

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

ЕНДОКРИНОЛОГІЯ

1997

Том 2, № 1

Науково-практичний журнал

Заснований у 1996 р.

Київ

© Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка, 1997

*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
головного редактора з експериментальної ендокринології),
НАТАРОВ В.В., ОЛІЙНИК В.А., РЕЗНІКОВ О.Г., РИБАКОВ С.О.,
ТОМАШЕВСЬКИЙ Я.І., ЧЕБОТАРЬОВ В.Ф.

Редакційна рада:

БЕЛІНСЬКИЙ В.П. (Запоріжжя), БОДНАР П.М. (Київ), БОЦЮРКО
В.І., (Івано-Франківськ), ВЕНДЗИЛОВИЧ Ю.М. (Львів),
ВОЙНІЛОВИЧ В.О. (Чернігів), ГОЛОВАЧ А.П. (Полтава),
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 12.05.97. Підп. до друку 26.05.97. Формат 70x108/16. Офсетний друк.
Ум.-друк. арк. 10,4. Тираж 250. Зам. № 9/97

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

ЗМІСТ

До 90-річчя з дня народження В.П. Комісаренка (1907-1993) Наукова спадщина і громадська діяльність академіка Комісаренка В.П. <i>М.Д.Тронько</i>	4
<u>Оригінальні дослідження</u>	
Аналіз зв'язку між опроміненням щитовидної залози внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС і частотою розвитку солідно-фолікулярного варіанту папілярної карциноми у дітей України <i>Т.І. Богданова, М.Д. Тронько, Б.Г. Соболев, І.А. Ліхтарьов, І.А. Кайро, М.І. Чепурний</i>	10
Результати вивчення перебігу захворювань щитовидної залози у осіб, що брали участь у ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС, через 5 - 7 років після опромінення <i>А.Ю. Романенко, О.М.Гридько</i>	17
Динаміка рівня сироваткового тиреоглобуліну у хворих з нетоксичним вузловим зобом під час консервативної супресивної терапії та після хірургічної операції <i>С. М. Черенько</i>	24
Динамічна реносцинтиграфія в діагностиці уражень нирок у хворих на цукровий діабет <i>М.І. Буглак, В.М. Славнов, В.В. Марков, Н.А. Скробонська, Р.О. Луковенко</i>	30
Клінічна оцінка ефективності препарату "Ербісол" при цукровому діабеті <i>П.М. Боднар, Н.І. Лопушенко</i>	35
Обмін нейромедіаторів у мозку мишей з експериментальним цукровим діабетом та при введенні імунокоректорів тимічної природи <i>В.Я. Кононенко, Т.М. Мишуніна, Л.М. Калинська, І.В. Зайченко, Л.І. Пількевич, М.І. Яцик, В.Ф. Чеботарьов, Н.М. Степура</i>	40
Функциональные звенья нервной системы при экспериментальном диабете: эффект пикамилаона <i>Т.М. Кучмеровская</i>	48
Фізико-хімічні та імунохімічні властивості контррецепторних і контрінсулінових факторів плазми крові <i>Ж.В.Іванова</i>	56
Модулюючий вплив імунної системи на глюкокортикоїдну активність кори надниркових залоз під час дії малих доз іонізуючого випромінювання <i>В.А.Шарафан, В.О. Малижєв, Л.А. Горчакова</i>	62
Клінічна оцінка віддалених наслідків черезкатетерної черезвенозної деструкції надниркових залоз (попереднє повідомлення) <i>А.М.Кваченюк</i>	68
Стан кісткової тканини, фосфорно-кальцієвого гомеостазу при дифузному токсичному зобі, гіпотиреозі та гіперкортицизмі <i>Г.М. Терехова, В.А. Олійник, В.В.Поворознюк</i>	73
<u>Огляди</u>	
Системи внутрішньоклітинного перенесення сигналу АКТГ та їх взаємодія <i>Ю.Ю. Саутін</i>	80
Роль порушення рецепції інсуліну в патофізіологічній гетерогенності цукрового діабету (огляд літератури та результати власних досліджень) <i>В.В. Корпачов, Н.М. Гуріна, Ю.В. Бездробний, Ж.В. Іванова</i>	92

Фізіологічні аспекти дії еритропоєтину і корекція анемії при діабетичній нефропатії (мініюгляд) 104

Н.О. Зуєва

Вільнорадикальні механізми пошкодження судинної стінки при цукровому діабеті (мініюгляд) 109

Л.Є. Бобирєва

Короткі повідомлення

Тривалі зміни стресреактивності катехоламінової системи гіпоталамуса і кори надниркових залоз у пренатально стресованих самок щурів 114

Н.Д. Носенко

Трофічний ефект пролактину в первинній культурі адренокортикальних клітин 117

Ю.Ю. Саутін

УДК 612.43/45:614.2.07(091)

НАУКОВА СПАДЩИНА І ГРОМАДСЬКА ДІЯЛЬНІСТЬ АКАДЕМІКА КОМІСАРЕНКА В.П.*

М.Д.Тронько

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

14 січня наукова і громадська спільнота України відзначила 90-річний ювілей видатного ендокринолога і організатора науки, творця української школи ендокринологів і засновника Інституту ендокринології та обміну речовин у Києві, Василя Павловича Комісаренка.

Василь Павлович Комісаренко був самородком і абсолютно незвичайною, яскравою особистістю. Отримавши освіту у Харківському медичному інституті, він став аспірантом інституту ендокринології у місті Харкові. У той період значний вплив на розвиток наукового світогляду Василя Павловича мав видатний учений академік Данилевський Василь Якович. Не вдовзі після захисту кандидатської дисертації Комісаренко В.П. очолив інститут, в якому працював. Постійна напружена праця і спілкування з відомими вченими, серед яких був тодішній президент АН УРСР академік Олександр Олександрович Богомолець, сприяли становленню його як ученого і громадського діяча. Будучи членом Вченої Ради інституту, О.О.Богомолець часто приїздив у Харків. У цей час і розпочалася творча співпраця Василя Павловича з Олександром Олександровичем.

Високо оцінюючи наукові та організаторські здібності В.П.Комісаренка, О.О.Богомолець запросив його працювати у новоствореному у Києві Інституті експериментальної біології і патології. Спільна праця з Олександром Олександровичем, його безпосередня участь у наукових дослідженнях зблизила цих людей. Василь Павлович завжди з великим теплом і вдячністю згадував академіка Богомольця, вважав його своїм духовним батьком. Він не раз говорив, що йому дуже поталанило, що і перші, і подальші кроки у науці він зробив під керівництвом таких чудових учителів.

Якщо із вершин сьогодення оглянутися на наукову спадщину академіка Комісаренка В.П., то впродовж усього його творчого життя яскраво вирізняється головний напрямок його наукових інтересів - механізм дії гормонів. Починаючи з першої наукової праці, темою якої було вивчення механізму дії гідролізатів різних тканин та інсуліну на вуглеводний обмін, ця проблема постійно залишається у центрі його уваги. Механізм дії гормонів В.П. Комісаренко уявляв на різних рівнях: цілісного організму, органів і систем, на клітинному і молекулярному рівнях.

У циклі досліджень, присвячених вивченню механізмів розвитку інсулінового шоку, В.П. Комісаренко переконливо довів, що спричинені великими дозами інсуліну судом і кома у тварин обумовлені як зменшенням споживання мозком цукру із крові, так і пригніченням окисно-відновних процесів у клітинах мозку. Вперше було встановлено, що інсуліновий шок

* За матеріалами доповіді на науковій конференції, присвяченій 90-річчю від дня народження академіка Комісаренка В.П. (Київ, 14 січня 1997 р.).

настає внаслідок прямої дії інсуліну на ЦНС, а характер зниження кров'яного тиску після введення великих доз інсуліну не проявляє помітної залежності від вмісту цукру у крові. Основні результати цієї роботи знайшли відтворення в опублікованій у 1943 р. монографії "Про патогенез інсулінового шоку".

Праця В.П. Комісаренка, присвячена вивченню механізму дії інсуліну, у 1965-75 рр. у нашому інституті була продовжена дослідженнями на субклітинному і молекулярному рівнях. Було встановлено, що інсулін стимулює перетворення глюкози на рибозний компонент нуклеотидів, інтенсифікує біосинтез не тільки ядерних, але й мітохондріальних, рибосомальних і транспортних РНК, активізує синтез цитоплазматичних білків на стадії рекогніції. Вивчення молекулярних механізмів дії інсуліну, глюкокортикоїдів і тиреоїдних гормонів засвідчило, що експресія мітохондріальних генів перебуває під мультигормональним контролем.

Велика Вітчизняна війна перервала наукові плани вченого, але після звільнення Києва В.П. Комісаренко з приманною йому енергією включився у відновлення Інституту експериментальної біології та патології (у подальшому - Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця АН УРСР) і керованої ним лабораторії ендокринології. Керівником цієї лабораторії він залишався впродовж 25 років. Поновлюються експериментальні дослідження і одним з важливих напрямків роботи лабораторії стає вивчення механізму дії гормонів надниркових залоз - кортикостероїдів. Численні цікаві матеріали з цього питання дозволили організувати у 1957 р. у Києві першу Все-союзну наукову конференцію з механізму дії гормонів.

У той час уже багато було відомо про регуляторну роль ЦНС в діяльності залоз внутрішньої секреції, тоді як вплив гормонів на головний мозок майже не вивчався. У лабораторії, керованій В.П. Комісаренком, вирішили зайнятися цією проблемою. Вивчали функціональні та нейрохімічні зміни, що виникають у окремих структурах мозку при введенні в організм гормонів - інсуліну, адреналіну, тироксину, стероїдних гормонів. Пізніше, уже в нашому інституті, були досліджені деякі нейрохімічні механізми дії гормонів на окремі структури мозку, обґрунтовано доцільність застосування низки фармакологічних препаратів, що скеровано впливають на функції ендокринних залоз через центральні ланки їх регуляції. Встановлені і ретельно вивчені біохімічні механізми участі у нейрогормональних реакціях нейропептидів опіоїдної дії і ренін-ангіотензинової системи.

Широкого розвитку набули дослідження механізму дії гормонів у створеному В.П. Комісаренком Київському НДІ ендокринології та обміну речовин. Будучи директором цього інституту, він керував і відділом патофізіології ендокринної системи, співробітники якого вивчали питання регуляції функції кори надниркових залоз і фізіологічні ефекти кортикостероїдів.

Опрацювання фундаментальних питань обміну кортикостероїдів дозволило встановити роль метаболічних реакцій у підтриманні адекватного рівня гормонів у крові і на рівні клітин. Доведено, що деякі метаболіти гормонів можуть грати іншу роль у регуляції метаболізму, ніж вихідні сполуки. Надзвичайно цікаві дослідження адаптивних і патогенетичних порушень обміну кортикостероїдів при ендокринній патології.

Дослідження впливу гормонів на функцію та метаболізм міокарда, вільний та системний кровообіг допомогли розшифрувати нейрогормональні механізми взаємодії катехоламінів, інсуліну, вазопресину і глюкогону у регуляції вільного кровообігу, функції та метаболізму міокарда. Розроблена і експериментально аргументована важлива з науково-практичної точки зору концепція, відповідно до якої взаємодія інсуліну та контрінсулінових гормонів відіграє ключову роль у переустановці рівнів нейрогормональної та метаболічної регуляції кровопостачання, метаболізму і функції міокарда і патогенезі серцево-судинних уражень при цукровому діабеті. Отримано нові дані про механізми пошкоджуючої дії гіперглікемії та гіперліпідемії на серце та судини.

Вивчення проявів і механізмів гормональної регуляції розвитку мозку стало одним з головних наукових напрямків роботи Інституту. В.П. Комісаренко і його співробітники успішно вивчали і вивчають у експерименті процеси статевої диференціації мозку і зміни стрес-реактивності, що виникають у нащадків тварин, які піддавались стресу під час вагітності. Була запропонована нейрохімічна теорія гормонального імпринтингу нейроендокринних систем репродукції і гормональної адаптації.

Поряд із вивченням механізму дії гормонів у Інституті проводилися дослідження, спрямовані на розкриття взаємозв'язків між різними ендокринними залозами у нормі і за патології. Зокрема, вивчалися взаємовідносини між соматотропною функцією аденогіпофіза та щитовидною залозою. Встановлено, що соматотропна функція аденогіпофіза знижується як при гіпо-, так і при гіпертиреозі, але механізми цього зниження різні.

Одним із питань, яким дуже цікавився Василь Павлович, було вивчення ролі ендокринної системи у регуляції кровотворення та імунітету. Ще у лабораторії ендокринології Інституту фізіології АН УРСР ім. О.О. Богомольця був детально вивчений вплив жіночих статевих гормонів, зокрема їх синтетичного аналогу синестролу, а також гормонів кори надниркових залоз на морфологічний склад та імунологічні показники крові у різних експериментальних тварин.

У сімдесяті роки вважалося, що імунна система є відокремленою і що її функціонування забезпечується наявністю автономних регуляторних механізмів. Майже нічого не було відомо про взаємозв'язок імунної та ендокринної систем. Однак завдяки науковій інтуїції Василя Павловича в Інституті були розпочаті дослідження гормональних механізмів імуногенезу. Цей напрям - функціональний зв'язок ендокринної та імунної систем - в останні роки надзвичайно інтенсивно розвивається і в нашому Інституті, і в усьому світі.

Досліджена функція загрудинної залози і розроблені способи її реабілітації за недостатності функції надниркових залоз, при цукровому діабеті і деяких порушеннях функції щитовидної залози. Встановлено, що загрудинна і надниркові залози спільно контролюють стан стовбурних клітин кісткового мозку. Сформовані концепції розвитку імунологічних реакцій після адреналектомії і видалення загрудинної залози. Вивчений спектр біологічної активності препаратів загрудинної залози і доведена перспективність їх комплексного використання з метою підвищення імунореабілітуючого ефекту.

Василя Павловича дуже давно приваблювала можливість використання культури клітин ендокринних залоз для розв'язання деяких експериментальних і клінічних проблем. І у відділі патофізіології вперше у нашій країні було виконано роботу, яка обґрунтувала таку можливість. Подальший розвиток цих ідей дозволив відпрацювати методики виділення та культивування клітин майже всіх ендокринних залоз, вивчити біологічні властивості цих культур. Доведено, що вони здатні продукувати специфічні гормони і адекватно реагують на тропні гормони гіпофіза. Відібрані імунологічні тести для оптимального підбору реципієнтів при трансплантації ендокринних тканин, відпрацьовані методи подовження строку функціонування трансплантату. Протягом останнього десятиріччя у клінічних відділеннях розвивається новий напрям лікування недостатності ендокринних залоз за допомогою трансплантації культур цих залоз. Накопичений значний досвід лікування такої категорії хворих пересадками культур клітин острівців підшлункової залози, кори надниркових залоз, прищитовидної і щитовидної залоз.

Дві центральні проблеми, якими Василь Павлович цікавився протягом усього життя - механізм дії гормонів і взаємозв'язок імунної та ендокринної систем, - активно опрацьовувалися також дослідниками-клініцистами. У клініці Інституту вивчення механізму дії гормонів трансформувалося у вивчення ролі гормонів у патогенезі, клінічних проявах, перебігу і розвитку ускладнень основних ендокринних хвороб. Активно вивчається стан імунітету при ендокринній патології, роль аутоімунних процесів у патогенезі ендокринних захворювань. У хворих на інсулінозалежний цукровий діабет виявлено характерні зміни субмікроскопічної організації нейтрофілів периферичної крові і порушення окремих ланок клітинного та природного імунітету - зміни складу субпопуляції Т-клітин, а також їх ультраструктури. Засвідчений вплив інсулінотерапії на ці показники. Розроблений комплекс функціональних досліджень показників імуногенезу, що дозволяє об'єктивно оцінити тяжкість вторинного імунodefіциту при ендокринних захворюваннях. Експериментально обґрунтована необхідність застосування імунотерапії при ендокринній патології аутоімунного походження.

Займаючись експериментальними дослідженнями, В.П. Комісаренко ніколи не забував про основне покликання лікаря - позбавляти людей страждань, дарувати їм здоров'я. Ось чому велику увагу в його творчій праці займає ще одна проблема - створення лікарських препаратів. Ще у харківський період роботи В.П. Комісаренко брав участь у створенні і випуску різних лікарських препаратів. Саме у Харкові, за участю науковців інституту ендокринології, вперше у нашій країні було налагоджено виробництво інсуліну.

У лабораторії ендокринних функцій Інституту фізіології АН УРСР ім.О.О. Богомольця поруч із вивченням механізму дії гормонів він працює над отриманням біологічно активних сполук із надниркових залоз і селезінки. Ї його наполегливість, одержимість увінчались успіхом. Із надниркових залоз було виділено препарат кортикотонін, який тонізував серцево-судинну систему і тривало підвищував кров'яний тиск, особливо, коли його застосовували при гіпотензії. Кортикотонін рекомендували при шоківих станах, а також при гіпотензії, обумовленій гіпофункцією надниркових залоз. Експериментальні та клінічні дослідження дії кортикотоніну

були узагальнені у монографії “Гормоны коры надпочечников и их роль в физиологических и патологических процессах организма” (1956).

У 1945 р. під керівництвом В.П. Комісаренка із селезінки великої рогатої худоби був виділений біологічно активний гормональний екстракт, який у подальшому отримав назву “Спленін”. Експериментальне і клінічне вивчення фізіологічних і лікувальних властивостей спленіну засвідчило його високу біологічну активність і лікувальну ефективність. З 1957 р. почалися промислове виробництво спленіну і широке застосування у медичній практиці.

Однією із фізіологічних властивостей спленіну є його здатність підвищувати знешкоджуючу функцію організму, особливо печінки. Тому він є ефективним засобом лікування токсикозу ранніх строків вагітності. Завдяки детоксикаційним властивостям спленін виявився ефективним симптоматичним засобом для полегшення страждань у інооперабельних онкологічних хворих, хворих на променеву хворобу і при багатьох інших станах, які супроводжуються аутоінтоксикацією. Результати експериментальних і клінічних досліджень спленіну увійшли у монографію “Спленин” (1961), удостоєну у 1963 р. премії ім.О.О. Богомольця. Але і після цього спленін був об’єктом досліджень як самого Василя Павловича, так і багатьох його учнів. І в наш час, через 40 років, інтерес до цього препарату не згасає. Спленін застосовують для лікування понад 20 захворювань. Зараз його випускає фармацевтична фірма “Дарниця”, з керівництвом якої ведуться переговори про впровадження нової удосконаленої екологічно безпечної технології виробництва препарату.

В Інституті ендокринології та обміну речовин виняткова увага приділялася створенню нових лікарських препаратів. Одним із основних напрямків роботи у цьому плані був очолюваний В.П. Комісаренком пошук речовин, здатних цілеспрямовано гальмувати гормонотворення в ендокринних залозах.

Василь Павлович очолив велику комплексну роботу з дослідження блокторів функції надниркових залоз. До цієї роботи були залучені експериментальні лабораторії інституту і відділення клініки. Найбільш активний інгібітор біосинтезу кортикостероїдів - о,п'-ДДД (“Хлодитан”). Детально вивчені в експерименті зміни секреції кортикостероїдів у базальних і активованих умовах. Встановлено, що основною внутрішньоклітинною мішенню дії хлодитану є мітохондріальні мембрани та інші мембранні структури адренкортикоцитів. Засвідчені зміна активності низки стероїдогенних ферментів і порушення фундаментальних біохімічних реакцій при дії хлодитану. Інститут, безумовно, займає провідне положення серед дослідницьких колективів світу, що займаються проблемою молекулярних механізмів дії цього препарату.

Хлодитан широко застосовують для лікування хвороби Іценко-Кушінга, раку кори надниркових залоз, а також для створення моделі гіпокортицизму в експерименті. За цю роботу В.П.Комісаренко із групою співробітників інституту у 1976 р. був удостоєний Державної премії УРСР.

Однак започаткована Василем Павловичем традиція - результати експериментальних досліджень впроваджувати у практичну медицину у вигляді лікарських препаратів - в Інституті продовжується його учнями і співробітниками. Другим препаратом, синтезованим в Інституті, був нестероїд-

ний антиандроген “Ніфтолід”. Ніфтолід також впроваджується у медичну практику для лікування раку передміхурової залози, гірсутизму і діагностики функціонального стану гіпоталамо-гіпофізарно-тестикулярної системи.

Створений разом із хіміками новий вітчизняний ангіопротектор “Ізодибут” є високоефективним засобом лікування діабетичної ангіопатії, нейропатії, катаракти.

Із загрудинної залози великої рогатої худоби співробітниками Інституту був отриманий імуномодулятор “Вілозен”. Вивчено його біологічні властивості. Доведено, що на основі його двох складових частин - непептидного та олігопептидного чинників, у перспективі є можливість створити нові лікарські препарати. Вілозен запропоновано для запобігання алергічним захворюванням.

У останні роки в Інституті розроблено нові способи отримання тиреоїдних гормонів, зокрема L-тироксину та трийодтироніну.

Величезна ерудиція і працездатність допомогли В.П.Комісаренку опублікувати 10 книг, понад 300 статей. Він виховав 25 докторів і 45 кандидатів наук. Багато з його робіт перекладені і видані за кордоном. Про авторитет і широке визнання В.П. Комісаренка свідчить обрання його головою Наукового медичного товариства ендокринологів, членом правління Товариств фізіологів, патофізіологів, геронтологів, членом редколегій вітчизняних і закордонних журналів.

Тривалий час працюючи у товаристві “Знання”, В.П. Комісаренко щедро ділився своїми знаннями та ідеями. Великий вклад вніс він у збереження миру на Землі, у налагодженні тісних контактів учених і громадських діячів різних країн. Його праця відзначена багатьма орденами і медалями, Державною премією УРСР, премією ім.О.О. Богомольця, медаллю ім.С.І. Вавілова. Яскрава, неповторна особистість В.П. Комісаренка, талант людського спілкування, сердечність, притягували до нього всіх, з ким йому доводилося працювати або просто зустрічатися. Розмова з ним про майбутнє ендокринології заворожувала, відчувалося, що маєш справу з великою людиною, для якої науковий пошук є головним сенсом життя.

УДК 616.441-006.04-091.8:614.876

АНАЛІЗ ЗВ'ЯЗКУ МІЖ ОПРОМІНЕННЯМ ШИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ ВНАСЛІДОК АВАРІЇ НА ЧОРНОБИЛЬСЬКІЙ АЕС І ЧАСТОТОЮ РОЗВИТКУ СОЛІДНО-ФОЛІКУЛЯРНОГО ВАРІАНТУ ПАПІЛЯРНОЇ КАРЦИНОМИ У ДІТЕЙ УКРАЇНИ

Т.І.Богданова, М.Д.Тронько, Б.Г.Соболев, І.А.Ліхтарьов*, І.А.Кайро*, М.І.Чепурний**

*Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка АМН України, 254114 Київ; *Науковий центр радіаційної медицини АМН України, 252050 Київ*

Встановлено вірогідне зростання захворюваності у дітей, починаючи з 1990 р. Виділено найбільш специфічний для післячорнобильських форм раку у дітей і підлітків солідно-фолікулярний підтип папілярної карциноми, який характеризується широкими інвазивними властивостями. Зафіксовано збільшення відносного ризику стосовно розвитку вказаного варіанту папілярної карциноми у дітей України залежно від отриманої дози опромінення щитовидної залози внаслідок аварії на ЧАЕС. Це підтверджує припущення про радіаційну природу названих пухлин.

Ключові слова: рак щитовидної залози, діти, аварія на ЧАЕС, реєстр, морфологія, солідно-фолікулярний варіант папілярної карциноми, доза опромінення, відносний ризик.

Нашими попередніми дослідженнями доведено, що в Україні після аварії на Чорнобильській АЕС протягом 1990-1995 рр. спостерігається вірогідне зростання частоти раку щитовидної залози у дітей віком до 15 років [1-4].

Детальне вивчення морфологічних характеристик папілярної карциноми у дітей дозволило встановити, що після аварії на ЧАЕС найбільш поширеним є солідно-фолікулярний тип будови пухлини. За нашими даними, папілярним карциномам солідно-фолікулярної будови притаманні ознаки виразної інвазії до лімфатичних та кровоносних судин, розповсюдження по залозі та за її межі, часте метастазування у лімфатичні вузли ший, що обумовлює агресивний характер їхньої біологічної поведінки [5-7].

Проведене порівняльне дослідження частоти папілярної карциноми у дітей України та Великобританії засвідчило, що частка папілярних карцином солідно-фолікулярної будови у дітей України у 2,2 рази перевищувала таку у дітей Великобританії. Ми припустили, що можливою причиною збільшення частоти розвитку пухлин подібної будови в українських дітей є радіаційне опромінення внаслідок аварії на ЧАЕС. Звідси випливає, що солідно-фолікулярний варіант, який об'єднує пухлини солідної, фолікулярної та мішаної будови (з рівноцінними ділянками солідного та фолікулярного росту), може бути виділений як окремий підтип папілярної карциноми, найбільш характерний для післячорнобильських форм тиреоїдного раку у дітей [8-10].

Наведені дані дали нам підставу сформулювати гіпотезу про наявність зв'язку між опроміненням щитовидної залози внаслідок аварії на ЧАЕС та

частотою розвитку солідно-фолікулярного варіанту папілярної карциноми у дитячого населення України.

Матеріал і методи дослідження

Із створеного в Інституті ендокринології та обміну речовин АМН України Реєстру раку щитовидної залози [1,2,6] виділено випадки раку щитовидної залози у дітей віком до 15 років на час операції, які були детально вивчені морфологічно безпосередньо нами. Досліджували пухлини, що були видалені у дітей з різних регіонів України впродовж 1990-1995 рр., тобто в період вірогідного зростання захворюваності.

Рівень опромінення щитовидної залози визначали за середньою дозою опромінення залози радіоїодом для відповідної вікової групи того населеного пункту, де хвора дитина мешкала на момент аварії. Оцінювали дози за результатами дозиметричної паспортизації всіх населених пунктів з семи областей України, які найбільше постраждали в "йодний" період аварії: Київська разом з містом Київ, Житомирська, Чернігівська, Черкаська, Рівненська, Вінницька та Волинська. Паспортизацію було проведено у відділі дозиметрії та радіаційної гігієни Наукового центру радіаційної медицини АМН України (НЦРМ) під керівництвом проф. І.А.Ліхтарьова [11].

Для деяких районів, які розташовані поблизу епіцентру аварії, середні дози опромінення щитовидної залози дітей було розраховано для кожного населеного пункту за даними прямих інструментальних вимірів активності щитовидної залози у травні-червні 1986 р.

Середні дози для інших населених пунктів зазначених областей було ретроспективно відновлено шляхом екстраполяції емпірично встановлених залежностей між рівнем забруднення ґрунту ^{137}Cs , локалізацією населеного пункту відносно Чорнобильської атомної станції та активностями щитовидної залози, які було визначено у населення на територіях, де проводився тиреодозиметричний контроль [11].

Оцінку рівнів опромінення щитовидної залози у дітей з областей, у яких дозиметричну паспортизацію не проводили, було отримано за непрямою інформацією про рівні забруднення регіону радіонуклідами Чорнобильської АЕС, відстань до неї та рівні доз опромінення щитовидної залози у прилеглих країнах [3].

Гіпотезу про існування зв'язку між рівнем опромінення щитовидної залози та формою раку у дітей після аварії на ЧАЕС ми перевірили за допомогою відповідних статистичних методів з використанням такого показника відносного ризику, як odds ratio [12].

Результати та їх обговорення

Насамперед, для попередньої перевірки висунутої гіпотези ми з'ясували, чи збільшується частота вищеописаного солідно-фолікулярного варіанту папілярної карциноми у дітей з опроміненою внаслідок аварії на ЧАЕС щитовидною залозою порівняно з пухлинами іншої морфологічної будови (типовий чи дифузно-склерозуючий варіант папілярної карциноми, мікрокарцинома, фолікулярна, медулярна карциноми). При цьому залозу вважали опроміненою, якщо рівень опромінення дорівнював 0,05 Гр або перевищував цю цифру (табл. 1).

Таблиця 1. Зв'язок між опроміненням щитовидної залози та солідно-фолікулярним варіантом папілярної карциноми у дітей

Гістологічна характеристика пухлини	Доза опромінення, Гр	
	< 0,05 Гр	≥ 0,05 Гр
Солідно-фолікулярний варіант папілярної карциноми	22	98
Інші форми	21	27
Разом	43	125
Відносний ризик (odds ratio)		3,46
95% довірчий інтервал		1,66 - 7,22

Наведений у табл. 1 показник приблизної оцінки відносного ризику, коли всі дані, що стосуються опромінених, об'єднані в одну групу, чітко свідчить про правомірність висунутої гіпотези. Відносний ризик розвитку солідно-фолікулярного варіанту папілярної карциноми у дітей, які отримали дозу опромінення щитовидної залози більше ніж 0,05 Гр у 3,5 рази вищий, ніж у дітей з неопроміненою внаслідок аварії на ЧАЕС щитовидною залозою (рівень опромінення < 0,05 Гр).

Ми намагалися встановити, чи є залежність між розвитком солідно-фолікулярного варіанту папілярної карциноми та ступенем опромінення щитовидної залози. Для цього окремо проводили аналіз кількості випадків солідно-фолікулярного варіанту папілярної карциноми та пухлин будь-якої іншої морфологічної будови для трьох рівнів опромінення, які перевищували 0,05 Гр: 0,05 - 0,19, 0,2 - 0,9 та ≥ 1 Гр. Як і досі, випадки, що виникли у дітей, які були опромінені дозою на щитовидну залозу меншою ніж 0,05 Гр зараховували до групи неопромінених.

У табл. 2 наведено отримані точечні оцінки відносного ризику для кожного із вказаних рівнів опромінення.

Таблиця 2. Зв'язок між опроміненням щитовидної залози та солідно-фолікулярним варіантом папілярної карциноми у дітей з урахуванням рівнів опромінення

Гістологічна характеристика пухлини	Доза опромінення, Гр			
	< 0,05	0,05-	0,2-	1,0-
Солідно-фолікулярний варіант папілярної карциноми	22	39	38	21
Інші форми	21	17	7	3
Разом	43	56	45	24
-Відносний ризик для кожного рівня опромінення		2,19	5,18	6,68
95% довірчий інтервал		0,96-5,00	1,90-14,13	1,73-25,75

З наведених даних очевидно, що частка солідно-фолікулярного варіанту папілярної карциноми збільшується із збільшенням дози опромінення щитовидної залози. Так, у дітей, які мешкають у непостраждалих унаслідок аварії регіонах, зазначений варіант пухлини визначається у $51,1 \pm 7,6\%$ випадків. У мешканців територій, де середня доза опромінення щитовидної залози варіювала від 0,05 до 0,2 Гр, цей варіант визначали у $69,6 \pm 6,1\%$ ($p > 0,05$ порівняно з дозовим рівнем < 0,05 Гр), від 0,2 до 1,0 Гр - у $84,4 \pm 5,4\%$ ($p < 0,05$ порівняно з рівнем < 0,05 Гр) та від 1,0 Гр та вище - у $87,5 \pm 6,7\%$ випадків ($p < 0,05$ порівняно з неопроміненою групою).

Точечні оцінки відносного ризику також засвідчили, що збільшення дози опромінення щитовидної залози дітей у зазначених межах підвищує відносний ризик розвитку папілярної карциноми щитовидної залози описаної будови відповідно у 2,2, 5,2 і 6,7 разів.

Сукупна для усіх дозових рівнів оцінка відносного ризику, яка уточнює наведену у табл.1 приблизну оцінку, розрахована за методом Мантеля-Ханзеля [13] з урахуванням внеску кожного рівня опромінення, і складає 3,67 (95% довірчий інтервал дорівнює 2,09-6,46).

У наших попередніх дослідженнях морфологічних особливостей різних варіантів папілярної карциноми [5, 7] ми звертали увагу на пухлини солідного та дифузно-склерозуючого варіантів, які, за даними літератури, мають більш агресивний перебіг [14-19]. Причому останній варіант деякі автори пов'язують безпосередньо з попереднім радіаційним опроміненням [14].

Тому ми провели додатковий аналогічний аналіз можливого взаємозв'язку між розвитком чисто солідного варіанту папілярної карциноми у дітей після аварії на ЧАЕС та дозою опромінення щитовидної залози. Для цього з числа пухлин об'єднаного солідно-фолікулярного варіанту ми вилучили випадки чисто солідного варіанту папілярної карциноми, а пухлини фолікулярної та мішаної будови зарахували до групи "Інші форми" (табл.3,4).

З наведених у табл.3 даних очевидно, що залежність між опроміненням щитовидної залози та розвитком солідного варіанту папілярної карциноми також існує, але відносний ризик дещо нижчий, ніж для об'єднаного солідно-фолікулярного варіанту.

Зберігається також і наростання частоти солідного варіанту папілярної карциноми із збільшенням дози опромінення щитовидної залози (табл.4). При цьому у дітей, які мешкають у незабруднених унаслідок аварії регіонах, чисто солідний варіант пухлини спостерігається у 2,7 рази рідше,

Таблиця 3. Зв'язок між опроміненням щитовидної залози та солідним варіантом папілярної карциноми у дітей

Гістологічна характеристика пухлини	Доза опромінення, Гр	
	< 0,05	≥ 0,05
Солідний варіант папілярної карциноми	8	49
Інші форми	35	76
Разом	43	125
Відносний ризик (odds ratio)	2,82	
95% довірчий інтервал	1,21 - 6,59	

Таблиця 4. Зв'язок між опроміненням щитовидної залози та солідним варіантом папілярної карциноми у дітей з урахуванням рівня опромінення

Гістологічна характеристика пухлини	Доза опромінення, Гр			
	< 0,05	0,05-	0,2-	1,0
Солідний варіант папілярної карциноми	8	18	19	12
Інші форми	35	38	26	12
Разом	43	56	45	24
Відносний ризик для кожного рівня опромінення	2,07			
95% довірчий інтервал	0,80-5,36			
	1,21-8,44		1,44-13,28	

ніж солідно-фолікулярний ($18,6 \pm 5,9\%$, $p < 0,05$). З підвищенням дози опромінення відсоток випадків солідного варіанту поступово збільшується у 1,7 ($32,1 \pm 6,2\%$, відмінність порівняно з непроміненою групою невірогідна, $p > 0,05$), у 2,3 ($42,2 \pm 7,4\%$, $p < 0,05$) і в 2,7 разів ($50 \pm 10,2\%$, $p < 0,05$ в порівнянні з неопроміненою групою).

Величина відносного ризику розвитку даного варіанту пухлини із збільшенням рівня опромінення наростає досить чітко, хоч і менш виразно порівняно із об'єднаним солідно-фолікулярним варіантом. Останнє можна пояснити тим, що солідний варіант пухлини спостерігається рідше, ніж солідно-фолікулярний як у неопромінених, так і у опромінених дітей.

Уточнена порівняно з наведеною у табл.3, узагальнена оцінка відносного ризику для всіх дозових рівнів, розрахована з урахуванням дисперсії точечних оцінок відносного ризику кожного рівня опромінення, складає 2,94 (95% довірчий інтервал дорівнює 1,65 - 5,25).

Дифузно-склерозуючий варіант папілярної карциноми виявлено лише у 11 випадках, з них 2 (18,2%) - у дітей з неопроміненою щитовидною залозою (доза $< 0,05$ Гр), інші (81,8%) - у дітей, що отримали дозу опромінення в діапазоні 0,05 - 1 Гр. Унаслідок нечисельності вибірки аналізувати ці результати не вважаємо за можливе. Слід лише зазначити, що відсоток випадків дифузно-склерозуючого варіанту в українській серії практично не відрізнявся від такого у "контрольній", британській серії [8-10].

Таким чином, проведений аналіз підтвердив доцільність виділення у дітей об'єднаного солідно-фолікулярного варіанту папілярної карциноми як головного підтипу папілярного раку, пов'язаного з попереднім опроміненням унаслідок аварії на ЧАЕС. У такому ж самому зв'язку доцільно розглядати і додатково відокремлений суто солідний варіант папілярної карциноми. Встановлене поступове наростання відносного ризику стосовно розвитку пухлин наведеної морфологічної будови у міру зростання дози опромінення щитовидної залози свідчить про їхнє радіаційне походження і дозволяє висловити припущення про пряму залежність між дозою опромінення і подальшим ефектом у вигляді розвитку папілярних карцином описаної будови. Однак для остаточних висновків потрібні тривалі дослідження з проведенням порівняльного аналізу у різних вікових групах.

Висновок

Встановлено наростання відносного ризику стосовно розвитку солідно-фолікулярного варіанту папілярної карциноми (та вилученого з нього суто солідного варіанту) у дітей України у міру зростання дози опромінення щитовидної залози внаслідок аварії на ЧАЕС. Це свідчить про радіаційну природу таких пухлин і дозволяє висловити припущення про пряму залежність між дозою опромінення щитовидної залози у дітей та імовірністю розвитку тиреоїдних карцином певної морфологічної будови.

Література

1. Tronko N., Epstein Ye., Oleinik V. et al. Thyroid gland in children after Chernobyl accident (yesterday and today): Nagasaki Symposium on Chernobyl: Update and Future (Ed. Sh. Nagasaki) // Excerpta Medica. Intern. Congress Series 1074. Amsterdam: Elsevier, 1994, 31-46.

