natural history of thyroid abnormalities: Prevalence, incidence, and regression of thyroid diseases in adolescents and young adults // *Th. Amer. J. Med.* 1991, **91**, 363-370.
40. Flament J.B., Avisse C., Launay Ph. et al. Les curages cervicaux dans les cancers thyroïdiens. Aspects anatomiques et techniques // *Lyon Chir.* 1995, **91**, N 2, 128-133.

41. Van de Velde C.J.H., Hamming J.F., Goslings B.M. et al. Report of the consensus development conference on the management of differentiated thyroid cancer in the Netherlands // *Eur. J. Clin. Oncol.* 1988, **24**, 287-292.
42. Олышанский В.О., Сергеев С.А., Голубцов А.К. Функционально-щадящее лечение больных с опухолями щитовидной железы // *Функционально-щадящее лечение больных со злокачественными опухолями. М., 1991, 49-54.*
43. Pasiaka J.L., Thompson N.W., McLeod M.K. et al. The incidence of bilateral well-differentiated thyroid cancer found at completion thyroidectomy // *World J. Surg.* 1992, **16**, N 4, 711-717.
44. Farahati J., Reiners C., Stuschke M. et al. Differentiated thyroid cancer. Impact of adjuvant external radiotherapy in patients with perithyroidal tumor infiltration (stage pT4) // *Cancer* 1996, **77**, N 1, 172-180.
45. Agarwal A., Mishra S.K. Completion total thyroidectomy in the management of differentiated thyroid carcinoma // *Aust. N. Z. J. Surg.* 1996, **66**, N 6, 358-360.
46. Massimino M., Ballerini E., Del Bo R. Primary thyroid carcinoma in children: a retrospective study of patients // *Med. Pediatr. Oncol.* 1995, **24**, N 1, 13-17.
47. Ballantyne A.J. Resections of the upper aerodigestive tract for locally invasive thyroid cancer // *Amer. J. Surg.* 1994, **168**, N 6, 636-639.
48. Friedman M., Danielzadeh J.A., Caldarelli D.D. Treatment of patients with carcinoma of the thyroid invading the airway // *Arch. Otolaryngology - Head and Neck Surgery.* 1994, **120**, N 12, 1377-1381.
49. McCaffrey T.V., Bergstralh E.J., Hay I.D. Locally invasive papillary thyroid carcinoma: 1940-1990 // *Head and Neck.* 1994, **16**, 165-172.
50. Henry J.F., Denizot A., Bellus J.F. et al. Papillary thyroid carcinomas revealed by metastatic cervical lymph nodes // *Endocr. Surgery.* 1992, **9**, N 4, 349-353.
51. Schenmann G.F.W., Gcimm O., Wegener G. et al. Prognostic significance and surgical management of locoregional lymph node metastases in papillary thyroid cancer // *World J. Surg.* 1994, **18**, 559-568.
52. Ozaki O., Ito K., Mimura T. et al. Papillary carcinoma of the thyroid. Tall-cell variant with extensive lymphocyte infiltration // *Am. J. Surg. Pathol.* 1996, **20**, N 6, 95-98.
53. Saha A.R., Shah J.P., Loree T.R. Patterns of nodal and distant metastasis based on histologic varieties in differentiated carcinoma of the thyroid // *Am. J. Surg.* 1996, **172**, N 6, 692-694.
54. Hamby L.S., McGrath P.C., Schwartz R.W. et al. Management of local recurrence in well-differentiated thyroid carcinoma // *J. Sur. Res.* 1992, **52**, 113-117.
55. Grossenbacher R., Moser A. Thyroidectomy and the recurrent laryngeal nerve // *Laryngorhinootologie.* 1994, **73**, N 4, 179-182.
56. Coburn M., Teates D., Wanebo H.J. Recurrent thyroid cancer. Role of surgery versus radioactive iodine (I 131) // *Ann. Surg.* 1994, **219**, N 6, 587-593.
57. Noguchi M., Yagi H., Earashi M. et al. Recurrence and mortality in patients with differentiated thyroid carcinoma // *Int. Surg.* 1995, **80**, N 2, 162-166.

Хирургическое лечение рака щитовидной железы (обзор)

И.В.Комиссаренко, С.И.Рыбаков, А.Е.Коваленко, А.Г.Лысенко, Н.Д.Мельник, М.Ю.Болгов, А.Н.Кваченюк, Р.М.Сичинава, Б.Б.Гуда, С.Л.Шляхтич

Институт эндокринологии и обмена веществ им.В.П.Комиссаренко АМН Украины, 254114 Киев

Обобщены современные подходы к хирургическому лечению рака щитовидной железы. Отражены особенности оперативных вмешательств на щитовидной железе и регионарных коллекторах лимфооттока в зависимости от формы заболевания, возраста больных, степени распространения опухолевого процесса. Рассмотрены методы профилактики хирургических осложнений при радикальном лечении больных раком щитовидной железы.

Surgical treatment of thyroid cancer (a review)

I.V.Komisarenko, S.Y.Rybakov, A.Ye.Kovalenko, A.G.Lysenko, N.D.Melnik, M.Y.Bolgov, A.N.Kvachenyuk, R.M.Sichinava, B.B.Guda, S.L.Shlakhtich

V.P.Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 254114 Kyiv, Ukraine

Modern methods of the surgical treatment of thyroid cancer have been summarized. The features of the surgical intervention on the thyroid and local lymphatic collectors depending on the type of the disease, age groups of patients, the level of expanding of the tumour process are reviewed. The prophylactic methods of the surgical complications after radical treatment of patients with thyroid cancer are considered. .

АУТОІМУННИЙ ТИРЕОЇДИТ У ДІТЕЙ

В. В. Матюшенко

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, 252004 Київ

Узагальнені результати вивчення аутоімунного тиреоїдиту у дітей за останні 10 років. Наводяться дані епідеміологічних, експериментальних та клінічних досліджень. Особливу увагу приділено зв'язку спадково-генетичного субстрату та середовищних елементів у розвитку захворювання. Особливо розглядаються клінічні прояви аутоімунного тиреоїдиту у дітей, особливості його діагностики та лікування.

Ключові слова: аутоімунний тиреоїдит, щитовидна залоза, діти.

Проблема аутоімунного тиреоїдиту (АІТ) у дітей за останнє десятиріччя привертає все більшу увагу клініцистів. Йому відводиться основна роль у формуванні у дітей та підлітків зоба з первинним гіпотиреозом або без нього [1, 2].

Відомості про частоту захворювання на АІТ у дітей різні - залежно від регіону проживання. Так, за даними американських та японських учених частота цієї форми зобу становить відповідно 1,2 та 0,3% [1]. У середньому вважається, що із загальної популяції приблизно 1% дітей хворі на АІТ [3, 4]. У той же час переконливо доведено збільшення захворюваності на АІТ у дітей, які проживають на територіях, забруднених коротко- та довгоживучими радіонуклідами унаслідок аварії на ЧАЕС (зокрема у Белорусі), до 3% [5]. За даними І. Д. Левіт [6], АІТ зустрічається у 2 рази частіше серед населення, що проживає на радіаційно забруднених територіях (19,2 проти 8,8%). Відомо також, що захворюваність на АІТ у дітей Київської області на кінець 1993 року збільшилась у 20 разів [7]. Дослідження вказують на велику питому вагу АІТ серед інших форм тиреоїдної патології у дітей. Вона коливається від 46 до 60% [3, 6].

Розподіл дітей з АІТ за віком та статтю нерівномірний. Існує перевага абсолютного числа дівчаток - 86,67 проти 13,33% хлопчиків. Встановлено наявність двох вікових піків: 6-7 та 10-11 років [5]. Водночас описано випадки захворювання на АІТ дітей віком до 3 років, який став причиною гіпотиреозу. Наявність природженого гіпотиреозу була виключена, про що свідчать результати неонатального скринінгу [8].

Етіопатогенез

Що стосується етіології АІТ у дітей, то великий практичний інтерес становить питання про взаємодію генетичних та середовищних чинників. Можливість пасивного переносу аутоімунних захворювань, зокрема ендокринних, під час трансплантації кісткового мозку дає підставу вважати першопричиною генетичний дефект стовбурових клітин імунної системи [9]. Як і для інших захворювань аутоімунної природи, дослідники відзначають зв'язок з антигенами комплексу HLA. Виявлено збільшення частоти антигенів HLA A 1, B 35, DR 3 та DR 5 за значного зменшення порівняно з популяційною частотою антигену A 11. Доведено, що гіпертрофічна форма АІТ поєднується з наявністю антигену HLA DR 5, в той час як атрофічна - з HLA DR 3. Припускається наявність дефектного імунного супресорного гену, який перебуває в нерівноважному зв'язку з DR 3, що призводить до активізації Т-хелперів та зниження стимуляції Т-супресорів [10-12].

У разі виявлення хоча б одного з антигенів HLA A 1, DR 5, B 35, DR 3 ризик клінічної маніфестації захворювання оцінюється для хлопчиків у 10%, а для дівчаток - до 20%. Неприятливим чинником є наявність некомпенсованого гіпотиреозу у матері під час вагітності [10].

У інших дослідженнях вивчали механізм успадкування антитіл до пероксидази щитовидної залози у тих сім'ях, де частота виявлення антитіл відповідала популяційній. Методом сегрегаційного аналізу було доведено, що тенденція до наявності вищезначених антитіл передається за аутосомно-домінантним типом тільки у жінок. Але у віці до 24 років через уповільнений біологічний синтез відповідних генів, вірогідність прояву захворювання менша [13].

У той же час доведено, що в експериментальних моделях АІТ поряд із очевидною перевагою генетичної причини захворювання простежуються й інші етіологічні впливи. Тому найбільш вірогідно, що етіологія АІТ вкладається в концепцію спадкової схильності з полігенним детермінуванням за участю середовищних та інших індукуючих агентів. Тобто спадково-генетичний субстрат проявляється аутоімунною атакою щитовидної залози (ЩЗ) тільки за участі онтогенетичних, нейроендокринних, інфекційних, екологічних, геохімічних та інших чинників [9, 10, 14].

Абсолютна більшість дослідників вважають, що збільшення споживання йоду може провокувати розвиток АІТ. Про це свідчать дані, отримані внаслідок проведення епідеміологічних досліджень з розвитку АІТ у різних групах населення та в експериментах. Результати епідеміологічних досліджень серед населення Середнього Заходу США та Греції свідчать про збільшення частоти аутоімунних захворювань ЩЗ, зокрема у дітей, після додаткового прийому йоду. В експериментах на курях породи Obese-strain, що схильні до розвитку тяжкого АІТ, було встановлено вірогідне зниження концентрації антитіл до тиреоглобуліну після зменшення кількості йоду у кормі [14, 15].

У нормі у ЩЗ надлишок йоду призводить до транзиторного блоку синтезу гормонів, відомому як ефект Wolff-Chaikoff. Висока частота гіпотиреозу після прийому йоду характерна для хворих в еутиреоїдній фазі АІТ. Так, обмеження прийому йоду супроводжувалося нормалізацією функції ЩЗ у 12 з 22 хворих на АІТ з гіпотиреозом [16].

Не викликає сумнівів роль радіоактивного йоду як пускового механізму АІТ. Це доводить збільшення захворюваності на АІТ, зареєстроване через 5-6 років після Чорнобильської катастрофи, серед дитячого населення, яке зазнало впливу переважно малих доз радіації - в межах 50-70 сГр [5, 17, 18]. Під час обстеження у 1997 році у 5,5% дітей, які проживали в контрольованому районі, було виявлено збільшення вмісту антитіл до мікросомальної фракції ЩЗ (АТМС) [17].

Збільшення кількості випадків тиреоїдної патології насамперед у дітей після аварії пояснюється значними відмінностями у поглинутих дозах радіоактивного йоду ЩЗ залежно від віку. Так, поглинута доза ЩЗ дітей віком до 9 років у 2 рази перевищує таку у дорослих, у дітей до 5 років - у 2-5 разів, а у немовлят - у 10 разів. Це пояснюється насамперед збільшеною функціональною активністю ЩЗ, високою проліферативністю тиреоцитів, становленням нейрогормональної системи регуляції [19]. Деякі автори вважають, що АІТ у дітей, які проживають у контрольованих районах, може призводити до розвитку аутоімунних полігландулярних синдромів у осіб старшого віку [18].

Причину аутоімунного ураження ЩЗ у дітей декотрі автори пов'язують з патологічною відповіддю на вірусну інфекцію. Причому інфікування вірусами відбувається не тільки після народження, але й у антенатальний період. Під час вивчення преморбідного тла у дітей з АІТ та без нього виявлено, що 90% дітей, хворих на АІТ, належали до групи пацієнтів, які часто хворіють, що свідчить про недостатність противірусного та протимікробного імунітету. На цьому тлі 85% дітей до маніфестації АІТ мали по 2-3 хронічні хвороби (осередки хронічної інфекції + харчова або медикаментозна алергія + пієлонефрит або захворювання органів травлення). Осередки хронічної інфекції виявлено у 56% дітей: з них у 42% - хронічний тонзиліт, у 20% - хронічний фарингіт, у 12% - гайморит. Під час бактеріологічного дослідження у 50 дітей виявлено гемолітичний та зеленящий стреп-

тококи, золотистий стафілокок. Титри антитіл до вірусів у дітей з АІТ були вищими ніж у контрольній групі – відповідно: 1 : 160-320 та: 1 : 40. Частіше відзначалися високі титри антитіл до вірусів грипу В, А2, парагрипу 3-го та 1-го типів, Коксакі В [20].

У інших дослідженнях під час вивчення проб, отриманих за допомогою аспіраційної біопсії, проведеної у хворих на АІТ у суворо асептичних умовах, вдалося виявити неспорутворюючі анаеробні мікроорганізми (*Propionibacterium*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides* spp., *Staphylococcus epidermit.*). Причому в усіх цих випадках відзначили високий терапевтичний ефект від застосування антианаеробних засобів [21]. Усі вищеперелічені чинники можуть призводити до порушення імунологічної толерантності організму, зокрема, зниження рівня Т-супресорів.

Дефіцит Т-супресорів спричинює появу тимусозалежних, сенсibiliзованих до тканини ЩЗ лімфоцитів, синтез яких у нормі пригнічується. Виділяючи низку речовин – лімфокінів (лімфотоксин, фактор інгібіції лейкоцитів), сенсibiliзовані лімфоцити пошкоджують клітини ЩЗ та можуть чинити пряму цитотоксичну дію на неї. Зниження кількості Т-супресорів також призводить до активізації В-лімфоцитів, які після контакту з тиреоїдними антигенами починають синтезувати антитіла до тиреоглобуліну (АТТГ), АТМС та колоїдних антигенів ЩЗ. Виникає лімфоцитарна і плазматична інфільтрація тканини ЩЗ, у ній порушується обмін йоду, знижується його кількість у тиреоглобуліні, зменшується синтез тиреоїдних гормонів, поступово фолікулярні клітини замінюються сполучною тканиною, що призводить до розвитку гіпотиреозу. Імунопатологічний процес має фазовий характер з наявністю реакцій, які зменшують активність захворювання і не виключають його регресії. Однак, чинники зворотного розвитку АІТ залишаються неясними і потребують подальшого вивчення [11].

Клініка та діагностика

Клінічні прояви АІТ у дітей звичайно розвиваються поступово. Загальне почуття дитини спочатку не змінюється. Тривалий час захворювання може перебігати безсимптомно, тому встановити давність захворювання буває важко.

За даними М. Р. Горделадзе [22] у значній частині дітей з АІТ (до 90%) була збільшена ЩЗ, а такі суб'єктивні відчуття, як біль, дискомфорт у ділянці шиї, порушення акту ковтання відзначали тільки 9,6% пацієнтів. За даними N. Matsura і співавторів [1] 69,6% дітей зі збільшенням ЩЗ, зумовленим АІТ, скаржились на потовщення шиї, 2,9% – на затримку росту та надлишкову масу тіла, 27,5% – не відзначали суб'єктивних змін у своєму стані. І. Маєпраа і співавтори [12] вказують, що тільки у 1 з 18 дітей з АІТ спостерігалася затримка у рості (5,5%), інші ж хворі (94,5%) скарж не мали [1, 23]. Невелика кількість дітей (6-11%) скаржились на емоційну лабільність, швидку втомлюваність, зниження успішності у школі, збільшення маси тіла, порушення сну, пітливість, мерзлякуватість, вологість або сухість шкіри, серцебиття, тремтіння рук, затримку росту, схильність до закріпів. Поєднання окремих з перерахованих скарж спостерігалось у 20% дітей з гіпертиреозом та у 30% – з субклінічним або явним гіпотиреозом [1, 22, 24].

Першим проявом АІТ у дітей, як правило, є збільшення ЩЗ, виявлене лікарем-ендокринологом під час профілактичного огляду або батьками. Збільшення ЩЗ може досягати II-IV ступеня. Клінічним еквівалентом імуноморфологічних змін при АІТ є ущільнення ЩЗ, яке виявляється під час пальпації у понад 80% випадків. Однак за невеликої давності ураження ЩЗ може мати м'яку консистенцію. Збільшення ЩЗ може бути як рівномірне, так і асиметричне, причому асиметрія частіше спостерігається за рахунок збільшення правої частки. Поверхня залози може бути гладенькою, але частіше вона нерівна, горбиста. Іноді відзначається нерівномірна щільність у одній частці або (частіше) у верхніх полюсах обох часток, що створює хибне уявлення про вузлову або змішану форму зоба [4, 25]. Вважається, що щільна, горбиста поверхня характерна для дітей старшого віку, а також

підлітків у разі тривалого перебігу захворювання [3, 5, 22]. Деякі автори вважають обов'язковою ознакою АІТ у дітей та підлітків збільшення перешийку ЩЗ [2]. В усіх випадках ЩЗ вільно зміщується, рухома.

Атрофічна форма АІТ у дітей, яку деякі автори називають ювенільною мікседемою, зустрічається рідко. Патологію частіше виявляють за клінічними симптомами, що характерні для тяжкого перебігу гіпотиреозу, без збільшення ЩЗ. Причому атрофічна форма виявляється у більш ранньому віці за гіпертрофічну (відповідно у віці $7,7 \pm 1,7$ та $10,5 \pm 2,7$ років) [1].