2. Tronko N.D., Bogdanova T., Bolshova E. et al. Thyroid cancer in children and adolescents in Ukraine after the Chernobyl accident (1986-1995)// The radiological consequences of the Chernobyl accident (1st International conference, Minsk,Belarus: 18-22.03.1996). ECSC-EC-EAEC, Brussels-Luxemburg, 1996, 683-690.
3. Likhtarev I.A., Sobolev B.G., Kairo I.A. et al. Thyroid cancer in the Ukraine// *Nature*. 1995, 375, p. 365.
4. Sobolev B., Likhtarev I., Kairo I. et al. Radiation risk assessment of the thyroid cancer in Ukrainian children exposed due to Chernobyl// The radiological consequences of the Chernobyl accident (1st International conference, Minsk,Belarus: 18-22.03.1996). ECSC-EC-EAEC, Brussels-Luxemburg, 1996, 741-748.
5. Bogdanova T.I. Pathomorphologic Characteristics of Malignant Thyroid Tumors in Children// Treatment of Thyroid Cancer in Childhood (Ed. J.Robbins). Proceedings of workshop held September 10-11, 1992. Bethesda: National Institutes of Health, 1994, 51-59.
6. Bogdanova T.I., Tronko N.D. The dynamics of thyroid cancer in children in Ukraine after the Chernobyl Accident// 2d World Congress & Exposition "Child Heals 2000" (Vancouver,Canada, May 30 - June 3, 1995). Abstracts of presentations and posters. Vancouver, 1995, p. 29.
7. Bogdanova T., Kozyrisky V., Tronko N. et al. Comparative light- and electronmicroscopic characteristics of thyroid carcinoma in children and adolescents in Ukraine following the Chernobyl accident// The radiological consequences of the Chernobyl accident (1st International conference, Minsk,Belarus: 18-22.03.1996). ECSC-EC-EAEC, Brussels-Luxemburg, 1996a, 803-806.
8. Bogdanova T., Bragarnik M., Tronko N.D. et al. Thyroid cancer in the Ukraine post Chernobyl// In: 11th International Thyroid Congress (10-15.09.1995). 1995, Toronto, p. 36.
9. Bogdanova T., Bragarnik M., Tronko N.D. et al. The pathology of thyroid cancer in Ukraine post Chernobyl// The radiological consequences of the Chernobyl accident (1st International conference, Minsk,Belarus: 18-22.03.1996). ECSC-EC-EAEC, Brussels-Luxemburg, 1996b, 785-790.
10. Williams E.D., Cherstvoy E.D., Egloff B. et al. Interaction of pathology and molecular characterisation of thyroid cancers// The radiological consequences of the Chernobyl accident (1st International conference, Minsk,Belarus: 18-22.03.1996). ECSC-EC-EAEC, Brussels-Luxemburg, 1996, 699-714.
11. Likhtarev I., Sobolev B., Kairo I. et al. Results of large scale thyroid dose reconstruction in Ukraine // The radiological consequences of the Chernobyl accident (1st International conference, Minsk,Belarus: 18-22.03.1996). ECSC-EC-EAEC, Brussels-Luxemburg, 1996, 1021-1034.
12. Rothman K.J. Modern epidemiology.- Bjston/Toronto: Ed. by Little, Brown and Company, 1986. 358 p.
13. Mantel N., Haenszel W. Statistical aspects of the analysis of date from retrospective studies of disease //J. Nat. Cancer Inst. 1959, 22, 719-748.
14. LiVolsy V.A. Surgical Pathology of Thyroid.- Philadelphia: Saunders, 1990. 422 p.
15. Murray D. The thyroid gland// Functional endocrine pathology (Ed. K.Kovacs, S.L.Asa). Boston: Blackwell Scientific Publication, 1991, 293-375.
16. Rosai J., Cargangiu M.L., Dellelis R.A. Tumors of the Thyroid Gland. Washington, D.C: Armed Forces Institute of Pathology, 1992. 343 p.
17. Harach H.R., Williams E.D. Pathology of Thyroid Cancer// Diseases of the Thyroid (Ed. M.H.Wheeier, J.H.Lazarus). London: Chapman & Hall, 1994, 343-366.
18. Harach H.R. and Williams E.D. Childhood thyroid cancer in England and Wales// *Brit. J. Cancer*. 1995, 72, 777-783.
19. Mizukami Y., Michigishi T., Nonomura A. et al. Thyroid carcinoma: clinical, pathologic correlation// *Clinical Rewiews in Oncology/Hematology*. 1995, 18, 67-102.

Анализ связи между облучением щитовидной железы вследствие аварии на Чернобыльской АЭС и частотой развития солидно-фолликулярного варианта папиллярной карциномы у детей Украины

Т.И. Богданова, Н.Д.Тронько, Б.Г.Соболев*, И.А.Лихтарев*, И.А.Кайро*, Н.И.Чепурной*
Институт эндокринологии и обмена веществ им.В.П.Комиссаренко АМН Украины, 254114 Киев;
**Научный центр радиационной медицины АМН Украины, 252050 Киев*

Установлен достоверный рост заболеваемости раком щитовидной железы у детей Украины, начиная с 1990 года. Выделен солидно-фолликулярный подтип папиллярной карциномы как наиболее специфичный для послечернобыльских форм рака у детей, который характеризуется широкими инвазивными свойствами, что обуславливает агрессивное биологическое поведение таких опухолей с высокой частотой регионарных метастазов. Установлено нарастание относительного риска развития указанного варианта папиллярной карциномы у детей Украины в зависимости от полученной дозы облучения щитовидной железы вследствие аварии на ЧАЭС, что подтверждает радиационную природу изученных опухолей.

Analysis of the connection between radiation exposure of the thyroid gland as a result of the Chernobyl accident and frequency of development of the solid-follicular variant of papillary carcinoma in children of Ukraine

T.Bogdanova, N.Tronko, B.Sobolev*, I.Likhtarev*, I.Kairo*, N.Chepurnoy*
*V.P.Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS, 254114 Kyiv, Ukraine; *Research Centre for Radiation Medicine of AMS, 252050 Kyiv, Ukraine*

A significant increase in the thyroid cancer incidence in children has been observed since 1990. A solid-follicular variant of papillary carcinoma was identified as the most specific for post-Chernobyl cancers in children. These tumours are characterised by highly invasive properties, which cause their aggressive biological behaviour with high incidence of regional metastases. An increase in relative risk (odds ratio) of the development of this variant of papillary carcinoma in children has been revealed, this depending upon the thyroid radiation dose during the Chernobyl accident, which proves the radiation genesis of the tumours studied.

УДК 616.44-073.916+614.876(477)

РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАНЬ ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ У ОСІБ, ЩО БРАЛИ УЧАСТЬ У ЛІКВІДАЦІЇ НАСЛІДКІВ АВАРІЇ НА ЧОРНОБИЛЬСЬКІЙ АЕС, ЧЕРЕЗ 5 - 7 РОКІВ ПІСЛЯ ОПРОМІНЕННЯ

А.Ю.Романенко, О.М.Гридько

Науковий центр радіаційної медицини АМН України, 252054 Київ

Проаналізовано результати клініко-лабораторного обстеження 2917 пацієнтів, що були госпіталізовані в клініку НЦРМ АМН України в 1990 - 1993 рр. Серед обстежених було 2561 чоловіків (2146 учасників ЛНА в "йодний" період і 415 - в "нейодний" період опромінення) та 356 жінок (283 учасниць ЛНА в "йодний" період і 73 - в "нейодний" період опромінення) віком від 19 до 68 років.

Результати досліджень, проведених з урахуванням статі та дози опромінення, свідчать про те, що комплекс чинників йодного періоду опромінення не вплинув на частоту появи вузлів щитовидної залози в ранній післяаварійний період. Захворювання щитовидної залози в учасників ЛНА на ЧАЕС частіше спостерігаються у віковому діапазоні від 30 до 59 років у чоловіків та від 40 до 59 років у жінок. У чоловіків-учасників ЛНА у "йодний" період віком 50 - 59 років частота тиреоїдної патології достовірно більша, ніж у чоловіків-учасників ЛНА у "нейодний" період опромінення.

Збільшення частоти випадків гіпотиреозу та хронічного аутоімунного тиреоїдиту у реконвалесцентів ГПХ та опромінених у дозі понад 0,5 Гр розглядається як наслідок реалізації нестохастичних тиреоїдних ефектів впливу комплексу чинників аварії на ЧАЕС.

Ключові слова: іонізуюче опромінення, радіоактивний йод, щитовидна залоза, ліквідатори наслідків аварії на Чорнобильській АЕС.

Проблема впливу радіонуклідів йоду, передусім ^{131}I , на розвиток захворювань щитовидної залози залишається однією з найактуальніших у радіаційній медицині та ендокринології. Вивчення тиреоїдної патології набуло особливого значення після аварії на ЧАЕС через збільшення кількості захворювань щитовидної залози, зокрема злоякісних пухлин, у дітей та підлітків, починаючи з 1990 р. [1, 2].

Епідеміологічний аналіз медичних наслідків чорнобильської аварії свідчить про зростання кількості випадків загальної соматичної патології, яка є основною причиною інвалідності людей, що належать до груп радіаційного ризику. Не виявлено зростання захворюваності на рак щитовидної залози серед дорослого населення, що проживає на забруднених радіонуклідами територіях України, але спостерігається тенденція до збільшення кількості випадків хронічного аутоімунного тиреоїдиту та гіпотиреозу [3-5].

У вивченні найближчих та віддалених наслідків аварії на ЧАЕС особливе місце посідають питання розвитку так званих радіоіндукованих захворювань щитовидної залози - доброякісних та злоякісних пухлин, гіпотиреозу, хронічного аутоімунного тиреоїдиту. Значне збільшення кількості випадків доброякісної аденоми та раку щитовидної залози відзначено у мешканців Маршаллових островів через 9 - 15 років. У літературі також

зустрічаються повідомлення про те, що пухлини променевого генезу розвиваються ще пізніше - через 15 - 25 років [6-8].

Проблема розвитку захворювань щитовидної залози під впливом малих доз радіації залишається нез'ясованою і далеко не до кінця дослідженою. Ця проблема ускладнюється і тому, що радіоактивний йод випав на значній території українського Полісся, яка ендемічна щодо зобу, а нестача йоду, як правило, призводить до розвитку зобу, в тому числі вузлового [9].

Таким чином, все зазначене вище, а також науково-практична значущість вивчення розвитку захворювань щитовидної залози "чорнобильського" походження стало обґрунтуванням основної мети наших досліджень - вивчення стану щитовидної залози в осіб, що брали участь в ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, та впливу чинників "йодного" періоду опромінення на частоту захворювань щитовидної залози в ранній після-аварійний період.

Матеріали і методи

Проаналізовано результати клініко-лабораторного обстеження 2917 пацієнтів, що були госпіталізовані в клініку НЦРМ АМН України в 1990 - 1993 рр. Серед обстежених було 2561 чоловіків (2146 учасників ліквідації наслідків аварії (ЛНА) в "йодний" період і 415 - в "нейодний" період опромінення) та 356 жінок (283 учасниці ЛНА в "йодний" період і 73 - в "нейодний" період опромінення) віком від 19 до 68 років.

Чоловіків-учасників ЛНА було розподілено на 5 груп залежно від документально підтвердженої дози опромінення. У першу групу увійшли пацієнти, котрі перенесли гостру променево хворобу I - 3 ст. (ГПХ) у 1986 р. (поглинена доза становила 1-5 Гр). Інших обстежених було розподілено на групи таким чином: з дозами опромінення 0,5 Гр та більше - 689 осіб; від 0,25 до 0,49 Гр - 475; від 0,1 до 0,24 Гр - 270 осіб; 951 пацієнт з числа учасників ліквідації аварії на ЧАЕС (група без документально підтвердженої дози опромінення).

Захворювання щитовидної залози, виявлені під час скринінгового обстеження, класифіковано згідно з МКХ 9, на підставі даних клінічного, інструментального (УЗД щитовидної залози) та лабораторного (визначення в сироватці крові вмісту тиреотропіну, вільного тироксину та антитіл до тироглобуліну) методів дослідження.

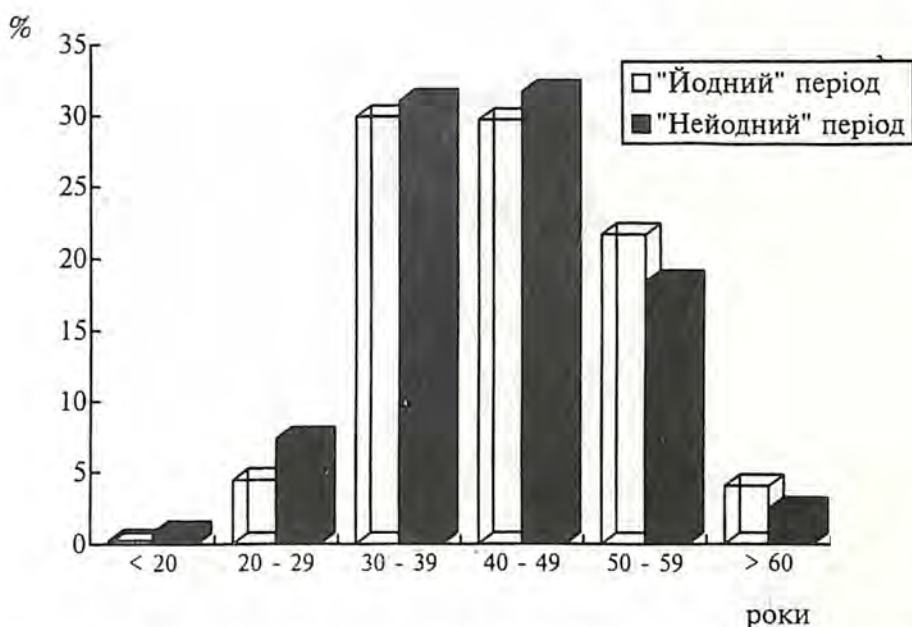
Статистичну обробку результатів досліджень проводили за стандартними методами варіаційної статистики з використанням критерію t Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Порушення функції щитовидної залози за типом гіпер- та гіпофункції, що призводять до розвитку тиреоїдної патології, можливі унаслідок як ураження власне залози, так і порушень на різних рівнях її регуляції. Тому для оцінки впливу малих доз радіації на гіпофізарно-тиреоїдну систему, вивчення ролі впливу "йодної" компоненти в механізмі розвитку захворювань щитовидної залози в ранній післяаварійний період, проведено порівняльний аналіз результатів клініко-лабораторного обстеження з урахуванням віку, статі та періоду опромінення.

З 2432 осіб, що брали участь у ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС у "йодний" період 1986 р., найменшу кількість обстежених склали пацієнти вікових груп до 20 років - 0,25 % та старші за 60 років - 4,03 % (мал.). Найбільша кількість обстежених була у віці від 30 до 59 років.

Серед 489 учасників ЛНА "нейодного" періоду опромінення розподіл за віковими групами був аналогічним - основну групу склали пацієнти у віці від 30 до 59 років.



Розподіл обстежених за віком залежно від періоду їх участі в ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС

Під час вивчення розподілу пацієнтів за віком не виявили помітної різниці серед обстежених ліквідаторів, що зазнали впливу під час опромінення "йодного" та "нейодного" періодів. Більшість обстежених, що брали участь у ліквідації аварії та її наслідків, були у віці 30 - 59 років.

З метою вивчення ранніх радіаційних ефектів, та насамперед впливу комплексу чинників чорнобильської аварії на розвиток тиреоїдної патології проведено порівняльний аналіз розподілу захворювань щитовидної залози в учасників ЛНА з урахуванням статі та періоду опромінення.

Аналізуючи результати досліджень, що наведені у табл. 1, слід підкреслити певну різницю у характері розподілу захворювань щитовидної залози у обстежених, що працювали в "йодний" та "нейодний" післяаварійний періоди.

В учасників ЛНА "йодного" періоду опромінення на першому місці в структурі захворювань щитовидної залози стоїть хронічний аутоімунний тиреоїдит (8,29 % у чоловіків та 18,02 % у жінок), потім ідуть вузли щитовидної залози (7,92 % у чоловіків і 17,31 % у жінок) та дифузний еутиреоїдний зоб (7,04 % у чоловіків і 0,71 % у жінок).

У обстежених, що брали участь у ліквідації наслідків аварії в "нейодний" період, спостерігався дещо інший характер розподілу тиреоїдної патології. У чоловіків перше місце посідає дифузний еутиреоїдний зоб - 9,64 %, а у жінок - вузли щитовидної залози - 24,66 %.

Порівняльний аналіз частоти і характеру захворювань щитовидної залози у пацієнтів, що зазнали впливу радіації у "йодний" та "нейодний" періоди, не виявив статистично достовірної різниці як у чоловіків, так і у жінок. Виняток становить лише частота аутоімунного тиреоїдиту. У

Таблиця 1. Частота захворювань щитовидної залози в осіб, що брали участь у ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, залежно від статі та періоду опромінення

Нозологічна форма	Чоловіки				Жінки			
	"Йодний" період n=2146		"Нейодний" період n=415		"Йодний" період n=283		"Нейодний" період n=73	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Дифузний зоб	151	7,04	40	9,64	2	0,71	2	2,74
Вузли щитовидної залози	170	7,92	34	8,19	49	17,31	18	24,66
Хронічний аутоімунний тиреоїдит	178	8,29	20	4,82*	51	18,02	10	13,70
Гіпотиреоз	46	2,14	11	2,65	17	6,01	3	4,11
Інші хвороби щитовидної залози	20	0,93	5	1,20	4	1,41	3	4,11
Разом:	565	26,33	110	26,51	12	43,46	36	49,32

* $p < 0,01$

чоловіків, що опромінювались у "йодний" період вона була більшою (8,29 %), порівняно з такою у чоловіків-ліквідаторів "нейодного" (4,82 %) періоду опромінення ($p < 0,01$).

Загальновідомо, що жінки у 2 - 7 разів частіше, ніж чоловіки, уражаються різними формами тиреоїдної патології. Результати наших досліджень співпадають з літературними даними і підтверджують залежність частоти захворювань щитовидної залози від статі.

Для вивчення особливостей та характеру захворювань щитовидної залози у опромінених унаслідок аварії на ЧАЕС проведено дослідження розподілу тиреоїдної патології за віком хворих з урахуванням статі та періоду опромінення. Результати їх свідчать про залежність частоти захворювань щитовидної залози від віку та статі (табл. 2).

Результати порівняльного аналізу свідчать про те, що частота тиреоїдної патології у чоловіків, що зазнали впливу радіації в "йодний" та "нейодний" періоди, значно більша у віковому діапазоні 30 - 59 років. В учасників ЛНА "йодного" періоду віком 50 - 59 років частіше спостерігаються захворювання щитовидної залози, ніж у ліквідаторів "нейодного" періоду (відповідно 27,82 та 18,02 %; $p < 0,02$).

У жінок захворювання щитовидної залози частіше бувають у віці 40 - 49 (34,96 % "йодний" і 33,33 % "нейодний" періоди) та 50 - 59 (39,02 % і 52,78 % відповідно) років і не залежать від періоду опромінення ($p > 0,1$).

Подальшим завданням було вивчення частоти основних форм захворювань щитовидної залози в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС з різними дозами опромінення. Враховуючи той факт, що понад 97 % учасників ЛНА становили чоловіки, проведено обстеження пацієнтів з цієї групи та порівняльний аналіз його результатів (табл. 3). Вони свідчать про залежність частоти низки захворювань щитовидної залози від дози опромінення. Частота гіпотиреозу у обстежених з 1 (5,19 %) та 2 групи (3,77 %) достовірно вища, ніж у обстежених з інших груп з меншими дозами опромінення ($< 0,01$). Аналогічні результати отримано під час порівняльного аналізу частоти хронічного аутоімунного тиреоїдиту. Якщо частота цього захворювання коливається в межах від 4,52 % (в учасників ЛНА без

Таблиця 2. Розподіл хворих з тиреоїдною патологією залежно від віку, статі та періоду опромінення

Вік, роки	Чоловіки				Жінки			
	"Йодний" період n=568		"Нейодний" період n=111		"Йодний" період n=123		"Нейодний" період n=36	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
20 - 29	17	2,99	4	3,60	1	0,81	1	2,78
30 - 39	149	26,23	38	35,25	11	8,94	3	8,33
40 - 49	150	26,41	37	24,32	43	34,96	12	33,33
50 - 59	158	27,82	20	18,02*	48	39,02	19	52,78
> 60	35	6,16	6	5,40	9	7,32	0	0

* $p < 0,02$ - достовірність різниці у віковій групі.

Таблиця 3. Частота та характер розподілу тиреоїдної патології у чоловіків-учасників ЛНА на ЧАЕС залежно від дози опромінення

Група обстежуваних	n	Дифузний зоб		Вузли щитовидної залози		Гіпо-тиреоз		Аутоімунний тиреоїдит		Інші хвороби щитовидної залози		Разом	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
1. ГПХ	77	4	5,19	5	6,49	4	5,19	22	28,57	5	6,49	40	51,94
2. Опромінені у дозі > 0,5 Гр	689	52	7,55	57	8,27	26	3,77	66	9,58	5	0,73	206	29,90
3. Опромінені у дозі 0,25-0,49 Гр	475	34	7,16	41	8,63	5	1,05	28	5,89	2	0,42	110	23,20
4. Опромінені у дозі 0,1-0,24 Гр	270	25	9,26	19	7,04	5	1,85	13	4,81	2	0,74	64	23,70
5. Доза невідома	951	71	7,46	75	7,89	9	0,95	43	4,52	14	1,47	212	22,30
Статистичні показники		P 1-3 >0,3		P 1-2 >0,3		P 1-3 <0,05		P 1-2 <0,01		P 1-2 <0,01		P 1-2 <0,01	
		P 1-2 >0,3		P 1-4 >0,3		P 1-4 <0,01		P 1-3 <0,01		P 1-5 <0,02		P 1-3 <0,01	
		P 1-4 >0,2				P 2-3 <0,01		P 2-3 <0,01		P 2-3 <0,01		P 2-3 <0,03	
						P 3-2 <0,01		P 3-2 >0,1		P 3-2 >0,1		P 2-4 <0,05	
						P 1-5 <0,02		P 3-5 >0,1		P 3-5 >0,1		P 2-5 <0,01	
												P 3-4 >0,1	

документально підтвердженої дози) до 5,89 % (у пацієнтів з групи опромінених до 0,5 Гр), то частота випадків аутоімунного тиреоїдиту достовірно вища у обстежених з дозою опромінення понад 0,5 Гр та реконвалесцентів ГПХ (відповідно 9,58 % та 27,16 %). Ці дані можна розглядати як прояв впливу чинників аварії на ЧАЕС на розвиток нестохастичних тиреоїдних ефектів через 5 - 7 років після опромінення.

Результати скринінгового вивчення частоти появи вузлів щитовидної залози в учасників ЛНА на ЧАЕС дозволили зробити висновок, що вона майже однакова у опромінених, що належать до різних груп. Так, найменша частота появи вузлів щитовидної залози (7,04 %) виявлена у пацієнтів з групи опромінених у діапазоні від 0,1 до 0,24 Гр та реконвалесцентів ГПХ (6,49 %), а найбільша (8,63 %) - у обстежених з дозою опромінення 0,25 - 0,49 Гр. Отримані дані є підставою для того, аби висловити припущення про відсутність впливу чинників аварії на ЧАЕС на частоту появи вузлів щитовидної залози, принаймі в перші 5-7 років після опромінення.

Результати проведених нами досліджень певною мірою збігаються з даними обстеження опромінених під час попередніх радіаційних інцидентів. Прояв стохастичних ефектів, зростання кількості хворих з доброякісними та злоякісними пухлинами щитовидної залози, що розвинулись внаслідок опромінення, розглядають у класичній радіобіології як віддалені, що виникають через певний час після радіаційного опромінення. Це підтверджується також результатами епідеміологічного та клінічного обстежень жителів Маршаллових островів та осіб, що зазнали опромінення внаслідок вибуху атомних бомб у містах Хіросіма та Нагасакі [7, 8]. Тому дослідження морфо-функціонального стану щитовидної залози у пацієнтів різних груп диспансерного нагляду, проведення динамічних спостережень за станом гіпофізарно-тиреоїдної системи, особливо в осіб, що зазнали значних доз опромінення, є основою своєчасної діагностики захворювань щитовидної залози та проведення адекватних лікувальних заходів.

Висновки

1. Комплекс чинників "йодного" періоду опромінення не вплинув на розвиток стохастичних ефектів у ранній післяаварійний період. Частота появи вузлів щитовидної залози в учасників ЛНА "йодного" періоду (7,92 % у чоловіків та 17,31 % у жінок) така сама, як і в учасників ЛНА "нейодного" періоду опромінення (8,19 % у чоловіків та 24,66 % у жінок).

2. Збільшення частоти випадків гіпотиреозу та хронічного аутоімунного тиреоїдиту у реконвалесцентів ГПХ та опромінених у дозі понад 0,5 Гр можна розглядати як реалізацію нестохастичних тиреоїдних ефектів унаслідок впливу комплексу чинників аварії на ЧАЕС.

3. Ураження щитовидної залози в учасників ЛНА частіше спостерігається у віковому діапазоні від 30 до 59 років у чоловіків та від 40 до 59 років у жінок. У чоловіків, що зазнали опромінення в "йодний" період у віці 50 - 59 років, достовірно більша частота тиреоїдної патології, ніж у чоловіків, що брали участь у ЛНА в "нейодний" період опромінення.

Література

1. Тронько Н.Д., Богданова Т.И., Большова Е.В., Кравченко В.И. Динамика заболеваемости раком щитовидной железы у детей и подростков в Украине после аварии на Чернобыльской АЭС // Чернобыль и здоровье людей: Тез. докл. науч.-практ. конф. (Киев, 20 - 22 апр. 1993 г.). К., 1993. 2, с. 294.
2. Присяжнюк А.Е., Грищенко В.Г., Загордонцев В.А., Богуславский В.П. Распространенность злокачественных новообразований среди населения наиболее загрязненных радионуклидами территорий // Чернобыль и здоровье людей: Тез. докл. науч.-практ. конф. (Киев, 20 - 22 апр. 1993 г.). К., 1993. 2, с. 247.

3. Бузунов В.А. Радиационно-гигиенические особенности Чернобыльской аварии, состояние и задачи эпидемиологических исследований медицинских последствий // Пробл. радиационной эпидемиологии медицинских последствий аварии на ЧАЭС: Мат. науч. конф. (Киев, 19 - 20 окт. 1993 г.). К., 1993, 14 - 22.
4. Гридько О.М. Результаты скринингового эндокринологического обследования осіб, эвакуированных у 1986 р. з 30-км зони Чорнобильської АЕС // Чернобыль и здоровье населения: Тез. докл. науч.-практ. конф. (Киев, 26 - 28 апр. 1994 г.). К., 1994. 1, 157 - 158.
5. Чебан А.К., Ливкутник А.Е., Головач Р.Э. Реализация аутоиммунного тиреоидита и гипотиреоза у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Тез. докл., радиобиол. съезда (Киев, 20 - 25 сент. 1993 г.). Пушино, 1993, 3, 1095 - 1096.
6. Москалев Ю.И. Отдаленные последствия ионизирующих излучений. М.: Медицина, 1991. 463 С.
7. Hamilton N., Belle G., LoGerfo J. Thyroid neoplasma in Marshall Islandes exposed to nuclear fallout // JAMA. 1987, 258, 629 - 636.
8. Mc Gregar D.N., Land C.E., Choli K. Breast cancer incidans among atomic bomb survivors Hiroshima and Nagataki // JNCI. 1977, 54, N 4, 799 - 811.

Результаты изучения заболеваний щитовидной железы у лиц, принимавших участие в ликвидации последствий аварии на чернобыльской АЭС, через 5 - 7 лет после облучения

А.Е.Романенко, А.Н.Гридько

Научный центр радиационной медицины АМН Украины, 252054 Киев

Проведен анализ результатов клинико-лабораторного обследования 2917 пациентов, госпитализированных в клинику НЦРМ АМН Украины в 1990 - 1993 гг. Среди обследованных было 2561 мужчин (2146 участников ЛПА в "йодный" период и 415 - в "нейодный" период облучения) и 356 женщин (283 участниц ЛПА в "йодный" период и 73 - в "нейодный" период облучения) в возрасте от 19 до 68 лет.

Результаты исследований, проведенных с учетом пола и дозы облучения, свидетельствуют о том, что комплекс факторов "йодного" периода облучения не повлиял на частоту появления узлов щитовидной железы в ранний послеварийный период. Заболевания щитовидной железы у участников ЛПА на ЧАЭС чаще встречаются в возрастном диапазоне от 30 до 59 лет у мужчин и от 40 до 59 лет у женщин. У мужчин-участников ЛПА в "йодный" период в возрасте 50 - 59 лет частота тиреоидной патологии достоверно выше, чем у мужчин-участников ЛПА в "нейодный" период облучения.

Увеличение частоты случаев гипотиреоза и аутоиммунного тиреоидита у реконвалесцентов ОЛБ и группы облученных в дозе свыше 0,5 Гр, рассматривается как следствие реализации нестохастических тиреоидных эффектов влияния комплекса факторов аварии на ЧАЭС.

Results of the study of thyroid diseases in liquidators of the Chornobyl accident 5 -7 years after radiation exposure

A.Yu. Romanenko, A.N. Gridko

Research Centre for Radiation Medicine of AMS, 252054 Kyiv, Ukraine

The analysis of the results of clinical and laboratory examinations in 2917 patients of the Research Centre of Radiation Medicine of AMS, Ukraine, in 1990 - 1993 have been performed. Among them there were 2561 men (2146 men - liquidators of "iodine" period and 73 - "noniodine" period of irradiation) and 356 women (283 women - liquidators of "iodine" period and 73 - "noniodine" period of irradiation) aged 19 - 68 years.

The results of investigations including sex and group of study (dose of irradiation) suggest, that complex of "iodine" period factors did not influence the development of stochastic effects in early post-accident period. Thyroid diseases in liquidators of the Chornobyl accident are more frequent in men aged 30 - 59 years and in women aged 40 - 59 years.

Increase in hypothyroidism and chronic thyroiditis incidence in reconvalescents of acute radiation sickness and in group of irradiated patients with dose more than 0,5 Gy are regarded as functional disorders of the hypophyseal - thyroid system caused by complex of factors of the Chornobyl accident.

ДИНАМІКА РІВНЯ СИРОВАТКОВОГО ТИРЕОГЛОБУЛІНУ У ХВОРИХ З НЕТОКСИЧНИМ ВУЗЛОВИМ ЗОБОМ ПІД ЧАС КОНСЕРВАТИВНОЇ СУПРЕСИВНОЇ ТЕРАПІЇ ТА ПІСЛЯ ХІРУРГІЧНОЇ ОПЕРАЦІЇ

С. М. Черенко

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

У хворих з нетоксичним вузловим зобом (НВЗ) визначали рівень сироваткового тиреоглобуліну (ТГ). Для цього було створено 2 групи по 16 пацієнтів кожна. Дослідження проводили перед лікуванням, через 3 та 6 міс. після його початку. Хворі I групи (зоб 0-II ступеня) отримували L-тироксин. Хворі II групи (зоб IV-V ступеня) були прооперовані. Концентрація ТГ помітно відрізнялася у хворих обох груп від контрольних показників перед лікуванням: відповідно $60,5 \pm 9,6$ нг/мл; $129,3 \pm 24,4$ нг/мл; $34,5 \pm 3,8$ нг/мл. Ефективність консервативного лікування загалом становила 44% , проте у тих хворих, у яких рівень ТГ у процесі лікування нормалізувався, ефективність дорівнювала 78%. Не спостерігалось зменшення об'єму тиреоїдних вузлів у тих хворих, у яких був високий чи неухильно зростав рівень ТГ. Визначення динаміки рівня ТГ у хворих з НВЗ може використовуватись для прогнозу ефективності їх консервативного лікування.

Ключові слова: нетоксичний вузловий зоб, консервативне лікування, хірургічна операція, тиреоглобулін сироватки, прогноз лікування.

Значне поширення та тенденція до зростання за останні роки кількості випадків осередкових гіперпластичних захворювань щитовидної залози [1], передусім колоїдного зобу, доброякісних та злоякісних новоутворень, які до остаточного встановлення діагнозу мають загальну назву "вузловий зоб", вимагають наполегливих пошуків найдосконаліших методів диференціальної діагностики та лікування.

Якщо при вузловому зобі досить великого розміру (III-V ступеня), навіть без тенденції до малігнізації, більшість фахівців надають перевагу хірургічним методам лікування [2 - 4], то проблема терапії доклінічних та невеликих за розміром (0-II ступеня) форм вузлового і змішаного зоба залишається нерозв'язаною [2, 3, 5, 6].

Це зумовлено невизначеністю патогенезу тих невеликих "вузликів", що розпізнаються переважно шляхом УЗД, їх значним поширенням (навіть у США, де рівень забезпечення населення йодом, на відміну від України, цілком достатній, воно досягає 44-60% [6, 7]), відсутністю досконалих методів консервативного лікування та критеріїв оцінки їх ефективності й тривалості. Найпоширенішим та найефективнішим з відомих засобів консервативного лікування дифузної та вузлової форм нетоксичного зобу (за умови, що немає злоякісного росту у тканині вузла, про що свідчать результати комплексу клініко-лабораторних досліджень, насамперед - пункційної біопсії) є призначення тиреоїдних гормонів у дозах, що пригнічують тиреотропну функцію гіпофіза [8, 9], бо тиреотропін є найсильнішим природним стимулятором гіперплазії тиреоцитів. Ефективність цього методу становить 10-60% [8, 9] і залежить від патогенетичних особ-

ливостей нетоксичного зоба в певній місцевості. У разі йододефіцитного генезу захворювання вона вища. Така супресивна терапія вимагає тривалого нагляду за хворими, постійного прийому L-тироксину (або інших препаратів) у дозі 100-150 мкг на добу. Про ефективність лікування свідчать зменшення розмірів вузлів або всієї залози не менше, як на 1/3, відсутність скарг у хворих. Тривалість лікування коливається у межах від 3 міс до багатьох років.

Як правило, при нетоксичному спорадичному зобі небуває помітних змін рівня тиреоїдних та тиреотропного гормонів, але досить часто підвищується концентрація ТГ-головного білка тиреоїдних фолікулів, який у нормі не надходить у кров або міститься у ній у дуже незначній кількості. На думку багатьох дослідників [10, 11], підвищення рівня тиреоглобуліну в крові хворих з осередковими гіперпластичними процесами в щитовидній залозі супроводжує активний ріст тиреоїдних вузлів, під час якого центральна частина вузлів перебуває в умовах неадекватного зменшеного кровопостачання. Частина фолікулів руйнується і тиреоглобулін надходить у загальний кровотік з інтрафолікулярного простору. Таким чином, припинення росту тиреоїдних вузлів повинно супроводжуватись зменшенням або нормалізацією концентрації ТГ у крові хворих, що підтверджується даними про нормалізацію рівня ТГ після хірургічного видалення тиреоїдних вузлів [11].

Матеріали і методи

Метою цієї праці було визначення концентрації ТГ у крові хворих з нетоксичним вузловим та змішаним зобом різного ступеня, її динаміки у процесі консервативного та хірургічного лікування, та вивчення можливості використання цього показника для оцінки ефективності супресивної терапії цих хворих препаратами тиреоїдних гормонів.

Було обстежено дві групи хворих з еутиреоїдним вузловим або змішаним зобом. До складу I групи увійшли 16 хворих, що мали зоб I-II ступеня (за класифікацією О.В.Ніколаєва); другої - 16 хворих, що мали зоб IV-V ступеня. Контрольну групу склали 6 здорових людей. У всіх хворих визначали рівні тиреоїдних гормонів - тироксину та трийодтироніну (Т₃, Т₄), тиреотропіну (ТТГ), антитіл до ТГ та власне ТГ у венозній крові за допомогою радіоімунологічних наборів "РІО-Т₃-ПГ", "РІО-Т₄-ПГ", "РІО-ТТГ-ПГ", "РІО-ТГ-¹²⁵I" (ІБОХ, Беларусь). Розмір щитовидної залози та характер структурних змін у ній оцінювали за допомогою пальпації та УЗД (апарат SONOLINE-SL-2 фірми "SIEMENS" з лінійним датчиком 7,5 МГц). Обробку результатів дослідження проводили за методикою варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

Хворих, що належали до I групи, у яких за допомогою пункційної біопсії не виявили цитоморфологічних ознак злоякісного переродження, лікували L-тироксином по 100-150 мкг на добу протягом 6 міс. Хворих II групи було прооперовано з приводу вузлового та багатовузлового зоба великих розмірів, що зумовлював компресію суміжних органів та структур шиї. Повторно визначали концентрацію ТГ у хворих через 3 та 5-6 міс після початку консервативного лікування.

Результати та їх обговорення

Позитивні наслідки консервативного лікування (зменшилися вузли та залоза не менше, як на 50%, зник вузол у 1 хворого) було помічено через 3 міс лікування у 9 хворих. У 7 пацієнтів вузли збільшилися або залишилися такими самими. Через 6 міс лікування стійкий ефект зберігся у 7 хворих, у 9 пацієнтів поступово вузли збільшувалися або залишалися такими самими. Цих хворих також було прооперовано. Обсяг хірургічного втручання був різним - від субтотальної резекції частки до субтотальної резек-

ції щитовидної залози. Після операції всі пацієнти протягом 5-6 міс отримували малі дози (50-75 мкг/добу) L-тироксину. За результатами гістологічного дослідження препаратів видаленої тканини щитовидної залози встановлено діагноз колоїдного макро-мікрофолікулярного вузлового зоба або фолікулярної аденоми (2 випадки). У жодному випадку не виявили злоякісних змін.

Гормональний тиреоїдний статус всіх хворих був у межах норми ($T_4 - 94,2 \pm 13,1$ нмоль/л; $T_3 - 1,6 \pm 0,3$ нмоль/л) до лікування і протягом усього періоду терапії. Суттєвої різниці між групами не виявлено.

Рівень ТТГ не перевищував норми перед лікуванням у хворих обох груп ($2,71 \pm 0,31$ мОд/л), а під час всього терміну консервативного лікування тримався біля її нижньої межі у I групі ($0,89 \pm 0,28$ мОд/л) і був тимчасово дещо підвищений через 3 міс після операції у хворих II групи ($4,8 \pm 2,01$ мОд/л). Аутоантитіл до ТГ у крові хворих не виявлено.

Аналіз концентрації ТГ показав, що вона великою мірою залежить від розмірів зоба (таблиця). У хворих I групи рівень ТГ дорівнював $60,5 \pm 9,5$ нг/мл, II - $129,3 \pm 24,4$ нг/мл, тобто помітно відрізнявся від контрольного та в обох групах перевищував нормальний (0-50 нг/мл). Це підтверджує думку про те, що рівень ТГ відбиває темпи росту тиреоїдних вузлів та ступінь зобної трансформації щитовидної залози. Після операції у всіх хворих II групи протягом перших 3 міс помічено зростання рівня ТГ. Це зумовлене, на нашу думку, надходженням великої кількості інтрафолікулярного ТГ у позаклітинне середовище внаслідок механічного пошкодження тканини щитовидної залози під час операції та процесів післяопераційної регенерації й перебудови паренхіми органа. Подальше спостереження засвідчило зменшення концентрації ТГ (у більшості хворих до норми) через 6 міс після операції. Цей факт може бути додатковим доказом того, що головне джерело надходження ТГ у кров міститься саме у патологічно зміненій вузловій частині органа.

Консервативне лікування хворих I групи супроводжувалося помітним зменшенням концентрації ТГ у 9 хворих. У 7 пацієнтів відзначалися поліпшення загального стану, зменшення об'єму щитовидної залози, вузлів. Треба наголосити, що із 9 хворих, у яких під впливом консервативного лікування не зменшилися щитовидна залоза та вузли, у 6 відзначалося збільшення концентрації ТГ у крові. Рівень ТГ у крові осіб, що складала контрольну групу, не перевищував норми.

Таким чином, ефективність консервативного лікування хворих з нетоксичним вузловим та змішаним зобом становить 44%. У цих пацієнтів зафіксовано достовірне зменшення середньої концентрації ТГ у крові до норми, у той же час у хворих з негативною клінічною динамікою зберігалась тенденція до підвищення рівня ТГ. Найбільша різниця показників зафіксована після 6 міс лікування (див. таблицю). Можливо триваліше спостереження за хворими може дати додаткову інформацію, але вже зараз є підстави зробити певні висновки.

Отримані нами результати вказують на високу інформативність визначення концентрації ТГ у крові хворих з нетоксичним вузловим та змішаним зобом невеликого ступеня. Ці показники дозволяють прогнозувати ефективність консервативного лікування таких форм зоба препаратами

Таблиця. Концентрація ТГ та її динаміка у процесі лікування хворих з НВЗ

Група хворих	ТГ (до лікування) нг/мл	ТГ (через 3 міс), нг/мл	ТГ (через 6 міс), нг/мл	P ₄	P ₅
I Консервативне лікування, n=16	60,5 ± 9,5				
є ефект, n=7	73,0 ± 11,5	69,4 ± 9,2	33,7 ± 4,1	> 0,05	< 0,05
немає ефекту, n=9	56,1 ± 8,2	68,3 ± 7,3	81,9 ± 5,8	> 0,05	< 0,05
P ₁	> 0,05	> 0,05	< 0,05		
II Хірургічне лікування, n=16	129,3 ± 24,4	176,8 ± 21,5	48,9 ± 3,8	< 0,05	< 0,05
P ₂	< 0,05	< 0,05	< 0,05		
		< 0,05	< 0,05		
Контроль, n=6	34,5 ± 3,8	0,1 ± 5,2	35,4 ± 2,7		
P ₃	< 0,05	< 0,05	> 0,05		
	< 0,05	< 0,05	< 0,05		
	< 0,05	< 0,05	> 0,05		

P₁ - ступінь вірогідності різниці між показниками обох підгруп I групи;

P₂ - ступінь вірогідності різниці між показниками I та II груп;

P₃ - ступінь вірогідності різниці показників I і II групи порівняно з контролем;

P₄ - ступінь вірогідності різниці між показниками концентрації ТГ через 3 міс після початку лікування та до початку його;

P₅ - ступінь вірогідності різниці між показниками концентрації ТГ через 6 міс після початку лікування (операції) та до початку його.

тиреоїдних гормонів. У 78% осіб, у яких відзначалося зменшення концентрації ТГ протягом 3-6 міс, отримано стійкий позитивний ефект консервативного лікування (зменшення об'єму щитовидної залози на 50% і більше). З іншого боку, поліпшення стану не спостерігалось у жодного з 7 хворих, рівень ТГ у яких продовжував підвищуватись або залишався тим самим.

Зменшення рівня ТГ протягом 6 міс лікування (так само, як і після видалення зоба) свідчить про відсутність осередків активного епітеліального росту, або про припинення такого росту, що робить прогноз супресивної тироксинотерапії сприятливим та дає підстави продовжувати лікування.

Стабільне підвищення концентрації ТГ або її зростання вказує на те, що у тканині щитовидної залози є осередки автономного (не контролюваного тиреотропною функцією гіпофіза) росту або діють інші чинники гіперплазії (осередкової чи дифузної) щитовидної залози, на які важко вплинути за допомогою супресивної консервативної терапії (генетична детермінованість; імуноглобуліни, що стимулюють гіперплазію фолікулярного епітелію; справжній пухлинний ріст тощо). За такими хворими встановлюють спостереження, шукають інших шляхів консервативного лікування, а у разі потреби вдаються до операції.

Таким чином, контроль за динамікою рівня ТГ у крові хворих з нетоксичним вузловим або змішаним зобом невеликих розмірів може бути інформативним щодо прогнозу ефективності консервативного лікування та

допоможе визначати строки та показання до операції, а також уникнути зайвих операцій у певної частини пацієнтів.

Література

1. Литовченко Ю.С., Чорнобров А.Д., Турчин В.І. Захворюваність на ендемічний зоб в Україні// Тези доп. V з'їзду ендокринол.України.К., 1994, 204-205.
2. Шептуха А.І., Комісаренко І.В., Коваленко А.Є. та ін. Хірургічна тактика при лікуванні вогнищевих гіперпластичних уражень щитовидної залози// Тези доп. V з'їзду ендокринол.України.К., 1994, с.246.
3. Ветишев П.С., Шкроб О.С., Чилингарида К.Е. и др. Тонкоигольная аспирационная биопсия солитарных образований щитовидной железы// Хирургия. 1995, №3, 34-37.
4. Романчишен А.Ф., Романчишена Е.С. Хирургическая тактика лечения заболеваний щитовидной железы с онкологических позиций// Пробл.эндокринол.1992, 38, №6, 27-29.
5. Калинин А.П., Пархимович Р.М. Некоторые дискуссионные вопросы хирургии щитовидных желез: Тез. докл. Всесоюз. симп. по хирург. эндокринол. К., 1994, 3-4.
6. Mazzaferri E. Thyroid cancer in thyroid nodules: finding a needle in the haystack// Amer. J. Med. 1992, N4, 359-362.
7. Brander A., Vikinkoski P., Nickels J. Thyroid gland:US screening in middleaged women with no previous thyroid disease// Radiology. 1989, 173, 507-510.
8. Celani M.F., Mariani M., Mariani G. On the usefulness of levothyroxine suppressive therapy in the medical treatment of benign solitary, solid or predominantly solid, thyroid nodules// Acta endocrinol.(Copenh.). 1990, 123, 603-608.
9. Charib H., James E.M., Charboneau J.W., Naessens J.M. et al. Suppressive therapy with levothyroxine for solitary thyroid nodules// N.Engl.J.Med. 1987, 317, 70-75.
10. Gebel F., Ramelli F., Burgi U. et al. The site of leakage of intrafollicular thyroglobulin into the blood stream in simple human goitre// J.Clin.Endocrinol.Metabol. 1983, 57, 915-919.
11. Gensnjager E., Girard J., Martina B. Pra- und postoperative thyreoglobulinabgabe in das blut bei knotenstruma// Schweiz. Med. Wochenschr. 1984, 114, 826-829.

Динамика уровня сывороточного тиреоглобулина у больных с нетоксическим узловым зобом во время консервативной супрессивной терапии и после хирургической операции

С.М.Черенко

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

Исследовали уровень сывороточного тиреоглобулина (ТГ) у больных с нетоксическим узловым зобом (НУЗ) перед лечением, через 3 и 6 мес после его начала. Больные I группы (зоб I-II степени) получали супрессивную дозу L-тироксина. Больные II группы (зоб IV-V степени) были прооперированы. Концентрация ТГ существенно отличалась у больных I и II групп и контрольной до лечения ($60,5 \pm 9,6$ нг/мл; $129,3 \pm 24,4$ нг/мл; $34,5 \pm 3,8$ нг/мл). Эффективность консервативного лечения составила 44%, однако среди тех больных, у которых уровень ТГ в процессе лечения уменьшился до нормы, эффективность оказалась значительно выше - 78%. Не наблюдалось уменьшения объема тиреоидных узлов у больных с постоянно высоким или возрастающим уровнем ТГ. Определение динамики уровня ТГ у больных с НУЗ может служить для прогноза эффективности консервативного лечения.

Dynamics of serum thyroglobulin level in patients with nontoxic nodular goiter during suppressive therapy and after surgery

S.M.Cherenko

O.Bogomolets National Medical University, 252004 Kyiv, Ukraine

Serum thyroglobulin (TG) level was studied in patients with nontoxic nodular goiter (NNG) before treatment, 3 and 6 months after the treatment had started. There were two patient groups with 16 patients in each. Group I (I-II grade goiter) received L-thyroxine. Group II patients (IV-V grade goiter) were operated. TG concentration differed significantly in the first, second and control groups before treatment ($60,5 \pm 9,6$ ng/ml; $129,3 \pm 24,4$ ng/ml; $34,5 \pm 3,8$ ng/ml). The effectiveness of conservative treatment made 44% whereas in patients whose TG level normalized during the treatment course the effectiveness was 78%. No decrease in the size of thyroid nodules was observed in patients with persistent high or increasing TG level. Dynamics of TG level in NNG patients can be used as a prognostic factor of the effectiveness of the conservative treatment.

УДК 616.379-008.64:616.61-073.755.4

ДИНАМІЧНА РЕНОСЦИНТИГРАФІЯ В ДІАГНОСТИЦІ УРАЖЕНЬ НИРОК У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

М.І. Буглак, В.М. Славнов, В.В. Марков*,
Н.А. Скробонська*, Р.О. Луковенко*

*Київська медична академія післядипломної освіти МОЗ України, 254112
Київ; *Інститут ендокринології та обміну речовин ім.В.П.Комісаренка
АМН України, 252114 Київ*

У праці наведено результати досліджень з використанням методу динамічної реносцинтиграфії з пентатехом, поміченим 99m -технецієм. Обстежено 72 хворих на цукровий діабет I типу переважно з тяжким перебігом у стадії компенсації. Дана кількісна оцінка показників, які характеризують секреторно-фільтраційну функцію кожної нирки окремо. Доведено інформативність цього методу дослідження і доцільність його використання для диференційної діагностики діабетичної нефропатії і хронічного пієлонефриту у хворих на цукровий діабет.

Ключові слова: діабетична нефропатія, хронічний пієлонефрит, радіонуклідна діагностика, динамічна реносцинтиграфія.

Діабетична нефропатія - одне з тяжких ускладнень цукрового діабету, що спостерігається майже у половини хворих з інсулінозалежною формою захворювання і є однією з головних причин їх смерті [1,2]. Патогенез діабетичної нефропатії досі не розкритий, рання діагностика її складна, що в свою чергу значно ускладнює проблему лікування і профілактики даної патології. Найперспективнішим у боротьбі з цим тяжким ускладненням вважають ранню його діагностику з подальшим проведенням інтенсивної патогенетичної терапії. На думку деяких дослідників [3-5], лише початкові зміни у нирках можуть набувати зворотного розвитку під впливом адекватного лікування.

Протеїнурія - клінічна ознака діабетичної нефропатії, що свідчить про значне ураження нирок, яке майже неможливо лікувати навіть у разі досягнення компенсації метаболічних порушень [6,7].

Протеїнурія є одним із проявів хронічного пієлонефриту - неспецифічного запального процесу в чашково-мисковій системі і інтерстиціальній тканині нирок, що нерідко ускладнює перебіг цукрового діабету [8]. Це значною мірою утруднює діагностику діабетичної нефропатії і вимагає проведення диференціальної діагностики.

Найінформативнішим загальноновизнаним методом ранньої діагностики діабетичної нефропатії є пункційна біопсія нирок [9]. Однак проведення останньої пов'язане з деякими технічними труднощами і не завжди безпечно, особливо у хворих на цукровий діабет. З огляду на це використання динамічної реносцинтиграфії з метою діагностики діабетичної нефропатії вважалось перспективним. На думку деяких вчених [10], цей метод дослідження досить чутливий і інформативний. Він дозволяє вивчати окрему і сумарну секреторно-фільтраційну та екскреторну функції нирок.

Матеріали і методи

За згодою пацієнтів нами було обстежено 72 хворих на цукровий діабет віком від 18 до 66 років, у тому числі: до 20 років - 5, від 21 до 40 - 46, від 41 до 60 - 19, понад 60 - 2 пацієнтів, серед котрих було 32 чоловіки і 40 жінок. Тяжка форма цукрового діабету відзначена у 69 хворих, середнього ступеня - у 3. Лабільний перебіг захворювання з частими гіпоглікеміями та кетоацидозом спостерігався у 42 хворих.

Від 1 до 5 років захворювання тривало у 14 пацієнтів, від 6 до 10 років - у 18, понад 10 років - у 40. Переважну кількість хворих лікували інсуліном, 9 пацієнтів одержували комбіновану терапію.

Діагноз діабетичної нефропатії (II стадія) встановлювали на підставі результатів клінічного дослідження і лабораторних даних: загальний аналіз сечі, визначення добової протеїнурії, залишкового азоту, рівнів креатиніну, азоту сечовини і білкового складу крові, клубочкової фільтрації та ниркового кровообігу, ультразвукового дослідження нирок.

З урахуванням результатів обстеження хворі були розподілені на групи:

О - без клінічних і лабораторних ознак діабетичної нефропатії (21 хворий);

I - з початковими ознаками ураження нирок - пренефротична стадія нефропатії (15 хворих);

II - з чіткими ознаками діабетичної нефропатії - нефропатична стадія (18 хворих);

III - з термінальною (нефросклеротичною) стадією нефропатії (9 хворих).

У окрему групу виділено 9 хворих, у котрих на тлі цукрового діабету був діагностований хронічний пієлонефрит. З них було 5 жінок і 4 чоловіки віком від 20 до 50 років. У всіх їх хвороба мала тяжкий перебіг.

Динамічну реносцинтиграфію проводили по досягненні компенсації порушень, спричинених цукровим діабетом. Дослідження виконували за допомогою сцинтиляційної гамма-камери МВ-9200, результати обробляли за системою "Microsegams" (Угорщина). Пацієнт під час дослідження був у сидячому положенні спиною до детектора, котрий встановлювали таким чином, щоб вертикальна вісь його збігалася із серединою хребта, а горизонтальна проходила по XII ребру таким чином, щоб у полі зору детектора були нирки, серце й сечовий міхур.

З діагностичною метою використовували препарат пентатех, мічений короткоживучим радіонуклідом $Tc-99m$ - пертехнетатом, який вибірково виводиться з організму шляхом клубочкової фільтрації. Препарат мітили радіонуклідом у стерильних умовах безпосередньо перед дослідженням і вводили в об'ємі 1 мл внутрішньовенно з розрахунку 360 МБк на 1 кг маси тіла. Еквівалентна його доза на нирки складає 0,024 МЗв/МБк, стінку сечового міхура - 0,094 МЗв/МБк, яєчка і яєчники - $0,0013 \pm 0,0019$ МЗв/МБк, що значно менше за гранично допустимі дози опромінення.

Метод ґрунтується на реєстрації змін рівня активності у часі в нирках та сечовому міхурі. Результати дослідження одержують у вигляді графіків і сцинтиграм. Програма реносцинтиграфії передбачає безперервну реєстрацію 75 кадрів протягом 20 с з подальшою комп'ютерною обробкою даних за стандартними програмами.

Кількісними показниками функціонального стану нирок були:

1) секреторний індекс (СІ) лівої і правої нирок, виражений у відсотках;

2) час максимального накопичення нукліду ($T_{1/2}$ макс) у лівій і правій нирках, виражений у хвилинах;

3) час напіввиведення ($T_{1/2}$) нукліду із лівої і правої нирок, виражений у хвилинах.

З метою контролю обстежено 20 практично здорових людей відповідної статі і віку.

Результати і їх обговорення

Під час аналізу кількісних показників функціонального стану нирок, наведених у таблиці, можна помітити, що у хворих на цукровий діабет без нефропатії вони помітно не відрізнялися від таких у контрольній групі. У той же час у хворих з нейропатією I стадії спостерігалось достовірне збільшення часу максимального накопичення радіонукліду як у лівій, так і в правій нирках, що свідчить про зниження концентраційної функції обох нирок. У хворих цієї ж самої групи була знижена екскреторна функція обох нирок, на що вказувало вірогідне, порівняно з контролем, збільшення часу напіввиведення радіонукліду із нирок. Аналогічні зміни було вияв-

Таблиця. Показники функціонального стану нирок у хворих на цукровий діабет

Група обстежених	Статистичні показники	індекс секреції, %		Т макс., хв		Т _{1/2} , хв	
		Л	П	Л	П	Л	П
<i>Контрольна (n=20)</i>	<i>M</i>	50	50	2,9	3,0	12,0	12,0
	<i>m</i>	2,4	2,4	0,6	0,6	2,6	2,6
<i>Хворі на цукровий діабет (n=63)</i>							
Нефропатія-0 ст.	<i>M</i>	52,7	47,3	3,6	4,1	14,2	15,5
	<i>m</i>	2,7	2,7	0,2	0,5	1,1	1,4
	<i>p</i>	>0,5	>0,5	>0,25	>0,25	>0,5	>0,25
Нефропатія-1 ст.	<i>M</i>	48,1	51,9	5,7	5,6	18,5	18,4
	<i>m</i>	2,6	2,6	0,8	0,7	1,5	1,4
	<i>p</i>	>0,5	>0,5	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Нефропатія-II ст.	<i>M</i>	46,1	53,9	4,0	3,2	23,7	22,5
	<i>m</i>	3,4	3,4	0,4	0,5	2,8	2,1
	<i>p</i>	>0,5	>0,5	<0,1>0,05	>0,5	<0,05	<0,05
Нефропатія-III ст.	<i>M</i>	46,3	53,7	6,9	5,7	43,2	44,8
	<i>m</i>	4,3	4,4	2,4	2,7	5,6	6,4
	<i>p</i>	>0,5	>0,5	<0,1>0,05	>0,5	<0,05	<0,05

Примітка: p - достовірність порівняно з даними контрольної групи.

лено і у хворих з II стадією діабетичної нефропатії. Однак показник максимального накопичення препарату в нирках у хворих з II і III стадіями діабетичної нефропатії, хоча і був дещо підвищеним, але не достовірно.

Виразеніше зниження екскреторної функції нирок спостерігалось у хворих з нейропатією II стадії порівняно з цим показником у групі хворих з I стадією діабетичної нефропатії. Як і слід було чекати, найбільшою мірою була порушена екскреторна функція нирок у хворих з III стадією діабетичної нефропатії.

Нами було проведено порівняння кількісних показників функціонального стану нирок у хворих з діабетичною нефропатією з аналогічними показниками хворих на цукровий діабет, що супроводжувався хронічним пієлонефритом. Наявність пієлонефриту у 9 хворих на цукровий діабет була підтверджена даними детального обстеження, у тому числі ультразвукового. На відміну від хворих з діабетичною нефропатією, у котрих пошкодження правої і лівої нирки було практично однаковим, у останніх спостерігалось порушення функції переважно однієї нирки. Про це свідчила наявність достовірної різниці ($p < 0,001$) між індексами секреції пошкодженої нирки ($33,3 \pm 2,4$) і здорової ($66,0 \pm 2,8$). Слід зазначити, що такий показник динамічної реносцинтиграфії, як секреторний індекс може бути використаний для проведення диференціальної діагностики діабетичної нефропатії та хронічного пієлонефриту. На це вказує наявність достовірної різниці ($p < 0,001$) величини секреторного індексу пошкодженої нирки у хворих на цукровий діабет з пієлонефритом ($33,3 \pm 2,4$) порівняно з аналогічним показником у хворих з діабетичною нефропатією ($45,9 \pm 3,3$). Інші показники динамічної реносцинтиграфії у вказаних вище

груп хворих помітно не відрізнялися. Характерно, що навіть у разі двобічного запального процесу в нирках асиметрію пошкодження можна виявити в 90% випадків [11].

Таким чином, метод динамічної реносцинтиграфії слід вважати інформативним, наочним, який дозволяє виявити морфологічні й функціональні зміни у нирках. Його використання є перспективним для проведення диференціальної діагностики нефропатії і хронічного пієлонефриту у хворих на цукровий діабет. Асиметричність пошкодження нирок з переважним накопиченням радіонукліду в ділянці нижнього полюсу ураженої нирки також вказує на наявність хронічного пієлонефриту. Не виключається можливість використання цього методу дослідження з метою контролю ефективності лікування діабетичної нефропатії.

Перевагою описуваного методу дослідження функціонального стану нирок є й те, що індикаторні дози, які використовуються, як правило, не спричиняють побічних ефектів навіть у хворих з хронічною недостатністю нирок.

Література:

1. Ефимов А.С. Энциклопедия семейного врача. Т.2. К.: Здоров'я, 1995. 128 с.
2. Шестакова М.В., Делов И.И., Мухин Н.А., Шереметьва О.В. Метаболические и гемодинамические аспекты диабетической нефропатии // Пробл. эндокринологии. 1993, 39, N 3, 55-57.
3. Gorgensen K.D., Hanssen K.F., Kierulf P. et al. Reduction of urinary albumin after 4 years and continuous subcutaneous insulin infusion in insulin-dependent diabetes mellitus // Acta endocrinol. 1988, 117, 19-25.
4. Kern T.S., Engerman K.L. Kidney morphology in experimental hyperglycemia // Diabetes. 1987, 36, 244-249.
5. Дедов И.И., Мухин Н.А., Шестакова М.В. и др. Патогенетические особенности диабетической нефропатии и ее ранняя диагностика // Пробл. эндокринологии. 1990, 36, N 4, 57-63.
6. Карабун П.М. Диагностика и лечение диабетической нефропатии: Метод. письмо. К., 1990. 4 с.
7. Rudberg S., Ullman E., Dahlquist G., Relationship between early metabolic control and the development of microalbuminuria - a longitudinal study in children with Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus // Diabetologia. 1993, 36, 1309-1314.
8. Мухин Н.А., Тареева И.Я. Диагностика и лечение внутренних болезней. Т.2. М.: Медицина, 1991, 283-293.
9. Tamsma G.T., van den Born G., Buijn G.A. et al. Expression of glomerular extracellular matrix components in human diabetic nephropathy: decrease of heparan sulphate in the glomerular basement membrane // Diabetologia. 1994, 37, 313-320.
10. Ходарева Е.Н., Минхин С.Е., Ачкурин Р.С., Сергиенко В.Б. Сцинтиграфия почек с каптоприлом в диагностике реноваскулярной гипертонии // Терап. архив. 1992, 64, N 4, 33-38.
11. Славнов В.Н., Марков В.В. Радионуклидная диагностика заболеваний эндокринной системы // Эндокринология. 1996, 1, N 1, 95-104.

Динамическая реносцинтиграфия в диагностике поражений почек у больных сахарным диабетом

Н.И.Буглак, В.Н.Славнов,* В.В.Марков,* Н.А.Скробонская,* Р.А.Луковенко
*Медицинская академия последипломной подготовки МЗ Украины, 254112 Киев; *Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П.Комиссаренко АМН Украины, 252114 Киев*

В работе приведены результаты научных исследований с использованием метода динамической реносцинтиграфии с пентатехом, меченым 99m -технецием. Обследовано 72 больных сахарным диабетом I типа, преимущественно с тяжелой формой заболевания в состоянии компенсации. Дана количественная оценка показателей, которые отражают секреторно-фильтрационную функцию каждой почки в отдельности. Показана информативность этого метода исследования для дифференциальной диагностики диабетической нефропатии и хронического пиелонефрита у больных сахарным диабетом.

Dynamic renoscintigraphy in diagnosis of kidney lesions in patients with diabetes mellitus

M.I.Buglak, V.M.Slavnov, V.V.Markov, N.A.Skrobonska, R.A.Lukovenko
Medical Academy of Post-graduate training of Ministry of Public Health, 254112 Kyiv, Ukraine; V.P.Komisarenko Institute of Endocrinology & Metabolism of AMS, 254114 Kyiv, Ukraine

The scientific findings received by using the method of dynamic renoscintigraphy with pentatex labeled with 99 -technetium are given. 72 patients with type 1 diabetes mellitus mainly with the severe form of the disease in the compensation state were studied. The quantitative estimation of indices reflecting the secretory-filtration function of each kidney separately is presented. The information content of such research method in differential diagnosis of diabetic nephropathy and chronic pyelonephritis in patients with diabetes mellitus has been shown.

КЛІНІЧНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТУ “ЕРБІСОЛ” ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

П.М. Боднар, Н.І. Лопушенко

Національний медичний університет ім.О.О.Ботомольця, Київський міський клінічний ендокринологічний диспансер, 252004 Київ

В статті розглядається дія нового вітчизняного препарату “Ербісол”, який виготовлено з ембріональної тканини великої рогатої худоби, на перебіг цукрового діабету. Обстежено 60 хворих віком 16-65 років. Контрольна група складалася із 12 хворих, яких лікували за звичною схемою. Ербісол призначали протягом 20 діб по 2 мл внутрішньом’язово раз на добу. У хворих на цукровий діабет він дає досить помітний терапевтичний ефект, у комплексі з цукрознижуючими препаратами сприяє компенсації проявів діабету, справляє також виражений ангіо- та гепато-протекторний вплив, сприяє нормалізації ліпідного та вуглеводного обмінів. Отримані результати дозволяють рекомендувати ербісол для широкого використання у комплексній терапії хворих на цукровий діабет.

Ключові слова: ербісол, діабетична ангіопатія, цукровий діабет, вуглеводний обмін, ліпідний обмін, серцево-судинна система.

Традиційна терапія хворих на цукровий діабет не завжди забезпечує бажані наслідки. Тому дуже важливо шукати нові лікувальні засоби, що впливають на патогенез цієї недуги та її ускладнень. Нашу увагу привернув новий препарат “Ербісол”, запропонований НВЦ “Ербіс” [1]. Це розчин продуктів гідролізу компонентів клітинних мембран ембріональної тканини великої рогатої худоби.

Препарат “Ербісол” як активізатор репаративної регенерації слизової оболонки шлунка знайшов широке застосування у клініці внутрішніх захворювань для лікування виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки, ерозивного гастродуоденіту. Найповніше ці властивості виявляються у разі поєднання ербісолу та лікарських засобів, що послаблюють кислотно-пептидну активність шлункового соку [2]. Ербісол є альтернативним засобом для лікування хронічного гепатиту [3]. Його з успіхом використовують у хірургії для лікування хронічної артеріальної і венозної недостатності з трофічними виразками та гнійними ранами [4], у стоматологічній практиці для лікування захворювань парадонта, виразково-некротичного стоматиту, пульпіту та періодонтиту [5]. Доцільно розширити сферу використання ербісолу для лікування хворих на вірусний гепатит В [6]. Була спроба оцінити ефективність ербісолу при лікуванні хворих на цукровий діабет [7].

Метою праці є всебічне вивчення застосування ербісолу для лікування хворих на цукровий діабет, визначення показань і протипоказань та можливостей застосування препарату у комплексній терапії цієї недуги.

Матеріали та методи

Ербісол був призначений 60 хворим на цукровий діабет віком 16-65 років. У 54 хворих був ІЗЦУ, у 6 - ІНЦД. Клінічні дослідження проводили за згодою хворих. Ураження серцево-судинної системи виявлено у більшості хворих, серед них ІХС - у 17, діабетичну

ангіопатію нижніх кінцівок - у 46, діабетичну нейропатію - у 45, нефроангіопатію - у 5, діабетичний гепатоз та холецистопатію - у 28. Найчастішими супутніми захворюваннями були артеріальна гіпертензія, хронічний гастрит, хронічний холецистит, хронічний панкреатит. Контрольна група складалася із 12 хворих на цукровий діабет, які лікувалися за звичайною схемою.

Ербісол призначали протягом 20 діб по 2 мл внутрішньом'язово раз на добу. У комплексну терапію хворих на цукровий діабет, що отримували ербісол, входили засоби, що знижують рівень цукру, у разі потреби - гіпотензивні та інші препарати.

Обстежували хворих до та після лікування, а також через 1 міс та через 2 міс по закінченню курсу лікування ербісолом. Для оцінки ефективності препарату враховували динаміку клінічних симптомів, ступінь глікемії та глюкозурії, рівні загального білка, холестерину плазми та холестерину ліпопротеїнів високої густини (ХС-ЛПВГ), креатиніну, сечовини, білірубину, активність трансаміназ, рівень глікозильованого гемоглобіну, фруктозаміну плазми, малонового діальдегіду (МДА) плазми, ліпопротеїнів низької (ЛПНГ) та дуже низької густини (ЛДНГ), ліпопротеїнів високої густини (ЛПВГ), МДА еритроцитів. Оцінювали також реографічні показники, що характеризують стан судин нижніх кінцівок, скорочувальну здатність міокарда - за даними ехокардіографії. У хворих з уперше виявленим цукровим діабетом проводили комплексне імунологічне обстеження згідно з I та II рівнями вимог Меморандуму ВООЗ (1981).

Холестерин плазми та малоновий діальдегід визначали апробованими методами [8,9], фруктозамін плазми - за колориметричним методом з використанням нітросинього тетразолію [10]. Рівень глікозильованого гемоглобіну - за колориметричним методом [11], стан судин нижніх кінцівок (тонус, кровонаповнення) - за даними реовазограм. Скорочувальну здатність міокарда оцінювали у 38 хворих (32 хворих на ІЗЦД, 6 хворих на ІНЦУ) за даними ЕхоКГ у М-режимі. Ехокардіографію здійснювали на полікардіоаналізаторі ПКА 4-01. Визначали такі показники: передньо-задній розмір лівого шлуночка під час діастолі (Dd) та систолі (Ds), інтервал R-R, товщину міокарда під час діастолі (RWD) та товщину міжшлуночкової перегородки під час діастолі (IVSd). За автоматизованими програмами блоку пам'яті полікардіоаналізатора обраховували такі показники: об'єм лівого шлуночка під час систолі (Vs) і діастолі (Vd), ударний (SV) та хвилинний (CO) об'єми, тривалість скорочення задньої стінки лівого шлуночка (LVET) та швидкість циркуляторного скорочення волокон міокарда (VCF), масу міокарда (MM). Реєстрували також ЕКГ у 12 стандартних відведеннях. Статистичну обробку результатів досліджень виконували з використанням критерію t-Стюдента.

Результати та їх обговорення

Після лікування ербісолом у всіх обстежених спостерігалася позитивна динаміка клінічних симптомів: поліпшувалось загальне самопочуття хворих, зменшувалась слабкість, поліпшувались психоемоційні показники, зникав біль у правому підбер'ї, зменшувались розміри печінки та стихав біль у ногах, з'являлося відчуття тепла у ступнях.

Терапевтичний ефект ербісолу виявлено у 54 хворих на цукровий діабет. Клінічний ефект був відсутнім у 6 хворих, з них у 4 була нефротична стадія діабетичної нефроангіопатії, у 1 - загострення гастриту, ще у 1 - загострення хронічного панкреатиту. У 43 із 60 хворих за час лікування ербісолом досягнуто компенсації вуглеводного обміну, у 15 - субкомпенсації, у 2 стан залишився незмінним (малюнок).

Аналіз біохімічних показників крові у хворих на цукровий діабет засвідчив, що до лікування рівень HbA_{1c} складав $9,93 \pm 0,08\%$, фруктозаміну - $3,41 \pm 0,38$ ммоль/л, холестерину плазми - $6,03 \pm 0,74$ ммоль/л, рівень глюкози натще і після їди складав відповідно $11,87 \pm 0,97$ ммоль/л та $12,93 \pm 0,89$ ммоль/л, холестерину ЛПВГ - $0,49 \pm 0,098$ ммоль/л, МДА плазми - $2,35 \pm 0,33$ мкмоль/мл, МДА ЛПВГ - $1,46 \pm 0,13$ ммоль/л, МДА еритроцитів - $7,84 \pm 0,69$ мкмоль/мл, МДА ЛПНГ та ДНГ $26,04 \pm 1,74$ ммоль/л.



Вплив ербісолу на ступінь компенсації цукрового діабету

Середні дані інших біохімічних показників на початок лікування не перевищували норму.

На тлі використання ербісолу у комплексній терапії зареєстровано зниження рівня глюкози натще та після їди до $7,14 \pm 0,64$ ммоль/л та $10,3 \pm 0,54$ ммоль/л відповідно (при $p < 0,05$). Спостерігається вірогідне зниження рівня фруктозаміну - до $2,3 \pm 0,34$ ммоль/л ($p < 0,01$). Після курсу лікування ербісолом показники вуглеводного обміну поліпшилися при тій самій дозі інсуліну, а у 7 хворих її було знижено на 4-8 ОД. В контрольній групі, що складалася з 12 обстежених, які не приймали ербісолу, а перебували на звичайному лікуванні, компенсації досягнуто у 7 хворих, при цьому середня доза інсуліну підвищена на 6 ОД.

Лікування ербісолом сприяє гальмуванню процесів перекисного окислення ліпідів, зменшенню вмісту вторинних продуктів ліпідної пероксидації у ЛПВГ та еритроцитах: рівень МДА еритроцитів знижується до $6,55 \pm 0,61$ мкмоль/мл після курсу ербісолу, МДА ЛПВГ - до $1,3 \pm 0,4$ ммоль/л ($p < 0,05$). Виявлено позитивний вплив ербісолу на вміст холестерину плазми крові, який знизився до $4,98 \pm 0,58$ ммоль/л ($p < 0,1$). Оцінюючи зміну показників білкового обміну, виявлено підвищення рівня загального білка крові після лікування: до лікування - $72,4 \pm 1,3$ г/л, після - $75,6 \pm 0,91$ г/л ($p < 0,05$). Зменшилася частота випадків кетоацидозу. Після курсу ербісолу у хворих, схильних до кетоацидозу, він не реєструвався протягом 2 міс.

Погіршення скорочувальної здатності міокарда, зниження фракції викиду (EF) зареєстровано у 68,4% хворих на цукровий діабет. Це підтверджується збільшенням передньо-заднього розміру лівого шлуночка під час діастолі та систолі у 14 (36,8%) і 19 (50%) обстежених відповідно. Під впливом лікування скорочувальна здатність міокарда поліпшується у 76,3% хворих. Фракція викиду підвищувалась у деяких хворих на 23%, а у 39,5% вона досягла норми. Достовірно змінюється середній показник

фракції викиду (FF): з $53,47 \pm 1,55\%$ до лікування до $57,87 \pm 1,34\%$ після нього ($p < 0,05$).

При цукровому діабеті підвищується тонус міокарда після лікування, про що свідчить тенденція до зменшення передньо-заднього розміру лівого шлуночка під час діастолі у 16 (42,1%) хворих, а також під час систолі у 25 (65,79%) хворих, хоча зміни цього показника були недостовірними ($p > 0,1$). Після курсу лікування спостерігається тенденція до зменшення маси міокарда з $131,27 \pm 4,6$ г до $122,9 \pm 3,31$ г, а також до збільшення швидкості циркуляторного скорочення волокон його (з $0,97 \pm 0,037$ с⁻¹ до $1,15 \pm 0,049$ с⁻¹) і відповідно до зменшення тривалості скорочення задньої стінки лівого шлуночка. Спостерігається, хоча й недостовірна, тенденція до збільшення ударного та хвилинного об'ємів. Інші показники ехокардіограм практично не змінювалися і не відрізнялись від даних, отриманих під час обстеження до лікування. Поліпшення скорочувальної здатності міокарда у контрольній групі спостерігалось рідше.

Під час традиційного лікування лише дещо збільшився ударний об'єм серця і намітилася тенденція до зростання фракції викиду.

У частини хворих на цукровий діабет та ІХС після лікування зменшувалась частота та інтенсивність болю в ділянці серця, знижувалась потреба у антиангінальних препаратах.

У хворих з діабетичною ангіопатією нижніх кінцівок, окрім регресії клінічних ознак, відзначалися зміни на краще реографічних показників. У цих хворих поліпшувалося кровонаповнення судин, нормалізувався тонус дрібних та середніх судин, інтенсифікувався венозний відтік. Ангіопротективна дія ербісолу виражена у хворих з функціональною стадією діабетичної ангіопатії.

Висновок

Таким чином, ербісол у хворих на цукровий діабет дає досить помітний терапевтичний ефект, у комплексі з цукрознижуючими препаратами сприяє компенсації хвороби, стабілізує перебіг її, сприяє зменшенню прояву клінічних симптомів, поліпшує працездатність хворих, сприяє нормалізації ліпідного та вуглеводного обмінів, позитивно впливає на серцево-судинну систему. Він забезпечує також виражений ангіо- та гепатопротекторний ефект. Це свідчить про доцільність розширення показань його застосування у хворих на цукровий діабет. Препарат ефективний при ІЗЦД та ІНЦД. Отримані результати дозволяють рекомендувати ербісол для широкого використання у комплексній терапії хворих на цукровий діабет.

Література

1. Николаенко А.Н. Основные направления в создании и внедрении нового лекарственного препарата эрбисол // Новый украинский лекарственный препарат эрбисол: Тез.докл. К., 1994, 4-9.
2. Рейнгардт Б.К., Фомина А.А., Шипулин В.П. Опыт применения эрбисола в клинике внутренних болезней // Новый украинский лекарственный препарат эрбисол: Тез.докл. К., 1994, 9-12.
3. Шипулин В.П., Николаенко А.Н., Фомина А.А. и др. Оценка эффективности нового отечественного препарата эрбисол у больных хроническим гепатитом // Врач.дело. 1995, № 1-2, 55-59.

4. Сухарев И.И., Медвецкий Е.Б., Никульников П.Н. Эрбисол в комплексном лечении гнойных ран и трофических язв в хирургии сосудов //Новый украинский лекарственный препарат эрбисол: Тез.докл. К., 1994, 15-18.
5. Борисенко А.В., Данченко А.Н. Можливості і перспективи застосування препарату ербисол в терапевтичній стоматології //Новый украинский лекарственный препарат эрбисол: Тез. докл. К., 1994, 22-23.
6. Вовк А.Д., Громашевская Л.Л., Татьянаенко Н.В. Опыт лечения эрбисолом больных вирусным гепатитом В //Новый украинский лекарственный препарат эрбисол: Тез. докл. К., 1994, 12-14.
7. Боднар П.М., Доніш Р.М., Николаєнко О.М. та ін. Препарат ербисол та його застосування при діабеті //Ліки. 1995, N 2, 66-68.
8. Тодоров И. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. София: Медицина и физкультура, 1963. 876 с.
9. Гончаренко М.С., Латинова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов //Лаб.дело. 1985, N 1, 60-61.
10. Koberstein K., Sowodniek B., Ebinger Th. Methodische und klinische Aspekten zur Fructosaminbestimmung mit einem verbesserten Test //Lab.Med. 1980, N 14, 460-465.
11. Standefer J.C., Eaton K.P. Evolution of colometric method for glycosilated hemoglobin //Clin. Chem 1983, 29, N 1, 135-137.

Клиническая оценка эффективности препарата “Эрбисол” при сахарном диабете

П.Н. Боднар, Н.И. Лопушенко

Национальный медицинский университет им.А.А.Богомольца, Киевский городской клинический эндокринологический диспансер, 252004 Киев

В статье рассматривается действие нового отечественного препарата “Эрбисол”, производимого из эмбриональной ткани крупного рогатого скота, на течение сахарного диабета. Обследовано 60 больных в возрасте 16-65 лет. Контрольная группа состояла из 12 пациентов, лечившихся по традиционной схеме. Эрбисол был назначен в течение 20 сут по 2 мл внутримышечно в сутки. Препарат у больных сахарным диабетом имеет достаточный терапевтический эффект, в комплексе с сахароснижающими препаратами способствует компенсации проявлений диабета, оказывает выраженное ангио- и гепатопротекторное действие, способствует нормализации липидного и углеводного обменов. Полученные результаты позволяют рекомендовать эрбисол для широкого применения в комплексной терапии сахарного диабета.