Під час порівняння клінічних та гормональних показників функціонального стану ЩЗ виявляють значні розходження. Характеризувати її функцію можна тільки на підставі визначення базальних рівнів тиреотропного (ТТГ) та тиреоїдних гормонів [1, 3, 24, 26]. Визначення вмісту T_3 , T_4 , ТТГ у сироватці крові за методом радіоімунного аналізу засвідчило, що їх концентрація у більшості дітей з АІТ (45-80%) на ранніх етапах не перевищувала нормальних показників і свідчила про еутиреоїдний стан [12, 24]. У той же час рівні гормонів, що відповідають явному або прихованому гіпотиреозу, відмічались від 3 до 60% випадків [3, 22, 23]. Гіпертиреоїдний стан, переважно транзиторного характеру, спостерігався у 5-8% дітей з АІТ. Також повідомляється, що рівні тиреоїдних гормонів та ТТГ у дітей з АІТ схильні до значних коливань [24]. Е. Г. Чувіліна [25] вважає, що особливістю гормонального гомеостазу хворих дітей є підвищення ТТГ за незначного зниження T_3 та T_4 . Явна гіпофункція ЩЗ (зниження T_3 , T_4 за збільшення ТТГ понад 6 МОД/мл) частіше виникає у разі атрофічної форми АІТ [1] або на тлі збільшення ЩЗ до III ступеня [27]. Всі автори згодні, що протягом часу функція ЩЗ може змінюватись. Доведено експериментально, що через 10 років захворювання приблизно у 20-27% хворих виникає гіпотиреоз [27]. Водночас описані випадки самостійної нормалізації функції ЩЗ у дітей з гіпертрофічною формою АІТ, які пояснюються тимчасовим підвищенням титру антитіл до рецептора ТТГ [1]. Деякі автори вказують на трийодтиронінову недостатність, що найбільш характерна для АІТ. Підвищення синтезу тироксинзв'язуючого глобуліну (ТСГ), яке відзначається у дітей з АІТ, розглядається як компенсаторний механізм для підтримання метаболічної рівноваги [28]. При цьому синтез ТСГ у хлопчків нижчий, бо тестостерон зменшує його продукцію [29].

У дітей, що хворі на АІТ, показники функціонального стану ЩЗ та системи імунітету схильні до значних коливань, що, можливо, зумовлено віковими та статевими особливостями.

Для діагностики АІТ патогномічним є виявлення тиреоїдблокуючих глобулінів, тиреоїдстимулюючих антитіл, антитіл, що зв'язують тиреоїдстимулюючі антитіла, АТТГ, АТМС [30]. Якщо три перших типи антитіл зустрічаються до 9,6% хворих з АІТ, то АТТГ та АТМС виявляються з однаковою частотою у 60-80% пацієнтів [1, 30, 31]. Є дані про виявлення у 94% дітей з АІТ АТМС [32].

Величини імунологічних параметрів та наявність специфічних тиреоїдних антитіл залежать від форми захворювання, активності процесу. При гіпотиреозі виявляють найбільші зміни в імунному статусі за рахунок зменшення рівня показників Т-клітинного імунітету та помітного збільшення кількості В-лімфоцитів, синтезу Ig A, M та G [33]. Причому збільшення вмісту спостерігається тільки за наявності гіпотиреозу або у дітей з обтяженим сімейним анамнезом щодо аутоімунних захворювань [33, 34]. Високий вміст специфічних тиреоїдних антитіл, підвищення концентрації Ig G та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у периферичній крові також є ознаками прогресування гіпотиреозу та відображає особливості органоспецифічної цитотоксичності при АІТ. У разі гіпертрофічної форми АІТ виявляють найбільші рівні АТМС та АТТГ [35]. У той же час деякі автори відзначають, що дітей з наявністю АТМС більше серед тих, у кого АІТ перебігає без збільшення ЩЗ [6]. Збільшення ЦІК переважно середнього розміру (70-75%) виявлено у 92% дітей з високим титром АТТГ та зобом III ступеня [30].

Сонографічне дослідження дозволяє оцінити структуру ЩЗ при АІТ, воно частково може характеризувати ступінь вираженості лімфоїдної інфільтрації та цитопрولیферативні процеси при АІТ у дітей.

Сонографічними ознаками АІТ у дітей є: збільшення ЩЗ (зменшення у разі атрофічної форми), дифузне або нерівномірне зниження акустичної щільності тканини, неоднорідність ехоструктури за рахунок появи ділянок збільшеної акустичної щільності, котрі чергуються з гідрофільними (гіпоехогенними) ділянками. Виявляють сполучнотканинні тяжі, які візуалізуються у вигляді ехопозитивних лінійних структур, що перетинають тиреоїдну тканину і надають залозі осередкового, петлястого характеру. Для атрофічної форми характерна поява масивних ділянок фіброзу, які заміщують тиреоїдну тканину [36, 37].

Визначення розмірів ЩЗ за допомогою сонографії з подальшим розрахунком її об'єму дозволяє вірогідно визначити ступінь її збільшення. Відзначається, що сонографічний об'єм ЩЗ повільно збільшується у хлопчиків та дівчаток віком від 6 до 12 років, а потім різко збільшується у 13-14 років. Значних відмінностей щодо розмірів ЩЗ у дітей обох статей встановлено не було. У хлопчиків та дівчаток з АІТ також відсутні відмінності у розмірах ЩЗ, зберігається залежність збільшення об'єму ЩЗ від віку дитини у разі гіпертрофічної форми. Не виявлено різниці і щодо характеру сонограм у хлопчиків та дівчаток [38, 39].

Для діагностики АІТ принципово важливе значення має пункційна біопсія ЩЗ. Однак її роль оцінюється неоднозначно. Важливо отримати достатню кількість матеріалу для цитологічного дослідження. Серед лімфоцитів, які інфільтрують ЩЗ, виявляють Т-хелпери, Т-супресори, Т-кілери, В-клітини, а також лімфоцити з рецепторами, ідентичних яким не зафіксовано серед лімфоцитів периферичної крові [24]. Автори вважають, що ці клітини зумовлюють цитотоксичні реакції при АІТ.

При гіпотиреозі домінує В-клітинна інфільтрація, виявляються атрофія тиреоцитів та клітин Ашкеназі-Гюртле [40, 41]. Але, оскільки пункційна біопсія є інвазійним методом, що не бажано в педіатричній практиці, деякі автори вважають необґрунтованим виключно "біопсійний" діагноз АІТ у дітей і рекомендують її використовувати лише у разі підозри на неоплазію [2, 40], або за неможливості іншим методом підтвердити діагноз [41].

Лікування

Основою консервативної терапії АІТ у дітей є тиреоїдні гормони (L-тироксин, 3-йод-тиронін), які призначають з метою заміщення та створення "спокою" пошкодженому органу. Вони мають імунокоригуючу дію [42], ліквідують гіпотиреоз, пригнічують ТТГ-стимуляцію, яка сприяє збільшенню аутоімунізації та відіграє провідну роль у розвитку злоякісних пухлин ЩЗ [43, 44]. Унаслідок лікування зникають скарги суб'єктивного характеру [22, 25], зменшується ступінь вираженості клінічних симптомів через 3-5 міс від початку його при 125-175 мкг/добу у 50% хворих та у 20% через 6-9 міс - при дозі 100-150 мкг/добу [45].

Зменшення пальпаторного та "сонографічного" об'єму ЩЗ відбувається повільно [38]. Після припинення лікування через 4 тиж відзначається збільшення розмірів ЩЗ у 40% хворих [45].

Після лікування збільшуються рівні загального T_4 та його вільної фракції і зменшується вміст ТТГ. Визначення вмісту останнього використовується як лабораторний критерій оцінки ефективності лікування з метою визначення терапевтичної дози препарату. У разі призначення тиреоїдних препаратів рекомендують враховувати вихідний рівень вільної фракції T_4 , показники вмісту ТСГ, тиреоїдних антитіл та ЦІК. За високих рівнів згаданих показників треба збільшити дозу тиреоїдних гормонів. Доведено, що передозування тиреоїдних препаратів у дітей спостерігається рідко, через відносно короткий період виведення T_3 та T_4 . Однак воно буває у пацієнтів з незмінним рівнем T_3 [47].

Стосовно дози тиреоїдних препаратів у дітей є різні думки. Більшість авторів вважають за доцільне призначати середні і максимально переносні їх дози [6, 11, 22, 23]. Профілактика медикаментозного гіпертиреозу полягає в урахуванні початкового рівня гормонів ЩЗ, переривчастій монотерапії одним з тиреоїдних гормонів. Крім того, переривчаста терапія дозволяє зберегти природну стимуляцію загрудинної залози та паренхіми ЩЗ тиреотропним гормоном. Перерва у прийомі препаратів не повинна перевищувати 1,5 міс [45]. У той же час дослідженнями встановлено, що імунокоригуючий ефект гормонів ЩЗ залежить від дози: малі та середні дози (1-2 мкг/кг) тироксину стимулюють супресорну функцію, посилюють кооперацію Т-хелперних та В-лімфоцитів, а великі - пригнічують [48]. Також існують дані, що тривалий прийом високих доз тиреоїдних гормонів (120 мкг і вище) у дітей призводить до зниження щільності кісток, тому їх рекомендують тільки хворим на рак ЩЗ [49]. Інші дослідники вважають за доцільне призначати тиреоїдні препарати дітям з АІТ тільки у разі лабораторного або клінічного гіпотиреозу [50].

Встановлено, що в процесі лікування клінічна ремісія попереджує лабораторну. У разі пригнічення Т-клітинної ланки імунітету рекомендують призначати L-тироксин у поєднанні з одним із препаратів: дибазолом, спленіном, тималіном, вілозоном, Т-активіном [3, 4, 6]. Для активізації В-клітинної ланки імунітету треба поєднувати тироксин із одним з препаратів - еуфіліном, теофіліном, β -амінокапроною кислотою, преднізолоном (20-30 мг/добу) [6, 7, 51].

Деякі автори для досягнення імунокоригуючого ефекту вважають за доцільне призначати лазеротерапію [52].

Унаслідок лікування АІТ у дітей досягають зменшення проявів головних симптомів захворювання, запобігають появі гіпотиреозу і тим самим забезпечуються нормальний інтелектуальний та фізичний розвиток дитини, вибіркова супресія інтратироїдального аутоімунного механізму. Однак на сьогодні не існує високоефективних засобів, які блокують або запобігають розвиткові АІТ у дітей.

Література

1. Matsuura N., Konistri I., Yuri K. et al. Comparison of atrophic and goitrous autoimmune thyroiditis in children: Clinical, laboratory and TSH-receptor antibody studies //Eur. J. Pediatr. 1990, 149, 529-533.
2. Никитин И.Г., Кисляк О.А., Сторожаков Г.И. Клиника и диагностика аутоиммунного тиреоидита у подростков //Педиатрия. 1993, N 3, 26-29.
3. Алексеева Р.Н., Горделадзе М.Р. Клинико-диагностические особенности аутоиммунного тиреоидита у детей //Педиатрия. 1989, N 11, 27-32.
4. Жуковский М.А. Детская эндокринология. М.: Медицина, 1993, 141-250.
5. Хмара И.М. Аутоиммунный тиреоидит у детей (Материалы клинико-лабораторных исследований в Республике Беларусь, 1989-1991 гг.): Автореф. дис. канд. мед. наук. Минск, 1993. 23 с.
6. Левит И.Д. Проблемы аутоиммунного тиреоидита у детей // Пробл. эндокринологии. 1992, 38, N4, с. 13.
7. Стернюк Ю.М., Білінський Б.Т., Флорес И. Сучасна діагностика захворювань щитовидної залози //Навч. посібник. Львів: Фенікс, 1995. 112 с.
8. Foley T.P., Abbassi V., Copeland K.C., Draznin M.B. Brief report: Hypothyroidism caused by chronic autoimmune thyroiditis in very young infants // N. Engl. J. Med. 1994, 330, N 17, 466468.
9. Лукьянчиков В.С., Калинин А.П., Лукьянчиков В.В. Современные представления об этиологии и патогенезе аутоиммунных эндокринопатий //Терапевт. арх. 1995, N 10, 3-6.
10. Беникова Е.А., Бужиевская Т.И., Сильванская Е.М. Генетика эндокринных заболеваний. К. : Наук. думка, 1993, 62-65.

11. Volpe R. Autoimmune thyroiditis //Thyroid function and disease (Ed. G.N.Burrow, J.H. Oppenheimer, R.Volpe). Philadelphia etc.: Saunders, 1989, 191-212.
12. Maenpaa I., Lautenschlager I., Nyberg M. et al. Thyroid infiltrating lymphocytes, thyroid function and HLA-DR in juvenile autoimmune thyroiditis //Acta Endocrinol. 1989, 121, N 4, 573-599.
13. Philipps D., Prentice L., Upad Hyaya M. et al. Autosomal dominant interitance of autoantibodies to thyroid peroxidase and thyroglobuline studies in families not selected for autoimmune thyroid disease //J. Clin. Endocrinol. Metabol. 1991, 72, N 5, 973-975.
14. Rendl I., Borrer W. Iod und autoimmunthyroiditis // Der Nuklearmediziner. 1993, 16, N 3, 209-218.
15. Braverman L.E. Iodine induced thyroid disease // JAMA. 1990, N 17, S. 1, 29-33.
16. Tajiri J. Studies of hypothyroidism in patients with high iodine intake //J. Clin. Endocrinol. 1986, 63, N 16, 412-417.
17. Эпштейн Е.В., Олейник В.А., Тронько Н.Д. Возможные поражения щитовидной железы у детей, подвергшихся воздействию радионуклидов йода в результате аварии на Чернобыльской АЭС //Пробл. эндокринолог. 1992, 38, N 4, с. 21.
18. Щитовидная железа у детей: Последствия Чернобыля /Под ред. проф. Л.Н.Астаховой. Минск, 1996. 216 с.
19. Дедов В.И., Дедов И.И., Степаненко В.Ф. Радиационная эндокринология. М.: Медицина, 1993. 208 с.
20. Портянкина Л.Б., Гасанова Т.А., Шапина Л.Н., Коноплева Т.Н. Роль вирусно-бактериальных инфекций в развитии хронического аутоиммунного тиреоидита у детей //Педиатрия. 1991, N 2, 41-44.
21. Крыстев И., Алексиев Ч., Катранушкова Н. И др. Роль анаэробных микроорганизмов в генезе тиреоидитов и кист щитовидной железы //Пробл. эндокринолог. 1993, 39, N 2, 16-18.
22. Горделадзе М.Р. Особенности диагностики и течения аутоиммунного тиреоидита у детей: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 1985.
23. Maenpaa J., Raatikka M.R., Rasanen J. et al. Natural course of juvenile autoimmune thyroiditis //J. Pediatr. 1985, 107, N 6, 898-903.
24. Bachrach L.K., Foley T.P. Thyroiditis in children // Pediatr. Res. 1989, 11, N 6, 184-191.
25. Чувиллина Е.Г., Пулякова Л.И., Болотова Н.В., Гуляева А.И. Катамнез и особенности течения хронического аутоиммунного тиреоидита у детей /Педиатрия. 1991, N 2, 44-48.
26. Эпштейн Е.В., Божок Ю.М. Лабораторная диагностика заболеваний щитовидной железы //Ж. практ. врача. 1996, N 4, 38-39
27. Battelino T., Krzisnik C., Gottschalk M.E., Zeller W.P. Testing thyroid function recovery in children and adolescents with Hashimoto thyroiditis // Ann. clin. labor. sci. 1994, 24, N 6, 489-494.
28. Franklin J.A. The molecular mechanisms of thyroid hormone action //Baillier Clin. Endocrinol. Metabol. 1988, 2, N 4, 891-909.
29. Зажаева В.В., Ходоровский Г.И. Половой деморфизм щитовидной железы и обоснование его механизма //Современные проблемы экспериментальной и клинической эндокринологии: Тез. докл. IV съезда эндокринологов УССР . К., 1987, с. 143.
30. Bogner U., Hegediis L., Hanser J.M. et al. Thyroid cytotoxic antibodies in atrophic and goitrous autoimmune tyroiditis //Eur. J. Endocrinol. 1995, 132, N 1, 69-74.
31. Sato A., Aizawa T., Koizumi Y. et al. Ten-year follow-up study of thyroid function in euthyroid patients with simple goiter of Hashimoto's thyroiditis //Internal Med. 1995, 34, N 5, 371-375.
32. Vakeva A., Kontiainen S., Miettinen A. et al. Thyroid peroxidase antibodies in children with autoimmune thyroiditis //J. Clin. Pathol. 1992, 45, N 2, 106-109.
33. Левит И.Д. Аутоиммунный тиреоидит (этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение). Челябинск: Южно-Урал. изд-во, 1991. 254 с.

34. Litaka M., Aquauo J.F., Iwatan Y. et al. Studies of the effect of suppressor T-lymphocytes on the induction of antithyroid microsomal antibody-secreting cells in autoimmune thyroid disease // *J. Clin. Endocrinol.* 1988, **66**, N 4, 708-714.
35. Bornet H., Mades A.M., Radien P. et al. Evaluation of antiTPO antibody determination in various clinical situations // *Thyroperoxidase and thyroid autoimmunity* (Ed. P.Carayon, F. Ruf). Calcoque. Inserm. 1990, **207**, 315-320.
36. Эпштейн Е.В., Олейник В.А., Тронько Н.Д., Имшинецкий П.В. Ультразвуковая диагностика заболеваний эндокринных желез. К.: Здоров'я, 1992. 96 с.
37. Sostre S., Reyes M.M. Sonographic diagnostik and grading of Hashimoto's thyroiditis // *J. Endocrinol. Invest.* 1991, **14**, N 2, 115-121.
38. Diasuke U. Sonographic measurement of the volume of the thyroid gland in healthy children // *Acta Paediatr. Jap.* 1989, **31**, N 3, 352-354.
39. Tajtakova M., Hancinova D., Langer P. et al. Thyroid volume by ultrasound in boys and girl 6-16 years of age under marginal iodine deficiency as related to the age of puberty // *Clin. Wochenschr.* 1990, **68**, N 10, 503-506.
40. Mizukami Y., Michigeshi T., Kawato M. Chronic thyroiditis: Thyroid function and histologic correlation in 601 cases // *Hum. Pathol.* 1992, **23**, N 9, 980-988.
41. Poropatich C., Marcus D., Oertel Y.C. Hashimoto's thyroiditis: fine-needle aspirations of 50 asymptomatic cases // *Diagnostic Cytopathology.* 1994, **11**, N 2, 151-155.
42. Hegedus L., Hansen J.M., Feldt-Rasmussen U. et al. Influence of thyroxine treatment on thyroid size and anti-thyroid peroxidase antibodies in Hashimoto's thyroiditis // *Clin. Endocrinol.* 1991, **35**, N 3, 235-238.
43. Tronko N., Bogdanova T., Komissarenko I. et al. Thyroid cancer in children and adolescents in Ukraine after the Chernobyl accident (1986-1995) // *The radiological consequences of the Chernobyl accident: Proc. 1st Intern. conf. (Minsk, Belarus, 18-22 March, 1996).* EUR 16544 EN, 1996, 683-690.
44. Олейник В.А., Безверхая Т.П., Эпштейн Е.В., Божок Ю.М. Диагностика рака щитовидной железы // *Пробл. эндокринолог.* 1995, **41**, N 5, 37-41.
45. Homoki J., Loos U., Feller W. Treatment of juvenile euthyroid goiter // *Mondtsschr Kinderheilkd.* 1985, **133**, N 8, 532-536.
46. Berghout A., Wiersiga W.M., Drexhage H.A. et al. Comparison of placebo with L-thyroxine alone or with carbimazole for treatment of sporadic non-toxic goitre // *Lancet.* 1990, **336**, N 8709, 192-197.
47. Levander W., Lacoutre P.G., Silva L.E., Lovejoy F.H. Acute thyroxine ingestion in pediatric patients // *Pediatrics.* 1989, **84**, N 2, 262-265.
48. Бахметьев Б.А. Влияние тироксина на отдельные этапы иммуногенеза: Автореф. дис. докт. мед. наук. Новосибирск, 1996, 21 с.
49. Radetti G., Castellan C., Tato L. et al. Bone mineral density in children and adolescent females treated with high doses of L-thyroxine // *Horm. Res.* 1993, **39**, N 3-4, 127-131.
50. Rother K.J., Zimmerman D., Schwenk W.F. Effect of thyroid hormone treatment on thyromegaly in children and adolescents with Hashimoto disease // *J. Pediatrics.* 1994, **124**, N 4, 559-601.
51. Еникеева Р.Г. Патогенетические механизмы аутоиммунного тиреоидита у детей и принципы его коррекции // *Вопр. охраны материнства и детства.* 1988, N 10, 25-28.
52. Спринчук Н.А. Вегетативна регуляція серця, функціональний стан церебральних і периферичних судин у дітей з гіпертрофічною формою аутоімунного тиреоїдиту: Автореф. дис. канд. мед. наук. К., 1995. 25 с.