Clinical evaluation of the effectiveness of erbisol in diabetic patients

P.M. Bodnar, N.I. Lopushenko

A.A.Bogomolets National Medical University, Kyiv Cityish Clinical Endocrinological Health Centre, 252004 Kyiv, Ukraine

In the article our attention was attracted by the effect of new home preparation, erbisol which is extracted from the calf embrional tissue on course of diabetes mellitus. The studied population comprised 60 diabetic patients, who had received erbisol, and 12 diabetic patients with usual complex treatment as control group, from 16 to 65 years old. Diabetic patients received erbisol (2 ml) intramuscularly for twenty days once a day. According to our observations erbisol shows positive clinical effect, promotes diabetes compensation in combination with hypoglycemic drugs. The results show hepato- and angioprotective properties of erbisol. The treatment with erbisol improves lipid and carbohydrate metabolism. We recommend to use erbisol widely as a part of complex antidiabetic treatment.

ОБМІН НЕЙРОМЕДІАТОРІВ У МОЗКУ МИШЕЙ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ ІМУНОКОРЕКТОРІВ ТИМІЧНОЇ ПРИРОДИ

*В.Я. Кононенко, Т.М. Мишуніна, Л.М. Калинська,
І.В. Зайченко, Л.І. Пількевич, М.І. Яцик, В.Ф. Чеботарьов,
Н.М. Степура*

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

У тканині півкуль великого мозку досліджено вміст та обмін медіаторів і модуляторів синаптичної передачі в нормі, при цукровому діабеті, а також у разі введення мишам препаратів за грудинної залози. Доведено, що розвиток стрептозотоцинового чи алоксанового діабету супроводжувався зменшенням концентрації серотоніну і підвищенням рівня гістаміну, активності ангіотензинперетворюючого ферменту та аденозиндезамінази. Активність глутаматдекарбоксилази знижувалася лише в мозку мишей зі стрептозотоциновим діабетом. У разі введення тимічних препаратів спостерігали нормалізацію активності ангіотензинперетворюючого ферменту в мозку мишей з різними моделями цукрового діабету під впливом як тимоптину, так і тимогену, нормалізацію під впливом тимогену активності аденозиндезамінази у тварин зі стрептозотоциновим та вмісту гістаміну у мишей з алоксановим діабетом, а також зменшення активності глутаматдекарбоксилази в мозку мишей з останнім під впливом обох препаратів. У інтактних тварин препарати не впливали на рівень серотоніну і підвищували активність глутаматдекарбоксилази. Крім того, тимоген зменшував рівень гістаміну, а тимоптин підвищував активність ангіотензинперетворюючого ферменту та аденозиндезамінази.

Ключові слова: експериментальний діабет, препарати за грудинної залози, великий мозок, аденозин, ангіотензин, гамма-аміноасляна кислота, гістамін, серотонін.

Під час вивчення механізмів розвитку імунної патології особливе значення мають дослідження зв'язку між основними регуляторними системами - нервовою, ендокринною та імунною, зважаючи на сучасну концепцію про триєдність цих систем у регуляції гомеостазу та ключових фізіологічних функцій організму [1]. Зокрема, вважають, що порушення взаємодії медіаторів нейроендокринної та імунної систем можуть бути основою виникнення певних захворювань [2]. Проте лише поодинокі праці присвячені вивченню ролі деяких медіаторів ЦНС, які можуть здійснювати та значною мірою визначати функціональні зв'язки між нервовими, гормональними та імунними факторами регуляції в нормі [3].

Про роль біоактивних сполук у міжсистемній інтеграції при діабеті відомо ще менше. Значною мірою це пов'язано з малочисельністю даних про стан медіаторних систем мозку при експериментальному діабеті: у невеликому об'ємі вивчали вміст гальмівних та збуджувальних амінокислот [4], активність ферментів їх обміну [5], рівень моноамінів [6-10] та транспорт деяких медіаторів [11]. У літературі немає даних про можливу участь цих та інших нейромедіаторів або нейромоделюляторів у механізмах розвитку імунopatології при діабеті. Крім того, це обмежує потенціальні можливості

корекції імунodefіциту при цукровому діабеті шляхом фармакологічного впливу на центральні механізми.

Цікавим у досліджуваній проблемі є вивчення впливу тимічних факторів на центральні ланки нейрогуморальної регуляції. У загрудинній залозі синтезується ціле сімейство пептидних гормонів та низькомолекулярних гуморальних факторів, які проявляють регуляторну дію на імунну та нейроендокринну систему, але і, в свою чергу, зазнають впливу гормонів гіпоталамо-гіпофізарної системи та периферичних ендокринних органів. З'ясування патофізіологічних особливостей дії тимічних факторів, зокрема на стан медіаторних систем мозку, може бути корисним для розробки нових методів лікування багатьох захворювань [12], у тому числі імунodefіциту при цукровому діабеті.

Беручи до уваги сказане вище, метою роботи було вивчити обмін у півкулях великого мозку мишей окремих медіаторів та модуляторів синаптичної передачі в нормі, при експериментальному алоксановому та стрептозотоциновому діабеті, а також у тварин, які як іммунокоректори отримували препарати загрудинної залози - тимоптин і тимоген. Досліджували вміст серотоніну і гістаміну, а також активність ферментів: протеолітичного процесингу ангіотензину II - ангіотензинперетворюючого ферменту, аденозиндезамінази, що займає одне з центральних місць у метаболізмі аденозину, та глутаматдекарбоксілази - ферменту синтезу гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК).

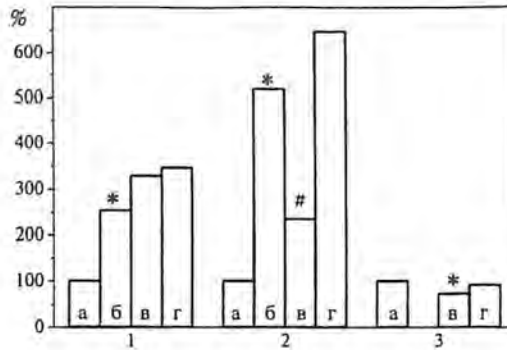
Матеріали і методи

Досліди проводили на мишах-самцях лінії С 57 В1/6 з масою тіла 18-20 г. Розвиток цукрового діабету провокували внутрішньочеревним п'ятиразовим введенням стрептозотоцину у дозі 50 мг/кг маси тіла або одноразовим введенням алоксану в дозі 200 мг/кг маси. Через 14 діб тваринам, у яких розвивався цукровий діабет (рівень цукру у крові становив 13,75-16,50 ммоль/л), 4 рази (через добу) вводили тимоптин або тимоген у дозі 0,1 мкг. Мишей досліджували через 3 доби після останньої ін'єкції препаратів. У іншій серії дослідів тимічні препарати у вказаних дозах та кратності вводили інтактним тваринам. За контроль правили інтактні миші.

У тканині півкуль великого мозку за допомогою флюорометричних методів визначали вміст гістаміну [13] та серотоніну [14]. Гомогенати, приготовані на 0,32 М розчині сахарози, центрифугували при 1000 g протягом 10 хв для видалення кровоносних судин і сполучної тканини. В одержаному супернатанті визначали: активність ангіотензинперетворюючого ферменту за допомогою флюоресцентного методу, використовуючи як субстрат гіпурил-гістидил-лейцин [15]; активність аденозиндезамінази за фенол-гіпохлоритним методом за кількістю аміаку, що утворювався ферментативним шляхом з аденозину [16]; активність глутаматдекарбоксілази за флюорометричним методом за кількістю ГАМК, що утворювалася з глутамінової кислоти [17]. Активність ферментів розраховували на 1 мг білка, вміст якого визначали за однією з модифікацій методу Лоурі [18]. Одержані дані опрацьовували статистично, використовуючи t-критерій Стьюдента [19].

Результати досліджень та їх обговорення

Розвиток експериментального діабету у мишей супроводжувався зменшенням концентрації серотоніну ($0,50 \pm 0,021$ - $0,36 \pm 0,024$ нмоль/г та $0,52 \pm 0,027$ - $0,39 \pm 0,037$ нмоль/г відповідно при стрептозотоциновому та алоксановому діабеті; $P < 0,05$) та підвищенням рівня гістаміну у півкулях великого мозку (мал.). Введення тимічних препаратів як інтактним тваринам, так і з експериментальним діабетом не змінювало концентрацію серотоніну. Тимоптин не впливав на концентрацію гістаміну у інтактних



Зміна вмісту гістаміну у півкулях великого мозку після введення препаратів за грудинної залози інтактним та ураженим діабетом мишам: 1 - стрептозотоциновий діабет, 2 - алоксановий діабет, 3 - інтактні; а - контроль; б - діабет; в - введення тимогену; г - введення тимоптину. * - $P < 0,05$ порівняно з контролем, # $P < 0,05$ порівняно з показниками хворих на діабет тварин.

та діабетичних тварин, а тимоген помітно зменшував концентрацію гістаміну у півкулях великого мозку інтактних мишей та мишей з алоксановим діабетом.

Активність ангіотензинперетворюючого ферменту підвищувалася у півкулях великого мозку мишей з алоксановим та менш виразно ($0,1 > P > 0,05$) - у мишей зі стрептозотоциновим діабетом (табл. 1). Введення досліджуваних тимічних препаратів призводило до нормалізації зміненої активності ангіотензинперетворюючого ферменту в мозку хворих на діабет тварин, у той час як їх введення інтактним мишам мало ефект лише у разі застосування тимоптину: активність ферменту зростала.

Як алоксановий, так і стрептозотоциновий діабет супроводжувався підвищенням активності аденозіндезамінази у півкулях великого мозку мишей (табл. 1). Уведення тимогену нормалізувало активність ферменту обміну аденозину у мишей зі стрептозотоциновим діабетом, у мишей з алоксановим діабетом активність аденозіндезамінази залишалася підвищеною. Вплив тимоптину на активність досліджуваного ферменту у хворих на діабет тварин не спостерігався, хоча у інтактних мишей саме він, а не тимоген, підвищував активність аденозіндезамінази у півкулях мозку.

Активність глутаматдекарбоксилази значно зменшувалася у півкулях великого мозку мишей зі стрептозотоциновим діабетом, тоді як у тварин з алоксановим діабетом вона не відрізнялася від контролю (табл. 2). Уведення тимічних препаратів не мало нормалізуючого впливу на активність ферменту синтезу ГАМК: вона залишалася на низькому рівні у півкулях мозку мишей зі стрептозотоциновим діабетом та зменшувалася у мозку мишей з алоксановим. Уведення цих препаратів інтактним мишам підвищувало активність глутаматдекарбоксилази у півкулях великого мозку.

Таким чином, розвиток стрептозотоцинового діабету призводив до значних змін в обміні і вмісті у півкулях великого мозку всіх нейроактивних речовин, які були об'єктом вивчення. Одержані дані свідчать про зниження рівнів серотоніну, ГАМК та аденозину та підвищення вмісту гістаміну та ангіотензину II.

Таблиця 1. Активність ангіотензинперетворюючого ферменту (нмоль гіс-лей за 1 хв на 1 мг білка) та аденозіндезамінази (нмоль аміаку за 1 хв на 1 мг білка) у мозку мишей після введення препаратів за грудинної залози ($M \pm m$, $n = 4-6$)

Умови експерименту	Активність	
	ангіотензинперетворюючого ферменту	аденозіндезамінази
Контроль	0,27 ± 0,013	0,85 ± 0,08
Стрептозотоциновий діабет	0,32 ± 0,023	1,15 ± 0,10*
Діабет + тимоген	0,27 ± 0,012	0,86 ± 0,07**
Діабет + тимоптин	0,26 ± 0,016	0,91 ± 0,10
Контроль	0,31 ± 0,029	0,25 ± 0,012
Алоксановий діабет	0,42 ± 0,024*	0,32 ± 0,012*
Діабет + тимоген	0,28 ± 0,009**	0,38 ± 0,031
Діабет + тимоптин	0,28 ± 0,012**	0,29 ± 0,025
Контроль	0,28 ± 0,007	0,85 ± 0,08
Тимоген	0,29 ± 0,010	0,95 ± 0,06
Тимоптин	0,32 ± 0,012*	1,21 ± 0,06*

Тут і далі * $P < 0.05$ порівняно з контролем. ** $P < 0.05$ порівняно з показниками хворих на діабет.

Таблиця 2. Активність глутаматдекарбоксилази у мозку мишей після введення препаратів за грудинної залози ($M \pm m$, мкмоль ГАМК за 1 год на 1 мг білка, $n = 4-8$)

Умови експерименту	Активність ферменту
Контроль	0,32 ± 0,028
Стрептозотоциновий діабет	0,18 ± 0,008*
Діабет + тимоген	0,21 ± 0,020
Діабет + тимоптин	0,18 ± 0,010
Контроль	0,64 ± 0,043
Алоксановий діабет	0,65 ± 0,036
Діабет + тимоген	0,47 ± 0,018**
Діабет + тимоптин	0,45 ± 0,026**
Контроль	0,32 ± 0,028
Тимоген	0,47 ± 0,018*
Тимоптин	0,50 ± 0,019*

Слід зазначити, що стрептозотоциновий діабет супроводжується зниженням рівня та обміну серотоніну в багатьох структурах мозку: гіпоталамусі, гіпокампі, середньому мозку, стовбурі, корі півкуль [6-8, 10]. Зміни вмісту моноамінів спостерігалися також у мозку щурів з преддіабетом [9]. На тлі стрептозотоцинового діабету, як і в наших дослідженнях, виявлено зниження синтезу ГАМК у корі [5], вміст цього медіатора різко падав у передньому, середньому та задньому мозку амфібій з алоксановим діабетом [4]. Захват ГАМК ізольованими синаптосомами мозку уражених діабетом

щурів підвищувався, а вивільнення не змінювалося [11]. Підвищення активності ангіотензинперетворюючого ферменту у півкулях мозку, яке зафіксоване при діабеті у мишей в цьому дослідженні, збігається з підвищенням активності ферменту у гіпоталамусі та гіпофізі щурів при стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті, що засвідчено нами раніше [20].

Отже, дані літератури та отримані нами результати свідчать про вплив цукрового діабету на вміст, обмін та транспорт медіаторів і модуляторів синаптичної передачі в різних структурах мозку та гіпофізі тварин. Зміни вмісту та обміну найважливіших нейромедіаторів та нейромодуляторів мозку пов'язані передусім з порушенням вуглеводного обміну в організмі [21] і можуть відігравати певну роль у виникненні та розвитку різноманітної патології ЦНС, яка часто спостерігається при цукровому діабеті (енцефалопатії, гіпертензії, підвищена збудженість, порушення кровообігу, судинної реактивності та мікросудинного обміну, тощо) [22].

Зокрема, модуляція стану медіаторних систем у мозку тварин при цукровому діабеті може мати певні наслідки для реалізації механізмів контролю за нейроендокринними процесами. У хворих на діабет тварин не просто змінюється секреція гіпоталамічних та гіпофізарних гормонів, гормонів периферичних ендокринних залоз [23-26], а порушується чутливість центральних ланок системи гіпоталамус-гіпофіз до стимулюючих або гальмівних чинників та механізми зворотного зв'язку [27]. Медіатори і модулятори, які вивчалися в цьому дослідженні, беруть безпосередню участь у регуляції функції гіпоталамо-гіпофізарної системи [28], і тому не виключено, що зміни їх обміну та вмісту у мозку тварин при експериментальному діабеті можуть грати роль у патогенезі порушень секреції гормонів. Так, доведено, що ангіотензин та гістамін стимулюють вивільнення КРФ, АКТГ і кортикостероїдів [29, 30], тоді як ГАМК гальмує секрецію цих гормонів [28]. Виходячи з одержаних нами результатів та даних літератури про збільшення глюко- та мінералокортикоїдної функції надниркових залоз у хворих на діабет тварин [27], можна припустити, що підвищення вмісту гістаміну та синтезу ангіотензину II і зниження утворення ГАМК у структурах мозку при діабеті є одними з нейрохімічних факторів, які сприяють гіперпродукції контрінсулярних гормонів.

Експериментальний діабет, як відомо, супроводжується розвитком стану імунодефіциту [27, 31]. Про можливу участь нейромедіаторів та модуляторів центральної нервової системи в регуляції імунних процесів свідчать, на наш погляд, дані про зміну вмісту гістаміну під впливом тимогену, активності ангіотензинперетворюючого ферменту та аденозиндезамінази під впливом тимоптину в мозку інтактних мишей, а також про нормалізацію вмісту гістаміну у мишей з алоксановим діабетом та активності аденозиндезамінази у мишей зі стрептозотоциновим діабетом при введенні тимогену, активності ангіотензинперетворюючого ферменту у мишей як з алоксановим, так і з стрептозотоциновим діабетом при введенні обох препаратів.

Деякі особливості впливу зазначених тимічних препаратів на обмін медіаторів мозку зумовлені, певно, різницею їх складу та біологічної дії. Тимоптин - це суміш нативних поліпептидів з високим вмістом α_1 -тимозину, найактивнішого гормонального поліпептиду загрудинної залози. Тимоген

за складом ближчий до тимозину фракції 5, він може діяти на рівні гіпоталамо-гіпофізарної системи шляхом зміни синтезу або секреції ЛГ, АКТГ, і, можливо, інших гормонів [32]. Дія інших поліпептидних факторів загрудинної залози, зокрема тактивину, також може бути опосередкована впливом на структури ЦНС (гіпоталамус, гіпокамп); він проявляє антистресорні властивості, які обумовлені присутністю в його складі β -ендорфінної активності [32, 33]. Отже, нормалізуючий вплив тимогену і тимоптину на деякі параметри обміну нейромедіаторів і нейромоделюляторів мозку хворих на діабет мишей може сприяти нормалізації нейроендокринних взаємовідносин, порушених в умовах хвороби.

Цікавими виявилися результати досліджень впливу тимічних препаратів на активність глутаматдекарбоксілази в мозку мишей. З одного боку, при алоксановому діабеті, незважаючи на гіперглікемію, не спостерігали порушень інтенсивності синтезу ГАМК, з другого, при стрептозотоциновому діабеті, який викликає значно ширший спектр порушень імунних реакцій, ніж алоксановий, активність ферменту була помітно знижена, але введення тимогену і тимоптину не супроводжувалося нормалізацією інтенсивності синтезу медіатора, а у інтактних тварин препарати спричинювали протилежні зміни активності глутаматдекарбоксілази. Ці дані, враховуючі відомості літератури про роль глутаматдекарбоксілази мозку в розвитку аутоімунних захворювань ЦНС [34], а також про вплив факторів загрудинної залози на функціональні характеристики нейронних структур [33], можуть вказувати як на певну участь ГАМК-ергічної системи в регуляції імунних реакцій, так і на безпосередній вплив тимогену і тимоптину на нейрохімічні процеси в клітинах мозку.

Таким чином, проведені дослідження свідчать про істотну перебудову обміну різних медіаторів та модуляторів синаптичної передачі, що визначає порушення їх взаємовідносин та участь у патогенезі не тільки енцефалопатій та нейроендокринних ускладнень, але й, можливо, в розвитку імунопатології при цукровому діабеті.

Література

1. Акмаев И.Г. Современные представления о взаимодействиях нервной, эндокринной и иммунной систем // Морфология. 1993, N 9, с. 36.
2. Weigent D., Blalock J. Association between the neuroendocrine and immune systems // J. Leukocyte Biol. 1995, 58, N 2, 137 - 150.
3. Walker R., Codd E. Neuroimmunomodulatory interactions of norepinephrine and serotonin // J. Neuroimmunology. 1985, 10, N 1, 41 - 58.
4. Nayelmuunnisa N., Nagarai J. Neurochemical correlates of alloxan diabetes: Gamma amino butyric acid of amphibian brain // Experientia. 1977, 33, N 9, 1186 - 1187.
5. Galanopoulos E., Lellos V., Papadakis M et al. Effects of fasting and diabetes on some enzymes and transport of glutamate in cortex slices or senaptosomes from rat brain // Neurochem. Res. 1988, 13, N 3, 243 - 248.
6. Ring T., Rohrbach D., Miller A. et al. Reducts hypothalamic serotonin synthesis and serum luteinizing hormone level in streptozotocin-diabetic male rats // Biomed. Res. 1987, 8, N 3, 137 - 143.
7. Chen C., Jang J. Effects of short and long-lasting diabetes mellitus on mouse brain monoamines // Brain Res. 1991, 552, N 1, 175 - 179.

8. Atienza G., Míguez J., Martín F., Aldegunde M. Differential changes in serotonin metabolism in different brain regions of streptozotocin-diabetic rats // *Biogenic Amines*. 1995, **11**, N 2, 123 - 135.
9. Баранов В.Г., Пропп М.В., Соколоверова Т.М. и др. Содержание дофамина, норадреналина и серотонина в различных отделах гипоталамуса при аллоксановом диабете // *Пробл. эндокринологии*. 1980, N 3, 43 - 48.
10. Yang Y., Lin M. Brain serotonin depletion attenuates diabetogenic effects of streptozotocin // *Amer. J. Physiol.* 1995, **31**, N 5, E839 - E844.
11. Obrosova I., Kuchmerovskaya T., Parkhomets P. et al. Neurotransmitters uptake and release by brain cortex synaptosomes of diabetic rats // *Diabetologia*. 1991, **34**, Suppl. N 2, p. 21.
12. Millington G., Buckingham J. Thymic peptides and neuroendocrine-immune communication // *J. Endocrinol.* 1992, **133**, N 2, 163 - 168.
13. Jakobowitz D., Richardson J. Method for the rapid determination of norepinephrine, dopamine and serotonin in the same brain region // *Pharmacol. Biochem. Behaviour*. 1979, **8**, N 5, 515 - 519.
14. Соминский В.Н., Окунь К.В., Калниня И.Э. и др. Флюориметрическое определение гистамина и гистидина в одном образце. // *Лаб. дело*. 1984, N 4, 241 - 243.
15. Vang H., Neff N. Distribution and properties of angiotensin converting enzyme of rat brain // *J. Neurochem.* 1972, **19**, N 10, 2443 - 2450.
16. Магарламов А.Г. Определение активности аденозиндезаминазы по фенол-гипохлоритной реакции // *Укр. биохим. журн.* 1980, **52**, N 4, 446 - 452.
17. Graham I., Aprison M. Distribution of some enzymes associated with the metabolism of glutamine in rat spinal cord // *J. Neurochem.* 1969, **16**, N 4, 559 - 566.
18. Hartree T. Determination of protein: A modification of Lowry method that gives a linear photometric response // *Anal. Biochem.* 1972, **48**, N 2, 422 - 427.
19. Ойвин М.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // *Патол. физиология и эксперим. терапия*. 1967, N 4, 76 - 86.
20. Калинська Л.Н. Вивчення ренін-ангіотензинової та калікреїнкінінової систем мозку, гіпофіза і крові при експериментальних ендокринних патологіях // *Фундаментальні механізми розвитку патологічних процесів*. Дніпропетровськ, 1992, с. 51.
21. Третьяк Т.М., Куликов Ф.В. Инсулин и мозг // *Успехи соврем. биол.* 1990, **109**, N 2, 252 - 262.
22. McCall A. The impact of diabetes on the CNS // *Diabetes*. 1992, **41**, N 5, 557 - 570.
23. Ельцева Т.Е., Адамская Е.И., Перышкова Т.А., Бабичев В.Н. Нарушение нейроэндокринной регуляции полового поведения самцов крыс со стрептозоточиновым диабетом // *Пробл. эндокринологии*. 1992, **38**, N 6, 46 - 50.
24. Колесник Ю.М., Орестенко Ю.Н., Абрамов А.В. Состояние вазопрессин-, окситоцин- и кортиколиберинсинтезирующих структур гипоталамуса при экспериментальном сахарном диабете у крыс различного пола // *Пробл. эндокринологии*. 1993, **39**, N 1, 45 - 48.
25. Boujon C., Bestetti G., Abramo F. et al. The reduction of circulating growth hormone and prolactin in streptozotocin-induced diabetic male rats is possibly caused by hypothalamic rather than pituitary changes // *J. Endocrinol.* 1995, **145**, N 1, 19 - 26.
26. Leidy J., Cugini C., Driscoll H., Chertow B. Time course of hypothalamic growth hormone-releasing hormone and somatostatin content in streptozotocin diabetic rats: Evidence for early changes in hypothalamic regulation // *Brain Res.* 1995, **681**, N 1-2, 84 - 90.
27. Scribner K., Walker C., Cascio C., Dallman M. Chronic streptozotocin diabetes in rats facilitates the acute stress response without altering pituitary or adrenal responsiveness to secretagogues // *Endocrinology*. 1991, **129**, N 1, 99 - 108.
28. Tuomisto J., Mannisto P. Neurotransmitter regulation of anterior pituitary hormones // *Pharmacol. Rev.* 1985, **37**, N 3, 249 - 332.
29. Kjaer A., Larsen P., Knigge U., Warberg J. Histaminergic activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis // *Endocrinology*. 1994, **135**, N 3, 1171 - 1177.

30. Muracami K., Ganong W. Site at which angiotensin II acts to stimulate ACTH secretion in vitro // *Neuroendocrinology*. 1987, **46**, N3, 231 - 236.
31. Чеботарев В.Ф., Зубкова Г.А., Степура Н.Н. Эндокринная функция тимуса и показатель функциональной активности нейтрофилов на ранних этапах развития негенетически обусловленного сахарного диабета в крыс ВВ // *Доп. НАН України*. 1995, N 2, 127 - 129.
32. Дранник Н.Н., Гриневич Ю.А., Дзизик Г.М. Иммунотропные препараты. К.: Здоров'я, 1994, 287 с.
33. Абрамов В.В., Хинченко В.И., Любославская П.Н., Сафронова О.Г. Влияние тактивина на формирование условного и безусловного рефлексов избегания у крыс линии Август // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 1992, **113**, N 4, 397 - 399.
34. Mcrae B., Vanderlugt., Dalcanto M., Miller S. Functional evidence for epitope spreading in the relapsing pathology of experimental autoimmune encephalomyelitis // *J. Exper. Med.* 1995, **182**, N 1, 75 - 85.

Обмен нейромедиаторов в мозге мышей с экспериментальным сахарным диабетом и при введении иммунокорректоров тимической природы

В.Я. Кононенко, Т.М. Мишунина, Л.Н. Калининская, И.В. Зайченко, Л.И. Пилькевич, М.И. Яцык, В.Ф. Чеботарев, Н.Н. Степура

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

В ткани полушарий большого мозга изучено содержание и обмен медиаторов и модуляторов синаптической передачи в норме, при диабете, а также при введении мышам препаратов загрудинной железы. Показано, что развитие стрептозотоцинового или алоксанового диабета приводило к уменьшению концентрации серотонина и повышению уровня гистамина, активности ангиотензинпревращающего фермента и аденозиндеаминазы. Активность глутаматдекарбоксилазы снижалась лишь в мозге мышей со стрептозотоциновым диабетом. При введении препаратов загрудинной железы наблюдали нормализацию активности ангиотензинпревращающего фермента в мозге мышей с различными моделями диабета под влиянием как тимоптина, так и тимогена, нормализацию при введении тимогена активности аденозиндеаминазы у животных со стрептозотоциновым и содержания гистамина у мышей с алоксановым диабетом, а также снижение активности глутаматдекарбоксилазы в мозге мышей с последним при действии обоих препаратов. У интактных мышей препараты не влияли на уровень серотонина и повышали активность глутаматдекарбоксилазы; кроме того, тимоген уменьшал уровень гистамина, а тимоптин повышал активность ангиотензинпревращающего фермента и аденозиндеаминазы.

Neuromediators metabolism in the brain of mice with experimental diabetes and under administration of immunocorrector of thymic origin

Kononenko V.Ya., Mishunina T.M., Kalinskaya L.N., Zaichenko I.V., Pilkevich L.I., Yatsyk M.I., Chebotarev V.F., Stepura N.N.

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

The content and metabolism of mediators and modulators of synaptic transmission in health, in experimental diabetes, and under administration of thymus preparations were studied in mouse cerebral hemisphere tissue. It has been shown that development of streptozotocin- or alloxan-induced diabetes led to a decrease in serotonin concentration and an increase in histamine level, angiotensin-converting enzyme and adenosine deaminase activities. Glutamate decarboxylase activity has decreased only in the brain of mice with streptozotocin-induced diabetes. When administering thymus preparations, normalization of angiotensin-converting enzyme activity in the brain of mice with different diabetes models under the influence of both thymoptin and thymogen was noted; when administering thymogen, normalization of adenosine deaminase activity in animals with streptozotocin-induced diabetes and histamine content in mice with alloxan-induced diabetes, as well as a decrease of glutamate decarboxylase activity in the brain of mice with alloxan diabetes under the effect of both preparations was revealed. In intact mice the preparations did not influence serotonin level and increased glutamate decarboxylase activity; in addition, thymogen decreased histamine level, and thymoptin increased angiotensin-converting enzyme and adenosine deaminase activities.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ЗВЕНЬЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИАБЕТЕ: ЭФФЕКТ ПИКАМИЛОНА

Т.М. Кучмеровская

Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины, 252030 Киев

Исследование процессов поглощения и высвобождения нейромедиаторов синапсами коры большого мозга крыс показало, что поглощение [2-¹⁴C]серотонина и [2-¹⁴C]дофамина уменьшено на 40 и 15% соответственно, в то время как поглощение [U-¹⁴C]ГАМК увеличено на 60% у стрептозотоциндиабетических животных по сравнению с контролем. Высвобождение исследуемых медиаторов из предварительно нагруженных ними синапсом при диабете увеличено. Поглощение ГАМК нормализовалось при введении пикамилона (по 200 мг/кг массы тела в течение 14 сут), в то время как на поглощение серотонина и дофамина препарат оказывал незначительное действие. Обнаружено корригирующее влияние пикамилона на полиоловый путь обмена глюкозы в мозге и седалищном нерве и на активность Na⁺,K⁺-АТФазы в исследуемых структурах нервной системы. На основании полученных результатов можно предположить, что модулирующее действие пикамилона на процессы нейротрансмиссии в мозге при сахарном диабете опосредованно NAD. Высказывается предположение о возможности применения пикамилона в клинике для лечения диабетической полинейропатии.

Ключевые слова: стрептозотоциновый сахарный диабет, пикамилон, синапсомы, седалищный нерв, медиаторы, Na⁺,K⁺-АТФаза.

Известно, что инсулинзависимому диабету предшествует преддиабетическое селективное аутоиммунное разрушение β-клеток поджелудочной железы, то есть развитие заболевания определено как генетически, так и факторами окружающей среды [1]. Среди осложнений сахарного диабета (ангиопатия, катаракта, нефропатия, полинейропатия и т.д.) одно из важных мест принадлежит полинейропатии, развитие которой приводит к нарушениям нервной системы и, в частности, расстройствам психики больных [2-4]. Данные литературы, описывающие поражения нервной системы при сахарном диабете касаются в основном изменений уровня нейромедиаторов, а также их обмена в мозге [5, 6]. Отмечены нарушения функционирования ацетилхолин-, серотонин- и норадренергической системы при сахарном диабете [7, 8]. Кроме того, наблюдаемое у больных сахарным диабетом нарушение кровообращения в мозге объясняют поражением церебральных сосудов, связанным с микрососудистыми и атеросклеротическими изменениями в организме [9]. Тем не менее, биохимические механизмы, которые лежат в основе нарушений нервной системы при сахарном диабете, полностью не изучены.

Наши предыдущие исследования показали, что содержание никотинамидадениндинуклеотида (NAD) в мозге больных сахарным диабетом животных снижено, в то время как рецепция нуклеотида синаптическими мембранами коры большого мозга увеличена [10]. В данной работе в целях расшифровки биохимических механизмов, лежащих в основе дисфункций нервной системы при сахарном диабете, изучено действие

пикамилаона как перспективного препарата для лечения диабетической полинейропатии.

Материалы и методы

Исследования были проведены на крысах-самцах линии Вистар. Масса тела животных составляла 130-160 г. Животные были разделены на 4 группы: I - контрольные животные; II - "стрептозототиндиабетические", III и IV - "стрептозототиндиабетические", получавшие пикамилон (натриевая соль никотиноил-ГАМК) в дозах по 20 и 200 мг/кг массы тела в сутки внутримышечно на протяжении 14 сут. Диабет вызывали однократной внутривентральной инъекцией стрептозототина (Sigma, 70 мг/кг массы тела). Через 1 мес после индукции болезни животных, у которых уровень глюкозы в крови был выше 14,5 ммоль/л, использовали в экспериментах. Корм и воду животные получали *ad libitum*. Субклеточные фракции мозга получали по методу Abita и соавторов. [11].

Для изучения процессов захвата и высвобождения медиаторов синапсомы коры большого мозга крыс нагружали [2-¹⁴C]серотонином (57 мКи/ммоль), [2-¹⁴C]дофамином (56 мКи/ммоль) и 4-амино-п[U-¹⁴C]ГАМК (228 мКи/ммоль) "Amersham" (Англия). Конечная концентрация медиаторов составляла 1,48, 0,26 и 0,71 мкМ соответственно. Для изучения захвата к суспензии синапсомы коры большого мозга крыс (0,5 мг белка) после ее предварительной инкубации на протяжении 5 мин прибавляли раствор медиатора. Инкубационная среда содержала, в мМ: NaCl-125; KCl-6; MgCl₂-1,43; CaCl₂ -1; глюкоза-10; трис-фосфатный буфер-30; pH 7,4. В инкубационную среду вносили 10⁻⁵ М ипрониазида - ингибитора моноаминоксидазы, или 10⁻⁵ М аминоксиуксусной кислоты - ингибитора аминобутират-трансаминазы, чтобы предотвратить расщепление меченых медиаторов. Инкубирование проводили в течение 10 мин при температуре 37° С и постоянном перемешивании.

Изучение высвобождения медиаторов в динамике проводили следующим образом. Предварительно нагруженные медиаторами синапсомы помещали в фильтрационные камеры с фильтрами GF/C "Whatman", через которые пропускали инкубационную среду выше описанного состава с помощью перистальтического насоса со скоростью 1 мл/мин. Высвободившуюся радиоактивность за каждую последующую минуту подсчитывали в сцинтилляционной жидкости ЖС-103 на спектрометре "SL-30", Intertechnique (Франция). Радиоактивность, поглощенную синапсомами на фильтрах, подсчитывали в сцинтилляционной жидкости ЖС-1. Поглощение и высвобождение медиаторов синапсомами выражали в процентах или импульсах за минуту на 0,5 мг белка.

Активность Na⁺, K⁺-АТФазы определяли в синапсоматах, синаптических мембранах и гомогенатах седалищного нерва [12]. В депротеинизированных экстрактах мозга и седалищного нерва, которые извлекали немедленно после декапитации, определяли содержание сорбитола [13]. Уровень белка определяли по Lowry и соавт. [14]. Статистический анализ полученных данных проводили, используя стандартный t-критерий Стьюдента для некоррелированных выборок [15].

Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования позволили обнаружить, что процессы захвата и высвобождения изучаемых медиаторов синапсоматами коры большого мозга крыс при сахарном диабете нарушены. То есть все три медиаторные системы, а именно серотонин-, дофамин- и ГАМК-ергическая, претерпевают функциональные изменения. Так, поглощение [2-¹⁴C]серотонина синапсоматами коры большого мозга у животных со стрептозототинным диабетом было на 40%, а - [2-¹⁴C]дофамина на 15% ниже соответствующего показателя контрольной группы, в то время как поглощение [U-¹⁴C]ГАМК увеличено на 60% (рис.1). Введение стрептозототиндиабетическим животным пикамилаона приводило к нормализации поглощения ГАМК синапсоматами коры большого мозга, в то время как на поглощение серотонина и дофамина его влияние было менее выраженным по

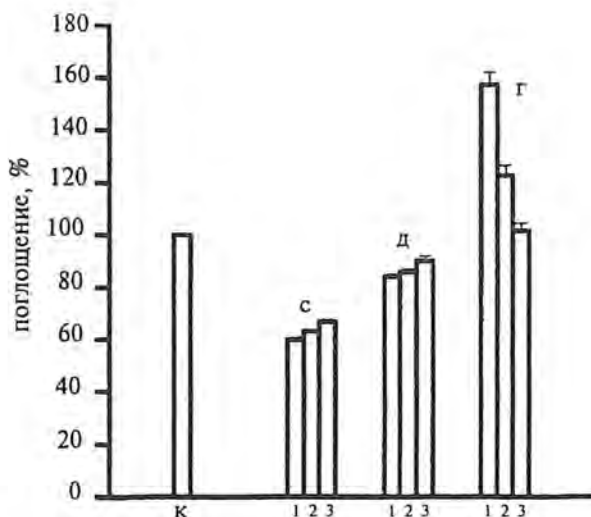


Рис.1. Поглощение [2-¹⁴C]серотонина (С), [2-¹⁴C]дофамина (Д) и [U-¹⁴C]ГАМК (Г) синапсосомами коры большого мозга животных с экспериментальным диабетом: К- контроль; 1- диабет; 2- на фоне диабета пикамилон 20 мг/кг; 3- на фоне диабета пикамилон 200 мг/кг.

сравнению с показателями животных, не получавших препарата. То есть действие пикамилона *in vivo* подобно таковому для 10^{-6} М NAD, вносимого в среду инкубации синапсом *in vitro*, как показано нами ранее [16].

Полученные данные свидетельствуют о том, что действие пикамилона на обратный захват синапсосомами коры большого мозга крыс серотонина, дофамина и ГАМК при сахарном диабете может реализоваться за счет изменений специфического связывания NAD синаптическими мембранами [17]. Такое утверждение не лишено основания, поскольку введенный *in vivo* пикамилон может метаболизировать в организме с образованием NAD.

Другим важным звеном нейротрансмиссии является процесс высвобождения медиаторов из нервных терминалей. При изучении процессов высвобождения исследуемых медиаторов в динамике из предварительно нагруженных ими синапсом коры большого мозга у стрептозотоциндиабетических животных обнаружено, что высвобождение [2-¹⁴C]серотонина, [2-¹⁴C]дофамина (рис.2) и [U-¹⁴C]ГАМК (рис. 3) синапсосомами заметно увеличено по сравнению с контрольными показателями, причем разница в высвобождении медиаторов между соответствующими показателями контрольных и диабетических животных наиболее существенна для первых 4-х мин инкубации. Введение животным с диабетом пикамилона, который, в отличие от витамина РР (никотиновая кислота, никотинамид) и ГАМК достаточно свободно проникает через ГЭБ, оказывало нормализующее действие на высвобождение ГАМК нервными окончаниями (рис.3), в то время как на высвобождение серотонина и дофамина он не оказывал существенного влияния даже в высокой дозе (рис.2). В настоящее время установлено, что во многих структурах мозга ГАМК действует как тормозной медиатор [18].

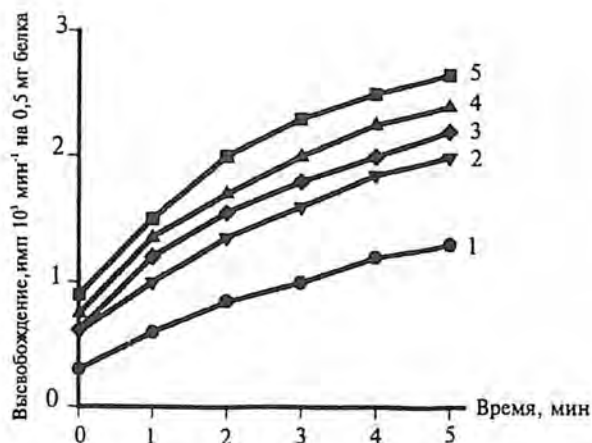


Рис.2. Динамика высвобождения $[2-^{14}\text{C}]$ дофамина и $[2-^{14}\text{C}]$ серотонина синапсосомами коры большого мозга животных с экспериментальным диабетом: 1- контроль, дофамин; 2 - контроль, серотонин; 3 - диабет, дофамин; 4 - диабет, серотонин + пикамилон (200 мг/кг); 5 - диабет, серотонин.

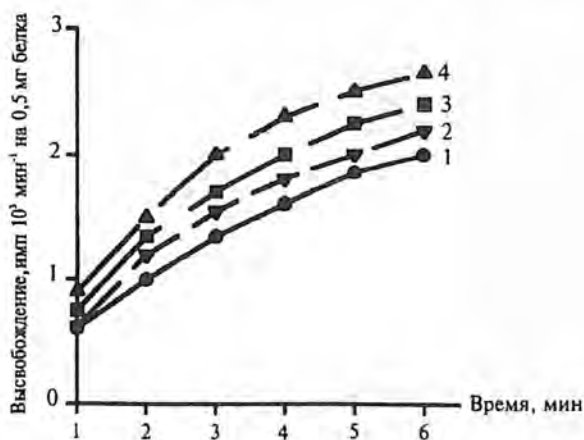


Рис. 3. Динамика высвобождения $[U-^{14}\text{C}]$ ГАМК синапсосомами коры большого мозга животных с экспериментальным диабетом: 1 - контроль, 2 - диабет, 3 - диабет + пикамилон (20 мг/кг), 4 -диабет + пикамилон (200 мг/кг).

Как правило, ГАМК синтезируется в небольших вставочных нейронах (примером могут служить кора большого мозга и гиппокамп) и затем высвобождается из них. То есть, для поддержания функций мозга в норме ГАМК принадлежит важное значение, тем не менее ее терапевтическое применение в клинике заболеваний нервной системы, в том числе и диабетической полинейропатии, малоэффективно, так как ГАМК слабо проникает через ГЭБ [19]. Поскольку пикамилон нормализует высвобождение и обратный захват ГАМК, которые нарушены при сахарном диабете,

то не исключено, что восстановление функционирования этой важной тормозной медиаторной системы будет способствовать коррекции функций мозга в целом. Следует отметить, что вышеприведенные экспериментальные данные не исключают возможности, что действие пикамилона на нейрональную мембрану может быть опосредовано и другими биохимическими механизмами, одним из которых, возможно, является активизация ГАМК-бензодиазепинового комплекса.

Таким образом, проведенные эксперименты свидетельствуют о том, что пикамилон модулирует процессы обратного захвата и высвобождения исследуемых медиаторов, особенно ГАМК. К тому же имеются убедительные основания считать, что механизм его действия опосредован NAD. Однако нельзя исключить существование и других механизмов действия пикамилона при сахарном диабете, к примеру, опосредованного через изменение этим препаратом функционирования полиолового пути обмена глюкозы.

Нами показано, что изменение отношения свободных NAD(P)/NAD(P)H пар цитоплазмы при сахарном диабете в сторону нормализации является одним из факторов активизации полиолового пути обмена глюкозы [20]. В свою очередь известно, что активизация образования сорбитола в альдозоредуктазной реакции и ингибирование его окисления в сорбитолдегидрогеназной реакции при сахарном диабете приводят к накоплению сорбитола в ряде тканей [21]. Представленные данные экспериментов по определению содержания сорбитола в мозге и седалищном нерве животных свидетельствуют о значительном повышении уровня изучаемого метаболита при экспериментальном сахарном диабете. Как видно из данных табл. 1, содержание сорбитола в мозге крыс с диабетом повышено в 3,1 раза, в седалищном нерве - в 10,7 раза по сравнению с контролем. Введение животным с диабетом пикамилона (200 мг/кг) *in vivo* снижало уровень сорбитола в мозге на 36%, в седалищном нерве - на 33% по сравнению с животными, не получавшими препарат. Пикамилон в низкой дозе менее выраженно проявлял свое действие. Тот факт, что пикамилон препятствует накоплению сорбитола в мозге и периферических нервах, дает основание утверждать, что его действие в данном случае реализуется посредством изменения отношения свободных NAD(P)/NAD(P)H пар в сторону окисленности в результате активизации прямой сорбитолдегидрогеназной реакции. То есть наряду с диабетической гипергликемией увеличение отношения NAD(P) пар в сторону восстановленности является одним из патогенетических факторов, способствующих аккумуляции сорбитола в мозге и седалищном нерве, а также, возможно, и в других тканях. Пикамилон, повышая окислительные свойства NAD(P) пар, создает такую метаболическую ситуацию, которая приводит к уменьшению содержания сорбитола в исследуемых тканях. Полученные данные с применением пикамилона позволяют предположить еще один механизм действия пикамилона - опосредованный через редокс-состояние никотинамидных нуклеотидов, коррекция которого приводит к частичной нормализации полиолового пути обмена глюкозы при сахарном диабете.

Согласно данным литературы, аккумуляция сорбитола в периферических нервах сопровождается замедлением проведения нервного импульса и нарушением энергетического обмена [22]. Поскольку при сахарном диабете наблюдается гиперосмолярность клеток нервной ткани, то снижается

активность интегрального фермента клеточных мембран Na^+, K^+ -АТФазы, что в свою очередь приводит к уменьшению энергообеспеченности клеток.

Как свидетельствуют полученные нами данные (табл. 2), при экспериментальном сахарном диабете наблюдалось снижение активности Na^+, K^+ -АТФазы в синапсосамах, синаптических мембранах коры большого мозга и в седалищном нерве крыс на 35, 31 и 29% соответственно. Введение пикамилона, особенно в высокой дозе, приводило к частичному восстановлению ее активности во всех изученных структурах.

Таблица 1. Содержание сорбитола в коре большого мозга и седалищном нерве стрептозотоциндиабетических крыс ($M \pm m$, $n = 6-9$), мкмоль/г сырой ткани

Объект исследования	Контроль	Диабет	Диабет + пикамилон (20 мг/кг)	Диабет + пикамилон (200 мг/кг)
Мозг	0,025±0,004	0,077±0,006*	0,061±0,004	0,049±0,005**
Седалищный нерв	0,130±0,090	1,390±0,180*	1,070±0,091	0,940±0,087**

В табл. 1 и 2:

* - достоверность различий по сравнению с контролем, $p < 0,05$;

** - достоверность различий по сравнению с показателями животных с экспериментальным диабетом, $p < 0,05$

Таблица 2. Na^+, K^+ -АТФазная активность в синапсосамах, синаптических мембранах и седалищном нерве стрептозотоциндиабетических крыс ($M \pm m$, $n = 7-9$), мкмоль P_i на 1 мг белка в час.

Объект исследования	Контроль	Диабет	Диабет+ пикамилон
Синапсосы	3,87±0,89	2,52±0,63*	3,21±0,69**
Синаптические мембраны	6,95±1,49	4,83±1,08*	5,69±0,97**
Седалищный нерв	5,27±0,92	3,77±0,63	4,34±0,95

Однако проведенные исследования не исключают наличия других биохимических механизмов действия пикамилона на функционирование нервной системы при сахарном диабете.

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что введение пикамилона животным с экспериментальным сахарным диабетом, вызванным стрептозотоцином, полностью нормализует процессы захвата и высвобождения ГАМК и частично - серотонина и дофамина. Кроме того, способность пикамилона снижать содержание сорбитола в мозге и седалищном нерве, а также увеличивать активность Na^+, K^+ -АТФазы в исследованных структурах благоприятствует устранению дисфункции нервной системы при этом заболевании.

Таким образом, проведенные исследования раскрывают механизм действия пикамилона и являются основой для дальнейшего изучения витамина PP, а также других препаратов, приготовленных на его основе, одним из которых является пикамилон, которые в клинике лечения диабетической полинейропатии найдут широкое терапевтическое применение.

Литература

1. Eisenbarth G.S. Type 1 diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease // *N. Engl. J. Med.* 1986, **314**, 1360-1368.
2. Gavard J.A., Lustman P.J., Clouse R.E. Prevalence of depression in adults with diabetes. An epidemiological evaluation // *Diabetes Care.* 1993, **16**, 1167-1178.
3. Lustman P.J., Griffith L.S., Gavard J.A., Clouse R.E. Depression in adults with diabetes // *Diabetes Care.* 1992, **15**, 1631-1639.
4. Mooradian A.D. Diabetic complications of the central nervous system // *Endocr. Rev.* 1988, **9**, 346-355.
5. Lackovic Z., Salkovic M., Kuci Z., Reija M. Effect of long-lasting diabetes mellitus on rat and human brain monoamines // *J. Neurochem.* 1990, **54**, N 1, 143-147.
6. Bradberry C.W., Karasic D.H., Deutch A.Y., Roth R. Regionally-specific alterations in mesotelencephalic dopamine synthesis in diabetic rats: association with precursor tyrosine // *J. Neural. Transmiss.* 1989, **78**, N 3, 221-229.
7. Biessels G.J., Kappelle A.C., Bravenboer B. et al. Cerebral function in diabetes mellitus // *Diabetologia.* 1994, **37**, 643-650.
8. De Portugal Alvarez J. Neurologic disorders in diabetes mellitus. Value of evoked somatosensory potentials // *An. R. Acad. Med. (Madr.)* 1989, **106**, 449-454.
9. Ефимов А.С. Диабетические ангиопатии. М.: Медицина, 1989. 288 с.
10. Obrosova I., Kuchmerovskaya T., Parkhomets P. et al. Neurotransmitters uptake and release by brain cortex synaptosomes of diabetic rats // *Diabetologia.* 1991, **34**, (Suppl. 1), 81.
11. Abita J.P., Chicheportiche R., Schweits H., Lasdunski M. Effects of neurotoxins (veratridine, sea anemone toxin) on transmitter accumulation and release by nerve terminals in vivo. // *Biochemistry.* 1977, **16**, N 9, 1838-1864.
12. Leong S.F., Leung T.K.C. Diabetes induced by streptozotocin causes reduced Na^+, K^+ -ATPase in the brain // *Neurochem. Res.* 1991, **16**, 1161-1165.
13. Bergmeyer H.U. *Methods of Enzymatic Analysis.* New York and London: Verlag Chemie, 1963. 1064 p.
14. Lowry O.W., Rosebrough N.J., Farr R.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin reagent // *J. Biol. Chem.* 1951, **193**, 265-275.
15. Плохинский И.А. Биометрия. М.: Изд-во МГУ, 1970. 368 с.
16. Халмурадов А.Г., Кучмеровская Т.М., Пархомец П.К. Действие НАД на высвобождение дофамина и серотонина из синапсом головного мозга крыс // *Нейрохимия.* 1987, **6**, N 4, 495-502.
17. Халмурадов А.Г., Пархомец П.К., Кучмеровская Т.М. и др. Особенности связывания никотинамидадениндинуклеотида синаптическими мембранами головного мозга крыс // *Биохимия.* 1983, **48**, Вып. 8, 1287-1292.
18. Roberts E., Chase T.N., Tower D.B. *GABA in nervous system function.* New York.: Raven Press, 1976. 526 p.
19. Сытинский И.А. Гамма-аминомасляная кислота - медиатор торможения. Л.: Наука, 1977. 139 с.
20. Обросова И.Г., Кучмеровская Т.М., Ефимов А.С. и др. Редокс состояние никотинамидадениндинуклеотидов и содержание сорбитола в мозге крыс со стрептозотоциновым диабетом: действие ингибиторов альдозоредуктазы // *Доп. АН України.* 1994, N 7, 143-146.
21. Taylor R., Agius L. The biochemistry of diabetes // *Biochem. J.* 1988, **250**, 625-640.
22. Thurston J.H., McDougal D.B., Hauhart J.R.E., Schulz D.W.. Effects of acute, subacute, and chronic diabetes on carbohydrate and energy metabolism in rat sciatic nerve // *Diabetes.* 1995, **44**, 190-195.

Функціональні ланки нервової системи при експериментальному діабеті: ефект пікамілоу

Т.М. Кучмеровська

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, 252030 Київ

Дослідження процесів поглинання та вивільнення нейромедіаторів синапсосомами кори великого мозку щурів засвідчило, що поглинання $[2-^{14}\text{C}]$ серотоніну та $[2-^{14}\text{C}]$ дофаміну зменшено на 40 та 15% відповідно, в той час як поглинання $[\text{U}-^{14}\text{C}]$ ГАМК збільшено на 60% у стрептозотозиндіабетичних щурів порівняно з контролем. Вивільнення досліджуваних медіаторів з попередньо навантажених ними синапсом при цукровому діабеті збільшене. Поглинання ГАМК нормалізувалося при введенні пікамілоу (по 200 мг/кг маси тіла протягом 14 діб), у той час як на поглинання серотоніну та дофаміну препарат впливав незначною мірою. Виявлено коригуючий вплив пікамілоу на поліоловий шлях обміну глюкози в мозку та сідничному нерві, а також на активність Na^+, K^+ -АТРази в досліджуваних структурах нервової системи. Одержані результати дають підстави висловити припущення, що модулююча дія пікамілоу на процеси нейротрансмісії в мозку при цукровому діабеті опосередкована NAD. Висловлюється припущення про можливість застосування пікамілоу в клініці лікування діабетичної полінейропатії.

Functional links of the nervous system in experimental diabetes: effect of pycamilon

T.M. Kuchmerovskaya

A.V.Palladin Institute of Biochemistry, 252030 Kyiv, Ukraine

Studies of neurotransmitter uptake and release by isolated rat brain cortex synaptosomes demonstrated that $[2-^{14}\text{C}]$ serotonin and $[2-^{14}\text{C}]$ dopamine uptake was 40 and 15% lowered in streptozotocin-diabetic rats as compared to control, while $[\text{U}-^{14}\text{C}]$ GABA uptake was elevated by 60%. Pycamilon (20 and 200 mg/kg body weight daily, 14 days) was administered to diabetic rats. Serotonin, dopamine and GABA release from the neurotransmitter preloaded synaptosomes was comparably increased in diabetic rats. Both serotonin and dopamine release was slightly decreased with pycamilon treatment, while GABA release was normalized. Pycamilon increased sorbitol levels in the brain and sciatic nerve in diabetes. Administration of pycamilon leads to partial restoration of Na^+, K^+ -ATPase activities in synaptosomes, synaptic membranes and sciatic nerve. The modulating effect of in vivo administered pycamilon suggests pycamilon action via NAD which binds specifically with synaptic membranes. Thus, pycamilon is involved in the regulation of the processes in the brain of streptozotocin-induced diabetes. Use of pycamilon for the treatment of diabetic polyneuropathies is suggested.

УДК 612.017.33:612.349.8:616.379-008.64

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА ІМУНОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КОНТРЕЦЕПТОРНИХ І КОНТРИНСУЛІНОВИХ ФАКТОРІВ ПЛАЗМИ КРОВІ

Ж.В.Іванова

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

З плазми крові хворих на інсуліннезалежний цукровий діабет та здорових людей виділено білкові речовини, що мають властивість специфічно зв'язуватись з рецепторами інсуліну (контррецепторний фактор) або інсуліном (контринсуліновий фактор) та гальмувати процес інсулін-рецепторного зв'язування. Виявлено, що вміст досліджуваних речовин у плазмі крові хворих на цукровий діабет II типу значно перевищує даний показник для здорових людей. Доведено, що блокуючі фактори проявляють фізико-хімічні та імунохімічні властивості, характерні для фрагментів імуноглобулінів і рецепторів інсуліну.

Ключові слова: інсулін-рецепторна взаємодія, контррецепторні фактори, контринсулінові фактори, фізико-хімічні та імунохімічні властивості.

Відомо, що при цукровому діабеті II типу важливим патогенетичним моментом є порушення чутливості клітин до інсуліну. Зниження показників зв'язування інсуліну з рецепторами різних тканин відзначається багатьма дослідниками [1, 2], але конкретні механізми виникнення інсуліно-резистентності досі лишаються нез'ясованими. Метою даної праці було виявлення речовин, котрі можуть діяти як інгібітори процесу інсулін-рецепторної взаємодії на його найпершому етапі - зв'язування гормону з рецепторами. Блокування цієї ланки може спричинитися до порушення біологічної відповіді клітин на гормональний сигнал, що спостерігається при інсуліннезалежному цукровому діабеті (ІНЦД).

Дані, отримані нами внаслідок вивчення інсулінзв'язуючих властивостей рецепторів інсуліну еритроцитів людей, хворих на інсуліннезалежний цукровий діабет, та впливу звільненої від інсуліну плазми хворих на ІНЦД на параметри інсулін-рецепторної взаємодії вказують на те, що виявлені порушення зв'язування інсуліну з рецепторами обумовлені наявністю в плазмі крові хворих певних речовин, які можуть специфічно взаємодіяти безпосередньо з рецепторами інсуліну та інгібувати таким чином процес зв'язування ^{125}I -інсуліну [3].

Іншим можливим механізмом інгібуючої дії може бути присутність у плазмі крові розчинних речовин, що мають властивість з високою спорідненістю зв'язувати інсулін, тим самим перешкоджаючи його взаємодії з рецептором. Це міркування узгоджується з даними літератури, згідно з якими різні рецептори плазматичних мембран можуть підлягати частковому протеолізу з утворенням фрагментів, які містять лігандзв'язуючі центри та надходять у міжклітинне середовище й плазму крові [4].

Гіпотетичні розчинні блокуючі речовини було названо контррецепторним (КРФ) та контринсуліновим (КІФ) факторами. Їм повинна бути притаманна властивість з'єднуватись відповідно з рецепторами інсуліну або з

інсуліном. Виходячи з цього, було зроблено спробу виділити блокуючі речовини з плазми крові людей за допомогою афінної хроматографії на агарозі з іммобілізованими рецепторами інсуліну або з іммобілізованим інсуліном.

Матеріали та методи дослідження

Плазму крові, з якої попередньо було вилучено інсулін шляхом обробки її 1% суспензією активованого вугілля у 0,1% розчині декстрану, піддавали афінній хроматографії на колонках з агарозою. З останньою було ковалентно зв'язано 10 мг (за вмістом білка) препарату частково очищених рецепторів інсуліну з печінки шурів, отриманих за модифікованим методом Virant [5] - для виділення контррецепторних факторів), або 5 мг інсуліну ("Hoechst", Німеччина) - для одержання контрінсулінових факторів. Після цього колонки промивали фосфатним буферним розчином (рН 7,4), що містить 0,15 М NaCl та 0,1% тритону X-100; елюцію проводили 0,1 М HCl-гліциновим буфером (рН 2,45), який містить 1мМ NaCl, і доводили рН до нейтральних значень. Отримані розчини зберігали при температурі -20 °С. Вміст білка у розчинах визначали за методом Bradford [6].

Молекулярну масу білків визначали за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі (7,5% акриламід у лінійні градієнти концентрації 5-10%, 5-15% з додецилсульфатом натрію - DСН за методом Laemmli [7]). Як стандарти білків для побудови калібрувальних графіків використовували суміш "Diaprot-1" (Dia M, Росія): цитохром С (12,5 кДа), соєвий інгібітор трипсину (21 кДа), креатинкіназа м'язів кроля (40 кДа), бичачий сироватковий альбумін (67 кДа), фосфорилаза б м'язів кроля (94 кДа). Для відновлювання дисульфідних зв'язків використовували β-меркаптоетанол (кінцева концентрація в пробі - 80 мМ). Електрофорез проводили протягом 3 годин при силі струму 50 мА. Гелі забарвлювали кумасі блакитним G 250. Радіальну подвійну імунодифузію проводили у гелі агарози (1%) [8]. Використовували антисироватки до імуноглобулінів класів А, G, М (для реакції по Манчіні) та одержані нами імунні сироватки до рецепторів інсуліну, а також антисироватку проти R-білка виробництва Інституту епідеміології та мікробіології ім. Гамалеї (Москва).

Параметри зв'язування ¹²⁵I-інсуліну з еритроцитами здорових донорів визначали за методом Scatchard [9], проводячи інкубацію клітин із зростаючими кількостями неміченого інсуліну (0, 1, 10, 50, 100, 500, 5000 нг) у присутності досліджуваних факторів.

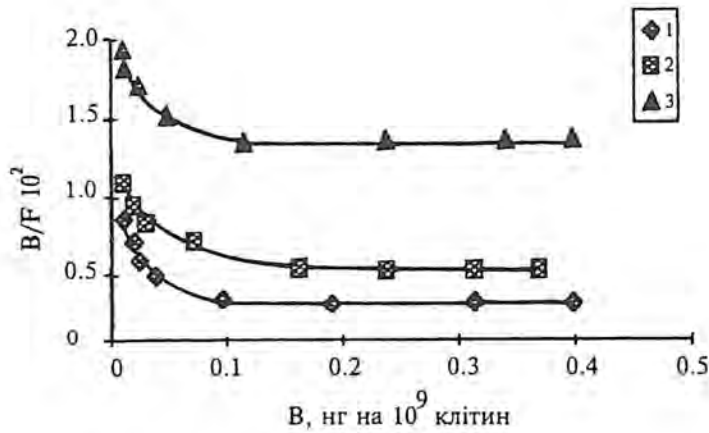
Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Після пропускання плазми крові хворих на ІНЦД (n=12), вільної від інсуліну, через колонки з рецептором інсуліну або з інсуліном та проведення елюції, як вказано вище, було отримано розчини, що містять білкові речовини в кількості 112±14 мкг на 1 мл вихідної крові (контррецепторний фактор - КРФ) та 114±14 мкг на 1 мл крові (контрінсуліновий фактор - КІФ). Із плазми крові здорових донорів (n=10) аналогічним методом було також виділено обидва блокуючі фактори: КРФ та КІФ, у кількості 67±5 мкг/мл крові та 65±5 мкг/мл крові, відповідно, що менше ніж кількість білка в елюатах з плазми хворих на цукровий діабет (p<0,05).

Було доведено, що речовини, отримані з плазми крові як хворих на ІНЦД, так і здорових людей, гальмують специфічне зв'язування ¹²⁵I-інсуліну еритроцитами здорових донорів, діючи як конкурентні інгібітори реакції, що зменшують кількість зв'язуючих центрів з низькою спорідненістю до інсуліну, але не впливають на константи дисоціації цих центрів (мал. 1).

Визначення молекулярної маси та субодичної структури КРФ та КІФ методом електрофорезу в поліакриламідному гелі з використанням як денатуруючого агента додецилсульфату натрію та як відновного - β-меркап-



Мал. 1. Зв'язування ^{125}I -інсуліну з еритроцитами здорових людей у присутності контррецепторного (1) або контрінсулінового (2) факторів, виділених з плазми крові хворого на ІНЦД, та за їх відсутності (3). Дані наведено у координатах Скетчарда [9].

тоетанолу, засвідчило, що обидві досліджувані речовини містять декілька білкових фракцій (мал. 2).

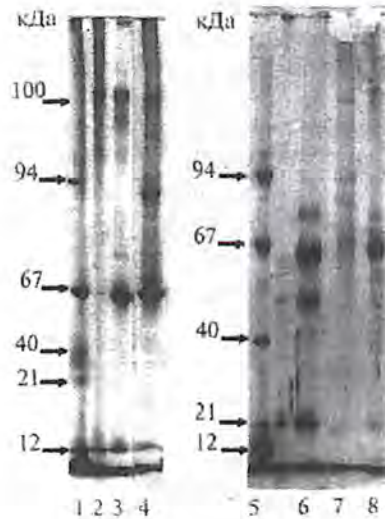
Головні білкові фракції в розчинах КРФ та КІФ мали молекулярну масу 100 кДа, 65 кДа та 22 кДа. Під час розділення у відновних умовах замість фракції з молекулярною масою 100 кДа на електрофореграмах з'являлася фракція 50 кДа, що свідчить про наявність молекул, які складаються з субодиниць з масою по 50 кДа, сполучених дисульфідними зв'язками. Аналогічні електрофоретичні властивості проявляли F(ab)'_2 -фрагменти імуноглобулінів G людини, що їх також показано на електрофореграмах (мал. 2, треки 2, 8). Присутність сироваткового альбуміну та мінорних фракцій може пояснюватись неспецифічною сорбцією на колонці з агарозою. Фракція, яка відповідає за молекулярною масою альбумінові, практично зникла після абсорбції досліджуваного препарату декстран-агарозою, що міцно зв'язує сироватковий альбумін.

Було вивчено взаємодію КРФ та КІФ з антисироватками до різних імуноглобулінів, R-білків, рецептора інсуліну, а також з лектином зародків пшениці у гелі агарози методом радіальної імунодифузії. (мал. 3).

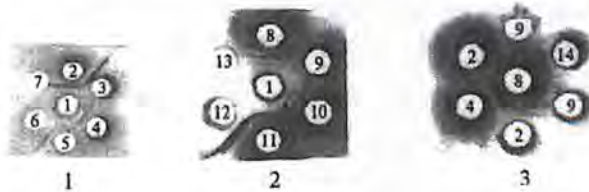
Утворення досліджуваними речовинами специфічних комплексів (преципітатів) з антитілами до імуноглобулінів A і G вказує на їх спорідненість до імуноглобулінів.

Відсутність смуг преципітації КІФ з розчином протеїну A свідчить про те, що, незважаючи на позитивну реакцію з антиімуноглобуліновими антисироватками, даний фактор не має Fc -ділянок імуноглобулінових молекул, з якими взаємодіє протеїн A. Це є ще одним аргументом на користь схожості досліджуваних білків з F(ab) -фрагментами IgG.

Той факт, що КІФ, на відміну від КРФ, взаємодіє з лектином зародків пшениці, свідчить про наявність вуглеводних компонентів, характерних



Мал. 2. Електрофореграми КРФ і КІФ з плазми крові людей, хворих на ІНІД, у поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію. Зразки N 5 - 8 піддано обробці β-меркаптоетанолом: 1 - стандарти молекулярної маси; 2 - F(ab)'2 - фрагменти IgG людини; 3 - КРФ; 4 - КІФ; 5 - стандарти молекулярної маси; 6 - КРФ; 7 - КІФ; 8 - F(ab)'2 - фрагменти IgG людини.



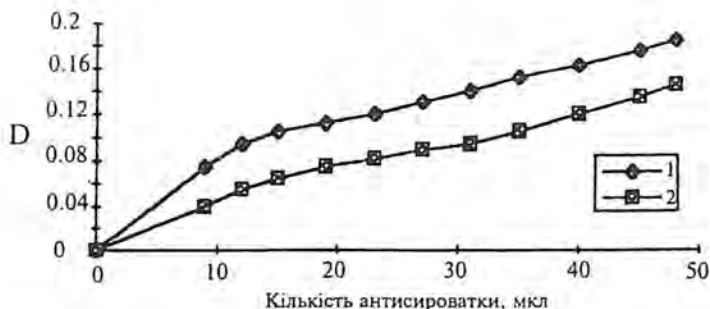
Мал. 3. Результати подвійної імунодифузії в гелі агарози розчинів КРФ та КІФ з антисироватками до різних антигенів та деякими преципітуючими агентами: 1 - КРФ; 2 - антисироватка до IgG людини; 3 - антисироватка до IgM людини; 4 - антисироватка до IgA людини; 5 - антисироватка до IgG кроля; 6 - рецептори інсуліну з печінки шура; 7 - протеїн А із *Staf.aureus*; 8 - антисироватка до R-білків; 9 - антисироватка до рецепторів інсуліну; 10 - лектин зародків пшениці; 11 - антисироватка до IgG людини; 12 - антисироватка до IgM людини; 13 - F(ab)'2- фрагменти IgG людини; 14 - КІФ.

для рецепторів інсуліну. Це не суперечить даним про загальні риси КІФ з молекулами імуноглобулінів, оскільки рецептори, як відомо, містять амінокислотні послідовності, гомологічні до імуноглобулінів [10,12].

Відомо, що у шарнірній ділянці молекули імуноглобулінів присутні такі антигенні детермінанти, що можуть взаємодіяти з антитілами тільки після протеолітичного розщеплення імуноглобулінів [4]. Згідно з концепцією А.Я. Кульберга, саме такі детермінанти притаманні так званим регуляторним, або R-білкам, котрі утворюються внаслідок обмеженого протеолізу позаклітинних ділянок різних клітинних рецепторів та циркулюють у крові, зберігаючи здатність зв'язувати відповідний ліганд [12]. Виявлена

нами преципітація розчинів КРФ і КІФ у реакції імунодифузії з антисироваткою до R-білків доводить наявність загальних рис факторів, що блокують рецепцію інсуліну, з R-білками.

Не виявлено утворення в гелі або у розчинах преципітатів між КРФ та рецепторами інсуліну, але в той же час КРФ мав здатність пригнічувати збільшення каламутності розчину при взаємодії рецепторів інсуліну із зростаючими кількостями антисироватки до них (мал. 4). Це дозволяє заключити, що КРФ справді утворює асоціати з рецепторами інсуліну, але, очевидно, не містить двовалентних молекул, що потрібні для побудови просторової структури преципітату, або комплекси КРФ з рецепторами є нестійкими, як це притаманно, наприклад, F(ab)-фрагментам IgG [4].



Мал. 4. Вплив КРФ на каламутність розчинів (D) під час реакції між частково очищеними рецепторами інсуліну з печінки щура (вміст білка 0,4 мг/мл) та зростаючими кількостями антисироватки кроля, отриманої до цих рецепторів інсуліну: 1 - за відсутності КРФ, 2 - у разі додавання до реакційного середовища 20 мкг (за вмістом білка) препарату КРФ

Висновки

1. З плазми крові хворих на ІНЦД та здорових людей виділено білкові речовини, які мають спорідненість до рецепторів інсуліну (контррецепторний фактор - КРФ) або до інсуліну (контрінсуліновий фактор - КІФ) і інгібують реакцію зв'язування ^{125}I -інсуліну з рецепторами інсуліну еритроцитів людини.

2. За молекулярною масою, субодичною структурою та імунохімічними властивостями КРФ та КІФ проявляють властивості, характерні для F(ab)'2, Fab та Fd-фрагментів молекул імуноглобулінів G та R-білків. Контрінсулінові фактори, крім того, мають ознаки, характерні для фрагментів рецепторів інсуліну.

3. Кількість білка, що елююється з афінних колонок з іммобілізованими рецепторами інсуліну (КРФ) або з інсуліном (КІФ), після пропускання певного об'єму плазми крові хворих на ІНЦД майже вдвічі вища, ніж виділяється тим же способом з плазми крові здорових людей.

Література

1. Olefsky J.M. Decreased insulin binding to adipocytes and circulating monocytes from obese subjects // J. Clin. Invest. 1976, 57, N 5, 1165-1172.

2. Kappy M.S., Plotnick L. Erythrocyte insulin binding in obese children and adolescents // J. Clin. Endocrinol. Metabol. 1980, **51**, N 6, 1440-1446.
3. Корпачев В.В., Гурина Н.М., Иванова Ж.В. Роль специфических факторов сыворотки крови в нарушении связывания инсулина с рецепторами плазматических мембран эритроцитов // Укр. биохим. журнал. 1994, **66**, N 4, 65-68.
4. Кульберг А.Я. Молекулярная иммунология. М.: Высшая школа, 1985. 286с.
5. Burant C., Treutleer M., Landreth G., Buse M. Phosphorylation of insulin receptors solubilised from rat skeletal muscle // Diabetes. 1984, **33**, N7, 704-708.
6. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilising the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976, **72**, 248-254.
7. Laemmli U.K. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T // Nature. 1970, **227**, N 5259, 680-685.
8. Иммунологические методы / Под ред. Г.Фримеля. М.: Медицина, 1987. 472 с.
9. Scatchard L. The attractions of proteins for small molecules and ions // Ann.N.Y.Acad.Sci. 1949, **51**, N6, 123-132.
10. Кульберг А.Я. Рецепторы клеточных мембран. М.: Высшая школа, 1987. 101 с.
11. Ефимов А.С., Бездробный Ю.В. Структура и функции инсулиновых рецепторов. К.: Наукова думка, 1987. 170 с.
12. Кульберг А.Я., Портнов Ф.Г., Воробьева Л.Ф. и др. Регуляторные (Р) пептиды как потенциальный медиатор сопряжения нейротрофических связей // Регуляторные Р-белки при инфекционных и др. заболеваниях. М.: 1990, 28-38.

Физико-химические и иммунохимические свойства контррецепторных и контринсулиновых факторов плазмы крови

Ж.В.Иванова

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

Из плазмы крови больных инсулиннезависимым сахарным диабетом и здоровых людей выделены факторы, способные специфически связываться с рецепторами инсулина (контррецепторный фактор) или с инсулином (контринсулиновый фактор) и тормозить процесс инсулин-рецепторного связывания. Обнаружено, что содержание исследуемых факторов в плазме крови больных диабетом II типа значительно превышает данный показатель для здоровых людей. Показано, что блокирующие факторы проявляют физико-химические и иммунохимические свойства, характерные для фрагментов иммуноглобулинов и рецепторов инсулина.

Physicochemical and immunochemical properties of blood plasma counterreceptor and counterinsulin factors

Zh.V. Ivanova

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

Protein factors which bind insulin receptor (counterreceptor factors) and insulin (counterinsulin factors) and inhibit insulin-receptor binding reaction were isolated from blood plasma of patients with NIDDM and healthy subjects. In diabetic patients factors content in blood plasma was found to be increased compared with healthy subjects. Blocking factors were found to have some physicochemical and immunochemical properties similar to fragments of immunoglobulins and insulin receptors.

МОДУЛЮЮЧИЙ ВПЛИВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ НА ГЛЮКОКОРТИКОЇДНУ АКТИВНІСТЬ КОРИ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ПІД ЧАС ДІЇ МАЛИХ ДОЗ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

В.А.Шарафан, В.О. Малижєв, Л.А. Горчакова*

Науковий центр радіаційної медицини АМН України, 254050 Київ;

**Український науково-практичний центр ендокринної хірургії, трансплан-
тації ендокринних органів та тканин МОЗ України, 253175 Київ*

Досліджували глюкокортикоїдну активність кори надниркових залоз у експериментальних тварин при фракційному зовнішньому (сумарна доза 1 Гр) або внутрішньому опроміненні за рахунок забруднення радіонуклідами ^{90}Sr , ^{137}Cs та $^{238, 239, 240}\text{Pu}$ у малих дозах. Разом із цим вивчали стан лімфоїдного апарата та інтенсивність гуморальної імунної реакції у тварин. Установлено, що в найближчі строки (до 6 тиж) після опромінення відбувається деяке зниження рівня кортикостерону у крові з ознаками активізації імунної системи організму. Цей ефект виявляється у разі як зовнішнього, так і внутрішнього впливу іонізуючої радіації в малих дозах. Ми робимо висновок, що зміни у функціонуванні кори надниркових залоз опосередковано пов'язані з активізуючим впливом малих доз радіації на імунну систему, яка є своєрідним регулятором напруження "роботи" гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової осі.

Ключові слова: *глюкокортикоїдна активність, кора надниркових залоз, іонізуюче випромінювання, імунна система.*

Відомо, що у разі дії іонізуючої радіації, крім специфічних для опромінення ефектів, в організмі виникають і неспецифічні реакції, зокрема загальний адаптаційний синдром. Подібна і типова для стресу реакція кори надниркових залоз, як правило, спостерігається під час дії порівняно високих доз опромінення [1]. У той же час мало що відомо про характер функціонування гіпофізарно-адреналової системи в умовах дії малих доз іонізуючого випромінювання. Інтерес до цієї проблеми зріс у зв'язку з аварією на ЧАЕС, унаслідок якої більша частина населення контрольованих територій та учасників ліквідації аварії отримали порівняно невеликі дози опромінення.

Мета поданої праці - вивчення глюкокортикоїдної активності кори надниркових залоз у найближчі та віддалені строки після фракційного зовнішнього опромінення або тривалого забруднення організму радіонуклідами. При цьому вивчалася питання про взаємозв'язок змін функціонування кори надниркових залоз зі станом імунного апарата опроміненого організму.

Матеріали і методи

Досліди проводили на 112 статевозрілих мишах-самках лінії BALB/c. Тварин піддавали дії фракційного рентгенівського опромінення (щодобово протягом 5 діб по 0,2 Гр) на установці РУМ-17 (потужність дози - 0,1 Гр/хв, напруга - 200 кВ, сила струму - 15 мА, фільтр - 1 Cu, відстань - 0,7 м). Сумарна доза опромінення становила 1 Гр. А в дослідях з вивчення впливу радіонуклідів ^{90}Sr , ^{137}Cs та $^{238, 239, 240}\text{Pu}$ використовували 50 безпорідних шурів-самок. Одній групі тварин давали як питну воду, яка містила $^{239, 240}\text{Pu}$ в концентрації порядку 0,5 Бк/л, а також у значній кількості ^{90}Sr (до 30 кБк/л) та ^{137}Cs (20 Бк/л). Інша група отримувала воду, яка містила плутоній у вигляді шитрату. Концентрація ^{238}Pu становила 21 Бк/л, а ^{239}Pu - 32,8 Бк/л.

Тварини отримували воду з радіонуклідами протягом 2 міс. Після забою тушки тварин спалювали. Концентрацію 238 , 239 , ^{240}Pu вимірювали на "Ortec" EG&G ALPHA-KING™ SPECTROMETER 676A. Сумарна активність для 239 , ^{240}Pu була 0,0022 Бк/пробу, а для 238 , ^{239}Pu - 0,088 Бк/пробу.

Тварин брали в дослід через 1, 7, та 14 діб, а також на 6-, 12-, 20- та 30-му тижнях після їх імунізації сингенними прогрітими еритроцитами або еритроцитами шура. Рівень кортикостерону вимірювали за методом Ю.Г. Балашова [2]. Визначали вміст лімфоцитів у периферичній крові, масу тіла, лімфоїдних органів та надниркових залоз, активність гуморальної імунної реакції у відповідь на імунізацію еритроцитами [3].