Аутоиммунный тиреоидит у детей (обзор)

В.В.Матюшенко

Национальный медицинский университет им.А.А.Богомольца, 252004 Киев

Обобщены результаты изучения аутоиммунного тиреоидита у детей за последние 10 лет. Приводятся данные эпидемиологических, экспериментальных и клинических исследований. Особое внимание уделено связи наследственно-генетического субстрата и элементов среды. Отдельно рассматриваются клинические проявления аутоиммунного тиреоидита у детей, особенности его диагностики и лечения.

Autoimmune thyroiditis in children (a review)

V. Matyushenko

O. O. Bogomolets National Medical University, 252004 Kyiv, Ukraine

The results of the study of autoimmune thyroiditis in children during last 10 years are summarized. The data of epidemiologic, experimental and clinical investigations are presented. Particular attention is paid to the connection of the hereditary-genetic substrate and elements of the environment. Clinical manifestations of autoimmune thyroiditis in children, peculiarities of its diagnosis and treatment are considered separately.

УДК 612.826.4:612.432/.434:612.45]:547.466.3

УЧАСТЬ ГАММА-АМІНОМАСЛЯНОЇ КИСЛОТИ В РЕГУЛЯЦІЇ ФУНКЦІЇ СИСТЕМИ ГІПОТАЛАМУС-ГІПОФІЗ-КОРА НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ

Т.М. Мишуніна, В.Я. Кононенко

*Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН
України, 254114 Київ*

У пропонуваному огляді узагальнено та проаналізовано дані, які були отримані в експериментах *in vivo* та *in vitro*, а також під час обстеження здорових людей та хворих з гіперкортицизмом, вивчення питання участі основного гальмівного нейромедіатора мозку гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) в центральних та периферичних механізмах регуляції функції системи гіпоталамус-гіпофіз-кора надниркових залоз (ГГНС) у нормі, за умов стресу, дії гормонів, а також у разі патології ГГНС.

Ключові слова: гамма-аміномасляна кислота, система гіпоталамус-гіпофіз-кора надниркових залоз, нейроендокринна регуляція.

Широкі дослідження з вивчення ролі ГАМК у центральній регуляції низки фізіологічних функцій організму сприяли формуванню уявлення про її участь у механізмах контролю секреції гіпоталамічних чинників, а також відповідних гормонів гіпофіза. Доведено, що ГАМК, поряд з іншими нейромедіаторами та нейромодуляторами, бере участь у регуляції секреції практично усіх відомих рилізінг-факторів та гіпофізарних гормонів, проте механізми такої участі та їх значення у розвитку нейроендокринних патологій залишаються до кінця не з'ясованими. Гіпоталамус належить до тих структур мозку, де присутність високої концентрації ГАМК та фермента її синтезу в тілах нейронів і нервових закінченнях усіх найважливіших зон цієї структури, а також інтенсивне вивільнення ендогенної амінокислоти у стані спокою та в умовах електричної стимуляції передбачають важливу роль ГАМК-ергічної системи у фізіологічних функціях. Вважають, що ГАМК-ергічний нейромедіаторний контроль виділення рилізінг-факторів нейросекреторними клітинами гіпоталамуса може бути опосередкований як пре- або постсинаптичною дією медіатора, так і за рахунок аксо-аксональних контактів [1].

Інгібіторна дія медіатора в аденогіпофізі здійснюється через тубероінфундибулярні ГАМК-ергічні шляхи. ГАМК від присереднього випину (*eminetia medialis*) системою портальних судин надходить до аденогіпофіза, де взаємодіє з ГАМК-рецепторами. Ілюстрацією таких взаємовідносин є чітка послідовність у часі підвищення синтезу ГАМК у присередньому випині, рівня амінокислоти в цій зоні та вмісту ГАМК в аденогіпофізі в процесі циркадної циклічності секреції низки гормонів [2].

Розглядаючи дані, що були одержані під час дослідження ролі гальмівного нейротрансмітера у регуляції секреції КРФ та АКТГ, слід відзначити можливу роль у цих процесах різних функціональних ланок ГАМК-ергічної медіації. Доведено, що нейрони гіпоталамуса, які синтезують як КРФ, так і проопіомеланокортин, є ГАМК-ергічними [3]. У їх нервових закінченнях функціонують механізми синтезу та вивільнення ГАМК, рецептування на пре- та постсинаптичних мембранах, зворотного захоплення та подальшого метаболізму медіатора. У той же час стрункої системи фактичних доказів, які б свідчили про участь процесів метаболізму, транспорту, тих чи тих типів власне ГАМК-рецепторів або різних місць зв'язування модюляторів ГАМК₂-рецепторних комплексів у механізмах секреції АКТГ за різних

фізіологічних чи патологічних станів, не існує. Для з'ясування цього питання в дослідях *in vivo* на добровольцях або тваринах досліджували дію самої ГАМК, яка є лігандом усіх типів ГАМК-рецепторів, сполук, які модулюють її ендogenous вміст, а також агоністів чи антагоністів різних типів ГАМК-рецепторів та різних типів рецепторних ділянок ГАМК_a-рецепторних комплексів.

У перших працях з вивчення впливу екзогенної ГАМК було доведено, що внутрішньовенне введення амінокислоти спричиняло і підвищення, і зниження рівня 11-оксикортикостероїдів (11-ОКС) у плазмі крові котів; різнодію ГАМК частково пов'язували із дозою медіатора [4]. У подальших дослідженнях встановлено, що у разі внутрішньочеревного введення великої дози ГАМК вміст АКТГ або 11-ОКС у крові інтактних тварин зростає, а стресованих - не змінювався [5, 6]. За тривалого введення рівень АКТГ у інтактних щурів не змінювався, а ефект амінокислоти у адреналектомованих тварин залежав від дози [6].

Підвищення ендogenous рівня ГАМК унаслідок тривалого надходження у організм натрію вальпроату - інгібітора ланцюга ферментів, що метаболізують ГАМК, призводило до значного зниження стимулюючого впливу КРФ на вивільнення АКТГ *in vitro* з інкубованого аденосіфиза. Проте вміст КРФ у гіпоталамусі та АКТГ в крові таких тварин не змінювався, а рівень кортикостерону навіть підвищувався. У разі стресування щурів, які тривалий час отримували натрію вальпроат, підвищення рівнів КРФ, АКТГ та кортикостерону у крові було значно меншим, ніж у інтактних [1]. Натрію вальпроат знижував рівень АКТГ за одноразового та багаторазового введення його інтактним або адреналектомованим щурам, але не змінював за умови одноразового введення стресованим [6]. Прийом натрію вальпроата здоровими людьми призводив до зниження ранкової хвилі секреції АКТГ [7], але не впливав на базальний або індукований стресом чи введенням антагоніста опіоїдних рецепторів - налоксону вміст АКТГ та кортизолу у крові [8, 9]. Підвищення рівня 11-ОКС у крові щурів за наявності стресу знімалося введенням одного з метаболітів ГАМК - гамма-оксимасляної кислоти [10], проте гамма-амінооксимасляна кислота була неефективною щодо вмісту кортизолу у крові людей [11].

За допомогою дослідження можливих молекулярних механізмів реалізації впливу ГАМК встановлено, що введення мусцимолу (специфічного агоніста власне ГАМК_a-рецепторів) не змінювало вміст кортизолу в крові людей [12], а бікукуліну (специфічного їх антагоніста) - підвищувало рівень АКТГ у інтактних щурів за одноразового введення та не змінювало його у разі тривалого введення у стресованих, а також адреналектомованих тварин [6]. У випадку внутрішньовенного введення бікукуліну собакам в дозі 1 мг/кг маси тіла виявили значне зростання вмісту АКТГ та кортизолу, проте в 2 та 1000 разів менші дози антагоніста не мали ефекту [13]. У собак з печінковою енцефалопатією вплив бікукуліну не простежувався, що автори пояснюють існуванням високого тону ГАМК-ергічної системи та ГГНС у таких тварин. У той же час на тлі підвищеної активності ГГНС, спричиненої введенням ліпополісахариду чи інтерлейкіну-1, бікукулін збільшував, а ГАМК зменшувала у разі їх внутрішньочеревного введення підвищену секрецію кортикостерону [14]. Цей ефект залежав від часу доби і виявлявся максимально вранці. Вважають, що участь ГАМК у нейроендокринних механізмах регуляції функції ГГНС під впливом ліпополісахариду чи інтерлейкіну-1 зумовлена активацією ГАМК_a-рецепторів.

Пікротоксин, антагоніст барбітурат-пікротоксинової субодиниці, яка входить до олігомерного рецепторного комплексу ГАМК_a/ бензодіазепін/Cl⁻-канал (ГАМК_a/БД/Cl⁻-канал), є сильним стимулятором секреції АКТГ: внутрішньочеревне або внутрішньовенне його введення у дозах, які зумовлюють судоми, призводило до 3-4-разового збільшення вмісту АКТГ та кортикостерону у плазмі крові як інтактних, так і щурів з гіпоталамічною деаферентацією [15, 16]. Цікаво, що при цьому він супресував добовий ритм АКТГ, не впливаючи на добовий ритм кортикостерону

[15]. Крім того, у стресованих щурів введення пікротоксину супроводжувалося зниженням вмісту АКТГ [6]. Слід зазначити також, що індукція секреції АКТГ під впливом пікротоксину знімалася введенням діазепаму (ліганду БД-рецептора у рецепторному комплексі ГАМК_a/БД/СІ-канал), але не баклофену (агоніста ГАМК_b-рецепторів), що вказує на участь у механізмах регуляції кортикотропної функції БД-рецепторів, які входять до ГАМК_a-рецепторного комплексу. У той же час повністю виключити роль ГАМК_b-рецепторів в цих процесах не можна, бо, за іншими даними, сам баклофен, не змінюючи базального рівня секреції АКТГ, знижував її підйом після стимуляції латеральної зони мигдалика або у разі вестибулярного стресу та знімав стимулюючий ефект пікротоксину [17]. Крім того, прийом баклофену здоровими людьми призводив до зниження базального та стимульованого інсуліновою гіпоглікемією рівнів кортизолу у крові [18].

Неоднозначні дані одержано і під час дослідження впливу самих БД на функціональну активність системи ГГНС. Засвідчено, що низькі та середні дози діазепаму не впливали [19] або зменшували рівень кортикостероїдів у крові [20, 21], а високі - підвищували його [16, 21, 22]. Вплив діазепаму залежав також від часу, який минув після ін'єкції препарату, і статі тварин [21]; він був різним також у оварієктомованих самок та інтактних самців щурів [23]. Ефект великої дози не знімався пікротоксином або бікукуліном [16], але гасився введенням одного з антагоністів БД-рецепторів [24]. Чітко встановлено, що діазепам знижує підвищену концентрацію кортикостероїдів, яка була зумовлена стресом [6, 20, 23, 25, 26], але не введенням АКТГ [25]. Ступінь зниження рівня 11-ОКС у крові стресованих щурів у разі введення діазепаму залежав від величини його зв'язування у мозку [25], а підвищення вмісту КРФ - від статі щурів, тривалості введення препарату та структури мозку [23]. Експресія мРНК КРФ в мозку щурів підвищувалася також під час дії карбазепіну [27], а реакція ГГНС на введення КРФ після одноразового прийому волонтерами темазепаму виявилася значно редукованою [28].

Певна інформація була одержана у дослідях з внутрішньомозковим введенням ГАМК, її агоністів та антагоністів. Так, введення амінокислоти у шлуночки мозку не змінювало базальний рівень кортикостерону у крові [29], проте запобігало підвищенню вмісту гормону після оперативного втручання [30]. В інших дослідженнях доведено зниження базального вмісту 11-ОКС у крові після внутрішньошлункового введення ГАМК; дія медіатора проявлялася по-різному, залежно від часу, який минув після ін'єкції [31]. Ефект ГАМК знімався пікротоксином, α_1 -, α_2 -, але не β -адреноблокаторами [32]. Вважають, що у механізм ГАМК-ергічного контролю секреції АКТГ залучені не тільки ГАМК-, але й деякі адренорецептори.

Ефект внутрішньошлункового введення пікротоксину виявився не таким однозначним, як у разі його периферичних ін'єкцій: засвідчено і підвищення вмісту 11-ОКС у плазмі крові [30], і відсутність його впливу [31, 33]. У той же час введення пікротоксину одночасно з ГАМК призводило до відміни ефекту медіатора [33]. Бікукулін у разі внутрішньошлункового введення збільшував рівень АКТГ та кортикостерону [30]; такий самий ефект мала й ін'єкція антагоніста у дорсомедіальні ядра гіпоталамуса щурів [34]. Авторами, крім того, з'ясовано, що вплив бікукуліну відсутній, якщо його вводити трохи спереду дорсомедіальних ядер, ближче до паравентрикулярних. Нейроендокринний ефект антагоніста збігався у часі з фізіологічними: появою тахікардії та підвищенням тиску крові. У інших дослідженнях помічено, що білатеральні ін'єкції мусцимолу в паравентрикулярні чи дорсомедіальні ядра гіпоталамуса стресованих щурів супроводжувалися різким зниженням рівня АКТГ у крові; проте, зменшення тахікардії та тиску крові спостерігали лише тоді, коли мусцимол ін'єктували у дорсомедіальні ядра [35].

Імплантація ГАМК у присередній випин або латеральну ділянку мигдалика призводила до підвищення вмісту 11-ОКС у крові котів; імплантація амінокислоти у гіпокамп залишалася без ефекту [4]. Вміст АКТГ не змінювався також після мікроін'єкцій мусцимолу та бікукуліну у хвостате ядро котів [36], так само як і

рівень кортикостерону після введення медіатора у тубероіндибулярну або преоптичну ділянку гіпоталамуса щурів [29]. У той же час введення ГАМК в останні із вказаних ділянок мозку знижувало підвищений рівень кортикостерону, який був індукований стресом або внутрішньомозковим введенням ацетилхоліну, діізопропілфлуорофосфату, морфіну, мет-енкефаліну. Автор припускає, що секреція КРФ у медіобазальному гіпоталамусі регулюється шляхом холінергічної активізації; вплив останньої на КРФ-синтезуючі клітини контролюється ГАМК у взаємодії з опіоїдами.

Білатеральні ін'єкції бікукуліну у каудальну зону вентромедіального відділу довгастого мозку, який має прямі проєкції до нейроендокринних регулюючих центрів гіпоталамуса, підвищували рівень АКТГ у плазмі крові; введення антагоніста у ділянку на 1,5 мм медіальніше не впливало на вміст гормону [37]. Мусцимол, введений у ядро солітарного шляху довгастого мозку, спричиняв гальмування активності його нейронів та підвищення рівня АКТГ у крові [38]. Ін'єкція мусцимолу у каудальну зону вентромедіального відділу довгастого мозку не знижувала підвищеного вмісту АКТГ, викликаного введенням цього агоніста у ядро солітарного шляху. Проте після ін'єкції мусцимолу у каудальну зону вентромедіального відділу довгастого мозку підвищення рівня АКТГ після крововтрати було значно меншим, ніж у контролі [37].

Таким чином, результати, які були отримані у дослідях *in vivo* з периферичним або центральним введенням ГАМК, її агоністів та антагоністів, дещо суперечливі. Це може бути пов'язане не тільки з дозами введених препаратів, але й з величиною ендогенної концентрації ГАМК у відповідних ділянках мозку у нормі та при впливах, що стимулюють функціональний стан ГГНС, зміною концентрації інших медіаторів та модуляторів у разі введення ГАМК і ГАМК-ергічних сполук, часовою точкою циркадного ритму, а також з різним вихідним гормональним та фізіологічним станом організму.

Можливе місце та механізми реалізації впливу медіатора на секрецію АКТГ були вивчені у дослідях *in vitro*. Під час інкубації гіпоталамуса, аденогіпофіза, а також в експериментах з використанням культури тканин цих структур було з'ясовано, що ГАМК не змінює базального вмісту КРФ у гіпоталамусі, його вивільнення [39, 40], а також секреції АКТГ аденогіпофізом [41]. У той же час у разі внесення медіатора в середовище виявляється його чіткий інгібуючий ефект на стимульоване норадреналіном, ацетилхоліном, серотоніном, лей-енкефаліном чи морфіном підвищення рівня секреції КРФ [1, 29, 40, 42]. Цей ефект ГАМК повністю знімався пікротоксином [40, 43], що підтверджує пригнічення про залучення в процес інгібування секреції КРФ рецепторного комплексу ГАМК_a/БД/СІ-канал у гіпоталамусі.

Проте слід зазначити, що мусцимол, а також бікукулін мали дуже слабкий вплив на стимульоване норадреналіном вивільнення КРФ у культурі тканини гіпоталамуса [42]. У той же час цьому запобігало внесення в середовище баклофену або діазепаму, що дозволяє припустити участь в цих процесах і ГАМК_b-рецепторів, однією з функцій яких, як вважають, є модуляція вивільнення медіаторів іншої природи. Внесення в середовище інкубації гіпоталамуса баклофену знижувало реакцію КРФ також і на ацетилхолін, серотонін та лей-енкефалін [43]; інгібіторній дії баклофену запобігали за допомогою бікукуліну та пікротоксину. Це дещо несподівано, бо свідчить про те, що агоніст ГАМК_b-рецепторів діє через механізми, що займають ГАМК_a-рецептори.

Отже, сучасна концепція ГАМК-ергічної регуляції кортикотропної функції аденогіпофіза виходить в основному з того, що вплив ГАМК на секрецію АКТГ опосередкований її дією на виділення КРФ. Відсутність ефекту мусцимолу та бікукуліну, а також чіткий вплив діазепаму та пікротоксину на стимульований норадреналіном вихід КРФ можуть свідчити про те, що точками реалізації механізму ГАМК-ергічного контролю секреції цього чинника є не власне ГАМК_a-рецептор, а

БД- та пікротоксин-зв'язуючі місця, які входять до складу олігомерного комплексу ГАМК_a/БД/СІ-канал. Одержано дані, які підтверджують цей висновок. З'ясовано, що інгібітор зв'язування діазепаму підвищує секрецію КРФ за рахунок послаблення взаємодії ГАМК з власним рецептором, що є наслідком алостеричної модифікації ГАМК_a-рецептора у разі зв'язування інгібітора з БД-рецептором комплексу ГАМК_a/БД/СІ-канал [44].