Отримані в процесі експериментів цифрові дані піддавали обробці для визначення середньоарифметичних величин та параметрів, що характеризують їх. Достовірність різних (р) оцінювали за t-критерієм Стьюдента, використовуючи комп'ютерну програму "T-test".

Результати та їх обговорення

Спочатку досліджували активність кори надниркових залоз у найближчі дні після зовнішнього опромінення у мишей лінії BALB/c у дозі 1 Гр. Експерименти проводили на 4 групах тварин: I - контрольні (без будь-яких впливів); II - опромінені; III - імунізовані та IV - опромінені та імунізовані сингенними прогрітими еритроцитами.

Як свідчать дані (табл. 1), фракційне опромінення мишей у сумарній дозі 1 Гр спричинило статистично достовірне зниження активності кори надниркових залоз. У той же час у імунізованих тварин, як і слід було очікувати, відбувалася активізація кортикостероїдогенезу, особливо на 7-му добу досліду. Депресивна дія іонізуючої радіації на синтез кортикостерону проявлялася і у опроміненних та імунізованих тварин.

Таблиця 1. Рівень кортикостерону у опроміненних та імунізованих мишей лінії BALB/c, нмоль/л ($M \pm m$)

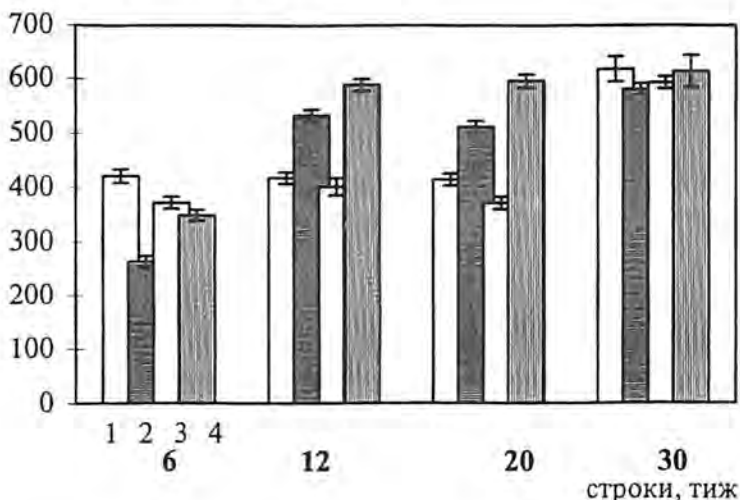
Строк	Група тварин			
	Контрольні	Опромінені у дозі 1 Гр	Імунізовані	Опромінені у дозі 1 Гр та імунізовані
1-ша доба	500,2 ± 11,9 (n=7)	362,6 ± 15,1* (n=7)	550,6 ± 30,8 (n=7)	340,5 ± 18,2* (n=7)
7-ма доба	483,2 ± 14,2 (n=8)	483,1 ± 17,5 (n=8)	500,4 ± 12,8 (n=8)	421,3 ± 12,9* (n=8)
14-та доба	440,0 ± 12,9 (n=7)	456,6 ± 17,4 (n=7)	473,3 ± 11,9* (n=7)	438,7 ± 11,8 (n=7)

* Достовірно значущі результати.

Виявлена дія малих доз зовнішнього опромінення зберігається тривалий час, принаймні, до 6 тиж після експозиції. Однак з 12-го тижня відбувалося достовірне зростання активності кори надниркових залоз, яка нормалізувалася на 30-му тижні досліду (мал.). Цей ефект, імовірно, специфічний для дії іонізуючої радіації, оскільки він не модулюється у разі розвитку імунної відповіді організму. Зміни вмісту кортикостерону у крові відповідали і характерним змінам відносної маси надниркових залоз.

Під час підрахунку вмісту лімфоцитів у периферичній крові піддослідних тварин (табл. 2) встановлено, що інгібуючий ефект радіації на стероїдогенез пов'язаний зі зменшенням кількості цих клітин (6-ий тиждень досліду). Після відновлення останніх на 12- та 20-му тижнях експерименту активність кори надниркових залоз зростає і нарешті рівень

Вміст кортикостерону, нмоль/л



Вміст кортикостерону в сироватці опроміненних мишей лінії BALB/c: 1 - контрольні; 2 - опромінені; 3 - імунізовані; 4 - опромінені та імунізовані тварини

кортикостерону та вміст лімфоцитів у периферичній крові нормалізуються на 30-му тижні після припинення дії радіації.

У той же час під час вивчення маси та клітинності за грудинної залози і селезінки виявлена зворотна картина: на 6-му тижні експерименту реєструвалося збільшення маси цих органів та вмісту в них лімфоїдних клітин. Ці показники поступово зменшувалися та нормалізувалися лише на 30-му тижні після опромінення.

Таким чином, можна вважати, що фракційне опромінення мишей у дозі 1 Гр в цілому зумовлювало активізацію лімфоцитоутворення, яке може бути зареєстровано при дослідженні лімфоїдних органів. Виходячи з цього, інгібуюча дія опромінення на функцію надниркових залоз тісно пов'язана з активізацією проліферації лімфоцитів. На це вказує також здатність піддослідних тварин активніше формувати гуморальні реакції імунітету, особливо у найближчі строки після радіаційного впливу. Так на 6-му тижні дослідів \log_2 титру гемаглютининів складав $8,1 \pm 0,2$, на 12-му тижні він зменшувався до $5,5 \pm 0,3$, на 20-му тижні становив $3,9 \pm 0,6$, на 30-му тижні антитіла у опроміненних та імунізованих тварин не виявлені, а у неопроміненних та імунізованих тварин у ці самі строки титри антитіл відповідно склали: $6,7 \pm 0,2$; $4,9 \pm 0,3$; 0 ; 0 .

Активізація лімфоїдної системи відбувалася і у разі тривалого забруднення щурів (2 міс) радіонуклідами ^{90}Sr , ^{137}Cs та $^{238, 239, 240}\text{Pu}$ у малих дозах. Ї в цьому разі активність кори надниркових залоз була нижчою за нормальний рівень. У контрольних тварин він відповідав $515,9 \pm 34,8$ нмоль/л, а у піддослідних - $431,2 \pm 11,7$ нмоль/л (тварини отримували

Таблиця 2. Загальний вміст лімфоцитів у периферичній крові опромінених мишей лінії BALB/c

Група тварин	n	Кількість лімфоцитів, $\times 10^9/\text{л}$
<u>6-й тиждень</u>		
Контрольні	8	10,4 \pm 0,2
Дослідні:		
опромінені у дозі 1 Гр	8	8,8 \pm 0,9
імунізовані	7	8,4 \pm 0,7*
опромінені у дозі 1 Гр та імунізовані	10	7,5 \pm 0,2*
<u>12-й тиждень</u>		
Контрольні	8	12,4 \pm 0,2
Дослідні:		
опромінені у дозі 1 Гр	5	10,7 \pm 0,5*
імунізовані	7	9,0 \pm 0,8*
опромінені у дозі 1 Гр та імунізовані	10	11,2 \pm 0,2*
<u>20-й тиждень</u>		
Контрольні	7	10,4 \pm 0,5
Дослідні:		
опромінені у дозі 1 Гр	5	11,1 \pm 0,3
імунізовані	6	11,5 \pm 0,2
опромінені у дозі 1 Гр та імунізовані	8	6,5 \pm 0,2*
<u>30-й тиждень</u>		
Контрольні	6	6,9 \pm 0,1
Дослідні:		
опромінені у дозі 1 Гр	5	6,9 \pm 0,1
імунізовані	5	7,0 \pm 0,1
опромінені у дозі 1 Гр та імунізовані	7	7,5 \pm 0,1*

* Достовірно значущі результати.

воду, що містила ^{90}Sr , ^{137}Cs та ^{239}Pu , ^{240}Pu) та $404,0 \pm 5,0$ нмоль/л (тварини отримували воду, що містила ^{238}Pu , ^{239}Pu).

Отже, складається враження, що чим активніша імунна система, тим менше організм потребує глюкокортикоїдів. Можливо, це пов'язано зі здатністю активізованих лімфоїдних клітин продукувати АКТГ, який витрачається місцево [4], але спроможний зменшувати функціональне напруження гіпофіза. Навпаки, за значної недостатності імунного апарата спостерігається надмірна активізація синтезу стероїдів, особливо у разі дії на імунодефіцитний організм стресу [5].

Активне втручання імунної системи в регуляцію функції кори надниркових залоз під час дії на організм стресу підтверджується й даними, які вказують на те, що попередня активізація імунної системи малими дозами іонізуючої радіації (до 0,2 Гр) значно пом'якшує імунодепресивну дію стресу щодо перебігу специфічних імунних реакцій та стримує прояви лімфоцитопенії [6]. У разі передіснюючої радіоіндукованої імунної недостатності (загальна доза опромінення 2 Гр), за нашими спостереженнями,

стрес зумовлює подальше пригнічення імунних реакцій (дані не наводяться).

Аналіз одержаних результатів та даних літератури дає можливість стверджувати, що виявлені відмінності у функціонуванні кори надниркових залоз у тварин, опромінених малими дозами радіації, не є наслідком опромінення, вони спричинені, імовірно, станом імунної системи. В нашому випадку він характеризувався, принаймні, стимуляцією лімфоцитотворення та активізацією гуморальних імунних реакцій.

Виявлений взаємозв'язок між імунною та гіпоталамо-гіпофізарно-адреналовою системами може мати важливе значення для функціонування організму, особливо в надзвичайних умовах. Цілком імовірно, що імунна система організму має своєрідні буферні властивості стосовно функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової осі, а не є, як це прийнято вважати, лише мішенню для глюкокортикоїдів.

Висновки

1. Малі рівні зовнішнього та внутрішнього іонізуючого опромінення спричиняють активізацію імунної системи організму з одночасним зменшенням у периферичній крові рівня глюкокортикоїдних гормонів.

2. Імунна система є своєрідним регулятором гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової осі.

Література

1. Шубик В.М. Иммунологические исследования в радиационной гигиене. М.: Энергоатомиздат, 1987. 144 с.
2. Балашов Ю.Г. Флюориметрический микрометод определения кортикостероидов: сравнение с другими методами // Физиол. Журнал СССР. 1990, **76**, 2, 280-282.
3. Антитела. Методы. Книга 1 /Под ред. Кэтти Д. Пер. с англ. М.: Мир, 1991. 388 с.
4. Weigent D.A., Blalok J.E. Interactions between the neuroendocrine and immune systems: common hormones and receptors // Immunol. Rev. 1987, **100**, 79-108.
5. Malyzhev V.A. The immune and neuroendocrine systems relationships and their role in post-radiation pathology development / In: Open problems of human radiobiology. The post-Chernobyl. Pisa, 1993, 43-51.
6. Malyzhev V.A., Pelevina I.I., Afanasiev G.G. et al. Immune system status after low level irradiation: studies within the 10-km zone of Chernobyl accident //Radiat. Biol. Ecol. 1993, **33**, 105-110.

Модулирующее влияние иммунной системы на глюкокортикоидную активность коры надпочечников при действии малых доз ионизирующего излучения

В.А. Шарафан, В.А. Мальжев*, Л.А. Горчакова

*Научный центр радиационной медицины АМН Украины, 254050 Киев; *Украинский научно-практический центр эндокринной хирургии, трансплантации эндокринных органов и тканей МЗ Украины, 253175 Киев*

Исследовали глюкокортикоидную активность коры надпочечников у экспериментальных животных при фракционном внешнем (суммарная доза 1 Гр) или внутреннем облучении за счет загрязнения радионуклидами ^{90}Sr , ^{137}Cs и $^{238, 239, 240}\text{Pu}$ в малых дозах. Одновременно изучали состояние лимфоидного аппарата и интенсивность гуморальной иммунной реакции у животных. Установлено, что в ближайшие сроки (до 6 нед) после облучения наблюдалось некоторое снижение уровня кортикостерона в крови с признаками активизации иммунной системы организма. Этот эффект наблюдается как при внешнем, так и при внутреннем воздействии ионизирующей радиации в малых дозах. Делается вывод, что изменения в функционировании коры надпочечников опосредовано связано с активизирующим действием малых уровней радиации на иммунную систему, а последняя является своеобразным регулятором напряженности "работы" гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси.

Modulating influence of the immune system on the adrenocortical activity under low doses of ionizing radiation

V.A. Sharafan, V.A., Malyzhev*, L.A. Gorchakova

*Research Centre for Radiation Medicine of AMS, 254050 Kyiv, Ukraine; *Ukrainian Scientific and Practical Centre of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of Ministry of Health of Ukraine, 253175 Kyiv, Ukraine*

Glucocorticoid activity of the adrenal cortex in experimental animals under fractional external (total dose of 1 Gy) or internal irradiation caused by low-dose radionuclide contamination with ^{90}Sr , ^{137}Cs and $^{238, 239, 240}\text{Pu}$ was studied. At the same time the state of the lymphoid system and intensity of humoral immune reaction in animals was investigated. In immediate term (up to 6 weeks) after irradiation a certain decrease of blood corticosterone level with evidence of activation of the immune system was shown. This effect transpired both under external and internal effect of low-dose ionizing radiation. We conclude that the alteration in function of the adrenal cortex is connected with activated effect of low levels of radiation on the immune system, which is an original controller of functional intensity of hypothalamic-pituitary-adrenal axis.

КЛІНІЧНА ОЦІНКА ВІДДАЛЕНИХ НАСЛІДКІВ ЧЕРЕЗКАТЕТЕРНОЇ ЧЕРЕЗВЕНОЗНОЇ ДЕСТРУКЦІЇ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ (попереднє повідомлення)

А.М.Кваченюк

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

Головна мета праці - вивчення віддалених наслідків черезкатетерної черезвенозної деструкції надниркових залоз (ЧЧДНЗ) та вироблення клінічних показань і протипоказань щодо методу лікування ендегенного гіперкортицизму. Автором було обстежено 154 хворих на хворобу Іценко-Кушінга (ХІК), яким понад 10 років тому було виконано ЧЧДНЗ. Простежено динаміку їх захворювання, вивчено необхідність комбінації ЧЧДНЗ з адреналектомією та хлоридантерапією. Із 154 хворих на ХІК 65 було виконано деструкцію однієї надниркової залози (однобічну), а 89 хворим - двобічну деструкцію. Автор дійшов висновку, що ЧЧДНЗ є ефективним методом лікування ХІК. Певною мірою вона може бути альтернативою тотальній або субтотальній адреналектомії. Завдяки ЧЧДНЗ приблизно у половини хворих спостерігалася клінічна та гормональна ремісія недуги протягом 5-10 років.

Ключові слова: хвороба Іценко-Кушінга, черезкатетерна черезвенозна деструкція надниркових залоз, віддалені наслідки, комбіноване лікування.

Рентгенендоваскулярна хірургія - перспективний та прогресивний напрямок клінічної медицини, що поєднує у собі рентгенологічні дослідження з черезшкірною катетеризацією судин та виконанням лікувальних втручань на органах та тканинах [1]. У хірургічному відділенні Інституту ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка ХІК лікують за допомогою ЧЧДНЗ [2]. Однак, попри відпрацьовану методику ЧЧДНЗ, через брак клінічного аналізу віддалених наслідків та нечітке визначення і недостатнє обґрунтування показань для його застосування лікування хворих на ХІК за допомогою ЧЧДНЗ як самостійний метод, так і у комплексі з іншими використовують обмежено [3].

Матеріали та методи дослідження

Матеріал, що аналізується, автор отримав шляхом ретельного клінічного обстеження хворих на ХІК, яким у минулому було проведено ЧЧДНЗ [4]. Таку категорію хворих госпіталізують у хірургічне відділення інституту ендокринології раз на 6-12 міс для контрольного дослідження клініко-гормонального стану та проведення відповідного лікування у разі загострення основного захворювання. Обстеження проводили за допомогою як рутинних клінічних методів (збирання анамнезу, огляд хворого, визначення загальних фізіологічних показників - вимірювання артеріального тиску, маси тіла та ін.), так і з використанням лабораторних, біохімічних, гормональних, рентгенологічних, морфологічних методів, за допомогою яких встановлювали стадію захворювання - ремісія (клінічна, гормональна) чи загострення. У разі потреби проводили відповідне лікування з використанням медикаментозних, хірургічних (адреналектомія), рентгенхірургічних методів з подальшим вивченням перебігу захворювання.

Крім візуального обстеження хворих, автором було проаналізовано 1528 історій хвороби їх (починаючи з першої госпіталізації). Були також ретельно вивчені протоколи проведення ангіографії надниркових залоз та рентгенендоваскулярних втручань, протоколи попередніх хірургічних адреналектомій як деструктованих, так і недеструктованих надниркових залоз у

цієї самої групи хворих. Все це дозволило створити повну картину перебігу захворювання та дало можливість оцінити віддалені наслідки ЧЧДНЗ.

Результати обстеження та їх обговорення

Було обстежено 154 хворих на ХІК, яким понад 10 років тому було виконано ЧЧДНЗ, простежено динаміку їх захворювання, вивчено необхідність комбінації ЧЧДНЗ з адреналектомією та хлоридантерапією. Завданням лікування є залишення такої кількості кіркової тканини надниркової залози, яка б не зумовила рецидив захворювання. Разом із тим ця залишкова надниркова тканина повинна забезпечити продукцію кортикостероїдів у межах фізіологічних норм. Таким чином, за клінічною метою метод ЧЧДНЗ корінним чином відрізняється від тотальної адреналектомії, яка спричинює інвалідизацію хворих, адже після неї вони потребують довічної замісної терапії та корекції її у різні періоди життя. Одним із істотних недоліків тотальної адреналектомії є частий розвиток синдрому Нельсона.

Із 154 хворих на ХІК 65 було виконано деструкцію однієї надниркової залози (однобічну - ОД) та 89 хворим - двох (двобічну - ДД).

ДД є радикальнішим методом за ОД. У 68 хворих безпосередньо після проведення ДД розвивалися явища надниркової недостатності. З першої доби післяопераційного періоду їм призначали замісну терапію гідрокортизоном (початкова доза становила 200-300 мг на добу). У 46 хворих (51%) ДД стала остаточною метою лікування (табл.1). У хворих цієї групи, як правило, вже до часу виписки зі стаціонару відзначалася позитивна динаміка захворювання: зниження маси тіла на 2-3 кг, стабілізація АТ у межах 150/90 - 110/70 мм рт.ст. (за початкових показників 230/130 - 180/110 мм рт.ст.), зменшення явищ психічної депресії, поліпшення загального стану, нормалізація добової екскреції 17-ОКС, а у частини хворих (16 осіб) - зниження її до субнормального рівня.

Таблиця 1. Наслідки ДД надниркових залоз у хворих на ХІК

Вид лікування	Кількість хворих	
	абсолютна	%
ДД є остаточною метою лікування	46	51
Після ДД було виконано однобічну адреналектомію	16	18
Через незадовільні наслідки ДД виконано тотальну адреналектомію	27	31
Загальна кількість хворих	89	100

Тим хворим (16 осіб), у яких спостерігалися ознаки хронічної надниркової недостатності, призначали замісну терапію - по 12,5-50 мг кортизону на добу. У них протягом кількох місяців після ДД зменшувалася маса тіла на 10-20 кг і більше. У 9 хворих повністю нормалізувався рівень глюкози в крові. У 7 хворих був цукровий діабет легкого ступеня. Реєструвався нормальний рівень 17-ОКС у добовій сечі. Зникали диспластичне ожиріння, трофічні зміни шкіри, не відбувалося подальшого прогресування гірсутизму. Артеріальний тиск стабілізувався у межах 110/60-150/90 мм рт.ст., збільшувалася працездатність. У 11 хворих цієї групи протягом 10 і більше

років спостереження відмічалися періоди короточасного гормонального загострення з підвищенням добової екскреції 17-ОКС максимально до 29,3 мкмоль на добу за практично незміненого суб'єктивного стану. Нормалізація гормональних показників у цих хворих досить легко досягалася за допомогою коротких курсів хлодитантерапії (до 100 г сумарно).

У 16 хворих (18%), котрим була виконана ДД, через 1-4 роки після операції спостерігалися неодноразові рецидиви захворювання, які не переривались, або короточасно зупинялися хлодитаном. Цим хворим було проведено односторонню адреналектомію у той самий період. Після неї у 13 хворих відзначалася повна ремісія процесу протягом 8-10 років. У 3 хворих односторонні ознаки початкового загострення, що проявлялися збільшенням рівня 17-ОКС у сечі у 1,2-1,3 рази за відсутності клінічних ознак захворювання, були повністю усунені хлодитаном (150-200 г сумарно). Після цього наставала стійка ремісія.

У ще однієї групи хворих з ДД, що складалася з 27 осіб (31%), незважаючи на неодноразові тривалі курси хлодитантерапії та проведення односторонньої адреналектомії, не вдалося досягти стійкої ремісії захворювання. Симптоми гіперкортицизму прогресували. Хворим цієї групи через неефективність проведеного лікування було виконано тотальну адреналектомію.

Цікавими виявилися результати обстеження 65 хворих на ХІК, яким було виконано ОД (табл.2). У 49 з них було виконано деструкцію лівої надниркової залози та у 16 - правої. Практично у всіх хворих після короточасної ремісії (до 3-9 міс) спостерігався рецидив захворювання.

Таблиця 2. Наслідки ОД надниркових залоз у хворих на ХІК

Вид лікування	Кількість хворих	
	абсолютна	%
Комбінація ОД з хлодитантерапією є остаточним методом лікування	17	23
Після ОД було виконано контралатеральну адреналектомію	26	40
Через незадовільні наслідки ОД виконано тотальну адреналектомію	22	37
Загальна кількість хворих	65	100

Найкращий клінічний ефект спостерігався у 26 (40%) хворих, у яких після доповнення ОД контралатеральною адреналектомією розвилася стійка ремісія процесу тривалістю 10 і більше років зі зникненням усіх симптомів гіперкортицизму. Тільки у 3 хворих цієї групи для досягнення стійкої ремісії треба було проводити короткі курси хлодитантерапії (сумарно до 200 г). Із 26 хворих у 8 виконано деструкцію правої надниркової залози та у 18 - лівої.

У 17 хворих (23%) після ОД спостерігалися рецидиви ХІК з інтервалами 1,5-2 роки, котрі зупинялися повторними курсами хлодитантерапії (по 150-200 г хлодитану на курс). У деяких хворих сумарна доза хлодитану за

10 років спостережень досягала 1000 г. У даної групи хворих симптоми гіперкортицизму повністю не зникали. У деякого зберігалися артеріальна гіпертензія, патологічний тип цукрової кривої, дисменорея. Тому наслідки лікування ХІК з використанням лише ОД не можна вважати задовільними.

Нарешті, у 22 (37%) хворих, у яких ОД, доповнена однобічною адреналектомією та/чи курсами хлодитантерапії, не дала бажаних наслідків, виконано тотальну адреналектомію.

Таким чином, результати досліджень та віддалені клінічні спостереження свідчать про ефективність методу ЧЧДНЗ при ХІК. Однак у значній частини хворих (майже 50%) їх можна визнати незадовільними повністю або частково, адже пацієнти потребують додаткового лікування (однобічна адреналектомія, хлодитантерапія і навіть тотальна адреналектомія). Певною мірою це зумовлено відсутністю чітких показань для проведення ЧЧДНЗ, які можна виробити тільки після ретельного вивчення залежності ефективності ЧЧДНЗ від стану центральних механізмів регуляції діяльності надниркових залоз та особливостей перебігу ХІК у окремого хворого. З цією самою метою, для прогнозування перебігу хвороби в післядеструкційний період, треба також вивчити залежність ефективності ЧЧДНЗ від технічних особливостей втручання та структури судин надниркових залоз. Тільки за умов урахування цих чинників можливо сподіватися на зменшення кількості хворих, котрим після ЧЧДНЗ буде треба виконувати тотальну адреналектомію, яка є технічно та клінічно складнішою при деструктованій наднирковій залозі, ніж звичайна адреналектомія. Та, з іншого боку, все це дозволить чітко окреслити групу хворих, у котрих після виконання ЧЧДНЗ можна очікувати довготривалої ремісії захворювання.

З огляду на незадовільну динаміку захворювання після ОД без доповнення її однобічною адреналектомією, лікуванням хлодитаном, на нашу думку, нераціонально вважати ОД самостійним методом лікування ХІК.

Як було сказано вище, основною метою ЧЧДНЗ є досягнення максимального повного асептичного некрозу кіркової речовини надниркової залози за умови залишення такої кількості надниркової тканини, котрої досить для профілактики рецидивів захворювання і при цьому не виникає потреби у довічній замісній терапії. Враховуючи те, що для досягнення цієї мети у цілій низці випадків потрібна комбінація ЧЧДНЗ з однобічною адреналектомією, хлодитантерапією, а також із впливом на центральні механізми ХІК, для ґрунтовного і раціонального застосування ЧЧДНЗ треба відпрацювати клінічну систему комбінованого лікування хворих на ХІК з урахуванням особливостей перебігу хвороби у кожному конкретному випадку.

Таким чином, існування різних методів лікування ХІК свідчить не тільки про відсутність універсального методу лікування цієї складної хвороби, але й про потребу підбору комплексної терапії у кожному конкретному випадку [5]. Подальша клінічна розробка показань та обґрунтування методу ЧЧДНЗ дозволить йому посісти своє місце у комплексі методів лікування ХІК.

Висновки

1. ЧЧДНЗ є досить ефективним методом лікування ХІК. Певною мірою вона може бути альтернативою тотальній або субтотальній адреналектомії.

2. Завдяки ЧЧДНЗ приблизно у половини хворих спостерігалася клінічна та гормональна ремісія хвороби протягом 5-10 років.

3. ОД надниркових залоз можна використовувати як компонент терапії ХІК у поєднанні з односторонньою адреналектомією та хлоридантерапією.

4. ДД надниркових залоз може бути першим кроком на шляху оперативного лікування ХІК. У разі загострення хвороби доповнення її односторонньою адреналектомією може стати завершальним етапом лікування у значної частини хворих.

Література

1. Рабкин И.Х., Матевосов А.Л., Готман Л.Н. Рентгенэндоваскулярная хирургия. М.: Медицина, 1987. 416 с.
2. Комиссаренко И.В., Югринов О.Г., Чебан А.К. и др. Новый метод лечения болезни Иценко-Кушинга чрезвенозной деструкцией надпочечников //Пробл. эндокринологии. 1986, N 2, 17-20.
3. Комиссаренко И.В., Югринов О.Г., Чебан А.К. и др. Рентгенэндоваскулярная хирургия в клинической эндокринологии: реализованные возможности и перспективы развития // Клин. хирургия. 1985, N 9, 74-75.
4. Югринов О.Г. Ангиография и рентгенэндоваскулярная хирургия при заболеваниях коры надпочечников. Автореф. дис. докт. мед. наук. К., 1989. 40 с.
5. Богатырев О.П. Сравнительная оценка эффективности различных методов лечения болезни Иценко-Кушинга. Автореф. дис. докт. мед. наук. М., 1989. 36 с.

Клиническая оценка отдаленных результатов чрезкатетерной чрезвенозной деструкции надпочечников

А.Н.Кваченюк

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

Главная цель работы - изучение отдаленных результатов чрезкатетерной чрезвенозной деструкции надпочечников (ЧЧДН) и попытка отработки показаний и противопоказаний для применения этого метода. Автором были обследованы 154 больных болезнью Иценко-Кушинга (БИК), которым больше 10 лет назад была выполнена ЧЧДН, прослежена динамика их заболевания, изучена необходимость комбинации ЧЧДН с адреналэктомией и хлоридантерапией. Из 154 больных БИК у 65 была выполнена деструкция одного надпочечника - односторонняя, и у 89 больных - двусторонняя деструкция. В результате проведенных автором исследований можно сделать выводы, что ЧЧДН - эффективный метод лечения БИК. В определенной степени она может быть альтернативой тотальной или субтотальной адреналэктомии. Благодаря ЧЧДН приблизительно у половины больных наблюдалась клиническая и гормональная ремиссия болезни в течение 5-10 лет.

Clinical evaluation of end results of transvenous transcatheter destruction of the adrenals

A.N.Kvachenyuk

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

The aim of the study is to investigate end results of transvenous transcatheter destruction of the adrenals (TTDA) and to establish indications and contraindications for this method. 154 patients with Cushing's disease were examined, they underwent TTDA over 10 years ago. The dynamics of the disease was studied as well as the necessity to combine TTDA with adrenalectomy and chloridane therapy. Among 154 patients with Cushing's disease 65 patients underwent unilateral destruction of an adrenal gland, 89 patients - bilateral destruction. It may be concluded that TTDA is an effective method to treat Cushing's disease. To some extent, this may become an alternative to total or subtotal adrenalectomy. As a result of TTDA, clinical and hormonal remission was observed in a half of patients for 5-10 years.

УДК: 616.43:616-008.9.616.39

СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ, ФОСФОРНО-КАЛЬЦІЄВОГО ГОМЕОСТАЗУ ПРИ ДИФУЗНОМУ ТОКСИЧНОМУ ЗОБІ, ГІПОТИРЕОЗІ ТА ГІПЕРКОРТИЦИЗМІ

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

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

Обстежено 20 жінок віком від 20 до 54 років: 5 хворих з дифузним токсичним зобом, 10 хворих з гіпотиреозом, 5 - з гіперкортицизмом, зумовленим хворобою Іценко-Кушінга, в період загострення захворювання та після комплексного лікування. У хворих усіх груп спостерігалися гіперкальціурія, підвищення вмісту фосфору в крові та зниження його секреції з сечею протягом доби, зниження швидкості поширення ультразвукової хвилі кістковою тканиною (порівнювали із аналогічними показниками групи здорових таких самих статі та віку). Виявлене зниження добової екскреції естрогенів з сечею у хворих усіх груп, що може призвести до зміни показників фосфорно-кальцієвого гомеостазу та щільності кісткової тканини, поряд із основними патогенетичними механізмами формування метаболічних змін у кістці. Комплексна патогенетична терапія з використанням препаратів "Космол" та "Міокальцик" сприяла поліпшенню стану кісткової тканини у хворих.

Ключові слова: дифузний токсичний зоб, гіпотиреоз, хвороба Іценко-Кушінга, кісткова тканина, остеопороз, діагностика, лікування.

Остеопороз є найпоширенішим метаболічним порушенням структури скелета, що проявляється зменшенням маси кісткової тканини, зміною її мікроархітекτονіки та підвищеним ризиком виникнення перелому [1]. За свідченнями експертів ВООЗ, остеопороз посідає третє місце після серцево-судинних захворювань і цукрового діабету серед основних медико-соціальних проблем сучасності [1, 2]. За даними епідеміологічних досліджень, в Україні остеопороз серед населення спостерігається у 20-39% жінок старшого віку та у 9-23% чоловіків [3]. Щільність та мінеральна насиченість кісткової тканини залежить від статі (у жінок старшого віку ці показники нижчі, ніж у чоловіків), віку, регіону проживання та особливостей харчування (споживання продуктів, що містять кальцій). Особливої актуальності проблема остеопорозу набуває у зв'язку з наслідками аварії на ЧАЕС - перебування людей на радіаційно забруднених територіях, а також наявністю регіонів з дефіцитом йоду та надлишком фтору у питній воді [3, 4].

Основним ускладненням остеопорозу є переломи кісток. За даними Центру медичної статистики МОЗ України за кількістю переломів кісток наша держава дещо переважає розвинені економічні країни світу. Значна частка цих переломів припадає на людей похилого та старечого віку [3]. Разом із тим спостереження останніх десятиріч свідчать про можливість розвитку остеопорозу у молодому та середньому віці, як у жінок, так і (рідше) у чоловіків, тобто в той період, коли маса скелета повинна бути максимальною [5, 6]. До чинників, що спричиняють порушення обміну кальцієм в організмі, зміни метаболізму кісткової тканини та формування

остеопорозу, належать ендокринні захворювання - патологія щитовидної залози і гіперкортицизм [2, 5].

Метою дослідження було вивчення показників фосфорно-кальцієвого обміну, щільності кісткової тканини у хворих з дифузним токсичним зобом, а також оцінка ефективності використання у комплексній терапії препарату "Космол" та "Міокальцик".

Матеріали та методи дослідження

Ми обстежили 20 жінок віком від 20 до 54 років, серед них - 5 хворих з дифузним токсичним зобом (ДТЗ) 1-3 ступеня з тиреотоксикозом середньої тяжкості у стадії декомпенсації; 10 - з гіпотиреозом (унаслідок аутоімунного тиреоїдиту) середньої тяжкості у стадії декомпенсації; 5 хворих на хворобу Іценко-Кушінга у стадії декомпенсації. Тривалість захворювання становила від 6 міс до 3 років. Контрольну групу склали 15 соматично здорових жінок такого самого віку. Під час обстеження звертали увагу, чи немає у хворих патології органів травлення та нирок. Усі обстежувані перебували в умовах стаціонарного харчування. Споживали приблизно 800 - 1000 мг кальцію на добу - згідно із загальноприйнятими рекомендаціями [3, 6].

Усім хворим проводили клініко-лабораторне обстеження, біохімічні дослідження за загальноприйнятими методами. Вміст загального та іонізованого кальцію, неорганічного фосфору в крові, рівень добової кальційурії та фосфатури визначали теж за традиційними методиками [7]. У добовій сечі вивчали вміст сумарних 17-оксикортикостероїдів (17-ОКС) за методом Портера-Сільбера у модифікації М.А. Крехової (1960), сумарних 11-оксикортикостероїдів (11-ОКС) за допомогою флуориметричного методу (G.Dorner, F.Stahl, 1964), сумарних естрогенів у фолікулярну фазу менструального циклу - хроматографічного методу (Brown J.V. і співавт., 1968) [7].

Для визначення ступеня мінералізації кісткової тканини усім хворим проводили ультразвукову остеоденситометрію п'яткової кістки за допомогою апарата "Achilles plus" фірми Lunar incoporated (США) з оцінкою швидкості проходження ультразвуку (SOS, м/с) та показника жорсткості кістки (Stiffness, %), рентгенологічне дослідження грудного та поперекового відділів хребта у бічній проекції з обчисленням індексу деформації хребців [3, 6].

Хворих обстежували до та після комплексного патогенетичного лікування за їх згодою. Хворим на дифузний токсичний зоб призначали мерказоліл (у середньому по 30 мг/ добу, препарати групи β -блокаторів, калію, а також біологічно активний продукт харчування "Космол" (по 20 г двічі на добу протягом місяця). Хворі з гіпотиреозом отримували левотироксин (середня доза - 150 мкг/добу), імуномодулятори тимічного походження (вілозен, тимоген) та біологічно активний продукт харчування "Космол" протягом одного місяця.

Хворим з гіперкортицизмом, зумовленим хворобою Іценко-Кушінга, призначали інгібітори стероїдогенезу у наднирникових залозах (мамоліт, хлодитан), парлодел (по 5 - 7,5 мг/добу), препарат кальцитоніну "Міокальциком" фірми "Sandoz" (по 50 МЕ внутрішньом'язово через добу протягом 3 тиж) та "Космол" протягом місяця.

Статистичну обробку результатів проводили за методом варіаційної статистики з обчисленням t-критерію Стьюдента. Статистично значущою вважали різницю показників при $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Результати дослідження показників фосфорно-кальцієвого обміну наведено у табл. 1. Вірогідних відмінностей щодо рівнів загального та іонізованого кальцію у крові хворих усіх груп та контрольної групи не виявлено. Ці дані збігаються з наведеними у літературі результатами дослідження основних біохімічних маркерів остеопорозу, які свідчать про те, що рівень кальцію у крові хворих з тиреотоксикозом, гіперкортицизмом залишається незмінним або збільшується [1, 2, 8]. Таким чином, ці показники не можуть бути надійними маркерами виявлення остеопорозу за цих станів.

У хворих усіх груп спостерігалася гіперкальціурія ($P < 0,05$). Рівень неорганічного фосфору у крові збільшувався ($P < 0,05$), його добова екскреція

з сечею знижувалася ($P < 0,05$). Отримані результати узгоджуються з даними літератури [2, 5, 8], які свідчать про підвищення рівня неорганічного фосфору у плазмі крові хворих з постменопаузальним та вторинним остеопорозом, який спричинюється гіпертиреозом та гіперкортицизмом [8].

Під час вивчення гормональних показників (табл. 2) не виявлено змін добової екскреції 11-ОКС і 17-ОКС з сечею у групі хворих з патологією щитовидної залози (порівняно з показниками екскреції у здорових).

У групі хворих із гіперкортицизмом рівень добової екскреції 11-ОКС і 17-ОКС з сечею значно перевищував показники контрольної групи ($P < 0,05$), що відповідає патогенезу цього захворювання [9].

Звертає на себе увагу значне зниження добової екскреції сумарних естрогенів з сечею у хворих усіх груп [мал. 1], яке може спричинити порушення мінеральної щільності кісткової тканини при дифузному токсичному зобі, гіпотиреозі та гіперкортицизмі, окрім основних патогенетичних механізмів розвитку метаболічних змін у скелеті [2, 8].

Таблиця 1. Фосфорно-кальцієвий обмін при дифузному токсичному зобі, гіпотиреозі, гіперкортицизмі ($M \pm m$)

Групи обстежуваних	Кількість хворих	Кальцій крові, ммоль/л	Іонізований кальцій крові, ммоль/л	Неорганічний фосфор крові, ммоль/л	Кальцій сечі, ммоль/добу	Неорганічний фосфор сечі, ммоль/добу
<i>Хворі з дифузним токсичним зобом:</i>						
до лікування		$2,68 \pm 0,05$	$1,22 \pm 0,08$	$1,98 \pm 0,17$	$14,8 \pm 1,16$	$12,62 \pm 1,12$
P		$> 0,1$	$> 0,1$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$
після лікування	5	$2,59 \pm 0,12$	$1,63 \pm 0,04$	$1,32 \pm 0,06$	$11,21 \pm 1,08$	$16,43 \pm 1,08$
P		$> 0,05$	$> 0,1$	$> 0,1$	$> 0,1$	$> 0,1$
P ₁		$> 0,1$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	$> 0,1$
<i>Хворі з гіпотиреозом:</i>						
до лікування	10	$2,46 \pm 0,02$	$1,07 \pm 0,12$	$2,01 \pm 0,12$	$18,41 \pm 2,04$	$12,43 \pm 1,06$
P		$> 0,05$	$> 0,1$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$
після лікування	10	$2,68 \pm 0,14$	$1,46 \pm 0,09$	$1,36 \pm 0,06$	$14,06 \pm 0,89$	$14,28 \pm 1,18$
P		$> 0,1$	$> 0,1$	$> 0,1$	$> 0,1$	$> 0,1$
P ₁		$> 0,1$	$< 0,05$	$< 0,05$	$> 0,1$	$> 0,1$
<i>Хворі з гіперкортицизмом:</i>						
до лікування	5	$2,69 \pm 0,03$	$0,98 \pm 0,12$	$1,68 \pm 0,10$	$21,7 \pm 2,04$	$12,93 \pm 0,08$
P		$> 0,1$	$> 0,1$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$
після лікування		$2,66 \pm 0,16$	$1,42 \pm 0,14$	$1,22 \pm 0,04$	$14,42 \pm 1,86$	$16,74 \pm 1,78$
P	5	$> 0,1$	$> 0,1$	$> 0,1$	$> 0,1$	$> 0,1$
P ₁		$> 0,1$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$	$> 0,1$
Контрольна	15	$2,63 \pm 0,10$	$1,3 \pm 0,02$	$1,29 \pm 0,03$	$10,4 \pm 1,22$	$18,6 \pm 2,16$

P - вірогідність відмінності показників хворих порівняно з показниками контрольної групи,
P₁ - до лікування.