З огляду на важливу можливу роль змін стану ГАМК-ергічної системи у гіпоталамусі в процесах контролю секреції КРФ, а також висловлену гіпотезу про те, що регулюючий зворотний зв'язок у ГНС існує на рівні не тільки змін концентрації гормонів у крові та відповідних структурах, але й тих ефектів, які ці гормони виявляють [45], цікавим та важливим вбачається значення для регуляції функції системи гіпоталамус-гіпофіз модуляції обміну та рецепції ГАМК за умов дії кортикостероїдів. Проведені дослідження свідчать, що підвищення рівня ГАМК у синапсосомах гіпоталамуса у разі одноразового чи багаторазового введення гідрокортизону або АКТГ може бути одним з нейроендокринних механізмів гальмування системи гіпоталамус-гіпофіз за принципом зворотного зв'язку [6]. Ця думка узгоджується з висновком іншого дослідження, а саме, що кортикостероїди можуть інгібувати секрецію АКТГ, змінюючи синтез ГАМК [46]. Зміни вмісту, обміну, транспорту та рецепції ГАМК за експериментальної модуляції вмісту АКТГ та кортикостероїдів у організмі зауважено не тільки в гіпоталамусі, а і в гіпокампі [6], який за певних умов може стати "провідною" структурою стосовно інших структур великого лімбічного кола та ретикулярної формації, а зміни його збудливості при цьому суттєво позначаються на процесах, які контролюють нейроендокринну функцію гіпоталамуса [47].

Основними ланками, які залучаються до реалізації механізмів ГАМК-ергічного контролю кортикотропної функції аденогіпофіза за умов порушення функціонування системи гіпоталамус-гіпофіз, є, певно, рецепторні структури, що входять до комплексу ГАМК_a/БД/СІ-канал, зокрема, власне ГАМК_a-рецептор, БД-рецептор та барбітурат-пікротоксинова субодиниця, а також і ГАМК_b-рецептори структур мозку, які беруть участь у регуляції функції ГНС [6]. Залежно від причини (фізіологічне або патологічне) підвищення функціональної активності системи гіпоталамус-аденогіпофіз може включатися та чи та ланка ГАМК-ергічного регулюючого механізму. Той факт, що дія ГАМК-ергічних препаратів може відбуватися *in vivo* у інтактних тварин, тобто за нормального рівня функціонування ГНС, свідчить, що ГАМК бере участь у регуляції не тільки стимульованої стресом або патологічної гіперсекреції, але і тонічної секреції АКТГ [6].

Крім цього, вважають, що у механізмах ГАМК-ергічної регуляції секреції АКТГ кортикостероїдами за принципом зворотного зв'язку можуть брати участь і ГАМК-рецептори аденогіпофіза [6]. Відомо, що у гіпофізі, як і у мозку, існує не менше двох незалежних систем регуляції ГАМК_a-рецепторів: одна з них орієнтується на низькоафінні і реалізується на рівні складових комплексу ГАМК_a/БД/СІ-канал, який, в свою чергу, алостерично взаємодіє з глюкокортикоїдними рецепторами [48]. Функція другої системи, яка контролює високоафінні ГАМК_a-рецептори, опосередкована ГАМК-модуліном та цАМФ-залежною протеїнкіназою [49]. Короткочасна дія глюкокортикоїдів зачіпає в основному стан високоафінних рецепторів, характер змін яких передбачає початок активізації ГАМК-ергічних механізмів гальмування секреції АКТГ. За умови тривалого надлишку кортикостероїдів в організмі поряд з підвищенням спорідненості високоафінних рецепторів значні зміни спостерігаються у стані низькоафінних ГАМК-рецепторів. Зв'язування медіатора цим типом рецепторів практично відсутнє. Можливо, така реакція є компенсаторною, як наслідок глибокого гальмування функції ГНС і спрямована на збереження певного рівня функціонування кортикотрофів за цих умов. У разі адреналектомії на тлі низького рівня глюкокортикоїдів у організмі та високого вмісту АКТГ обидва типи ГАМК-рецепторів реагують змінами свого функціональ-

ного стану, причому у протилежному для низько- та високоафінних рецепторів напрямку, що підтверджує думку про різну участь цих типів ГАМК-рецепторів у механізмах регуляції секреції АКТГ на рівні аденогіпофіза і вказує на можливу компенсаторну реакцію з боку низькоафінних ГАМК_α-рецепторів аденогіпофіза. Порушення функціонального стану ГАМК-рецепторів в аденогіпофізі у адреналектомованих щурів відбувається одночасно із зниженням рівня ГАМК у залозі [6]. Вибірковість змін активності регулюючих систем низько- та високоафінних ГАМК-рецепторів в умовах короткочасних або тривалих змін рівня глюкокортикоїдів в організмі забезпечує тонку ГАМК-ергічну регуляцію процесів секреції АКТГ за принципом зворотного зв'язку на рівні аденогіпофіза.

Слід зазначити, що, на відміну від рецепції ГАМК у гіпоталамусі, де стан ГАМК-рецепторів залежить більшою мірою від рівня АКТГ, ніж кортикостероїдів [6, 50], підвищення рівня АКТГ у організмі після введення екзогенного гормону не впливало на кінетичні параметри специфічного зв'язування міченої ГАМК мембранами аденогіпофіза, в той час, як зміни рівня ендogenousного гормону у разі введення гідрокортизону чи адреналектомії були пов'язані із змінами стану рецепторів ГАМК [6].

На жаль, ці дослідження не дають відповіді на запитання про точні точки локалізації ГАМК-ергічних механізмів, які контролюють секрецію АКТГ, під час порушення гормонального балансу в організмі - гіпоталамус чи аденогіпофіз. Можна лише констатувати, що ГАМК-рецептори обох цих структур залучаються до регуляції кортикотропної функції останнього. Безперечно, що відповідь на це запитання була б дуже важливою для з'ясування іншого: про локалізацію первинного нейромедіаторного "дефекту" у структурах, які контролюють секрецію АКТГ, у людей з порушеною кортикотропною функцією, зокрема, при виникненні хвороби Іценко-Кушінга.

Дані, одержані під час спостереження в клініці за хворими з гіперкортицизмом, не тільки уточнюють експериментальні свідчення участі ГАМК у регуляції кортикотропної функції аденогіпофіза, але й доводять значення такої регуляції у розвитку нейроендокринної патології. Серед відомих у клініці ГАМК-ергічних препаратів з метою нормалізації секреції АКТГ у хворих випробовували в основному лише один - активний антиконвульсант натрію вальпроат (дипропілацетат). При цьому дані, які були одержані у невеликого кола хворих, суперечливі. Передумовою таких досліджень, крім експериментальних даних про можливу участь ГАМК у діяльності системи гіпоталамус-гіпофіз, стали також відомості про наявність при хворобі Іценко-Кушінга порушень нейротрансмітерної, зокрема серотонінергічної, регуляції функцій гіпоталамуса [51].

Одноразовий прийом натрію вальпроату хворими з уперше виявленою хворобою Іценко-Кушінга (обстежено 8 пацієнтів) не впливав на рівні АКТГ та кортизолу через 30-240 хв після прийому препарату [52]. Прийом його протягом 1-3 міс супроводжувався, за даними різних дослідників, зниженням у крові вмісту КРФ і кортизолу, сприяючи ремісії захворювання [53], зменшенню вмісту АКТГ, але не кортизолу [54], зниженню рівня кортизолу [55]. За даними інших, прийом натрію вальпроату протягом 1-5 тиж не впливав на вміст у крові АКТГ і кортизолу та екскрецію 17-ОКС з сечею у 2 хворих на хворобу Іценко-Кушінга [52], не змінював ефекту введення вазопресину на секрецію АКТГ [56]. У 3 з 6 хворих на хворобу Іценко-Кушінга, які отримували натрію вальпроат на тлі прийому блокатора синтезу кортикостероїдів метирапону, спостерігали зниження рівня АКТГ у крові; у 2 пацієнтів рівень гормону не змінювався, а у одного - підвищувався порівнянно з його рівнем перед прийомом натрію вальпроату [57]. Вміст кортизолу у крові пацієнтів цієї групи під впливом натрію вальпроату знижувався у 5 хворих, у одного він підвищувався. Добова екскреція кортизолу з сечею зменшувалася лише у 2 пацієнтів, у 4 вона залишалася без змін. Кореляцій зрушень цих показників у пацієнтів не простежувалося.

Більш подібні дані одержано під час вивчення впливу натрію вальпроату на вміст гормонів ГГНС у хворих з синдромом Нельсона. Так, через 4-6 год після одно- або триразового прийому препарату спостерігали зниження у крові пацієнтів рівня АКТГ [7, 58-60]. У разі тривалого (1-32 тиж) надходження натрію вальпроату у організм хворих з синдромом Нельсона рівень АКТГ у них зменшувався [43, 54, 55, 59-62], спостерігалася нормалізація його циркадного ритму [43, 54, 58]. Є, проте, дані і про відсутність ефекту натрію вальпроату, а також про підвищення базального рівня АКТГ за одноразового або тривалого його прийому хворими з синдромом Нельсона [52, 61, 63].

Позитивний ефект натрію вальпроату виявився нестійким: через 5-12 тиж після відміни препарату спостерігалось підвищення рівня АКТГ, поверталися клінічні ознаки хвороби [43, 53-55, 58]. Проте в одному з випадків клінічний ефект від натрію вальпроату зберігався протягом 1,5 року. У хворої зменшилася пухлина, що секретувала АКТГ [62]. Описаний також випадок зменшення розмірів мікроаденоми гіпофіза у хворого з синдромом Нельсона після тривалого лікування натрію вальпроатом [58].

Секреція АКТГ клітинами культури аденоми гіпофіза від хворого з синдромом Нельсона при дії ГАМК, натрію вальпроату або при спільному їх внесенні в середовище культивування не змінювалася [54, 58]. Слід також процитувати роботу, в якій зазначено, що темазепам виявився неефективним щодо рівня АКТГ та кортизолу у пацієнтів із синдромом Іценко-Кушінга при проведенні проби з КРФ [28].

Аналіз експериментальних та клінічних даних, які були одержані під час дослідження ролі ГАМК у регуляції секреції КРФ та АКТГ, дозволив висловити припущення про те, що синдром Нельсона є нейроендокринним захворюванням, виникнення якого, поряд із змінами активності інших нейротрансмітерних систем, наприклад, гіперфункцією серотонінергічної [51], може бути зумовлене недостатністю ГАМК-ергічної системи гіпоталамуса [54, 55].

У той же час залишається все ж нез'ясованим стан центральної ГАМК-ергічної системи мозку при захворюваннях, які пов'язані з порушеннями функції ГГНС. У цьому плані вбачається доцільною думка дослідників про те, що певну інформацію про стан центральної ГАМК-ергічної системи можна одержати, вивчаючи вміст ГАМК у крові [64]. Проведені дослідження засвідчили, що у певній частині хворих на хворобу Іценко-Кушінга концентрація ГАМК у крові значно зменшена, вона негативно корелює з концентрацією АКТГ або кортизолу; в той же час у хворих, які перенесли тотальну адреналектомію, рівень ГАМК не відрізняється або навіть вищий, ніж у здорових [6]. Ці дані дозволили припустити, що у частині хворих на хворобу Іценко-Кушінга спостерігається певна недостатність функціонування центральних нейрохімічних систем за участю ГАМК.

Важливим для клінічної практики є з'ясування причин різного індивідуального терапевтичного ефекту натрію вальпроату у хворих на хворобу Іценко-Кушінга чи з синдромом Нельсона, а також пошуки інших ефективних ГАМК-ергічних препаратів для нормалізації гіперактивності ГГНС при цих захворюваннях. У цьому плані звертають на себе увагу дані, які свідчать, що у хворих на хворобу Іценко-Кушінга за одноразового прийому ефект ГАМК (аміналону) виявився нетривалим, фенібуту - нетривалим і незначним, а вальпроєвої кислоти - найбільш тривалим та помітним. Останнє повідомлення збігається з даними, які одержані в експерименті [6]. У той же час прийом аміналону хворими на хворобу Іценко-Кушінга протягом місяця виявив стійкіший, ніж за одноразового, ефект препарату, що, можливо, пов'язане із різним ступенем проникнення ГАМК у мозок та тривалістю дії амінокислоти за одноразового та тривалого її прийому.

Різке (у 3-10 разів) зниження вмісту АКТГ у крові пацієнтів, які перенесли тотальну адреналектомію у зв'язку з тяжкою формою хвороби, після прийому як аміналону, так і фенібуту підтверджує тезис про зниження активності у них ГАМК-ергічної системи аденогіпофіза, яке спостерігається у тварин після вида-

лення надниркових залоз і постулюється для людини при синдромі Нельсона, незважаючи на нормальний рівень у крові таких пацієнтів вмісту ГАМК [6]. Більший ефект ГАМК-ергічних препаратів у пацієнтів з низьким вихідним рівнем ГАМК у крові також пояснюється передбачуваною недостатністю центральних ГАМК-ергічних механізмів у частини хворих на хворобу Іценко-Кушінга та можливим коригуючим впливом ГАМК та вальпроєвої кислоти на вміст ендogenousного медіатора у них. Залежність ефекту цих препаратів від рівня ГАМК у крові, можливо, є однією з причин тих суперечливих даних, які були одержані раніше у нечисельних дослідженнях інших авторів, що вивчали ефективність натрію вальпроату у хворих на хворобу Іценко-Кушінга.

У той же час виявлене після прийому фенібуту різке підвищення вмісту кортизолу у хворих з високим рівнем ГАМК у крові може свідчити про прямий вплив фенільного похідного ГАМК на кору надниркових залоз [6]. Можливо, що в цьому ефекті фенібуту певну роль відіграє ГАМК-ергічна система секреторних клітин надниркових залоз. Це припущення дискусійне, але можливість і такого шляху ГАМК-ергічної регуляції функції ГГНС не виключена [1, 57]. Доведено, зокрема, що у корі надниркових залоз тварин існує метаболічна система синтезу ГАМК, а плазматичні мембрани надниркових залоз інтенсивно зв'язують мічену ГАМК; синтез та рецепція ГАМК можуть залучатися до регуляції процесів стероїдогенезу [65]. З огляду на це цитовані дані свідчать, що контроль активності ГГНС у хворих на хворобу Іценко-Кушінга та у експериментальних тварин у разі гіперфункції ГГНС може відбуватися під дією ГАМК-ергічних препаратів не тільки на рівні центральних ГАМК-ергічних механізмів. З'ясування ролі периферичних ГАМК-ергічних процесів у регуляції ГГНС потребує подальших поглиблених досліджень.

Отже, наведені в огляді дані дозволяють зробити висновок про значну роль різних складових ланок ГАМК-ергічної системи (особливо її рецепторних структур) у контролі кортикотропної функції аденогіпофіза у нормі, в умовах стресу або патології ГГНС; при цьому важливим може бути як гіпоталамічний, так і гіпофізарний рівень ГАМК-ергічної регуляції секреції АКТГ; не виключена і роль в цих процесах периферичної ГАМК-ергічної системи. Порушення функціонування ГАМК-ергічної системи гіпоталамуса, лімбічних структур мозку або аденогіпофіза за умов сильного стресу (в тому числі, наприклад, у разі психоемоційних травм, нейротропних інфекцій, під час вагітності, пологів, тяжких соматичних захворювань тощо), поряд з порушеннями функції інших нейромедіаторних систем, є однією з причин зривів регуляторних механізмів ГГНС та складають частину нейропатогенетичної основи виникнення хвороби Іценко-Кушінга. Фармакологічні впливи на окремі ланки ГАМК-ергічної медіації процесів регуляції стану ГГНС можуть бути одним із корисних шляхів нейромедіаторної корекції її функції за умов патології.

Література

1. Jones M., Gillham B., Altaher A. et al. Clinical and experimental studies on the role of GABA in regulation of ACTH-secretion // *Psychoneuroendocrinology*. 1984, 9, N 2, 107-123.
2. Casanueva F., Apud J., Masotto C. et al. Daily fluctuations in the activity of the tuberoinfundibular GABAergic system and plasma prolactin levels // *Neuroendocrinology*. 1984, 39, N 4, 367-370.
3. Blasques C., Jegou S., Feuilloley M. et al. Visualization of gamma-aminobutyric acid(A) receptors on proopiomelanocortinproducing neurons in rat hypothalamus // *Endocrinology*. 1994, 135, N 6, 2759-2764.
4. Kriger D., Kriger H. Pituitary-adrenal activation by implanted neurotransmitters and ineffectiveness of dexamethasone in blocking this action // *Influence of Hormone on the Nervous System* (ed. S. Karger), Basel. 1970, 98-106.
5. Aldegunde M., Miguez M., Fernandez M. GABA administered intraperitoneally alters the release of corticosterone in male rats // *IRCS Med. Sci*. 1984, 12, N 3, 523-524.

6. Мишуніна Т.М. Роль ГАМК-ергічних механізмів у впливі гормонів системи гіпоталамус-аденогіпофіз-кора надниркових залоз на мозок та у регуляції функціонального стану різних її ланок за умов норми та патології / Автореф. дис. докт. біол. наук. К., 1994. 46 с.
7. Elias A., Gwinup G., Valenta L. Effects of hydrocortisone, naloxone, and valproic acid in patients with Nelson's syndrome and Cushing's disease // *Clin. Endocrinol.* 1981, **15**, 151-154.
8. Abraham R., Dornhorst A., Wynn V. et al. Corticotrophin, cortisol, prolactin and growth hormone responses to insulin-induced hypoglycaemia in normal subjects given sodium valproate // *Clin. Endocrinol.* 1985, **22**, N 5, 639-644.
9. Torpy D., Grice J., Hockings G. et al. Effect of sodium valproate on naloxone-stimulated ACTH and cortisol release in humans // *Clin. Exper. Pharmacol. Physiol.* 1995, **22**, N 6-7, 441-443.
10. Малышев В.В., Трещук Л.И., Белых Н.Г. Оценка защитного эффекта гамма-оксимасляной кислоты при стрессе // *Бюл. эксперим. биол. мед.* 1980, **41**, N 5, 537-539.
11. Takahara J., Yunoki S., Yakushiji W. et al. Stimulatory effects of gamma-aminohydroxybutyric acid (GABOB) on growth hormone, prolactin and cortisol release in man // *Horm. Metabol. Res.* 1980, **12**, N 1, 31-34.
12. Chase G., Tammina C. GABA system participation in human motor, cognitive and endocrine function // *GABA neurotransmitters*. Copenhagen: Munksgaard, 1979, 283-294.
13. Rothuizen J., Dekok Y., Slob A., Mol J. GABAergic inhibition of the pituitary release of adrenocorticotropin and alpha-melanotropin is impaired in dogs with hepatic encephalopathy // *Domestic Animal Endocrinol.* 1996, **13**, N 1, 59-68.
14. Guo A., Petraglia F., Nappi R. et al. Bicuculline enhances the corticosterone secretion induced by lipopolysaccharide and interleukin-1 alpha in male rats // *J. Endocrinol. Invest.* 1996, **19**, N 2, 83-87.
15. Ixart G., Cryssogelou H., Szafarczyk A. et al. Acute and delayed effects of picrotoxin on the adrenocorticotropin system of rats // *Neurosci. Lett.* 1983, **43**, N 2, 235-240.
16. Lakis N., Pericic D., Manev H. Mechanism by which picrotoxin and a high dose of diazepam elevate plasma corticosterone level // *Neuroendocrinology.* 1986, **43**, N 4, 331-335.
17. Matheson K. Effects of GABA agonists and antagonists on ACTH release // *Brain Res. Bull.* 1980, **5**, Suppl. 2, 447-452.
18. Invitti C., Cavagnini F., Di Landro A., Pinto M. / Abstract Book 5th International Cong. of Endocrinology. 1976. (цит. по: Racagni G., Apud J., Cocchi D. et al. GABAergic control of anterior pituitary hormone secretion // *Life Sci.* 1982, **31**, N 9, 823-838).
19. Bruni G., Dal Pra P., Dotti M., Segre G. Plasma ACTH and cortisol level in benzodiazepine treated rats // *Pharmacol. Res. Commun.* 1980, **12**, N 2, 163-175.
20. Pericic D., Lakic N., Manev H. Effect of diazepam on plasma corticosterone levels // *Psychopharmacology.* 1984, **83**, N 1, 79-81.
21. Pohorecky L., Cotler S., Carbone J. et al. Factors modifying the effect of diazepam on plasma corticosterone levels in rat // *Life Sci.* 1988, **43**, N 25, 2159-2167.
22. Chabot G., Brissette Y., Gascon A. Relationship between plasma corticosterone and adrenal epinephrine after diazepam treatment in rat // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1982, **60**, N 3, 589-596.
23. Wilson M., Biscardi R., Smith M., Wilson S. Effects of benzodiazepine agonist exposure on corticotropin-releasing factor content and hormonal stress responses: Divergent responses in male and ovariectomized female rats // *J. Pharmacol. Exper. Therap.* 1996, **278**, N 3, 1073-1082.
24. Bizzi A., Ricci M., Veneroni E. et al. Benzodiazepine receptor antagonists reverse the effect of diazepam on plasma corticosterone in stressed rats // *J. Pharm. Pharmacol.* 1984, **36**, N 1, 134-135.
25. Le Fur G., Guilloux F., Mitrani N. et al. Relationships between plasma corticosteroids and benzodiazepines in stress // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1979, **211**, N 2, 305-308.
26. Torellas A., Guaza C., Borrell J. Effects of acute and prolonged administration of chloridazepoxide upon the pituitary-adrenal activity and brain catecholamines in sound stressed and unstressed rats // *Neuroscience.* 1980, **5**, N 11, 2289-2295.

27. Weis S., Clark M., Rosen J. et al. Contingent tolerance to the anticonvulsant effects of carbamazepine: Relationship to loss of endogenous adaptive mechanisms // *Brain Res. Rev.* 1995, **20**, N 3, 305-325.
28. Korbonits M., Trainer P., Edwards R. et al. Benzodiazepines attenuate the pituitary-adrenal responses to corticotropin-releasing hormone in healthy volunteers, but not in patients with Cushing's syndrome // *Clin. Endocrinol.* 1995, **43**, N 1, 29-35.
29. Endroczi E. Monoaminergic and peptidergic transmission and pituitary adrenal function // *Progr. Psychoneuroendocrinol.* Amsterdam, 1980, 87-97.
30. Makara G., Stark E. Effect of gamma-aminobutyric acid (GABA) and GABA antagonists drugs on ACTH release // *Neuroendocrinology.* 1974, **16**, N 3-4, 178-190.
31. Miques I., Atienza G., Aldeguende M. Inhibitory effect of intracerebroventricular administration of GABA on corticosterone release in conscious non-stressed male rats // *Neuroendocrinol. Lett.* 1988, **10**, N 1, 45 - 50.
32. Miques I., Aldeguende M. Effect of gamma-aminobutyric acid on corticosterone secretion: involvement of the noradrenergic system // *Life Sci.* 1990, **46**, N 12, 875-880.
33. Garcy A., Marotta S. Plasma cortisol of conscious cats during cerebroventricular perfusion with adrenergic, cholinergic and gabaergic antagonists // *Neuroendocrinology.* 1978, **25**, N 3, 343-353.
34. Keim S., Shekhar A. The effects of GABA(A) receptor blockade in the dorsomedial hypothalamic nucleus on corticotrophin (ACTH) and corticosterone secretion in male rats // *Brain Res.* 1996, **739**, N 1-2, 46-51.
35. Stotzpotter E., Morin S., Dimicco J. Effect of microinjection of muscimol into the dorsomedial or paraventricular hypothalamic nucleus on air stress-induced neuroendocrine and cardiovascular changes in rats // *Brain Res.* 1996, **742**, N 1-2, 219-224.
36. Bereiter D., Gann D. Substance P and GABAergic effect on adrenal and autonomic function evoked by microinjections into trigeminal subnucleus caudalis in the cat // *Brain Res.* 1989, **490**, N 2, 307-319.
37. Blessing W., Fullarton M., Funder J. ACTH secretion is modified by caudal ventrolateral medulla oblongata of the rabbit // *Proc. Austral. Physiol. Pharmacol. Soc.* 1990, **21**, N 1, 39.
38. Gieroba Z., Fullarton M., Funder J., Blessing W. Different medullary pathways for ACTH and vasopressin secretion following inhibition of nucleus tractus solitarius in the rabbit // *Proc. Austral. Physiol. Pharmacol.* 1991, **22**, N 1, 10.
39. Buckingham J., Hodges J. Production of corticotrophin releasing hormone by the isolated hypothalamus of the rat // *J. Physiol. (Gr. Brit.).* 1977, **272**, 469-479.
40. Hillhouse E., Milton N. Effect of noradrenaline and gamma-aminobutyric acid on the secretion of corticotrophin-releasing factor and arginine vasopressin from the rat hypothalamus in vitro // *J. Endocrinol.* 1989, **122**, N 3, 719-723.
41. Hashimoto K., Yunoki S., Takahara J. et al. ACTH release in pituitary cell cultures. Effect of neurogenic peptides and neurotransmitter substances on ACTH release induced by hypothalamic corticotropin releasing factor (CRF) // *Endocrinol. Jap.* 1979, **26**, N 2, 103-109.
42. Calogero A., Gallucci W., Chrousos G. et al. Interaction between GABAergic neurotransmission and rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion in vitro // *Brain Res.* 1988, **463**, N 1, 28-36.
43. Jones M., Gillham B., Beckford U. et al. The role played by GABA in the control of ACTH secretion in the rat and man // *Inter. Neurohumoral Mech.: [Proc.] Int. Conf., Budapest, March, 1982, Amsterdam e.a., 1983.* 367-376.
44. Roy A. Cerebrospinal fluid diazepam binding inhibitor in depressed patients and normal controls // *Neuropharmacology.* 1991, **30**, N 12B, 1441-1444.
45. Филаретов А.А. Гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальная система: закономерности функционирования // *Физиол. ж.* 1992, **78**, N 12, 50-57.
46. Acz Z., Palkovits M., Stark E. Changes of glutamic acid decarboxylase activity after dexamethasone in selected areas of the rat brain // *Neurosc. Lett.* 1980, **19**, N 2, 97-101.

47. Малышенко Н.М. Динамика взаимодействия гипоталамических, ретикулярных, лимбических структур и неокортекса под влиянием кортикостероидов // Науч. докл. высш. школы. Биол. науки. 1983, № 8, 52-59.
48. Majewska M., Bissler J.-C., Eskay R. Glucocorticoid are modulators of GABA receptors in brain // Brain Res. 1985, 339, N 1, 178-182.
49. Корнеев А.Я., Лидеман Г.Р. Бензодиазепиновые рецепторы и постсинаптические ГАМК-рецепторы: свойства и взаимодействие // Успехи совр. биологии. 1985, 100, № 1, 51-67.
50. Kendal D., Mc Ewen B., Enna S. The influence of ACTH and corticosterone on ³H-GABA receptor binding in rat brain // Brain Res. 1982, 236, N 2, 365-374.
51. Кригер Д. Физиология нейроэндокринной системы. Эндокринология и метаболизм, т. 1, М., 1985, 228-272.
52. Loli P., Berselli M. Lack of ACTH lowering effect of sodium valproate in patient with ACTH hypersecretion // J. Endocrinol. Invest. 1984, 7, N 2, 93-96.
53. Koppeschaar H. Sodium valproate and cyproheptadine may independently induce a remission in the same patient with Cushing's disease // Acta Endocrinol. 1983, 154, N 2, 160-163.
54. Jones M., Gillham B., Altaher A. et al. Clinical and experimental studies in the role of GABA in the regulation of ACTH secretion // Neuropharmacology, Ser. B. 1984, 23, N 7, 833-834.
55. Jones M., Gillham B., Beckford U. et al. Effect of treatment with sodium valproate and diazepam on plasma corticotropin in Nelson's syndrome // Lancet. 1981, 1, N 8231, 1179-1181.
56. Winkelman W., Allolio B., Hipp F. et al. Missing effect of valproate on plasma ACTH in patients with Cushing's disease or primary adrenal insufficiency // Acta endocrinol. 1982, 99, Suppl. 246, 107-108.
57. Nussey S., Price P., Jenkins J. et al. The combined use of sodium valproate and metyrapone in the treatment of Cushing's syndrome // Clin. Endocrinol. 1988, 28, 373-380.
58. Dornhorst A., Jekins S., Lamberts W. et al. The evaluation of sodium valproate in the treatment of Nelson's syndrome // J. Clin. Endocrinol. and Metab. 1983, 56, N 5, 985-991.
59. Gomi M. Unaltered stimulation of pituitary adrenocorticotrophin secretion by corticotropin-releasing factor following sodium valproate administration in a patient with Nelson's syndrome // Clin. Endocrinol. 1985, 23, N 2, 123-127.
60. Gwinup G. Failure of valproic acid to inhibit the growth of an ACTH-secretion pituitary adenoma // Acta Endocrinol. 1984, 105, N 4, 449-454.
61. Abraham R., Altaher A., Beckford U. et al. The treatment of Nelson's syndrome with sodium valproate // J. Physiol. (Gr. Brit.). 1983, 339, 51-52.
62. Loli P., Berselli M., Vignati F. et al. Size reduction of an ACTH-secreting pituitary macroadenoma in Nelson's syndrome by sodium valproate: effect of withdrawal and reinstatement of treatment // Acta Endocrinol. 1988, 119, N 3, 435-442.
63. Kelly W., Adams J., Laing I., et al. Long-term treatment of Nelson's syndrome with sodium valproate // Clin. Endocrinol. 1988, 28, N 2, 195-204.
64. Petty F., Kramer G., Fulton M. et al. Stability of GABA at four -year follow-up in patients with primary unipolar depression // Biol. Psychiatry. 1995, 37, N 11, 806-810.
65. Мишуніна Т.М., Кононенко В.Я., Мікоша О.С., Тронько М.Д. Деякі параметри ГАМК-ергічної системи кори надниркових залоз тварин у нормі та за умов стимуляції стероїдогенезу // Фізіол. ж. 1994, 39, № 3-4, 8-13.

Участье гамма-аминомасляной кислоты в регуляции функции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы

Т.М. Мишунина, В.Я. Кононенко

Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко АМН Украины, 254114 Киев

В обзоре обобщены и проанализированы данные, полученные в экспериментах *in vivo* и *in vitro*, а также на здоровых людях и больных с гиперкортицизмом, при изучении роли основного тормозного нейромедиатора мозга гамма-аминомасляной кислоты в центральных и периферических механизмах регуляции функции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в норме, при стрессе, действии гормонов, а также патологии последней.

Involvement of gamma-aminobutyric acid in regulation of the function of hypothalamo-pituitary-adrenal system (Review of experimental and clinical data)

T.M. Mishunina, V.Ya. Kononenko

V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 254114 Kyiv, Ukraine

The review summarizes and analyses data obtained *in vivo* and *in vitro* experiments, as well as in healthy subjects and patients with hypercorticism, in studying the role of main inhibiting neuromediator of the brain, gamma-aminobutyric acid in central and peripheral mechanisms of regulation of the function of hypothalamo-pituitary-adrenal system in the norm, under stress, under hormones' effect, and in case of pathology of this system.

Короткі повідомлення

УДК 616.379-008.64-06:617.735-002.633.66 615.272.4

**ЗАСТОСУВАННЯ У ХВОРИХ З ПРОСТОЮ
ДІАБЕТИЧНОЮ РЕТИНОПАТІЄЮ
АНТИОКСИДАНТУ ДИБУНОЛУ**

Н. С. Слюсаренко

*Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН
України, 254114 Київ*

Відомо, що активізація перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) клітинних мембран, зокрема клітин крові та ендотелію судин, відіграє певну патогенетичну роль у розвитку судинних змін при цукровому діабеті [1-3]. Порушення балансу між антиоксидантною активністю та швидкістю окислення фосfolіпідів призводить до надмірного накопичення вільних радикалів та перекисів і, як наслідок, до дестабілізації клітинних мембран, порушення цілісності клітин, мікрокрововиливів та розвитку патології сітківки [4]. Провідними компонентами антирадикального та антиперекисного захисту тканин сітківки є ретиналь [5], відновлений глутатіон та глутатіонпероксидаза [4]. Пошуки нових підходів до терапії уражень судин сітківки при цукровому діабеті становлять актуальну проблему офтальмодіабетології [3, 6].

Враховуючи це, вважаємо за доцільне вивчити вплив синтетичного антиоксиданту дибунолу на динаміку діабетичної ретинопатії (ДР), стан вільнорадикальної патології та антиоксидантної системи з метою використання цього препарату як профілактичного та лікувального засобу.

Клінічні дослідження проводили у 49 хворих на інсулінзалежний цукровий діабет (21 чоловік та 28 жінок) віком від 20 до 50 років з тривалістю захворювання понад 10 років. З них у 32 хворих була геморагічна форма ДР, а у 17 хворих не спостерігалось змін очного дна. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб аналогічного віку.

Ступінь ураження судин ока та очного дна вивчали за допомогою біомікроскопії кон'юнктиви, прямої та зворотної офтальмоскопії очного дна.

Стан ПОЛ досліджували за допомогою визначення вмісту в еритроцитах крові первинних продуктів реакції - гідроперекисів ліпідів та малонового діальдегіду (МДА) [7]. Стан антиоксидантної системи вивчали за допомогою визначення рівнів відновленого глутатіону [8] та глутатіонпероксидази [9]. Всі показники розраховували у мілімолях на мілілітр еритроцитарної маси.

Повторне дослідження проводили після 14 днів лікування дибунолом. Препарат призначали у вигляді олійного розчину по 1200 мг на добу, тобто по 2 капсули тричі на добу.

Результати дослідження обробляли за методом математичної статистики по Стьюденту.

Під час біомікроскопічного дослідження бульбарної кон'юнктиви виявлено зміни мікроциркуляції у всіх хворих. Вони характеризувалися повно-

кровністю венул, їх меандричною звивістю, порушенням співвідношення артеріола/венула, деформацією капілярних аркад лімбу внаслідок розширення венулярного і спазму артеріального відділів капілярних петель, наявністю мікроаневризм, дрібно- і крупнозернистою агрегацією в позакапілярних венулах, венулах середнього розміру, периваскулярним локальним набряком, сповільненням кровотоку в окремих судинах, аж до стазу. Під час огляду очного дна виявляли дрібно- і крупноплямисті крововиливи, дрібні плазморагії, поодинокі та численні мікроаневризми, здебільшого в парамакулярній зоні, на тлі вираженого розширення венул.

У хворих на цукровий діабет з ДР рівень первинних продуктів ПОЛ - гідроперекисів ліпідів - зростає на 17,5% ($p < 0,001$) порівняно з контролем і на 9,3% ($p < 0,02$) порівняно з аналогічними показниками у хворих без ДР. Вміст одного із кінцевих продуктів - МДА - у хворих з ДР збільшується у порівнянні з контролем на 17% ($p < 0,02$) (табл.).

За наявності ДР рівень відновленого глутатіону зменшувався на 23% ($p < 0,001$) порівняно з контролем і на 17% ($p < 0,001$) порівняно з показниками хворих без ДР. Аналогічні зміни свідчили про активність глутатіонпероксидази. Її вміст зменшувався на 16% ($p < 0,001$) і на 12,5% ($p < 0,001$) відповідно.

Наші дані збігаються з наведеними в літературі, вказуючи на те, що при ДР є активізація процесів перекисного окислення в сітківці, у той час як активність ферментативних систем, що контролюють утворення надмірної кількості активних форм кисню в фоторецепторах сітківки, досить низька.

Після двотижневого курсу лікування дибунолом гострота зору 39 очей з 64 (60,9%) збільшилася, залишилась на попередньому рівні - 25 (39,1%). Поліпшення кон'юнктивальної мікрогемодинаміки зареєстровано в 42 очах (65,6%). Офтальмоскопічна картина очного дна поліпшилася на 40 очах (62,5%).

Аналізуючи стан ПОЛ та системи глутатіон-глутатіонпероксидази після курсу лікування дибунолом (табл.), можна зробити висновок про те, що

Таблиця. Вплив антиоксиданту дибунолу на ПОЛ та систему глутатіонпероксидазного захисту у хворих на цукровий діабет

Група обстежених	Гідроперекиси ліпідів	Малоновий діальдегід	Відновлений глутатіон	Глутатіонпероксидаза
	ммоль/мл еритроцитарної маси			
1. Контрольна	1,006 ± 0,021	101,7 ± 4,5	3,59 ± 0,108	4,24 ± 0,071
2. Хворі на цукровий діабет без ДР	1,081 ± 0,022	105,3 ± 5,01	3,32 ± 0,091	4,08 ± 0,068
3. Хворі на цукровий діабет з ДР до лікування дибунолом	1,182 ± 0,025 $p_{1-2} < 0,02$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,02$	118,5 ± 5,03 $p_{1-3} < 0,02$	2,77 ± 0,105 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	3,58 ± 0,062 $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$
4. Хворі на цукровий діабет з ДР після лікування дибунолом	1,079 ± 0,021 $p_{1-4} < 0,02$ $p_{3-4} < 0,01$	112,7 ± 5,0	3,23 ± 0,095 $p_{1-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$	3,770 ± 0,084 $p_{1-4} < 0,001$

рівень гідроперекисів ліпідів зменшився на 9% ($p < 0,01$), і тобто досяг показників хворих на цукровий діабет без ДР. Вміст МДА суттєво не змінився. Кількість відновленого глутатіону підвищилась на 16,6% ($p < 0,001$) при малопомітній зміні активності глутатіонпероксидази.

Наведені дані дозволяють висловити припущення, що в розвитку ДР певну роль відіграють процеси ПОЛ. Встановлено [3, 10], що одна лише компенсація вуглеводного обміну не запобігає прогресуванню ДР. Тому для лікування ДР треба використовувати поряд з інсуліном препарати антиоксидантної дії, зокрема дибунол.

Висновки

1. У хворих на цукровий діабет поява ДР супроводжується подальшим посиленням ПОЛ та зниженням активності системи глутатіон-глутатіонпероксидазного антиперекисного захисту.

2. Після двотижневого курсу лікування дибунолом спостерігаються пригнічення активності ПОЛ і поліпшення показників глутатіон-глутатіонпероксидазної системи.