Таблиця 2. Добова екскреція з сечею 17 - ОКС, 11-ОКС, сумарних естрогенів при дифузному токсичному зобі, гіпотиреозі та гіперкортицизмі (М ± m)

Група обстежуваних	Кількість хворих	17 - ОКС, мкмоль/добу	11 - ОКС, мкмоль/добу	Естрогени сумарні, нмоль/добу
Хворі з дифузним токсичним зобом	5	18,73 ± 1,87	0,54 ± 0,08	74,6 ± 1,18
P		> 0,1	> 0,1	< 0,05
Хворі гіпотиреозом	10	16,20 ± 4,21	0,61 ± 1,03	64,3 ± 1,74
P		> 0,1	> 0,1	< 0,05
Хворі з гіперкортицизмом	5	38,2 ± 1,54	1,52 ± 0,19	52,3 ± 2,16
P		< 0,05	< 0,05	< 0,05
Контрольна група	15	16,27 ± 5,12	0,56 ± 0,12	102,3 ± 5,16

P - вірогідність відмінності показників з показниками контрольної групи.



Мал. 1. Розподіл хворих залежно від віку та рівня добової екскреції сумарних естрогенів із сечею.

Проведено оцінку стану кісткової системи у хворих з дифузним токсичним зобом, гіпотиреозом та при хворобі Іценко-Кушінга за швидкістю проходження ультразвукової хвилі та індексом жорсткості. Відзначено зниження швидкості поширення ультразвукової хвилі кістковою тканиною та індексу жорсткості у хворих усіх груп, порівняно із аналогічними по-

казниками здорових ($P < 0,05$). Найменшими ці показники були у хворих з гіперкортицизмом, що свідчить про значну втрату маси кісткової тканини (мал. 2).

Під час рентгенологічного дослідження було виявлено чіткі ознаки остеопорозу. Остеопоротичний індекс був зниженим відносно показників контрольної групи. Так, у хворих з дифузним токсичним зобом цей показник становить 0,8 умовних одиниць, у хворих з гіпотиреозом - 0,6 умовних одиниць. У 3 хворих цієї групи в анамнезі вказується на наявність переломів Коллеса, у 1 хворої були переломи ребер.



Мал. 2. Показники щільності кісткової тканини при дифузному токсичному зобі, гіпотиреозі та гіперкортицизмі: 1 - до лікування; 2 - після лікування. SOS - швидкість проведення ультразвукової хвилі (м/с); STF - показник жорсткості кістки (stiffness, %).

У хворих з гіперкортицизмом остеопоротичний індекс становив 0,43 умовних одиниць. У 3 з 5 хворих спостерігались переломи Коллеса, у 1 з них - перелом клубових кісток, у 2 хворих - компресійні переломи тіл хребців. Через тяжкий прояв остеопорозу хворим цієї групи призначили у комплексній терапії препарат "Міакальчик" у поєднанні із біологічно активним продуктом харчування "Космол", який містить сухе коров'яче молоко, декстрин-мальтозу, вітаміни С, Д, Е та кальцію глюконат. Оптимальне співвідношення у цьому препараті білка, кальцію, фосфору та лактози сприяє поліпшенню кальцієвого обміну та засвоюванню його кістковою тканиною.

Після комплексної терапії загальний стан пацієнтів поліпшився, інтенсифікувався кальцієвий обмін та підвищилася міцність кісткової тканини, про що свідчать результати ультразвукової остеоденситометрії (див. табл. 1, 2; мал. 2).

Висновки

1. У хворих з дифузним токсичним зобом, гіпотиреозом, гіперкортицизмом спостерігається зниження мінеральної щільності кісткової тканини, найбільшою мірою - при гіперкортицизмі. Втрата маси кісткової тканини відбувається на тлі підвищеної екскреції кальцію нирками. Додатковим механізмом формування метаболічних порушень у скелеті може бути зниження рівня секреції естрогенів у організмі, що проявляється зменшенням їх екскреції з сечею.

2. З метою профілактики метаболічних змін у кістковій тканині при дифузному токсичному зобі та гіпотиреозі доцільно рекомендувати біологічно активний продукт харчування "Космол". При гіперкортицизмі його треба призначати разом із "Міокальциком" на тлі терапії інгібіторами стероїдогенезу у наднирникових залозах.

Література

1. Lindsay R. Osteoporosis. A guide to diagnosis, prevention, and treatment. New York: Raven Press, 1992. 40 p.
2. Kanis J.A. Osteoporosis. London 1994 254p.
3. Поворознюк В.В., Подрушняк Е.П., Орлова Е.В. и др. Остеопороз на Украине. К. 1995. 48 с.
4. Поворознюк В.В., Коштура І.Д. Структурно-функціональний стан кістково-м'язової системи у працівників ВО ЧАЕС та його зміни під впливом реабілітаційних заходів // УРЖ. 1995, №3, 26-29.
5. Eriksen E.F. Osteoporosis. Pathogenesis and treatment. Gladsaxe. Soeborg Bogtrykkeri, Denmark, 1992. 152 p.
6. Подрушняк Е.П., Поворознюк В.В., Орлова Е.В., Биттер М.К. Диагностика, профилактика и лечение остеопороза у больных различного возраста: Метод. рекоменд. К. 1993. 17 с.
7. Цюхно З.И., Славнов В.Н., Панченко Н.И. и др. Функциональные методы исследования в эндокринологии. К.: Здоров'я, 1981. 240с.
8. Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз. М.: Медицина, 1995. 300с.

Состояние костной ткани, фосфорно-кальциевого гомеостаза при диффузном токсическом зобе, гипотиреозе и гиперкортицизме

Г.Н.Терехова, В.А.Олейник, В.В.Поворознюк*

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

** Институт геронтологии АМН Украины, 254114 Киев*

Обследовано 20 женщин от 20 до 54 лет: 5 больных с диффузным токсическим зобом, 10 - с гипотиреозом, 5 - с гиперкортицизмом, обусловленным болезнью Иценко-Кушинга, на фоне декомпенсации заболевания и после комплексного лечения. У больных всех групп выявлены гиперкальциурия, повышение концентрации фосфора в крови и снижение его суточной экскреции с мочой, снижение скорости распространения ультразвуковой волны по костной ткани в сравнении с показателями группы здоровых людей аналогичного пола и возраста. При изучении гормональных показателей выявлено снижение суточной экскреции эстрогенов у больных всех групп, что может обуславливать изменения показателей фосфорно-кальциевого гомеостаза и минеральной плотности костной ткани, наряду с основными патогенетическими механизмами формирования метаболических изменений в кости. Комплексная патогенетическая терапия с включением препаратов "Космол" и "Миокальцик" приводила к улучшению состояния костной ткани у больных.

State of the osseous tissue, phosphorus-calcium homeostasis in patients with diffuse toxic goiter, hypothyroidism and hypercorticism

G.M.Terekhova, V.A.Oliynyk, V.V.Povoroznyuk*

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

20 women aged from 20 to 54 years were examined: 5 patients with diffuse toxic goiter, 10 with hypothyroidism, 5 with hypercorticism due to Cushing's disease in the presence of decompensation of the disease and after combined therapy. Hypercalciuria, an increase in blood concentration of phosphorus and a decrease of its 24 h urinary excretion, a decrease in propagation velocity of ultrasonic wave through the osseous tissue as compared to the group of healthy subjects matched by sex and age were revealed in all patients. Study of hormonal indices has revealed a decrease in diurnal excretion of estrogens in patients of all groups, which may cause changes in indices of phosphorus-calcium homeostasis and mineral density of the osseous tissue, together with main pathogenetic mechanisms of forming of metabolic changes in bones. A combined pathogenetic therapy including preparations "Kosmol" and "Myacalcic" improved osseous tissue state in patients.

Огляди

УДК 612.433.664:612.453

СИСТЕМИ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО ПЕРЕНЕСЕННЯ СИГНАЛУ АКТГ ТА ЇХ ВЗАЄМОДІЯ

Ю.Ю. Саутін

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

Проведено аналіз новітніх даних щодо механізмів, які опосередковують перенесення сигналу АКТГ з рецептора на внутрішньоклітинні процеси, що забезпечують функціональну активність адренкортикальних клітин. Охарактеризовано основні месенджерні системи, залучені в перенесення сигналу АКТГ: опосередковані G-білками активація аденілатциклази та сАМР-залежної протеїнкінази (А), Ca^{2+} /кальмодулін-залежний сигнальний каскад, розпад фосфоінозитидів, індукований активацією рецептора з наступною активацією протеїнкінази С. Проаналізовано ядерний етап перенесення сигналу АКТГ - активація факторів транскрипції та регуляція експресії специфічних генів. Наголошується, що пострецепторний месенджерний механізм, який опосередковує дію АКТГ, організовано як мережу сигнальних каналів, пов'язаних між собою взаємними трансрегуляторними впливами.

Ключові слова: АКТГ, рецептор АКТГ, сАМР, протеїнкіназа А, протеїнкіназа С, фосфоліпиди, Ca^{2+} /кальмодулінзалежна протеїнкіназа, фосфорилування.

Класична концепція регуляції стероїдогенезу у надниркових залозах, приклад лаконізму та ясності, тривалий час цілком задовільно пояснювала більшість експериментальних та клінічних фактів, що описували фізіологічний контроль адренкортикальної функції. Було постульовано, що регуляція глюкокортикоїдної функції здійснюється АКТГ, а регуляція мінералокортикоїдної - ангіотензином II (АII). Проте поступово накопичувалися факти, які свідчили про те, що в регуляції стероїдогенезу в надниркових залозах та процесів, від яких він залежить, бере участь значна кількість факторів різноманітної природи - білкові гормони, фактори росту та цитокіни, біогенні аміни. Зараз стає зрозумілим, що АКТГ та АII є лише центральними компонентами комплексу регуляторних агентів, роль та питома вага яких залежить від конкретних умов.

Грунтовним і ясним здавався спочатку і внутрішньоклітинний механізм дії головних регуляторів стероїдогенезу: дія АКТГ на систему стероїдогенезу опосередковується через сигнальний каскад сАМР - протеїнкіназа А (ПКА), а дія АII - через фосфоінозитидний цикл та активацію протеїнкінази С, а також регуляцію внутрішньоклітинного транспорту Ca^{2+} . Але з накопиченням інформації стає дедалі зрозумілішим, що месенджерні системи, які опосередковують ефекти цих головних регуляторів, по-перше, багатоканальні, по-друге, містять впродовж каскадів пункти "входу" та "виходу" різноманітних модулюючих впливів, і, по-третє, можуть перекриватися як між собою, так і з сигнальними шляхами інших агоністів. Почалось поступове усвідомлення того, що клітинна система переносу регуляторної інформації є ареною, де реалізується взаємодія та інтеграція всієї суми факторів, здатних чинити безпосередній вплив на адренкортикоцити.

Метою даного огляду було відобразити нову ситуацію, що склалася в розумінні молекулярних механізмів регуляції кортикостероїдогенезу, на прикладі рецепторних та пострецепторних механізмів перенесення сигналу АКТГ. Узагальнення нових фактів досить переконливо засвідчило організацію даного механізму за типом

мережі. На рівні цієї мережі сигнал АКТГ розпадається на два компоненти: стероїдогенний та ростовий. Саме тут відбувається інтеграція дії чисельних модуляторів функціональної та ростової активності адренкортикальних клітин. Взятю також до уваги, що після двох оглядів, опублікованих у 1989 [1] та 1992 рр. [2], в літературі не з'являлося узагальнюючих праць з даної проблеми. Огляд Schimmet [3] присвячено аналізу винятково ролі сАМР-залежного каскаду в реалізації дії АКТГ.

1. Рецептори АКТГ та їх регуляція

Тривалий час вивчення рецепторів АКТГ стримувалось труднощами, які виникли з отриманням біологічно активного АКТГ, міченого ^{125}I . Введення мітки ^{125}I в гідроксильну групу тирозину-2 в молекулі АКТГ може значно знизити зв'язування з рецептором, оскільки цей амінокислотний залишок входить до складу домену, що відповідає за взаємодію з рецептором. Одночасно може окислюватись залишок метіоніну в положенні 4, який також потрібен для гормон-рецепторної взаємодії [1, 4]. Вдосконалення методики йодування, а також синтез аналогу АКТГ - Фен², Нлс⁴-АКТГ (1-38), в якому ^{125}I вводиться тільки по тирозину-23 дозволило отримати ^{125}I -АКТГ з задовільною біологічною активністю та вивчити характеристики рецептора гормону в адренкортикальних мембранних препаратах та клітинах [5, 6]. Невизначеною залишається кількість типів місць зв'язування АКТГ: за одними даними їх є два - високоафінні рецептори низької ємкості ($K_d \approx 10^{-10} - 10^{-9}$ М у кількості 2000-4000 на клітину) та низькоафінні високої ємкості ($K_d \approx 10^{-7} - 10^{-6}$ М у кількості 30-70 тис. на клітину)[1, 7], за іншими - виявлено лише високоафінні рецептори низької ємкості ($K_d \approx 10^{-9}$ М) [4].

Добре відомо, що активація рецепторів АКТГ викликає утворення сАМР, тому зрозуміло, що вони належать до великої родини рецепторів, які зв'язані з G-білками. Використання для синтезу олігонуклеотидного зонда нуклеотидної послідовності однієї з консервативних ділянок, спільної для генів цієї родини, допомогло зрештою клонувати ген рецептора АКТГ людини [8]. Трансфекція цим геном клітин, що його не експресують, призвела до експресії рецептора та появи здатності реагувати генерацією сАМР у відповідь на невисокі (1нМ) концентрації АКТГ [9]. Первинна структура рецептора АКТГ, яка встановлена за нуклеотидною послідовністю його гена, має риси, типові для рецепторів, асоційованих з G-білками, зокрема характерні сім трансмембранних регіонів [8, 10]. Молекула рецептора АКТГ виявилась найкоротшою з усіх інших представників групи - 297 амінокислотних залишків [10].

Накопичуються дані про те, що рецепція АКТГ є регульованою, хоча кількість потенційних регуляторів поки що незначна. Спочатку було встановлено, що кількість рецепторів разом з рівнем біосинтезу кортикостероїдів зростає протягом останніх днів внутрішньоутробного життя [1, 11]. Потім з'ясувалося, що АКТГ є стимулюючим модулятором власних рецепторів [1, 12]. Кількість рецепторів АКТГ, але не їх афінність, зростає в умовах *in vivo* за дії пролактину та естрогенів [13]. *In vitro* пролактин також швидко стимулює специфічне зв'язування АКТГ ізольованими адренкортикальними клітинами [14]. Помічено також позитивний вплив на кількість рецепторів АКТГ інсуліноподібного ростового фактору (IGF-1) [15], та негативний - фактору росту пухлин (TGF β) [7]. Останнім часом, з появою олігонуклеотидних зондів на мРНК рецептора АКТГ, визначено, що аутоstimуляція рецепторів АКТГ здійснюється через стимуляцію експресії його мРНК [16 - 18]. Цей процес, очевидно, опосередковується сАМР-системою, оскільки дибутирил-сАМР та форсколін відтворюють ефект АКТГ [16]. Вплив АКТГ на кількість мРНК рецептора АКТГ здійснюється як на транскрипційному, так і на посттранскрипційному рівнях [18]. Вартим уваги є те, що активним стимулятором експресії рецепторів АКТГ виявився АІІ [17, 18]. Отже, взаємодія домінуючих регуляторів стероїдогенезу на клітинному рівні починається з їх рецепторів.

2. cAMP-залежний сигнальний каскад

Класичні роботи Е. Сазерленда та співавторів, в яких вперше охарактеризовано роль cAMP в опосередкуванні дії АКТГ та запропоновано концепцію "вторинних месенджерів", поклали початок розвитку цілої галузі, і в наш час cAMP-залежний сигнальний каскад та його роль в опосередкуванні стероїдогенної дії АКТГ вивчені надзвичайно детально [1, 3, 19, 20].

Характерною рисою рецепторів тієї родини, до якої належить, як це зазначено вище, рецептор АКТГ, є тісний зв'язок з G-білками. Вони є першим етапом перенесення сигналу з рецептора, активованого зв'язуванням агоніста. G-білки, з якими асоційовані рецептори АКТГ, охарактеризовані різними методами. ADP-рібозилування в присутності холерного токсину, антитіла проти субодиниці α_s та олігонуклеотидний зонд на мРНК- α_s однозначно ідентифікують наявність в адренкортикальних клітинах G_s-білка [21]. Аналогічно ADP-рібозилування в присутності коклюшного токсину, антитіла проти різних ізоформ α_i -субодиниці та блотинг мРНК з олігонуклеотидним зондом на α_i -мРНК допомогли виявити в адренкортикоцитах три ізоформи α_i : α_i1 , α_i2 та α_i3 [21.]. Внесення холерного токсину в середовище з адренкортикальними клітинами Y1, що несуть мутацію, яка блокує експресію рецептора АКТГ, стимулює стероїдогенез. Це свідчить про функціональний зв'язок між G_s-білком та стероїдогенезом [3].

Роботу комплексу рецептор АКТГ → G_s → аденілатциклаза можна спостерігати на очищених препаратах адренкортикальних плазматичних мембран [22]. Експерименти з даною субклітинною системою виявили, що ланка перенесення сигналу від рецептора до G_s залежить від кальмодуліну [22].

Попередня обробка культури клітин пучкової зони кори кортикотропіном підвищує їх подальшу реактивність до гормону, оцінювану по генерації cAMP. Одночасно спостерігається підвищення активності та кількості α_s [21, 23]. Цікаво, що АІІ також підвищує кількість α_s , не впливаючи на активність цього білка [21]. Загалом, потенціюючий ефект АІІ на АКТГ-залежну генерацію cAMP опосередковується одразу двома месенджерними шляхами – залежними від кальмодуліну та протеїнкінази С [24], але поки що не зрозуміло, чи є ці сигнальні механізми медіаторами впливу АІІ на G α_s . IGF-1 також стимулює як відповідь адренкортикоцитів на АКТГ, так і рівень α_s [21, 25]. Отже, ми бачимо, що й етап перенесення сигналу АКТГ G-білками також є пунктом, через який здійснюються ауторегуляція реактивності до АКТГ, модулюючі впливи АІІ, іншого стероїдогенного регулятора, та ростового фактору IGF-1.

Активация аденілатциклази та утворення cAMP, активация протеїнкінази А через взаємодію cAMP з її регуляторною субодиницею та відокремленням внаслідок цього активної каталітичної протеїнкіназної субодиниці, а також зв'язок цих процесів з прискоренням стероїдогенезу вивчені досить детально [1-3, 19]. Переконливо ілюстрацією функціонування даного механізму є група мутантів лінії адренкортикальних клітин Y, що отримали назву *kin*. Ці мутанти мають амінокислотні заміни в тих доменах регуляторної субодиниці протеїнкінази А, які відповідають за взаємодію з cAMP. Внаслідок таких мутацій протеїнкіназа втрачає здатність активуватися cAMP [26]. Здатність до стимуляції кортикотропіном як експресії стероїдогенних ферментів, так і ростових процесів ці мутанти також втрачають, і поновити її можна трансфекцією в клітини гену дикого типу регуляторної субодиниці [27].

Складним є питання про субстрати протеїнкінази А, фосфорилування яких спричиняє активацию біосинтезу стероїдів, та взагалі про ефекторні ланки cAMP-залежного месенджерного механізму. Субстратів протеїнкінази А в адренкортикоцитах ідентифіковано небагато, але вже зрозуміло, що вони діляться на дві групи: 1) білки цитоплазми та мітохондрій, що відповідають за певну ділянку стероїдогенезу; 2) ядерні білки – фактори транскрипції, що є трансактиваторами регулятор-

них *cis*-елементів генів стероїдних гідроксилаз. У функціональному плані це приблизно відповідає гострій та хронічній відповіді адренкортикоцитів на АКТГ.

У цитозолі та мікросомах кори надниркових залоз виявлено близько 15 білкових фракцій, фосфорилування яких зростає під впливом сАМР [28]. До ідентифікованих білків першої групи належить холестеролестераза, яка внаслідок фосфорилування протеїнкіназою А активується, чим прискорюється гідроліз ефірів холестерину та підвищується вміст вільного холестерину [19]. Частина клітинної протеїнкінази А досить міцно асоційована з цитоскелетом, білки якого (принаймні сім фракцій) фосфорилуються у разі підвищення рівня сАМР [29]. Крім сАМР-залежного фосфорилування в цитоскелеті адренкортикоцитів спостерігали також фосфорилування білків Ca^{2+} /кальмодулін-залежною протеїнкіназою, також асоційованою з цією структурою, та протеїнкіназою С [30, 31]. Вважають, що фосфорилування білків цитоскелету всім цим комплексом кіназ у відповідь на дію АКТГ відіграє важливу роль у забезпеченні транспорту холестерину з ліпідних депо в мітохондрії [19, 31].

Гостра фаза стимуляції стероїдогенезу значною мірою залежить від синтезу лабільного білка [19], який останнім часом отримав назву StAR (*steroidogenic acute regulatory protein*) [32]. Цей білок експресується виключно у стероїдогенних тканинах, локалізується переважно у мітохондріях, де відповідає за транспорт холестерину між зовнішньою та внутрішньою мембранами, а його синтез на транскрипційному рівні сильно стимулюється через сАМР-залежний механізм [33]. Виявлено дві фракції цього білка [34], одна з яких є фосфопротеїном [35]. Але чи є цей фосфопротеїн продуктом протеїнкінази А, не зрозуміло, хоча це й не виключається [19].

Завершуючи розгляд цитозольних фосфопротеїнів, слід зазначити, що вони можуть утворюватись в результаті дії одночасно кількох протеїнкіназ, що взагалі є важливим принципом інтеграції клітинних сигналів [36]. Так, нещодавно показано, що один і той же фосфопротеїн, *pp37*, утворюється внаслідок стимуляції адренкортикоцитів як АКТГ (або дибутирил-сАМР), так і - АІІ (або форболовим ефіром РМА) [37].

3. Внутрішньоядерна ланка перенесення сигналу АКТГ: сАМР-залежний та сАМР-незалежний компоненти

Друга фаза АКТГ-залежної стимуляції стероїдогенезу, як відомо, полягає в активації транскрипції генів стероїдних гідроксилаз (цитохромів P450_{sec}; P450_{17 α} ; P450₂₁; P450_{11 β} та P450_{ald}) [38-40]. Вона пов'язана із заключним, ядерним, етапом перенесення сигналу АКТГ. Певна частка цього месенджерного процесу, котру ще належить з'ясувати, може забезпечуватись регуляцією активності факторів транскрипції через фосфорилування сАМР-залежною протеїнкіназою. Зараз ведуться інтенсивні дослідження регуляторних *cis*-елементів у промоторній 5'-частині генів стероїдних гідроксилаз та факторів транскрипції, які зв'язуються з ними під впливом сигналів, що переносяться по сАМР-залежному каскаду. Початкова робоча гіпотеза, згідно з якою АКТГ регулює експресію всіх вищезгаданих гідроксилаз через спільну сАМР-залежну систему факторів транскрипції, не підтвердилась [41]. Загальним для всіх гідроксилаз є лише фактор SF-1 та відповідний елемент у промоторі, який, втім, відповідає за тканиноспецифічну конституційну експресію цих генів [41, 42]. Що стосується регульованої експресії, то кожен з цих генів має власну сАМР-залежну, а також сАМР-незалежну системи регуляції експресії [41-43]. Роль "традиційного" фактора транскрипції CREB (*cAMP-regulatory element binding protein*), що регулюється сАМР-системою, будучи субстратом протеїнкінази А, встановлено лише для P450_{11 β} [42]. Більшою мірою проявляється залучення інших сАМР-залежних факторів (Sp1, NGF1-B, PBX-1) та відповідних елементів у промоторних ділянках генів [41, 42]. Від протеїнкінази А залежить або активація цих факторів, або, інколи, активація їх експресії як "генів ранньої відповіді" ("early genes"), що є предметом інтенсивних досліджень. Впливи сигналів, опосе-

редкованих через інші механізми, можуть здійснюватись, зокрема, й через *cis*-елементи та *trans*-активатори, спільні з сАМР-залежним шляхом. Так, у гені P450_{17α} виявлено єдиний *cis*-елемент, який реагує як на сАМР, так і на форболові ефіри [44]. Але за іншими даними, сАМР-залежна індукція та РМА-залежна репресія транскрипції P450_{17α} опосередковуються різними промоторними ділянками [45].

На “ядерному” етапі дії АКТГ встановлено активацію експресії й інших генів, зокрема - протоонкогенів *Jun* та *Fos* [46, 47]. Продукти цих генів, білки *Jun* та *Fos*, є надзвичайно важливими компонентами трансдукції сигналу в ядрі, і інколи їх називають третинними месенджерами різноманітних факторів, що контролюють проліферацію та диференціювання клітин. Причиною цього є те, що гетеро- та гомодимери різних представників родин *Jun* та *Fos* утворюють фактор транскрипції AP-1 [48]. Останній процес, як відповідь клітини на дію агоністу, контролюється на рівні транскрипції генів *Jun* та *Fos* та фосфорилування їх продуктів різними протеїнкіназами [48, 49]. Все це ускладнює картину ядерного етапу перенесення сигналу АКТГ та схему взаємодій з іншими месенджерними механізмами. Встановлено, що експресія *c-fos* та *jun-B* опосередковується, з одного боку, сАМР [46, 47], а з іншого, - також і протеїнкіназою С [46]. Хоча експресія цих протоонкогенів під впливом АКТГ та АІІ корелює з прискоренням стероїдогенезу [46, 47], не меншу здатність її активувати виявляють ростові фактори IGF-1 та b-FGF [50]. Тобто, як фактори, що прискорюють стероїдогенез, так і фактори, що регулюють трофічні процеси, стимулюють експресію протоонкогенів родин *Jun* та *Fos* [46, 47, 50], іншими словами - використовують спільні механізми для перенесення сигналу в ядрі адренокортикоциту. Щодо участі цього механізму в опосередкуванні стероїдогенної дії АКТГ, то зазначимо, що *cis*-елемент, який може відповідати за зв'язування фактора AP-1 ідентифіковано в промоторі гену лише єдиного цитохрому - P450_{sc} [3, 51].

4. Перенесення сигналу АКТГ за участю Ca²⁺/кальмодуліну та ліпідних месенджерів з активацією протеїнкінази С

Розгляд сАМР-залежного механізму перенесення сигналу АКТГ не залишає сумнівів, що це не єдиний канал опосередкування його ефектів. Це ж саме переконливо доводять також такі дані: для індукції мРНК P450_{sc}, P450_{11β}, а також адрендоксину та адренодоксинредуктази через 12 год достатньо дії АКТГ лише протягом перших 5-60 хв, в той час як сАМР або форсколін здатні відтворити цей самий ефект лише за умови постійної присутності в середовищі [52].

Інші сигнальні шляхи, залучені в опосередкування дії АКТГ, вивчені набагато гірше, ніж сАМР-залежний. Найбільш вагомими з них сьогодні здаються механізми, пов'язані з кальмодуліном та протеїнкіназою С. Так, інгібітори кальмодуліну (трифторперазин, хлорпромазин, кальмідазоліум) пригнічують кортикотропін-залежну стимуляцію стероїдогенезу [22, 53]. В різних зонах кори наднирників виявлено активність кальмодулінзалежної протеїнкінази та показано фосфорилування нею ряду клітинних білків [31, 54, 55]. Ідентифіковано принаймні дві ділянки стероїдогенезу, залежні від кальмодуліну: взаємодія АКТГ-рецептора з G_s [22] та транспорт холестерину в мітохондрії, який контролюється АКТГ-індукованим фосфорилуванням ряду білків цитоскелету кальмодулін-залежною протеїнкіназою [31].

Розглядаючи роль сАМР-залежної системи в перенесенні сигналу АКТГ, ми весь час зустрічалися з проявами трансрегуляції (в англійській літературі - “cross-talking”) з боку сигнального каскаду, залежного від протеїнкінази С. Але самостійна роль останнього в опосередкуванні ефектів АКТГ, на відміну від АІІ, залишається невизначеною. Оpubліковані факти та думки дослідників з даного питання досить суперечливі. Так, деякими авторами взагалі не виявлено характерних проявів активації даного месенджерного каскаду: в лінії адренокортикальних клітин Y1 за дії АКТГ не спостерігалось ні гідролізу поліфосфоінозитидів, ні зрос-

тання рівня інозитолфосфатів, ні підвищення рівня внутрішньоклітинного Ca^{2+} [56 - 58].

У той же час чимало інших даних свідчить про залучення в опосередкування дії АКТГ фосфоліпідного месенджерного механізму. Проявом цього були інтенсивні зміни у метаболізмі фосфоліпідів за дії гормону і накопичення диацилгліцеринів (ДАГ), а також активація протеїнкінази С. Проте ефекти, що спостерігалися, часом були досить своєрідними. Так, тривалий час група R. Farese обстоювала точку зору, згідно з якою швидкі зміни метаболізму фосфоліпідів, індуковані АКТГ, набагато складніші, ніж це передбачає класична схема. Приріст ДАГ, потрібний для активації протеїнкінази С, відбувається, згідно з цими поглядами, за рахунок не стільки його вивільнення як продукту гідролізу фосфоінозитидів, скільки - активації синтезу фосфатидату *de novo*, що проходить, як відомо, через реакцію, яка каталізується гліцерофосфатацилтрансферазою. На наступному етапі фосфатидат перетворюється в ДАГ (Див. підсумовуючі огляди Farese [59 - 62], а також [63]). Активація синтезу фосфатидату *de novo* зумовлює зростання утворення фосфоінозитидів, фосфатидилетаноламіну, фосфатидилхоліну [60, 61]. Це може мати й інші наслідки для реалізації дії АКТГ: а) модифікація вмісту в мітохондріальній мембрані деяких з цих фосфоліпідів сприяє транспорту в мітохондрії холестерину; б) утворення фосфатидату може бути ланкою інших сигнальних механізмів, роль яких поки що малозрозуміла.

Іншими авторами [64] показано, що АКТГ (1-39) стимулює стероїдогенез у клітинах пучкової й сітчастої зон в концентраціях, недостатніх для генерації сАМР ($\leq 10^{-12}$ М), але достатніх для гідролізу сумарних фосфоінозитидів. При концентраціях АКТГ $\geq 10^{-12}$ М гідроліз фосфоінозитидів повертається до базального рівня, а подальша інтенсифікація синтезу кортикостероїдів здійснюється вже за рахунок зростання рівня сАМР [64, 65]. Фрагмент АКТГ (5-24), який здатний стимулювати стероїдогенез без активації аденілатциклази, за всіх концентрацій діє, очевидно, за рахунок гідролізу фосфоінозитидів [64]. Характерно, що серед водорозчинних метаболітів фосфоінозитидів в даному випадку переважає не інозитолтрифосфат, як звичайно, а гліцерофосфоінозитолі, що вказує на відмінність хімізму гідролізу інозитидів [64].

На специфіку впливу АКТГ на обмін фосфоінозитидів вказує також те, що за дії гормону можна спостерігати швидкий гідроліз не фосфатидилінозитмоно- чи -дифосфату, а лише фосфатидилінозитолглікану [66]. ДАГ є одним продуктом його гідролізу, а інший, фосфоінозитолглікан, як нещодавно було виявлено [67], є негативним модулятором дії АКТГ й утворює, таким чином, щось подібне до петлі негативного зворотного зв'язку.

АКТГ зумовлює активацію й транслокацію протеїнкінази С в адренкортикальних клітинах з цитозолу до мембран [63, 68], а також - з цитозолу до ядер [69]. Останнє спостереження привертає до себе увагу тому, що вплив АКТГ на каскад протеїнкінази С й у даному разі виходить за межі "класичної" схеми і, мабуть, залучає специфічний механізм "ядерної" протеїнкінази С.

Субстратами протеїнкінази С в корі надниркових залоз є чимала кількість неідентифікованих білків [54, 55], деякі з котрих, як вже згадуваний pp37, є водночас й субстратами протеїнкінази А [37]. Було встановлено, що *in vitro* чудовим субстратом протеїнкінази С є P450_{sc} [57], проте фосфорилування цього ферменту в нативній клітині ніяк не співвідносилось із активацією стероїдогенезу. Протеїнкіназа С активує холестеролестеразу в корі надниркових залоз [70], але не відомо, чи здатна вона, як протеїнкіназа А, фосфорилувати фермент.

Щодо регуляції функції кори надниркових залоз, то цілком можливо, що протеїнкіназа С грає певну роль у стимуляції стероїдогенезу, особливо - у фетальній адренкортикальній тканині [71, 72]. У той же час секрецію кортикостероїдів, стимульовану АКТГ, протеїнкіназа С пригнічує [71, 72]. Це спостереження збігається з вищезгаданим висновком про наявність ТРА-залежних репресорних *cis*-елементів на промоторах деяких гідроксилаз. Варто наголосити, що протеїнкіназа С може

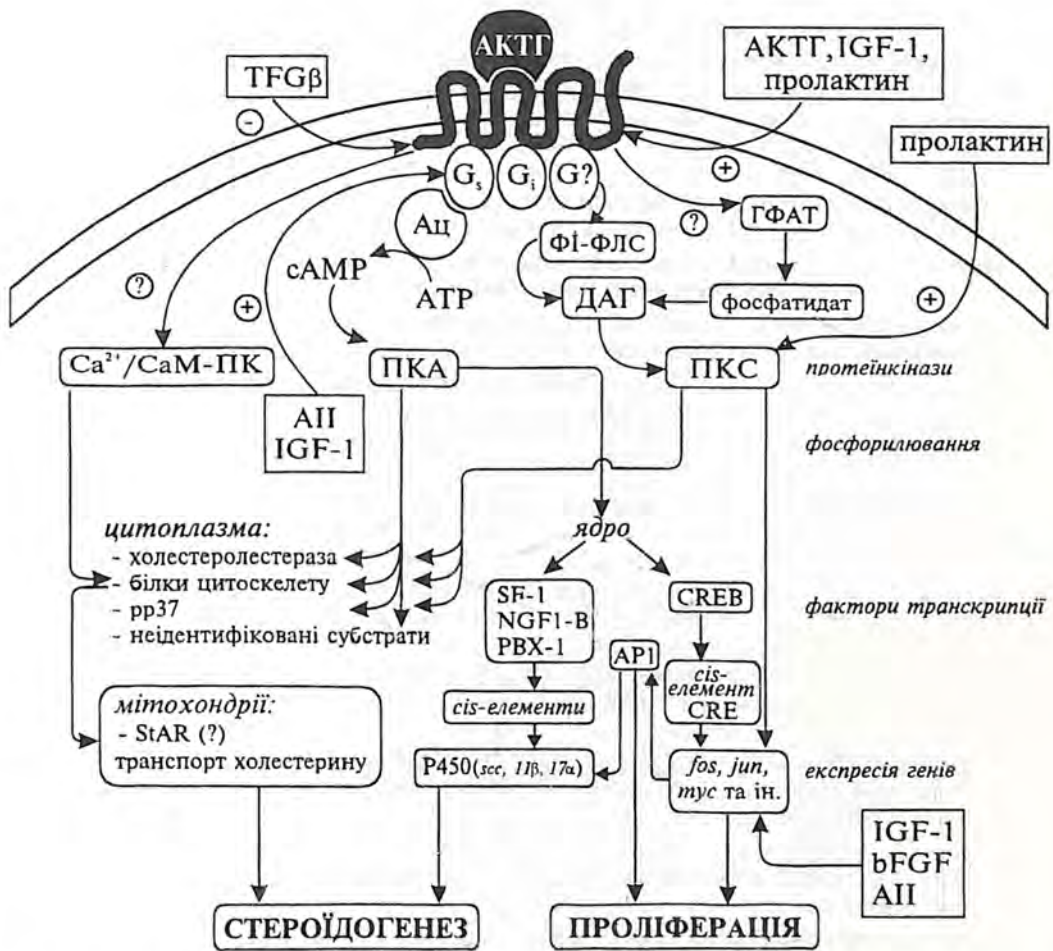
грати особливо важливу роль у диференціюванні фетальної зони кори, оскільки тут активність ферменту в кілька разів вища, ніж в її зовнішньому шарі в тих самих наднирниках [71]. Нарешті, протеїнкіназа С, очевидно, є важливим компонентом поки що маловивченого механізму ростового ефекту АКТГ. Як відомо [73], у короткочасних експериментах з культурою адренкортикальних клітин АКТГ або не впливає, або пригнічує їх ріст. У разі тривалого культивування (12 - 14 діб) АКТГ стимулює за певних умов ріст клітин. Повний проліфераційний ефект АКТГ (синтез ДНК + мітоз) відтворюється лише під впливом ТРА, а дибутиріл-сАМР спроможний лише прискорювати синтез ДНК, не впливаючи на інтенсивність мітозів [74].

Слід наголосити, що коли для опосередкування стероїдогенної дії АКТГ (експресія різних цитохромів P450 та секреція кортикостероїдів) загалом достатньо сАМР-залежного сигналу, то для відтворення трофічної і особливо мітогенної дії АКТГ необхідною є паралельна активація як сАМР-каскаду, так і шляху, залежного від протеїнкінази С [74, 75]. Адренкортикоцити, очевидно, являють собою тип клітин, в яких проліферація ініціюється внаслідок взаємодії месенджерних механізмів, залежних та незалежних від сАМР [76]. У загальному випадку одним з останніх є шлях, залежний від протеїнкінази С, а іншим - шлях, який починається з рецепторних тирозинкіназ [76].