3. Для лікування порушень мікроциркуляції у хворих на цукровий діабет треба застосовувати препарат антиоксидантної дії дибунол - як компонент комплексної терапії.

Література

1. Sato Y., Nigishi H., Nobuo S. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients // *Biochem. medicin.* 1979, 21, N 1, 104-408.
2. Ефимов А.С., Науменко В.Г. Перекисное окисление липидов в эритроцитах больных сахарным диабетом с диабетическими ангиопатиями // *Пробл. эндокринолог.* 1985, N 1, 6-9.
3. Дедов И.И., Горельшева В.А., Романовская Г.А. и др. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у больных с впервые выявленным инсулинзависимым сахарным диабетом // *Пробл. эндокринолог.* 1992, N 6, 32-33.
4. Аливец В.А., Султанов М.Ю., Гагиев Р.В. Содержание селена и активность глутатионпероксидазных ферментов в тканях глаза человека при диабете // *Вестник офтальмол.* 1985, N3, 35-38.
5. Барабой З.А. Ретиноиды и рак // *Научно-технический прогресс в медицине и биологии.* 1985, 1, 280-296.
6. Krolenski A.S., Warram G.H., Sandl L.G. Epidemiologic approach to the etiology of type 1 diabetes mellitus and its complication // *Nat. Engl. J. Medical.* 1987, 317, 1390-1398.
7. Орехович В.Н. (ред.) *Современные методы в биохимии.* М.: Медицина, 1997. 391с.
8. Olinesku K. Peroxidarea in chimic. biologie si medicina. Stiintifica si enciclopedica. Bucuresti, 1982, 239.
9. Sedlak L., Lidsay R.H. Diabetes and heart // *Am. Heart J.* 1975, 90. 283-289.

КОМБІНОВАНЕ ЛІКУВАННЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ II ТИПУ ПОЄДНАННЯМ ГЛЮКОБАЮ І МАНІНІЛУ У РАЗІ РОЗВИТКУ ВТОРИННОЇ СУЛЬФАНІЛАМІДНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ

Г. Ф. Генделека

Одеський державний медичний університет, 270057 Одеса

У переважній кількості хворих цукровий діабет має інсулінонезалежну форму [1]. Для лікування даної форми хвороби застосовують дієту, бігуаніди, сульфаніламідни та фізичне навантаження. Досвід використання похідних сульфанілсечовини та бігуанідів засвідчив, що вплив пероральних антидіабетичних препаратів обмежений у часі [2]. Після деякого терміну використання сульфаніламідів розвивається вторинна сульфаніламідна резистентність (ВСР). Дослідники-клініцисти постійно працюють над пошуком нових шляхів подолання цього ускладнення.

Метою даного дослідження було вивчення ефективності введення у комплекс лікування хворих на цукровий діабет II типу у разі розвитку ВСР інгібітора альфа-глюкозидаз акарбози. У вітчизняній літературі є поодинокі повідомлення про використання таких препаратів [3]. Під час розробки препарату фірмою Байер використано новий терапевтичний принцип, який полягає у пригніченні ферментів, що розщеплюють вуглеводи у кишечнику. Завдяки цьому вдається досягти клінічно важливого ефекту - сповільнення травлення вуглеводів і надходження глюкози в кров [4]. Остання обставина дозволяє підтримувати постпрандіальний вміст глюкози у певних межах.

Як інгібітор альфа-глюкозидази використовували глюкобай (фірма Байер, Німеччина). Для оцінки ефективності препарату визначали показники глікемії натще, постпрандіальний вміст глюкози, добову глюкозурію.

Нами було обстежено 66 хворих (36 - дослідної групи і 30 - контрольної). Резистентність до сульфаніламідів діагностували тоді, коли не вдавалося досягнути компенсації обміну речовин, незважаючи на дієтичне харчування і використання максимальних доз глібенкламіду (20 мг). При цьому вміст глюкози натще перевищував 10 ммоль/л, а добова глюкозурія становила 10 г. Хворі контрольної групи отримували тільки манініл 20 мг (10 мг уранці і 10 мг увечері), а дослідної - манініл у такій самій дозі та акарбозу - 50 мг 3 рази на добу перед їдою. Тривалість лікування складала 14-21 добу. Хворих обстежували перед призначенням препаратів, всередині курсу лікування та перед виписуванням із стаціонару.

Дані клінічної характеристики наведено у табл. 1. Середній вік хворих, середня тривалість хвороби у обстежених обох груп помітно не відрізнялись, індекс маси тіла Кетле був дещо вищим за норму. Рівень глюкози натще, постпрандіальний вміст глюкози, а також добова глюкозурія в обох групах були практично однаковими (табл. 2).

У контрольній групі прийом манінілу в максимальних дозах не призводив до помітних змін рівня глюкози як натще, так і постпрандіального вмісту її ($P > 0,05$). Не відзначалось вірогідного зменшення виділення глюкози з сечею. Добовий діурез також не зазнавав значних

Таблиця 1. Деякі клінічні дані обстежених хворих на цукровий діабет II типу з ВСР

Група хворих	Кількість хворих	Вік, роки	Тривалість хвороби, роки	Середня маса тіла, кг	Індекс маси Кетле, кг/м ²
Контрольна (манініл)	30	59,1 ± 1,1	12,9 ± 0,8	76,4 ± 1,3	29,2 ± 0,9
Хворі, які приймали манініл та акарбозу	36	60,5 ± 1,3	13,8 ± 0,7	78,0 ± 3,2	28,8 ± 0,9

Таблиця 2. Рівень глюкози натще, постпрандіальний рівень глюкози в крові та добова глюкозурія у обстежених хворих

Група хворих	Глікемія натще, ммоль/л	Постпрандіальна глікемія, ммоль/л			Добова глюкозурія, г/добу	
		середня	мінімальна	максимальна		
Контрольна (манініл)	До	12,2 ± 0,8	14,3 ± 0,7	10,9 ± 0,6	15,8 ± 0,6	39,6 ± 10,2
	Після	11,8 ± 0,7	13,6 ± 0,6	11,4 ± 0,8	16,1 ± 0,7	30,0 ± 5,3
		$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$	$P_1 > 0,05$
Дослідна (манініл та акарбоза)	До	11,9 ± 0,7	13,9 ± 0,8	11,1 ± 0,6	16,3 ± 0,7	38,6 ± 12,3
	Після	9,5 ± 0,5	10,1 ± 0,6	8,5 ± 0,5	13,2 ± 0,8	8,0 ± 1,8
		$P_1 < 0,01$	$P_1 < 0,001$	$P_1 < 0,001$	$P_1 < 0,01$	$P_1 < 0,05$
	$P_2 < 0,02$	$P_2 < 0,001$	$P_2 < 0,001$	$P_2 < 0,01$	$P_2 < 0,001$	

Примітка: P_1 - порівняно з даними до прийому препарату; P_2 - порівняно з даними контрольної групи.

змін. У групі хворих, які приймали манініл і глюकोбай, було засвідчено чітку динаміку всіх досліджуваних показників: зменшення глікемії натще, зменшення постпрандіального рівня глюкози і помітне зменшення добової глюкозурії (табл. 2). Ці зміни супроводжувалися відчутним поліпшенням загального стану хворих (зменшенням діурезу, відчуття сухості у роті і слизових оболонок, спраги) вже на третю-четверту добу прийому глюкобаю.

Побічні явища від прийому акарбози спостерігалися у 10 хворих із 36 (28%) і проявлялися метеоризмом і флатуленцією. Вони, як правило, виникали в перші дні прийому препарату, а потім у більшості хворих самостійно минали. Тільки у однієї хворої метеоризм зберігався протягом усього періоду прийому препарату.

Таким чином, використання акарбози у комплексі з манінілом за умови розвитку ВСР при цукровому діабеті II типу засвідчує їх значну ефективність. У разі стійкої алергії до інсуліну і наявності ВСР лікування глюкобаєм у поєднанні з манінілом може бути альтернативою інсулінотерапії. Використання інгібіторів альфа-глюкозидаз для лікування цукрового діабету II типу свідчить про появу нового підходу до терапії цієї поширеної і тяжкої хвороби.

Література

1. Тронько М.Д., Єфімов А.С., Кравченко В.І., Паньків В.І. Епідеміологія цукрового діабету. К., 1996. 150 с.
2. Санаторно-курортное лечение эндокринно-обменных заболеваний. Под ред. А.С. Ефимова. К., 1992, 11-40.
3. Кононенко Л.О. Застосування акарбози для лікування хворих на інсулінонезалежний цукровий діабет // Ендокринологія. 1996, 1, N 2, 112-113.
4. Puls W., Keup U., Krause H., Glucosidase inhibition a new approach // Naturwissenschaften. 1997, 66, 536-537.

Клінічні лекції

УДК 616.379-008.-64; 615.252.349.7.

ПРИНЦИПИ ІНСУЛІНОТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

А. С. Єфімов, Н. А. Скоробонська

*Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН
України, 254114 Київ*

Минуло 75 років з часу відкриття та першого застосування інсуліну для лікування хворих на цукровий діабет. З того часу інсулінотерапія для значної частини хворих залишається єдиним засобом збереження життя. Разом із тим "стратегія" інсулінотерапії протягом цього періоду помітно змінювалася. Розвиток і удосконалення методів інсулінотерапії відбувалися паралельно з технологічним прогресуванням виробництва інсуліну і творенням технічних засобів для введення препарату.

На сьогодні провідними фірмами світу випускається понад 50 видів інсуліну і розроблюються все нові. Основними фірмами-виробниками сучасних технологій є Ново-Нордиск (Данія), Елай Ліллі (США) і Хьохст (Німеччина). Ні Україна, ні Росія, ні інші країни СНД не мали досі досконалих технологій виробництва інсуліну, в зв'язку з чим свого часу було прийнято рішення призупинити випуск на їхніх заводах "брудних" інсулінів і купувати ці препарати за кордоном.

У 1997 р. на заводі ендокринно-ферментних препаратів АТ "Київський м'ясокомбінат" планується розпочати випуск сучасних типів інсулінів за технологією фірми Хьохст. Вид і характеристику інсулінів, випуск яких планується, наведено в таблиці. Доцільність випуску інсулінів на цьому заводі широко дебатовалася, особливо в засобах масової інформації. Як один із аргументів проти створення вітчизняних інсулінів наводились приклади таких високорозвинутих країн, як Англія, Франція та інші, які купують препарати у провідних фірм. Справді, ці країни з високорозвинутою і стабільною економікою, добре налагодженою системою соціального захисту людей можуть забезпечити хворих певними видами інсулінів у достатніх кількостях.

Наш гіркий п'ятирічний досвід стихійного забезпечення хворих (хаотична закупівля щонайрізніших видів інсуліну різних фірм) добре відомий. Крім перерв у постачанні, постійна зміна видів інсуліну, на яку вимушені йти хворі та лікарі, здатна викликати негативні імунологічні реакції та інші ускладнення, наслідки яких хворі і лікарі будуть змушені оцінити. Так, нерідко перехід навіть на людський інсулін за підвищеної чутливості до тваринного інсуліну часто-густо ускладнюється імунологічною перехресною реакцією людського інсуліну з тваринним. Ось чому виробництво власного інсуліну в Україні для надійного забезпечення хворих інсуліном не має альтернативи.

Залежно від сировини, технології виготовлення, добавок інсуліни мають різний час усмоктування з місця введення, що обумовлює тривалість їх дії.

За тривалістю дії інсуліни поділяються на 3 групи: 1) короткої дії ("простий інсулін"); 2) середньої тривалості, або препарати проміжної дії; 3) тривалої дії.

Першими препаратами подовженої дії, які широко використовуються досі, стали інсуліни, тривалість дії яких досягається за рахунок додавання в них цинку і білка з риб'ячого молочка - протаміну (протамін-цинк-інсулін і нейтральний протамін Хагедорна - НПХ). НПХ - інсулін, що містить інсулін і протамін у рівних (ізофанних) кількостях, тому його називають ще ізофан-інсулін. Щоб уникнути антигенних властивостей протаміну, було розроблено інсуліни, тривалість дії яких створюється за рахунок додавання тільки цинку. Це цинк-інсуліни: Ленте, монотард, група ІЦС, інсулонг. Сучасні препарати інсуліну діляться на 4 основних типи: нейтральний розчинний, протаміновий, цинковий у суспензії і цинковий у кристалах. Подальші пошуки нових препаратів передбачається проводити шляхом зміни молекулярної структури, а не фізичного стану.

За кордоном широко використовують готові суміші інсулінів (профілі), що містять препарати короткої і тривалої дії в різних співвідношеннях - від 10 до 50% простого інсуліну і від 90 до 50% інсуліну подовженої дії. Препарат "Актрафан НМ" (фірма Ново-Нордиск) є однією із найпопулярніших сумішей інсулінів, виготовлених у заводських умовах. Зараз проходять клінічне випробовування аналоги інсуліну з ультракороткою тривалістю (початок дії - через 10-15 хв після введення і тривалість - 3-4 год. Це препарат Lis-Pro (фірма Елай Ліллі) і X-14 (компанія Ново-Нордиск).

Незважаючи на виділення групи препаратів інсуліну тривалої дії (24 год і більше), багато клініцистів-діабетологів вважають, що надійних препаратів з добовою тривалістю дії поки що не існує [1]. Можливо, таким препаратом виявиться солонгін, який випробовується зараз на фірмі Ново-Нордиск.

Важливе значення має вид препаратів інсуліну, тобто сировина, з якої виробляється інсулін. На сучасному етапі виробляють яловичий (великої рогатої худоби), свинячий і людський інсулін. Яловичий інсулін відрізняється від інсуліну людини амінокислотами у 3-х положеннях, а свинячий - у одному (в 30-му положенні В-ланцюга перебуває аланін замість треоніну). І через це яловичий інсулін дає найбільші побічні імунологічні реакції, що призводять до інсулінорезистентності, алергії та інших ускладнень. Негативні якості яловичого інсуліну проявляються також при виготовленні змішаних видів інсуліну (свинячий + яловичий).

У 1981 р. компанія Ново-Нордиск уперше у світі почала серійний випуск людського інсуліну. Виробництво людського інсуліну різними фірмами зараз здійснюється переважно двома методами: напівсинтетичним (за допомогою ферментно-хімічної заміни у 30-му положенні В-ланцюга аланіну у свинячому інсуліні на треонін) або біосинтетичним (за генно-інженерною технологією). За цією технологією ген, що відповідає за синтез інсуліну людини, вмонтовується в ДНК непатогенного штаму кишкової палички (*Escherichia coli*) або лікарських дріжджів, що "програмує" їх на природну секрецію інсуліну поза організмом людини. Ці види інсуліну ідентичні тому, який синтезується в людському організмі, і не потребують додаткової очистки.

Виробництво людського інсуліну значно дорожче. Досвід застосування людських видів інсуліну засвідчує їх переваги, особливо в імунологічному плані, у зв'язку з чим у розвинутих країнах, зокрема у Німеччині, близько 80% хворих, що потребують інсулінотерапії, забезпечуються людським інсуліном [1]. Передусім це хворі з уперше виявленим цукровим діабетом, діти, вагітні, хворі, які отримують інсулін короткочасно (оперативні втручання, тяжкі інфекційні захворювання та ін). Однак 15-річний досвід використання людського інсуліну і можливість порівняння з іншими його видами дозволяє, насамперед західним діабетологам, висловити думку про те, що вони не виявили помітної різниці між людським інсуліном і високоочищеним свинячим [1].

Тому хворі зі стабільно компенсованим цукровим діабетом на тлі прийому препаратів свинячого інсуліну, які не дають побічних реакцій, в тому числі й місцевих шкірних, не потребують переведення їх на людський інсулін. Помилкова думка, що у хворих на лабільний декомпенсований цукровий діабет можна досягти компенсації тільки за рахунок переведення на людський інсулін без корекції інсулінотерапії.

Перехід на людський інсулін передусім показаний хворим із загальними і місцевими алергічними реакціями на інсулін тваринного походження, інсулінорезистентністю імунологічної природи, з ліподистрофіями, а також тим групам хворих, які згадувались раніше.

У разі переведення хворих на інсулін людини треба мати на увазі такі особливості. Простий людський інсулін починає діяти дещо раніше, ніж свинячий, а пролонговані інсуліни можуть діяти менш тривало, ніж аналогічні препарати тваринного походження. Чи завжди зменшується добова доза у разі переходу на людський інсулін? Не завжди. Це може відбутися за початково високого титру антитіл до інсуліну, який після переведення на людський інсулін, може з часом знижуватися. За відсутності такої передумови знижувати дозу не доцільно, у будь-якому разі корегувати дозу інсуліну під час переведення на людський інсулін треба тільки за умов адекватного контролю рівня глікемії. Нема вагомих даних про зміну частоти, характеру і тяжкості гіпоглікемії при переведенні на людський інсулін. Хоча у окремих хворих у разі розвитку гіпоглікемічних реакцій на людський інсулін може дещо змінитися їх клінічна симптоматика, про що треба попередити хворого заздалегідь.

На сьогодні діабетологи не мають можливості лікувати всіх хворих людським інсуліном, тому повинен бути підібраний для хворого адекватний інсулін тваринного походження, бажано свинячий. Оптимально підібраний для хворого інсулін має якнайменше побічних дій, передусім імунологічних і реакцій подразнення в ділянці ін'єкції. Окрім виду інсуліну, це також залежить від ступеня очистки, рН і речовин, що додаються до розчину інсуліну як бактеріостатики і консерванти.

З 70-х років під час виготовлення інсуліну стали застосовувати гельфільтраційну хроматографію, яка дозволяє отримувати очищені монопікові інсуліни, на хроматограмі яких реєструється лише один пік, що відповідає інсуліну. Вміст домішок (насамперед проінсуліну, а також глюкагону, соматостатину, панкреатичного поліпептиду) у таких препаратах не перевищує 20 частин на мільйон. З 1980 р. у технології отримання інсуліну стали використовувати додаткову очистку за допомогою

іонозамінної хроматографії. Це дозволило отримувати монокомпонентні інсуліни, в сучасних препаратах яких вміст домішок складає лише 1-3 частини на мільйон. Всі провідні фірми-виробники інсуліну виробляють практично лише монокомпонентні інсуліни. Біосинтетичний інсулін людини повністю позбавлений домішок і за ступенем очистки відповідає щонайвищим стандартам.

До недоліків деяких видів інсулінів, які досі виробляються, належить кисла реакція їх розчинів, що обумовлено фармако-технологічними їх особливостями. У разі попадання таких розчинів у підшкірну основу, рН якої нейтральна, відбувається випадання певних комплексів у вигляді аморфних часток, що підвищують частоту реакцій місцевої переносності, розвитку ліподистрофії. Інсуліни з кислою реакцією спричинюють виражені імунологічні реакції. Застосування цих препаратів слід обмежувати, особливо у хворих, організми яких схильні до розвитку імунологічних реакцій. До препаратів інсуліну з кислим рН належать такі: дуже популярний свого часу Б-інсулін (фірма Берлін-Хемі), для подовження дії якого використовували амінохінуриду-дигідрохлорид (сурфен). Ефект подовження дії сурфеном проявляється у тому, що кристалики сурфену інсуліну розчинні в кислому середовищі (рН 3,4) і випадають після ін'єкції в тканини з нейтральним рН у вигляді аморфних комплексів. Зараз Б-інсулін знятий з виробництва, але випускається його хроматографічно очищений аналог Б-інсулін SC (Берлін-Хемі), що має такі самі фармакологічні параметри. До інсулінів з кислим рН належать також препарати фірми Хьохст: депот-інсулін S, депот-інсулін CR, комб-інсулін і комб-інсулін S. Висока вартість нейтральних інсулінів не дозволяє поки що припинити виробництво кислих інсулінів.

Основним шляхом уведення інсуліну, як і досі, залишається підшкірний. Інсулін зручно вводити за допомогою одноразових пластикових інсулінових шприців. Наприкінці 70-х років було створено дозатори інсуліну, які можна носити і які відтворюють безперервну підшкірну інфузію інсуліну за заданою програмою, котру хворий може регулювати сам. Однак ці дозатори інсуліну поки що не знайшли значного поширення через недостатню експлуатаційну надійність, обтяжливість для хворого, небезпеку інфікування, можливість гіпоглікемічних реакцій та інших ускладнень.

Простішим і безпечнішим засобом є підшкірне введення інсуліну за допомогою ручних напівавтоматичних дозаторів інсуліну - шприців-ручок ("Новопен"; "Оптипен"; "Берліпен" та ін). З'являються все нові модифікації шприців-ручок зі спрощеним дозуванням, контролем і введенням препарату, навіть хворим зі зниженою гостротою зору. Однак, попри зручності цих шприців-ручок, вони не позбавлені недоліків. Так, часто не можна контролювати дозу введеного інсуліну, особливо у разі раптової помилки, може бути порушена техніка введення, зокрема хворим похилого віку. До того ж треба мати запас інсуліну у флаконах певної форми (катриджи). Діабетологи, які мають достатній досвід з використання шприців-ручок і разових пластикових шприців, вважають, що поки що немає достатніх доказів переваги шприців-ручок перед звичайними шприцами.

Окрім традиційних засобів уведення інсуліну, зараз вивчають можливості інструментального, перорального, ректального, вагінального і аеро-

зольного шляхів. Однак, вони не забезпечують стабільної компенсації і не знайдуть найближчим часом клінічного застосування.

Доза інсуліну для кожного хворого суворо індивідуальна і визначається ступенем компенсації діабету і чутливістю хворого до інсуліну. Емпіричних розрахунків добової дози інсуліну немає. Практично добову дозу інсуліну і час введення протягом доби підбирають відповідно до глікемічного і глюкозуричного профілів.

При цьому треба виходити із правила: доза інсуліну повинна бути такою малою, наскільки це можливо, і такою великою, наскільки це потрібно [2]. До певної міри орієнтиром добової дози можуть бути природня потреба здорової людини в інсуліні (30-70 ОД/добу), а також дослідження за допомогою біостатора і досвід діабетологів, які свідчать про те, що для хворих із уперше виявленим цукровим діабетом за умови використання сучасних препаратів інсуліну добова доза його складає в середньому 0,5 ОД/кг маси тіла. У період ремісії після настання компенсації діабету вона може знизитись до 0,3-0,4 ОД/кг. У осіб, що хворіють тривало, вона не буває, як правило, меншою за 0,6-0,7 ОД/кг. Добова доза, що складає 1 ОД/кг і більше, свідчить у більшості випадків про передозування або інсулінорезистентність. Однак ці рекомендації умовні і вимагають індивідуального підходу і корекції відповідно до рівня добових коливань вмісту глюкози в крові. Тривала декомпенсація, інтеркурентні захворювання можуть помітно знизити чутливість до інсуліну. У такому разі доведеться значно підвищити його дозу. Використання сучасних високоочищених видів інсуліну, більші можливості для досягнення і підтримання тривалої стабільної компенсації у значної маси хворих сприяли зниженню добової дози інсуліну. У 70-80-х роках добова доза 70-80-90 ОД інсуліну була скоріше правилом, аніж винятком. Зараз же хворі з дозою інсуліну, що перевищує 1 ОД/кг маси тіла, потребують ретельного обстеження і уточнення причин такої інсулінорезистентності, а передусім - досягнення стабільної компенсації і усунення можливості хронічного передозування інсуліну.

Корекція вуглеводного обміну за глікемічним профілем за допомогою підшкірної замісної інсулінотерапії є дуже далеким від досконалості методом вибору. У здорової людини підшлункова залоза виділяє інсулін залежно від концентрації глюкози у крові за типом зворотного зв'язку: кількість інсуліну завжди адекватна і відповідає потребам організму, підтримується постійна фізіологічна нормоглікемія. У хворого на інсулінозалежний цукровий діабет порушена автономна регуляція секреції інсуліну за типом зворотного зв'язку. Поглинання інсуліну з місця ін'єкції не можна назвати фізіологічним, воно не регулюється рівнем глюкози в крові. Для хворого треба розрахувати кореляцію між уведеною кількістю інсуліну, їжею і фізіологічною активністю, котра впливає на рівень глюкози в крові.

Досягнення в галузі клінічної діабетології за останні 10-15 років склали передумови для перегляду існуючих принципів інсулінотерапії. На сьогодні існує 2 типи інсулінотерапії: традиційна (звичайна) й інтенсифікована (інтенсивна).

Відповідно до принципів традиційної інсулінотерапії вводять переважно інсулін тривалої дії з невеликою добавкою інсуліну короткої дії (простого) або без неї. Ін'єкції роблять звичайно 2 рази на добу, і прийняття їжі при-

стосовується до дії інсуліну, у зв'язку з чим хворий повинен харчуватися малими порціями, не менше 5-6 разів на добу у певний час.

Одноразове введення інсуліну виправдане лише за умови стабільного перебігу хвороби з відносно невеликою потребою в інсуліні (не більше 30-40 ОД на добу) і стійкої компенсації, а також у хворих на інсулінонезалежний цукровий діабет у разі необхідності поєднання пероральних засобів, що знижують рівень глюкози в крові, з інсулінотерапією в невеликій дозі.

У разі дворазового введення інсуліну подовженої (проміжної) дії з додаванням (або без нього) простого інсуліну звичайно перед сніданком вводять 2/3 добової дози, а решту - перед вечерею. Співвідношення простого інсуліну і з подовженою дією частіше становить 1:3. Однак ці співвідношення завжди індивідуальні, а рекомендації - умовні. Також комбінують простий інсулін або інсулін проміжної дії (наприклад, інсулонг) з інсуліном тривалої дії (ультраленте, ультратард) перед сніданком з вище наведеним добовим перерозподілом дози і другою ін'єкцією перед вечерею (іноді на ніч) простого інсуліну або інсуліну проміжної дії. Можливі найрізноманітніші комбінації, особливо у разі використання готових сумішей (профілів). Обережно треба поєднувати простий інсулін з інсулонгом, Б-інсуліном, депо-інсуліном уранці і ввечері, дворазове введення ультраленти, або ультратарду, а особливо - поєднувати в одній ін'єкції три види інсуліну, наприклад: простий інсулін + інсулін проміжної дії + ультралента (ультратард). У подібних комбінаціях піки дії різних видів інсуліну можуть накладатися, що призводить до затяжної гіпоглікемії з подальшою реактивною гіперглікемією вночі або уранці. Таку комбінацію краще замінити додатковою ін'єкцією інсуліну.

У останнє десятиліття дійшли висновку про те, що найбільш адекватним, близьким до імітації фізіологічної секреції інсуліну є режим багаторазових ін'єкцій, так звана інтенсифікована (інтенсивна, або функціональна) інсулінотерапія, суть якої зводиться до того, що інсулін короткочасної дії вводять перед основними прийомами їжі ("істивний" інсулін) не менше 3 разів, а на ніч вводиться інсулін тривалої дії ("базальний"), який імітує нормальну постійну секрецію інсуліну у здорової людини. У разі багаторазового введення інсуліну добова доза препарату може бути розподілена таким чином: 30-40% дози вводять увечері о 22-23-й годині перед сном у вигляді інсуліну подовженої дії, решту дози розподіляють рівномірно і вводять (простий інсулін) перед сніданком, обідом і вечерею. За потреби залежно від вуглеводного навантаження і рівня глюкози в крові дозу його перед їдою можна змінювати. Можлива дворазова схема введення інсуліну тривалої дії, коли 1/3 його добової дози вводять уранці перед сніданком, а решту - увечері (перед вечерею або о 22-23-й годині). Простий інсулін вводять як звичайно перед кожною їдою. Такий розподіл ін'єкцій передбачає рівномірне насичення організму інсуліном.

Але треба зауважити, що рекомендації стосовно розподілу доз інсуліну вимагають обов'язкової корекції відповідно до глікемічного профілю конкретного хворого. За інтенсивної інсулінотерапії потрібен контроль показників глюкози в крові 3-4 рази на добу, у гіршому разі - через добу або 2 доби, але завжди (!), коли з'являються сумніви щодо ступеня глікемії в даний момент.

За інтенсивної інсулінотерапії змінюється принцип лікування: не прийом їжі пристосовують до дії інсуліну, а навпаки - його дію до прийому їжі. Інтенсивна інсулінотерапія, забезпечуючи стійку компенсацію показників глюкози в крові протягом тривалого часу, про що свідчить нормалізація рівня глікозильованих білків у крові [3, 4], а також позитивні процеси у клітинних мембранах і стінці судин, сприяє стабілізації і навіть регресу, а також профілактиці діабетичних мікроангіопатій [5]. Це переконливо підтверджено результатами достроково завершеного (у 1993 р., а планувалось у 1994 р.) проспективного, широкомасштабного дослідження щодо контролю цукрового діабету і його ускладнень [6], яке проводилося з 1985 р. у 29 містах США і Канади. Група складалася із 1441 хворого. Дискутувалося питання, чи може суворе контролювання рівня глюкози у крові запобігти або затримати розвиток діабетичних уражень судин. Одержано позитивну відповідь.

Безумовно, інтенсивну інсулінотерапію можна розцінювати як одне із значних досягнень діабетології останніх десятиріч. Інтенсивна інсулінотерапія якоюсь мірою є забутим методом. На світанку інсулінотерапії вона була вимушено "інтенсивною", аж до появи інсуліну з тривалою дією. І все-таки, очевидно, правий керівник досліджень DCCT із національного інституту США доктор Оскар Кроффорд: "Доти, поки не відкрито засіб, якийвилікує діабет, інтенсивна його терапія є кращим шляхом до того, аби уникнути розвитку ускладнень". Одночасно успішне проведення інтенсивної інсулінотерапії вимагає певних умов, відповідної матеріальної бази і підготовки хворого.

Передусім хворий повинен мати можливість у домашніх умовах кілька разів на добу (бажано щодня) визначати рівень глюкози в крові, інакше він не застрахований від частоті гіпоглікемії [7]. Дослідники DCCT відзначили триразове збільшення частоти тяжкої гіпоглікемії (це в умовах ретельного контролю!) на тлі інтенсивної інсулінотерапії.

Не можна погодитися з думкою авторів [1], що гіпоглікемія не є причиною пізніх ускладнень цукрового діабету. Глікемія так само шкідлива, як і гіперглікемія, навіть якщо, за логікою авторів, гіпоглікемія "є не причиною, а пусковим чинником гемофтальму". Спираючись на 30-річний досвід нашої клініки, можна продовжити, що гіпоглікемія може бути пусковим, інколи фатальним чинником тяжкої енцефалопатії, загострення ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда, інсульту з летальним кінцем. У дослідженнях закордонних авторів, що побачили світ після опублікування результатів DCCT [8], наводяться свідчення про те, що інтенсифікована інсулінотерапія, яку проводять без належного контролю, не має переваг перед традиційною.

З огляду на наведене вище і спираючись на власний досвід інтенсифікованої інсулінотерапії в наших умовах, ми вважаємо проведення її доцільним і реальним у таких ситуаціях:

- в умовах спеціалізованих стаціонарів у разі первинного призначення інсулінотерапії хворим із уперше виявленим декомпенсованим цукровим діабетом;
- під час виведення із стану кетозу і кетоацидозу;
- у хворих на тяжкий лабільний цукровий діабет, у котрих за допомогою традиційної інсулінотерапії не вдається досягти компенсації;

- у вагітних з лабільним перебігом цукрового діабету зі схильністю до гіпоглікемії й ацидозу.

Застосування інтенсифікованої інсулінотерапії у цих категорій хворих дозволяє швидше домогтися стійкої компенсації показників діабету і в подальшому (за наявності відповідних умов) продовжувати її або перейти на традиційну інсулінотерапію.

У разі стабільного перебігу цукрового діабету із стійкою компенсацією нема потреби проводити інтенсивну інсулінотерапію за відсутності згаданих умов. Це стосується також і дітей, для котрих багаторазові ін'єкції не байдужі.

Призначаючи інтенсифіковану інсулінотерапію лікар повинен добре знати хворого і бути впевненим у тому, що всі його рекомендації будуть ретельно виконуватися щодня. Успіх інтенсифікованої інсулінотерапії багато в чому залежить від обізнаності хворих з методами самоконтролю обміну речовин, уміння оцінити конкретну ситуацію і адекватно відкоригувати дозу інсуліну.

Наявність усіх цих чинників справді робить інтенсивну терапію методом вибору для хворих, що потребують інсулінотерапії. Окрім того, що така терапія забезпечує стабільну компенсацію показників, вона дозволяє зняти багато обмежень у способі життя хворого, передусім стосовно дієти, поліпшити якість життя. Ендокринолог повинен оцінити особливості перебігу захворювання, характер хворого, його можливості і рекомендувати відповідний тип інсулінотерапії, який дозволить підтримувати стійку, тривалу компенсацію - єдину реальну можливість зупинити розвиток діабетичної ангіонейропатії, або запобігти цьому ускладненню.

Український інсулін

Інсулін заводу ендокринно-ферментних препаратів АТ "Київський м'ясокомбінат"

<u>Інсулін людський нормальний (простий) (Insuman Rapid)</u>		<u>Інсулін свинячий нормальний (простий) (Insulin S)</u>	
<i>Діюча речовина:</i>	Інсулін людський	<i>Діюча речовина:</i>	Інсулін свинячий
<i>Опис:</i>	Інсулін швидкої дії. Нейтральний розчин рН 7,0-7,4. Початок дії через 15-20 хв після підшкірної ін'єкції, максимальна дія - через 4-5 год, тривалість дії 8 год.	<i>Опис:</i>	Інсулін швидкої та короткої дії. Кислий або нейтральний розчин. Початок дії через 15-30 хв після підшкірної ін'єкції. Максимальна дія через 1-3 год, діє протягом 5-8 год.
<i>Застосування:</i>	Для початкової стабілізації та короткочасної терапії	<i>Застосування:</i>	На початку інсулінотерапії при цукровому діабеті I та II типів. Для лікування діабетичної коми
<i>Упаковка:</i>	Флакони по 10 мл (400 МО)	<i>Упаковка:</i>	Флакони по 10 мл (400 МО)

<u>Інсулін людський середньої дії</u> <u>комбінований у співвідношенні 25:75</u> <u>(Insuman COMB. 25 (75))</u>	<u>Інсулін свинячий комбінований</u> <u>(COMB. Insulin S)</u>
<p><i>Діюча речовина:</i> Інсулін людський</p> <p><i>Опис:</i> Інсулін людський середньої дії, комбінований у співвідношенні 25:75. Нейтральний розчин рН 7,0-7,4. Початок дії - через 30-45 хв після підшкірної ін'єкції, максимальна дія між 7-9-ю годинами, тривалість дії - до 18 год</p> <p><i>Застосування:</i> Спеціальний інсулін для пацієнтів з низькою потребою в інсуліні (після їди)</p> <p><i>Упаковка:</i> Флакони по 10 мл (400 МО)</p>	<p><i>Діюча речовина:</i> Інсулін свинячий</p> <p><i>Опис:</i> Інсулін свинячий середньої дії, комбінований у співвідношенні нормального інсуліну до інсуліну подовженої дії 1:2, дозування індивідуальне</p> <p><i>Застосування:</i> Інсулінозалежний тип цукрового діабету будь-якого ступеню тяжкості</p> <p><i>Упаковка:</i> Флакони по 10 мл (400 МО)</p>
<u>Інсулін людський подовженої дії</u> <u>(Insuman Basal)</u>	<u>Інсулін свинячий подовженої дії</u> <u>(Depot. Insulin S)</u>
<p><i>Діюча речовина:</i> Інсулін людський</p> <p><i>Опис:</i> Інсулін людський подовженої дії. Нейтральний розчин рН 7,0-7,4. Кристалічна суспензія. Початок дії - через 45-60 хв після підшкірної ін'єкції, максимальна дія - між 10-20-ю годинами. Тривалість дії - до 24 год</p> <p><i>Застосування:</i> Для пацієнтів зі стабільним діабетом з низькою потребою в інсуліні</p> <p><i>Упаковка:</i> Флакони по 10 мл (400 МО)</p>	<p><i>Діюча речовина:</i> Інсулін свинячий</p> <p><i>Опис:</i> Інсулін сповільненої та подовженої дії. Початок дії - через 1-4 год після підшкірної ін'єкції. Тривалість дії 30 год та більше</p> <p><i>Застосування:</i> Інсулінозалежний тип цукрового діабету будь-якого ступеню тяжкості</p> <p><i>Упаковка:</i> Флакони по 10 мл (400 МО)</p>

Література

1. Бергер М., Старостина Е.Г., Йоргенс В. и др. Практика инсулинотерапии. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1995. 365 с.
2. Єфимов А.С., Германюк Я.Л., Генес С.Г. Сахарный диабет. К.: Здоров'я, 1983. 224 с.
3. Mazze R., Strock E., Bergenstal R. et al. Intensified insulin therapy using rapid HbA1c determination in conjunction with staged diabetes management //Diabetes. 1993, 42, Suppl. 1, p.56A.

4. Reichard P., Nilsson B.-J., Rosenquist U. The effect of long-term intensified treatment on the development of microvascular complications of diabetes mellitus //N. Engl. J. Med. 1993, **329**, 304-309.
5. Ghirlanda Y., Manto A., Mancini L. et al. Intensive treatment of diabetic nephropathy in IDDM: effect on renal function //Diabetes. 1993, **42**, Suppl. 1, p. 54A.
6. DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus //N. Engl. J. Med. 1993, **329**, 977-986.
7. Dejgaard A. Риск гипогликемии во время интенсивной инсулинотерапии //Клин. Фармакол. 1993, № 3, 54-57.
8. Haakens K., Dahl-Jorgensen K., Vualer S. et al. What happens in the long-term to the intensively treated IDDM patients? A four-year follow-up //Practical Diabetes Intern. 1995, **12**, 4, 178-181.

Історія вітчизняної ендокринології

УДК 616.379 - 008.64:61:9(07)

**ОЧЕРК ОБ ИССЛЕДОВАНИЯХ ПО ПРОБЛЕМЕ
САХАРНОГО ДИАБЕТА, ПРОВОДИМЫХ В
УКРАИНСКОМ НИИ ФАРМАКОТЕРАПИИ
ЭНДОКРИННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
(из истории развития отечественной
эндокринологии)**

В.В.Натаров, Е.П.Тихонова

*Украинский НИИ фармакотерапии эндокринных заболеваний, 310002
Харьков, Украина*

Исследования по проблеме сахарного диабета (СД) явились одним из приоритетных направлений работ Украинского института экспериментальной эндокринологии (в последующем - Харьковский НИИ эндокринологии и химии гормонов, Украинский НИИ фармакотерапии эндокринных заболеваний) - первого в стране научно-клинического учреждения подобного профиля, организованного в г. Харькове в 1919 г.

С открытием в 1930 г. специализированной клиники этого института коллективом сотрудников, возглавляемым проф. В.М. Коганом-Ясным, успешно разрабатываются основы мало изученной на то время отрасли клинической медицины - эндокринологии, проводятся исследования, получившие дальнейшее развитие в работах проф. М.А. Копеловича и его учеников, по изучению семиотики (клинических проявлений), течения, спонтанной эволюции заболеваний желез внутренней секреции, в том числе СД, разработке методов их диагностики и лечения.

Отличительной чертой сформировавшейся в дальнейшем Харьковской школы врачей-эндокринологов является путь - от клиники к эксперименту, умение анализировать и обобщать свои наблюдения для установления определенных закономерностей течения патологического процесса. Не случайно, что уже в довоенные годы были представлены характеристика инсулиночувствительных и инсулинонечувствительных форм СД (предпосылка к современному определению инсулинозависимого и инсулинонезависимого типов заболевания), описание ставших классическими признаков диабетической комы (абдоминальный, гемато-ренальный синдромы, синдром желудочного кровотечения и др.), особенностей диабетической ангиопатии, нейропатии и других осложнений СД.

Обстоятельно изучали такую сложную, сохранившую свою актуальность и поныне проблему, как СД и туберкулез (Л.И. Вильнянский). В развитии этих исследований по инициативе института в Крыму (Долоссы) было организовано первое и единственное в стране отделение для санаторного лечения больных СД и туберкулезом легких. Научные сотрудники клиники на протяжении многих лет систематически оказывали методическую и консультативную помощь этому лечебному учреждению.

С именем ведущих ученых института было связано решение таких серьезных задач диабетологии, как получение и первое применение с терапевтической целью инсулина, осуществленное проф. В.М.Коганом-Ясным в 1923 г., то есть спустя 2 года после извлечения Бантингом и Бестом этого гормона из клеток Лангерганса поджелудочной железы. В последующие годы было освоено промышленное производство инсулина, что позволило в годы Великой Отечественной войны (институт был эвакуирован в г. Бийск) сохранить жизнь многим нашим соотечественникам, больным СД. Небезынтересно отметить, что известная компания "Ново-Нордиск", приступив к производству инсулина также в 1923 г., внедрила в практику препараты этого гормона, изготовленные в заводских условиях, лишь в 1945 г.

К 1939 г. С.Г. Генесом и Е.Я. Резницкой были разработаны основы лечебного питания при СД и предложены диеты для больных СД, ставшие широко известными во всем мире.

С этого времени вопросы диетотерапии - в центре внимания диабетологов института. Разрабатываются теоретические основы и ведется целенаправленный поиск путей повышения эффективности инсулинотерапии. Анализируются причины ее недостаточной результативности в клинической практике. Разрабатываются схемы рациональной сочетанной терапии препаратами инсулина разной продолжительности действия, совершенствуется техника введения инсулина с целью, прежде всего, устранить нестабильность гликемии, способствующей развитию сосудистых осложнений СД.

Нельзя не отметить, что уже в первые годы после войны в Харькове были заложены основы метода самоконтроля, который в настоящее время признан необходимым для успешного лечения СД. Больных обучали доступной в домашних условиях методике определения уровня сахара в моче по предложенному А.Я.Альтгаузену сахариметру. Необходимый набор реактивов и типографски отпечатанную цветовую шкалу с инструкцией по определению сахара в моче бесплатно выдавали больным при выписке из клиники.

В дальнейшем была разработана и цветная шкала для определения уровня сахара в крови (С.А. Бален). Кроме того, по рекомендации оргметодотдела института организовали групповое собеседование врачей с больными СД и их родственниками (конференции обычно проводились в условиях городских поликлиник), где совместно обсуждали не только медицинские, но и социальные проблемы и пути их разрешения.

Путем издания информационных и методических писем, пособий, руководств для врачей и больных СД, чтения лекций, бесед по радио, а затем и телевидению внедряются в практику научные разработки сотрудников института по актуальным вопросам клинической диабетологии, в том числе по использованию дифференцированных рационов питания с учетом типа, тяжести течения СД, его осложнений и сопутствующих заболеваний. Совместно с Институтом общественного питания (г. Харьков) были разработаны номенклатура и технология блюд со сниженной энергетической ценностью для больных СД и ожирением.

В 1987 г. в клинике впервые был апробирован метод интенсивной инсулинотерапии, схемы которого были разработаны совместно с Болгарским институтом эндокринологии, геронтологии и гериатрии. В настоящее

время интенсивную инсулинотерапию повсеместно используют для лечения тяжелых форм СД I типа.

Важным разделом работы диабетологов института, проводимой совместно с акушерами-гинекологами и педиатрами, было изучение течения беременности, родов, периода кормления и состояния новорожденных у больных СД, а также организация помощи этому контингенту женщин (Л.И. Лобановская, Р.С. Мирсогатова).

Много внимания в последние годы было уделено возрастным особенностям течения СД и лечению этого заболевания у лиц старшей возрастной группы, учитывая тот факт, что в этих случаях состояние больного осложняется многочисленными сопутствующими формами патологии со стороны сердечно-сосудистой, нервной, пищеварительной, опорно-двигательной систем. Трудности лечения этого контингента больных связаны с изменением чувствительности их организма к разным лекарственным препаратам, в том числе пероральным сахароснижающим средствам и инсулину. Исследования, проведенные в этом направлении, позволили внести коррективы в схемы лечения и повысить результативность антидиабетической терапии у больных пожилого возраста.

Были изучены различия гипогликемических реакций на разные виды препаратов инсулина и пероральных сульфаниламидов в зависимости от продолжительности их сахароснижающего действия, что имеет немаловажное значение для оценки эффективности этих средств.

Проводили исследования и по изучению влияния на уровни сахара в крови других медикаментов, широко используемых в комплексе лечения сопутствующих СД заболеваний. Полученные данные были положены в основу рекомендаций по совершенствованию антидиабетической терапии при СД.

Практическое значение имели работы по вопросам трудовой экспертизы, оценки трудоспособности и рекомендации по трудоустройству больных СД (Л.С. Маримьян).

Организационно-методическим отделом института (В.Я. Абер, И.А. Черкасов) проводилась работа по организации и совершенствованию эндокринологической службы в Украине. Благодаря усилиям института, уже к 1968 г. на ее территории работало свыше 700 эндокринологов, было развернуто и функционировало 35 эндокринологических диспансеров и отделений, около 450 эндокринологических кабинетов. Указанные показатели существенно превышали аналогичные по другим республикам Союза, в том числе и разным регионам Российской Федерации.

Согласно семилетнему плану развития, с 1951 г. институтом была поставлена задача широкого повсеместного выявления больных СД, осуществляемого активно, а не по обращаемости пациентов, как это было принято раньше. В результате проводимых мероприятий число выявленных больных СД за последующие годы увеличилось в 6 раз. Оргметодотдел института к этому времени располагал данными об ежегодной динамике заболеваемости СД в разных областях и ряде крупных городов Украины (Киев, Харьков, Львов, Севастополь и др.), показателями динамики (по годам) возрастного и профессионального состава больных в разных областях Украины, а также данными об использовании тех или иных средств антидиабетической терапии, количества инъекций и среднесуточной дози-

ровке инсулина у лиц, получающих инсулин. Обобщали также данные о потребности в инсулине и сахароснижающих препаратах по отдельным регионам Украины, а также о частоте осложнений и причинах смертности больных СД. Сведения эти были получены на основании результатов статистического анализа данных, касающихся соответствующих записей в заполняемых эндокринологами амбулаторных картах больных. Надо подчеркнуть, что эти разработки осуществлялись оргметодотделом института задолго до того, как, согласно требованиям Сен-Винсентской декларации, был поставлен вопрос о создании специальной карты учета и регистрации больных СД.

Организации эндокринологической службы в Украине способствовало активное участие института в подготовке кадров и повышении квалификации врачей-эндокринологов путем организации семинаров, предоставлений рабочих мест в клинике, а также ежегодно проводимых на протяжении 43 лет учебных сборов, на которых особое внимание уделялось актуальным вопросам клинической диабетологии.

Указанные направления исследований по проблеме СД в течение последних 30 лет концентрировались в отделении эндокринной патологии поджелудочной железы (зав. с 1967 г. - проф. Е.П. Тихонова, с 1992 г. - канд. мед. наук Т.П. Левченко) и лаборатории патофизиологии, руководимой д-р мед. наук В.В. Полтораком, и основаны на изучении гормональной и негормональной регуляции биосинтеза и секреции инсулина, путей наследования и реализации наследственной предрасположенности к СД, роли аутоиммунной агрессии (повреждение аутоантителами островковых бета-клеток поджелудочной железы) и факторов внешней среды в диабетогенезе, выявлении роли популяционных процессов в особенностях проявления СД, природе его клинического многообразия, дальнейшем развитии отдельных форм патологии (С.А. Штандель).

Одновременно в эксперименте и клинике было установлено, что длительная сульфаниламидотерапия инициирует аутоагрессию против клеток, вырабатывающих инсулин, и потому может способствовать структурно-функциональному их повреждению. Тем самым была обоснована необходимость синтеза препаратов, сочетающих сахароснижающий эффект со способностью как подавлять аутоагрессию, так и стимулировать регенерационные (восстановительные) процессы в бета-клетках.

Целью этих исследований является разработка методов иммунокорригирующей терапии для предупреждения или ограничения деструкции инсулинпродуцирующего аппарата, стимуляции его активности на ранних этапах заболевания, что соответствует наиболее приоритетным направлениям в деятельности многих зарубежных центров по проблеме СД.

Для первичной и вторичной профилактики СД в мировой практике в настоящее время широко используется никотинамид, который обладает антимуtagenным свойством, а также блокирует активные радикалы кислорода, участвующие в разрушении бета-клеток. Применяют и другие иммуномодуляторы и антиоксиданты.

В Украинском НИИ фармакотерапии эндокринных заболеваний в течение последних лет разрабатывается новый оригинальный препарат с комплексным антидиабетическим свойством - фенсукцинал-3 фенилэтиламид-2 оксисукциниловой кислоты (А.В. Чувурин, В.В. Натаров и др.).

Основное фармакологическое действие фенсукцинала заключается в стимуляции регенерационных процессов в бета-клетках поджелудочной железы в условиях как относительной, так и абсолютной инсулиновой недостаточности. Кроме того, препарат обладает ангиопротекторным (защищающим сосуды) действием. Последнее связано с нормализацией под влиянием фенсукцинала обменных процессов и усилением антиоксидантной защиты организма.

Было установлено, что по своему влиянию на уровень сахара в крови фенсукцинал эффективнее никотинамида в 1,3-1,6 раз, по регенерационному эффекту (результаты гистологических исследований) - в 2-2,7 раза, по критериям антиоксидантной защиты - в 1,4-1,5 раза (В.В. Полторац, Т.С. Божко, Н.И. Горбенко и др.).

Следует подчеркнуть, что работы по поиску и синтезу адекватных пероральных сахароснижающих средств для лечения СД являются логическим продолжением исследований, которые были начаты еще в конце 50-х - начале 60-х годов, когда в Харьковском НИИ эндокринологии и химии гормонов был осуществлен первый в стране синтез сахароснижающих сульфаниламидов (Т.В. Сысоева, Н.И. Махненко). На основании проведенных экспериментальных исследований фармакологический комитет при МЗ СССР разрешил клиническое испытание, а затем и промышленное изготовление бутамида, цикламида и хлорпропамида. Результаты апробации этих препаратов, разработки схем их терапевтического исследования были представлены и обсуждены на заседании "круглого стола", организованного в 1960 г. в институте на уровне общесоюзного совещания. Эти работы (проф. В.С. Генес и сотр., проф. М.А. Копелович и сотр.) явились основополагающими для дальнейших исследований в области пероральной сульфамиламидотерапии СД и до настоящего времени сохранили свое значение.

Как видно, исследования по целенаправленному поиску и синтезу новых антидиабетических средств, как и клинико-экспериментальные разработки в целом по проблеме "сахарный диабет" в Украинском НИИ фармакотерапии эндокринных заболеваний успешно продолжаются.

Іван Семенович Турчин (до 60-річчя від дня народження)



7 липня 1997 р. виповнилося 60 років від дня народження та 37 років наукової діяльності доктора медичних наук, професора, лауреата премії ім. О.О. Богомольця НАН України Турчина Івана Семеновича.

І.С. Турчин народився на Львівщині, в селі Парипси Рава-Руського р-ну, в сім'ї селян. Після закінчення Сівецької середньої школи навчався у Івано-Франківському медичному інституті. Працював хірургом у м. Ново-Волинську Волинської області, а відтак став аспірантом Київського інституту інфекційних хвороб МОЗ України. У 1967 р. він захистив кандидатську дисертацію, присвячену вивченню взаємодії ентеровірусів з різними типами клітин, виявивши можливу їх роль у патогенезі низки інфекційних захворювань. У цьому ж році Іван Семенович почав працювати у Київському інституті ендокринології та обміну речовин (зараз - Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України).

На формування наукового світогляду молодого вченого великий вплив мали його учителі - професор Максимович Н.О. та академік Комісаренко В.П.. У 1975 р. І.С. Турчин успішно захистив докторську дисертацію, присвячену вивченню біологічних властивостей культур клітин і тканин ендокринних органів.

І.С. Турчин вперше у нашій країні розробив методики виділення та вирощування клітин і тканин ендокринних залоз, вивчив біологічні властивості цих культур. На моделях експериментальних ендокринопатій дав

теоретичне обґрунтування застосуванню методу трансплантації клітинних та органних культур ендокринних органів у клінічній практиці. Завдяки фундаментальним дослідженням, які були виконані спільно з академіком В.П. Комісаренком, розроблено принципово новий метод лікування цукрового діабету, гіпокортицизму, гіпотиреозу, гіпопаратиреозу, гіпогонадізму трансплантацією клітинних та органних культур залоз внутрішньої секреції. За цю роботу автор удостоєний премії ім. О.О. Богомольця.

Дослідження, розпочаті І.С. Турчиним, успішно розвиваються у нашій країні та за її межами. Вони охоплюють широке коло дисциплін експериментальної та клінічної медицини - ендокринологію, цитологію, вірусологію, пульмонологію, трансплантологію. Опираючись на розроблений ним метод, Іван Семенович вперше запропонував спосіб лікування гормонозалежних форм бронхіальної астми за допомогою трансплантації органних культур надниркових залоз. Багато уваги він приділяв вивченню ролі вірусів Коксакі групи В у виникненні цукрового діабету у дітей.

З 1995 р. І.С. Турчин працює у Координаційному центрі трансплантації органів, тканин і клітин МОЗ України, де продовжує розробляти нові технології одержання трансплантаційного матеріалу для клінічної практики та бере активну участь у розробці програм розвитку трансплантології в Україні.

І.С. Турчин - автор понад 120 наукових публікацій, винаходів, під його керівництвом захищено 6 кандидатських дисертацій. Він є заступником голови асоціації трансплантологів України, членом Європейської асоціації тканинних культур.

Іван Семенович - талановитий учений і всебічно обдарована особистість, добре знаний і шанований. Разом з тим він є напрочуд скромною, делікатною і доброзичливою людиною. Він відзначається винятковою працелюбністю і працездатністю, високою вимогливістю до себе.

Редколегія сердечно вітає ювіляра і зичить члену редакційної ради нашого журналу міцного здоров'я і подальших творчих успіхів.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРІВ

До опублікування в журналі "Ендокринологія" приймаються клінічні та експериментальні праці з усіх аспектів дослідження в галузі ендокринології та споріднених дисциплін. Статті подаються українською, 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 дотримувати 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 не направлений для опублікування в інші видання.

Рукопис статті надсилають у двох примірниках. Текст друкують через два інтервали на одному боці аркуша формату А4 (210 x 297 мм), поля з усіх боків – по 20 мм. Для прискорення публікації статей в редакцію треба надсилати також дискету із файлом, що містить текст статті. Дискета буде повернена авторам. Для набору журналу в редакції використовують IBM PC-сумісні комп'ютери та програми, що працюють у середовищах Windows та MS-DOS: "Word for Windows" та "Лексикон" відповідно. Тому файл статті повинен бути в одному із цих форматів (будь-яких версій цих текстових процесорів) або у текстовому форматі. Текст слід розмішувати в межах зазначених полів без вирівнювання по правому краю та без переносів. У разі використання виділень курсивом, жирним шрифтом чи підкресленнями, а також надрядкових чи підрядкових індексів слід дотримувати стильового оформлення журналу.

Авторський оригінал складається з тексту, таблиць, малюнків чи фотографій, підписів до ілюстрацій, списку літератури і реферату українською, російською та англійською мовами обсягом до 0,5 с.

На 1-й сторінці зазначаються: 1) ініціали та прізвища авторів; 2) заголовок статті; 3) назва установи, де працюють автори, поштовий індекс і місто, країна; 4) 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, поштову адресу, 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.

Згідно зі стандартами гуманного поводження з тваринами, в експериментальних працях треба зазначити вид і кількість використаних тварин, застосовані методи знеболювання й евтаназії.

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 дослідження, 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 закруглювати згідно з ustalеними 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. Для цього вони повинні бути виконані чорною тушшю на якісному білому папері розміром до піваркуша. Товщина ліній та розмір малюнка повинні дозволити їх зменшення у 2-3 рази. Якщо для створення малюнків використовують комп'ютер, то друкувати їх слід на лазерному чи струменевому принтері з високою якістю друку. Лінії не повинні бути тоншими за 0,25 мм. Слід уникати дрібної (частіше 1 мм) чи напівтонової штриховки на графіках. Бажаним, але не обов'язковим, є подання малюнків також у вигляді окремих файлів у будь-якому форматі, сумісному з графічними програмами CorelDraw, Adobe Photoshop. Фотографії повинні бути контрастні, їх слід виготовляти на глянсовому папері. Розмір та якість зображення повинні дозволити 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.

Формули. Хімічні та математичні формули повинні бути вдруковані на машинці або чітко вписані від руки чорним чорнилом. Потрібно розмітити великі літери (двома рисочками знизу) і малі (двома рисочками вгорі). 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, номер, сторінки (початкова і остання), на яких розміщено статтю. Не можна посилатись на неопубліковані матеріали.

Редакція залишає за собою право 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 повертає рукопис авторові для доопрацювання, не реєструючи його. За дату отримання статті вважається дата надходження остаточно опрацьованого автором варіанту рукопису.

*Адреса редакції: Україна, 254114, Київ-114, вул. Вишгородська, 69, Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка Редакція журналу "Ендокринологія"
факс: (044) 430-37-18 тел.: (044) 431-02-64*