Сигнальний каскад, пов'язаний з протеїнкіназою С, використовується величезною кількістю агоністів, насамперед тих, дія яких пов'язана з експресією функцій клітин, ростовими процесами, а іноді - й проліферацією із втратою диференційованих ознак та трансформацією [77, 78]. Залучення цього каскаду як одного з каналів перенесення сигналу АКТГ утворює механізм, на рівні якого забезпечується взаємодія АКТГ з регуляторами, що впливають насамперед на проліферацію. Так, наприклад, пролактин активує в адренкортикальних клітинах протеїнкіназу С через самий потужний та довготривалий механізм: вивільнення так званого "повільного" ДАГ за рахунок гідролізу фосфатидилхоліну, домінуючого фосфоліпідного компоненту мембран та практично невичерпного джерела ДАГ [79, 80]. Через суттєве збільшення питомої ваги даного месенджерного ланцюга в сумі сигналів, що переносяться на внутрішньоклітинні процеси, може зростати питома вага проліферативної відповіді адренкортикальних клітин на комплексну стимуляцію. Іншими словами, можна припустити, що реалізація відомого фізіологічного принципу, згідно з яким найкращою адаптацією органу до довготривалого виконання ним специфічної функції є його гіпертрофія, в корі надниркових залоз може бути здійснена через взаємодію АКТГ та пролактину на рівні їх месенджерних систем, а саме - спільного використання сигнального шляху, залежного від протеїнкінази С.

Деякі підсумки

Істинна складність подій, які відбуваються слідом за зв'язуванням АКТГ з його рецептором лише починає проявлятися (мал.) Загальним принципом регуляції, безперечно, є взаємодія багатьох сигнальних шляхів, що утворюють мережу опосередкування ефектів АКТГ, а також й інших гормонів та ростових факторів. Але поза полем зору поки що залишаються не тільки деталі цього механізму, а, можливо, й цілі його блоки. Наприклад, відомо, що фактори росту, зокрема й ті, ефекти яких добре вивчені в адренкортикальних клітинах, діють переважно через тирозинкіназні сигнальні каскади. Фізіологічні наслідки взаємодії цих факторів з АКТГ вивчені непогано. Але яким чином ця взаємодія реалізується на рівні внутрішньоклітинних механізмів й зокрема - через трансрегуляторні взаємодії з тирозинкіназним каскадом, не відомо. Втім, це й інші подібні питання вже сформульовані, а це - істотний крок до їх вирішення.



Механізми перенесення сигналу з рецептора АКТГ, взаємодія між сигналами та деякі точки впливу на ці механізми інших регуляторів адренокортикальної функції.

Позначення: Ац- аденілатциклаза; ГФАТ - гліцерофосфатацилтрансфераза; ФІ-ФЛС- фосфоінозитидспецифічна фосфоліпаза С; Ca²⁺/CaM-ПК - Ca²⁺-кальмодулінзалежна протеїнкіназа; PKA - протеїнкіназа А; PKC - протеїнкіназа С; інші аббревіатури наводяться в тексті.

Література

1. Saez J.M., Begeot M., Durand Ph. Recepteurs de l'ACTH // Ann. Endocrinol. (Paris). 1989, 50, 409-417.
2. Vinson G.P., Whitehouse B., Hinson J. The adrenal cortex. New Jersey: Prentice Hall, 1992. 316 P.
3. Schimmer B.P. Molecular and genetic approaches to the study of signal transduction in the adrenal cortex // Can. J. Physiol. Pharmacol. 1995, 73, N 8, 1097-1107.
4. Ramachandran J. Corticotropin receptors, cyclic AMP and steroidogenesis // Endocr. Res. 1984-85, 10, N 3-4, 347-363.
5. Buckley D.I., Yamashiro D., Ramachandran J. Synthesis of a corticotropin analog that retains full biological activity after iodination // Endocrinology. 1981, 109, 5-9.

6. Buckley D.I., Ramachandran J. Characterization of corticotropin receptors on adrenocortical cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1981, **78**, 7431-7435.
7. Rainey W.E., Viard I., Saez J.M. Transforming growth factor B treatment decreases ACTH receptors on ovine adrenocortical cells // *J. Biol. Chem.* 1989, **264**, N 36, 21474-21477.
8. Cone R.D., Mountjoy K.G. Cloning and functional characterization of the human adrenocorticotropin receptor // In: *Cellular and Molecular Biology of the Adrenal Cortex* / Ed. by J.M. Saez, A.C. Brownie, A. Capponi, E.M. Chambaz & F. Mantero. Montrouge: John Libbey Eurotext, 1992, 27-40.
9. Mountjoy K.G., Robbins L.S., Mortrud M.T., Cone R.D. The cloning of a family of genes that encode the melanocortin receptors // *Science.* 1992, **257**, 1248-1251.
10. Cone R.D., Mountjoy K.G. Molecular genetics of the ACTH and melanocyte-stimulating hormone receptors // *Trends Endocrinol. Metab.* 1993, **4**, N7, 242-247.
11. Chatelain A., Durand P., Naaman E., Dupouy J.P. Ontogeny of ACTH(1-24) receptors in rat adrenal glands during the prenatal period // *J. Endocrinol.* 1989, **123**, N 3, 421-428.
12. Penhoat A., Jaillard C., Saez J. Corticotropin positively regulates its own receptors and cAMP response in cultured bovine adrenal cells // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1989, **86**, N 13, 4978-4981.
13. Саутін Ю.Ю., Ковзун О.І., Тронько М.Д., Мікоша О.С. Стимуляція пролактином та естрогенами рецепторів АКТГ // *Ендокринологія.* 1996, **1**, № 2, 14-19.
14. Саутін Ю.Ю., Тронько Н.Д., Микоша А.С. Рецептирование пролактина и его влияние на связывание кортикотропина в клетках коры надпочечников человека и морских свинок // *Бюл. эспер. биол. мед.* 1989, **108**, N 8, 177-179.
15. Penhoat A., Jaillard C., Saez J.M. Synergistic effects of corticotropin and insulin-like growth factor 1 on corticotropin receptors and corticotropin responsiveness in cultured bovine adrenocortical cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989, **165**, N 1, 355-359.
16. Mountjoy K.G., Bird I.M., Rainey W.E., Cone R.D. ACTH induces up-regulation of ACTH receptor mRNA in mouse and human adrenocortical cell lines // *Mol. Cell. Endocrinol.* 1994, **99**, N 1, R17-R20.
17. Lebrethon M.C., Naville D., Begeot M., Saez J.M. Regulation of corticotropin receptor number and messenger RNA in cultured human adrenocortical cells by corticotropin and angiotensin II // *J. Clin. Invest.* 1994, **93**, N 4, 1828-1833.
18. Penhoat A., Lebrethon M.C., Begeot M., Saez J.M. Regulation of ACTH receptor mRNA and binding sites by ACTH and angiotensin II in cultured human and bovine adrenal, fasciculata cells // *Endocr. Res.* 1995, **21**, N 1-2, 157-168.
19. Orme-Johnson N.R. Distinctive properties of adrenal cortex mitochondria // *Biochim. Biophys. Acta.* 1990, **1020**, N 3, 213-231.
20. Beebe S.J. The cAMP-dependent protein kinases and cAMP signal transduction // *Seminars in Canc. Biol.* 1994, **5**, 285-294.
21. Langlois D., Saez J.M., Begeot M. Regulation of G-proteins in adrenal cortex // In: *Cellular and Molecular Biology of the Adrenal Cortex* / Ed. by J.M. Saez, A.C. Brownie, A. Capponi, E.M. Chambaz & F. Mantero. Montrouge: John Libbey Eurotext, 1992, 61-74.
22. Papadopoulos V., Widmaier E.P., Hall P.F. The role of calmodulin in the responses to adrenocorticotropin of plasma membranes from adrenal cells // *Endocrinology.* 1990, **126**, N 5, 2465-2473.
23. Begeot M., Langlois D., Spiegel A.M., Saez J.M. Regulation of guanine nucleotide binding regulatory proteins in cultured adrenal cells by adrenocorticotropin and angiotensin-II // *Endocrinology.* 1991, **128**, 3162-3168.
24. Langlois D., Begeot M., Berthelon M.C. et al. Angiotensin-II potentiates agonist-induced 3',5'-cAMP production by cultured bovine adrenal cells through protein kinase C and calmodulin pathways // *Endocrinology.* 1992, **131**, N 5, 2189-2195.
25. Langlois D., Hinsch K.D., Saez J.M., Begeot M. Stimulatory effect of insulin and insulin-like growth factor-1 on G1-proteins and angiotensin-II-induced phosphoinositide breakdown in cultured bovine adrenal cells // *Endocrinology.* 1990, **126**, N 4, 1867-1872.
26. Olson M.F., Krolczyk A.J., Gorman K.B. et al. Molecular basis for the 3',5'-cyclic adenosine monophosphate resistance of kin mutant Y1 adrenocortical tumor cells // *Mol. Endocrinol.* 1993, **7**, 477-487.

27. Wong M., Krolczyk A.J., Schimmer B.P. The causal relationship between mutations in cAMP-dependent protein kinase and the loss of adrenocorticotropin-regulated adrenocortical functions // *Mol. Endocrinol.* 1992, **6**, 1614-1624.
28. Mikami K., Strott C.A. Cyclic AMP-dependent protein kinase activity and protein phosphorylation in zones of adrenal cortex // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1986, **138**, N 2, 895-901.
29. Osawa S., Hall P.F. Adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase associated with the cytoskeleton of adrenal tumor cells // *Endocrinology.* 1985, **117**, 2347-2356.
30. Papadopoulos V., Hall P.F. Isolation and characterization of protein kinase C from Y-1 adrenal cells cytoskeleton // *J. Cell. Biol.* 1989, **108**, N 2, 553-567.
31. Papadopoulos V., Brown A.S., Hall P.F. Calcium-calmodulin-dependent phosphorylation of cytoskeletal protein from adrenal cells // *Mol. Cell. Endocrinol.* 1990, **74**, N 2, 109-124.
32. Clark B.J., Wells J., King S.R., Stocco D.M. The purification, cloning, and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse leydig tumor cells - characterization of the steroidogenic acute regulatory (StAR) protein // *J. Biol. Chem.* 1994, **269**, N 45, 28314-28322.
33. Clark B.J., Soo S.C., Caron K.M. et al. Hormonal and developmental regulation of the steroidogenic acute regulatory protein // *Mol. Endocrinol.* 1995, **9**, N 10, 1346-1355.
34. Krueger R.J., Orme-Johnson N.R. Acute adrenocorticotropin hormone stimulation of adrenal corticosteroidogenesis: discovery of rapidly induced protein // *J. Biol. Chem.* 1983, **258**, 10159-10167.
35. Pon L.A., Hartigan J.A., Orme-Johnson N.R. Acute ACTH regulation of adrenal corticosteroid biosynthesis: rapid accumulation of a phosphoprotein // *J. Biol. Chem.* 1986, **261**, 13309-13316.
36. Cohen P. Signal integration at the level of protein kinases, protein phosphatases and their substrates // *Trends Biochem. Sci.* 1992, **17**, N 10, 408-413.
37. Hartigan J.A., Green E.G., Mortensen R.M. et al. Comparison of protein phosphorylation patterns produced in adrenal cells by activation of cAMP-dependent protein kinase and Ca-dependent protein kinase // *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 1995, **53**, N 1-6, 95-101.
38. Simpson E.R., Mason J.I., John M.E. et al. Regulation of the biosynthesis of steroidogenic enzymes // *J. Steroid Biochem.* 1987, **27**, N 4-6, 801-806.
39. Miller W.L. Molecular biology of steroid hormone synthesis // *Endocr. Rev.* 1988, **9**, N 3, 295-318.
40. Simpson E.R., Waterman M.R. Regulation of the synthesis of steroidogenic enzymes in adrenal cortical cells by ACTH // *Ann. Rev. Physiol.* 1988, **50**, 427-440.
41. Waterman M.R. Biochemical diversity of cAMP-dependent transcription of steroid hydroxylase genes in the adrenal cortex // *J. Biol. Chem.* 1994, **269**, N 45, 27783-27786.
42. Parker K.L., Schimmer B.P. Transcriptional regulation of the adrenal steroidogenic enzymes // *Trends Endocrinol. Metab.* 1993, **4**, N 2, 46-50.
43. Zanger U.M., Kagawa N., Lung J., Waterman M.R. Distinct biochemical mechanisms for cAMP-dependent transcription of CYP17 and CYP21 // *FASEB J.* 1992, **6**, N 2, 719-723.
44. Bakke M., Lund J. A novel 3',5'-cyclic adenosine monophosphate-responsive sequence in the bovine CYP17 gene is a target of negative regulation by protein kinase C // *Mol. Endocrinol.* 1992, **6**, 1323-1331.
45. Brentano S.T., Picado-Leonard J., Mellon S.H. et al. Tissue-specific, cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-induced, and phorbol ester-repressed transcription from the human P450c17 promoter in mouse cells // *Mol. Endocrinol.* 1990, **4**, 1972-1979.
46. Viard I., Hall S.H., Jaillard C. et al. Regulation of c-fos, c-jun and jun-B messenger ribonucleic acids by angiotensin-II and corticotropin in ovine and bovine adrenocortical cells // *Endocrinology.* 1992, **130**, N 3, 1193-1200.
47. Miyamoto N., Seo H., Kanda K. et al. A 3',5'-cyclic adenosine monophosphate-dependent pathway is responsible for a rapid increase in c-fos messenger ribonucleic acid by adrenocortico-tropin // *Endocrinology.* 1992, **130**, N 6, 3231-3236.
48. Angel P., Karin M. The role of Jun,Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation // *Biochim. Biophys. Acta,* 1991, **1072**, N 2-3, 129-157.

49. Hunter T, Karin M. The regulation of transcription by phosphorylation // *Cell*. 1992, 70, N 3, 375-387.
50. Viard I., Jaillard C., Saez J.M. Regulation by growth factors of protooncogene mRNA, growth and differentiation of bovine adrenocortical fasciculata cells // *FEBS Lett*. 1993, 328, N 1-2, 94-98.
51. Rice D.A., Kirkman M.S., Aitken L.D. et al. Analysis of the promoter region of the gene encoding mouse cholesterol side-chain cleavage enzyme // *J. Biol. Chem*. 1990, 265, 11713-11720.
52. Hanukoglu I., Feuchtwanger R., Hanukoglu A. Mechanism of corticotropin and cAMP induction of mitochondrial cytochrome-P450 system enzymes in adrenal cortex cells // *J. Biol. Chem*. 1990, 265, N 33, 20602-20608.
53. Carr B.R., Rainey W.E., Mason J.I. The role of calmodulin antagonists on steroidogenesis by fetal zone cells of the human fetal adrenal gland // *Endocrinology*. 1987, 120, N 3, 995-999.
54. Kubo M., Strott C.A. Calcium-dependent protein kinase C activity and protein phosphorylation in zones of the adrenal cortex // *J. Steroid. Biochem*. 1988, 29, N 4, 407-413.
55. Kigoshi T., Ushida K., Morimoto S. Existence of endogenous substrate protein for Ca^{2+} /calmodulin-dependent and Ca^{2+} /phospholipid-dependent protein kinases in rat adrenal glomerulosa cells // *J. Steroid Biochem*. 1988, 29, N 3, 277-283.
56. Iida S., Widmeier E.P., Hall P.F. The phosphatidylinositol - Ca^{++} hypothesis does not apply to the steroidogenic action of corticotropin // *Biochem. J*. 1986, 236, N 1, 53-59.
57. Vilgrain I., Brami B., Chambaz E.M. Protéine-kinase C et régulations des fonctions différenciées stéroïdogéniques de la cellule corticosurrénale // *Ann. Endocrinol*. 1988, 49, N 4-5, 366-368.
58. Underwood R.H., Greeley R., Glennon E.T. et al. Mass determination of polyphosphoinositides and inositol trisphosphate in rat adrenal glomerulosa cells with a microspectrophotometric method // *Endocrinology*. 1988, 123, N 1, 211-219.
59. Farese R.V. The role of the phosphatidate-inositide cycle in the action of steroidogenic agents // *J. Steroid Biochem*. 1983, 19, N 1, 1029-1032.
60. Farese R.V. Phosphoinositide metabolism and hormone action // *Endocr. Rev*. 1983, 4, N 1, 78-95.
61. Farese R.V. Phospholipids as intermediates in hormone action // *Mol. Cell. Endocrinol*. 1984, 35, 1-14.
62. Farese R. An update on the role of phospholipid metabolism in the action of steroidogenic agents // *J. Steroid Biochem*. 1987, 27, N 4-6, 737-744.
63. Cozza E.N., Del Carmen Vila M., Acevedo-Duncan M. et al. ACTH increases de novo synthesis of diacylglycerol and translocates protein kinase C in primary cultures of calf adrenal glomerulosa cells // *J. Steroid Biochem*. 1990, 35, N 2, 343-351.
64. Bird I.M., Smith A.D., Schulster D. Signal transduction in rat adrenal fasciculata cells stimulated by ACTH₁₋₃₉ and ACTH₅₋₂₄: role of the phosphoinositide response in steroidogenesis // *J. Lipid Mediators*. 1990, 2, N 6, 343-354.
65. Schulster D., Salmon M. A dual pathway for ACTH steroidogenic action in purified adrenocortical cells // *J.Receptor Res*. 1984, 4, N 1-6, 301-313.
66. Cozza E.N., del Carmen Vila M., Gomez-Sanchez C.E., Farese R.V. ACTH stimulates turnover of phosphatidylinositol-glycan // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1988, 157, N2, 585-589.
67. Vila M.D., Cozza E.N., Lima C. et al. An inositol phosphoglycan from *Trypanosoma cruzi* inhibits ACTH action in calf adrenocortical cells // *Cell. Signal*. 1995, 7, N 4, 331-339.
68. Kajita K., Ishizuka T., Yamamoto M et al. ACTH and phorbol ester stimulated redistribution of protein kinase-C in human cortisol-producing adrenal adenoma // *Endocrine J*. 1994, 41, N 1, 107-113.
69. Lehoux J.G., Grondin F., Pacuraru J.P., Yachou Y. The protein kinase C content is increased in nuclear fraction of rat adrenal zona glomerulosa following long-term ACTH administration // *Mol. Cell. Endocrinol*. 1991, 78, N 1-2, 97-106.

70. Balkow C., Trzeciak W.H., Kunau W.-H. Hormone-sensitive cholesterol ester hydrolase in adrenal tumor cells: activation by corticotropin and tetradecanoyl phorbol acetate // *Endocr. Res.* 1990, **16**, N 2, 205-219.
71. Rainey W.E., Mason J.I., Cochet C., Carr B.R. Protein kinase-C in the human fetal adrenal gland // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1988, **67**, N 5. 908-914.
72. Ilvesmaki V., Voutilainen R. Interaction of phorbol ester and adrenocorticotropin in the regulation of steroidogenic P450 genes in human fetal and adult adrenal cell cultures // *Endocrinology.* 1991, **128**, N 3, 1450-1458.
73. Gill G.N., Hornsby P.J., Simonian M.H. Hormonal regulation of the adrenocortical cell // *J. Supramol. Struct.* 1980, **14**, 353-369.
74. Menapace L., Armato V., Whitefield J.F. The effects of corticotropin (ACTH 1-24), cAMP and TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) on DNA replication and proliferation of primary rabbit adrenocortical cells in a synthetic medium // *Biochim. Biophys. Res. Commun.* 1987, **148**, N 3, 1295-1303.
75. Arola J., Heikkila P., Voutilainen R., Kahri A.I. Protein kinase C signal transduction pathway in ACTH-induced growth effect of rat adrenocortical cells in primary culture // *J. Endocrinol.* 1994, **141**, 285-293.
76. Roger P.P., Reuse S., Maenhaut C., Dumont J.E. Multiple facets of the modulation of growth by cAMP // *Vitamins and Hormones.* 1995, **51**, 59-191.
77. Nishizuka Y. Studies and perspectives of protein kinase C // *Science.* 1986, **233**, 305-312.
78. Rotenberg S.A., Weinstein I.B. Protein kinase C in neoplastic cells // In: *Biochemical and Molecular Aspects of Selected Cancers*, Vol. 1. London-New York- San Francisco: Academic Press, 1991, 25-73.
79. Sautin Yu.Yu., Tronko N.D., Mikosha A.S. Effect of prolactin on phosphatidylcholine hydrolysis via phospholipase C in isolated adrenocortical cells // *Biomed. Sci.* 1990, **1**, N 2. 178-182.
80. Sautin Yu.Yu., Tronko N.D., Mikosha A.S. In vitro activation of protein kinase C by prolactin in guinea pig adrenal cortex // *Biomed. Sci.* 1991, **2**, N 2, 198-199.

Системы внутриклеточного переноса сигнала АКТГ и их взаимодействие

Ю.Ю. Саутин

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

Проведен анализ новейших данных о механизмах, опосредующих перенос сигнала АКТГ с рецептора на внутриклеточные процессы, которые обеспечивают функциональную активность адренокортикальных клеток. Охарактеризованы основные мессенджерные системы, вовлеченные в перенос сигнала АКТГ: опосредованная G-белками активация аденилатциклазы и активация cAMP-зависимой протеинкиназы A, Ca²⁺/кальмодулинзависимый сигнальный каскад, распад фосфоинозитидов, индуцированный активацией рецептора с последующей активацией протеинкиназы C. Проанализирован ядерный этап переноса сигнала АКТГ - активация факторов транскрипции и регуляция экспрессии специфических генов. Акцентировано, что пострецепторный мессенджерный механизм, опосредующий действие АКТГ, организован, как сеть сигнальных каналов, связанных между собой взаимными трансрегуляторными влияниями.

Systems of the ACTH signal transduction and their cross-talking

Yu. Yu. Sautin

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

Recent data which concern mechanisms mediating signal transduction of ACTH from receptor to intracellular processes that ensure functional activity of adrenocortical cells have been discussed. The main messenger systems which are involved in ACTH signalling have been described: activation of adenylyl cyclase mediated by G-proteins followed by activation of cAMP-dependent protein kinase A, Ca²⁺/calmodulin signal cascade, phosphoinositide breakdown induced by receptor activation with subsequent activation of protein kinase C. Nuclear step of ACTH signal transduction has been surveyed (activation of transcription factors and regulation of the specific gene expression). It is emphasized that postreceptor messenger mechanism that mediates ACTH action is organized like a network of signalling channels influencing on each other via cross-talking.

РОЛЬ ПОРУШЕННЯ РЕЦЕПЦІЇ ІНСУЛІНУ В ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІЙ ГЕТЕРОГЕННОСТІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ (огляд літератури та результати власних досліджень)

В.В. Корпачов, Н.М. Гуріна, Ю.В. Бездробний, Ж.В. Іванова

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

Розглянуто дані про патофізіологічну гетерогенність як інсулінзалежного (ІЗЦД), так і інсуліннезалежного (ІНЦД) цукрового діабету, у взаємозв'язку із супутніми змінами структури та функції інсулінових рецепторів.

Наведено відомості про зміну показників специфічної функції рецепторів інсуліну у двох групах ще не лікованих хворих на ІЗЦД: 1) із зниженою кількістю інсулінзв'язуючих центрів (7 пацієнтів), 2) із підвищеною спорідненістю рецепторів до інсуліну (3 пацієнти).

Проаналізовано показники, що свідчать про зниження інсулінзв'язуючої ємкості рецепторів інсуліну еритроцитів у хворих на ІНЦД, яке було пов'язане із підвищенням вмісту в плазмі крові одного з двох уперше виявлених авторами протеїнів плазми: 1) контррецепторного фактора (у 17 осіб); 2) контрінсулінового фактора (у 14).

Результати досліджень вказують на те, що схильність до цукрового діабету та його клінічна маніфестація для кожної із добре відомих форм, очевидно, обумовлюється мультифакторіальним процесом, що й визначає полігенетичність та поліетіопатологічність цього захворювання.

Ключові слова: інсулінзалежний (ІЗЦД) та інсуліннезалежний (ІНЦД) цукровий діабет, рецептори інсуліну, патогенетичні механізми.

На сьогодні патогенетична гетерогенність цукрового діабету безсумнівно встановлена. Передусім це відображено у тому, що зараз чітко схарактеризовані дві форми цукрового діабету - ІЗЦД (тип 1) та ІНЦД (тип 2). Для першої форми характерною є інсулінова недостатність, зумовлена руйнуванням бета-клітин унаслідок розвитку аутоімунітету до її антигенів. З огляду на інсулінову недостатність ІЗЦД можна лікувати за допомогою інсуліну. Для другої форми характерними є нормо- або гіперінсулінемія та інсулінорезистентність периферичних тканин. Ця інсулінорезистентність виявляється, зокрема, у зниженні кількості інсулінових рецепторів на поверхні клітин-мішеней і порушенні післярецепторних ефектів інсуліну [1]. Інсулінорезистентність периферичних тканин зумовлює неефективність інсулінотерапії при ІНЦД.

Але гетерогенність цукрового діабету не обмежується лише цими двома формами. Крім інших можливих форм цукрового діабету (діабет вагітних, атипичний діабет, що передуює ураженню підшлункової залози [2] та ін.), дані наукових досліджень дозволяють висловлювати припущення про гетерогенність кожної з двох встановлених форм - ІЗЦД та ІНЦД, що може виявлятися і на рівні функціонування інсулінових рецепторів.

Гетерогенність ІЗЦД підтверджується результатами досліджень, що доводять його аутоімунну природу та асоційованість з певними HLA-гаплотипами.

Дослідження аутоімунних процесів при ІЗЦД було започатковано в 70-х роках після виявлення у сироватці хворих на поліендокринні недуги та ІЗЦД [3, 4] антитіл, які реагують з клітинами острівців Лангерганса (ICA - islet cell antibody). Після встановлення антитіл до білків клітин острівців Лангерганса у хворих на ІЗЦД розпочали широкі дослідження щодо виявлення їх у сироватці таких хворих, їхніх

близьких родичів та здорових людей, оцінки прогностичної значущості цих антитіл (стосовно розвитку ІЗЦД) та їхньої динаміки у хворих і здорових [5].

Поступ досліджень був невеликий, бо для дослідження використовували препарати підшлункової залози (заморожені та фіксовані зрізи), тобто метод був трудомістким та відзначалися певні труднощі із стандартизацією препаратів. Відкриття конкретних білків-антигенів у клітинах острівців значно прискорило отримання нових даних, оскільки дозволило використовувати надійніший і простіший радіоімунологічний метод для тестування сироваток крові на наявність антитіл до конкретних білків. Першим з них був білок з молекулярною масою 64 кДа, який осаджували сироваткою хворих на ІЗЦД із лізату мічених острівців [6] і який мав ферментативну активність декарбоксилази глутамінової кислоти (ДГК) [7].

Але ще більшому прогресу у дослідженні асоційованих з ІЗЦД білків-антигенів (і відповідних їм послідовностей ДНК) сприяло використання у цих дослідженнях сучасних молекулярно-біологічних методів, які дозволяють не лише ідентифікувати і порівнювати специфічні для аутоантигенів послідовності ДНК, але й отримувати у достатній для дослідження кількості відповідні комплементарні ДНК та білки, котрі вони кодують [8]. Як приклад можна навести працю [9], у якій використовували клонування ДНК для ідентифікації білків-аутоантигенів острівців Лангерганса, які розпізнаються сироваткою хворих на ІЗЦД. Для цього було створено бібліотеку комплементарних ДНК з використанням як матриць інформаційних РНК острівців.

Зараз до списку аутоантигенів-кандидатів, асоційованих з розвитком ІЗЦД, включено, крім ДГК, ще 15 речовин [10]. І цей реєстр не можна вважати завершеним. Наявність ІСА і антитіл до конкретних білків острівців є чутливим показником для ідентифікації осіб з ризиком захворювання на ІЗЦД, але надійність цього показника щодо прогнозування розвитку ІЗЦД незначна; що, ймовірно, зумовлено великим набором відомих (і ще невідомих) антитіл і експресією різних антитіл у різних хворих. Це свідчить на користь поліетіологічності ІЗЦД. Тому можна очікувати, що чутливість методів встановлення схильності до ІЗЦД і надійність методів прогнозування виникнення ІЗЦД будуть збільшені за умови використання не одного, а кількох показників аутоімунного статусу. Дослідження, які проводяться у цьому напрямку, дають обнадійливі, хоча часто й непогоджені дані. Прикладом може бути праця [11].

Поліетіологічність ІЗЦД може відбиватися також у відмінностях антитіл до одного аутоантигену, тобто у гетерогенності аутоімунної відповіді у різних хворих, що було доведено стосовно антитіл до ДГК [12] та ІСА [13].

Думка відносно можливої ролі первинних порушень у імунній регуляторній системі у розвитку аутоімунних процесів, що призводять до ІЗЦД, ґрунтується головним чином на результатах експериментальних досліджень. Одним із можливих дефектів такої регуляції, що зумовлює схильність до розвитку цукрового діабету, може бути порушення балансу регуляторних субпопуляцій Т-клітин. У праці [14] сповіщалося про відміни у співвідношенні CD4⁺ Т-клітин, CD45RA і CD45RO, які є відповідно нативними клітинами і клітинами пам'яті, у однайцевих близнюків, що розрізняються за можливістю розвитку ІЗЦД. Ці субпопуляції клітин визначали протягом 10 років у 18 однайцевих близнюків, народжених від хворих на ІЗЦД батьків. Вісім із них захворіли на цукровий діабет (схильні до розвитку цукрового діабету близнюки), у той час як інші не захворіли на цю недугу протягом 8 років спостереження і розвиток у них ІЗЦД лишається малоімовірним (несхильні до розвитку цукрового діабету близнюки). Вперше було виявлено імунний стан (збільшена експресія хелперних Т-лімфоцитів пам'яті CD45RO⁺), який виявляється у близнюків, що попри генетичну схильність до розвитку цукрового діабету, не захворювали на нього. Ця праця, крім того, вказує на роль стану імунної регуляторної системи у розвитку ІЗЦД.

Схильність до розвитку цукрового діабету визначається не лише спектром специфічних аутоантитіл, але й на генетичному рівні - антигенами головного комплексу гістосумісності, які відображаються гаплотипами антигенів лейкоцитів людини (HLA - human leucocyte antigens) [15]. На сьогодні відбулася еволюція поглядів на асоційованість з ІЗЦД гаплотипів від В15 через DR3 та DR4 до DQ2 та DQ8 [16]. Саме ці гаплотипи визначають ризик захворювання на ІЗЦД, але не прогнозують його напевне. Лишається нез'ясованим, у який спосіб певний гаплотип HLA зумовлює схильність або стійкість стосовно розвитку цукрового діабету. Безсумнівно, однак, що лише гаплотипом HLA розвиток ІЗЦД не визначається, і у різних хворих роль цієї компоненти у розвитку захворювання може бути різною, як і власне гаплотипи.

Розглядаючи участь у розвитку аутоімунного діабету (ІЗЦД) різних чинників, які беруть участь у формуванні схильності і початку захворювання, слід наголосити, що наявні дані не дозволяють виділити будь-який провідний патогенетичний чинник. Аутоімунний процес, що зумовлює захворюваність на ІЗЦД та схильність до нього, є мультифакторіальним, у якому діють різною мірою всі чинники, що й визначає полігенетичність та поліетіологічність ІЗЦД.

Що стосується поліетіологічності ІНЦД та існування його підформ, то зараз вони не викликають сумнівів. Визнано також, що розвиток ІНЦД зумовлений не лише інсулінорезистентністю периферичних тканин, але й змінами секреції інсуліну [17]. І лишається остаточно не з'ясованим, яке з цих порушень є первинним у розвитку захворювання [18]. За традиційним поглядом, первинною є інсулінорезистентність [19]. Зниження чутливості до інсуліну периферичних тканин за рахунок зниження активності інсулінових рецепторів (їхньої кількості, спорідненості до інсуліну, утворення субстратів інсулінрецепторної протеїнкінази, що передають пострецепторний сигнал), призводить до зниження впливу інсуліну на метаболізм глюкози, внаслідок чого виникають гіперглікемія та компенсаторна гіперінсулінемія. На користь такого погляду говорить зниження активності глікогенсинтетази у м'язах осіб з групи ризику щодо виникнення ІНЦД (родичі хворих на ІНЦД і особи з ожирінням та ІНЦД і без нього) [20].

Разом із тим у тих, хто входив до цих груп, спостерігалася рання гіперінсулінемія [20]. Також доведено, що гіперінсулінемія передувала розвитку ІНЦД у європеїдів [21] та індіанців Піма [22], а також спостерігалася у здорових дітей, народжених від хворих на ІНЦД батьків [23].

Епідеміологічні дослідження свідчать про те, що гіперінсулінемія є чинником ризику щодо ІНЦД [18]. Тривалі спостереження за особами з групи підвищеного ризику (діти з родин, де обоє батьків були хворими на ІНЦД) засвідчили, що ті особи з цієї групи, які мали вихідну гіперінсулінемію (й інсулінорезистентність), мали й вищу захворюваність на ІНЦД протягом кількох десятиріч [19], хоча є повідомлення й протилежного характеру [33]. Доповідалося також, що гіперінсулінемія слабо відображає ризик захворювання на ІНЦД порівняно з ожирінням і гіперглікемією [25]. Вказувалося також на те, що саме гіперінсулінемія, а не інсулінорезистентність, є попередницею цукрового діабету на експериментальних моделях [26].

Згідно з нещодавно висунутою гіпотезою [27], гіперінсулінемія є причиною подальшого розвитку інсулінорезистентності та ІНЦД. Грунтуючись на даних про холінергічну стимуляцію секреції інсуліну навіть в умовах еуглікемії, автори вважають, що зумовлена вагусною стимуляцією гіперсекреція інсуліну у відповідь на "калорійне навантаження" є нормальною реакцією організму на очікувану після неї потребу в інсуліні, але будь-яке "перевищення" реакції призводить до ризику виникнення гіперінсулінемії. Інсулінорезистентність вони розглядають як вторинну захисну реакцію клітин у відповідь на гіперінсулінемію.

Наголошувалося [28], що немає достатніх доказів гіперсекреції інсуліну при ІНЦД. Не коректно порівнювати інсулінемію при гострому та хронічному глюко-

зному навантаженні. В умовах інсулінорезистентності реакція на глюкозу, що спостерігається, може бути недостатньою. Використання скоригованої методики виявило знижену реакцію інсуліну на глюкозу у хворих з порушеною толерантністю до глюкози та нормоглікемією [29, 30]. При цьому найбільше порушеною була перша фаза секреції. Було також встановлено, що порушення толерантності до глюкози та ІНЦД виникали (спостереження протягом 5-15 років) у 4,5 рази частіше у осіб із зниженою реакцією інсуліну на глюкозу [31].

Детальне вивчення секреції інсуліну в умовах порушеної толерантності до глюкози, ІНЦД та в контролі (по 8 осіб у кожній групі) [32] продемонструвало, що при обох захворюваннях втрачається циклічність базальної секреції (11-13 хв) інсуліну, спостерігаються гіперінсулінемія та зменшення першої фази реакції інсуліну (у 2,4 рази при порушенні толерантності до глюкози та у 4,2 рази при ІНЦД) порівняно з нормою. Втрата циклічності секреції інсуліну вірогідно корелювала з індексом маси тіла, глікемією натще, базальною концентрацією інсуліну і порушенням першої фази його секреції.

Отже, при ІНЦД спостерігаються інсулінорезистентність і порушення секреції інсуліну - надлишок секреції і зменшення тривалості її першої фази. Що є первинним у патогенезі ІНЦД і чи може якийсь із процесів вважатися переважаючим у різних хворих на ІНЦД, лишається остаточно не з'ясованим.

Слід зазначити, що Cerasi [28] не вважає мотивованим взагалі протиставлення процесів порушення секреції інсуліну та його дії на клітини-мішені у патогенезі ІНЦД. Обидва процеси пліч-о-пліч ведуть до маніфестації захворювання, а ефекти інсуліну та його секреція широко варіюють у популяціях здорових осіб і функціонально пов'язані й взаємозалежні. Неспроможність одного з них перекривати зміни у другому спричинює функціональні зміни, що призводять до розвитку захворювання. Однак такий погляд не виключає гетерогенності ІНЦД за показниками інсулінорезистентності та гіперінсулінемії - у різних групах хворих роль кожного з процесів у порушенні їхньої скомпенсованості може бути різною.

Однак найбільше підґрунтя для положення про поліетиологічність ІНЦД дає дослідження конкретних локусів молекул ДНК у людини. Успіхи сучасної молекулярної біології надали можливість вивчати асоційованість виникнення ІНЦД з мутаціями у певних генах. Хоча отримані до сьогодні результати не дозволяють створити повної картини взаємозв'язку з певними мутаціями та механізмів його успадковування, вони досить переконливо свідчать на користь полігенетичності цієї форми цукрового діабету.

Виявлено високу частоту мутації у гені інсулінового рецептора (заміна валіну на метіонін у положенні 985) у хворих на ІНЦД (21 з 422) порівняно із здоровими (2 із 454) [33]. Було також засвідчено [34], що викликана мутацією у гені β_3 -адренергічного рецептора заміна триптофану на аргінін у положенні 64 молекули рецептора зумовлює ожиріння, інсулінорезистентність і швидший розвиток ІНЦД, хоча частота мутацій у хворих та здорових була близькою. Знайдено також асоційовані з ІНЦД мутації у мітохондріальній ДНК. Крім мутації у позиції 3243 гену транспортної РНК лейцину, що успадковується за материнською лінією і асоціюється з особливою підформою ІНЦД, про яку буде сказано далі, у хворих на ІНЦД виявлено мутації у генах мітохондріальної ДНК, які кодують інші транспортні РНК [35].

Японські автори [36] провели широке дослідження щодо асоційованості у японській популяції ІНЦД (що пізно виникає) з мутаціями у генах протеїнів, порушення функцій яких може брати участь у характерних для ІНЦД порушеннях обміну речовин. Обстежено 78 родин, у яких мінімум 2 сибси були уражені ІНЦД. Тестуванню було піддано гени глюкокінази, транспортера глюкози 2, глікогенсинтетази 1, NEC 2, інсуліну, інсулінового рецептора, аденозин-дезамінази та ін. Хоча попередні дослідження довели, що мутації у перших 4 генах асоціюються з ІНЦД у

японській популяції, отримані результати не дозволяють вважати, що мутації у будь-якому з тестованих генів можуть бути причиною розвитку ІНЦД.

Наведені дані свідчать про те, що розвиток ІНЦД може бути асоційований з різними генами. Тому поліетіологічність ІНЦД видається природною. На сьогодні достатньою мірою обґрунтовано існування двох форм (підтипів) ІНЦД. Одна з них - діабет, що успадковується за материнською лінією і супроводжується глухотою (в англійській літературі: MIDD - maternally inherited diabetes and deafness) [37, 38]. Він асоціюється з мутацією у мітохондріальній ДНК в позиції 3243, і його характерними ознаками є відсутність ожиріння, варіабельність клінічного перебігу і відносно швидкий розвиток захворювання (переважно у молодому віці) у носіїв цієї мутації.

Інша встановлена форма ІНЦД - діабет дорослих у молодих (MODY - maturity-onset diabetes of the young), характеризується розвитком у ранньому віці і домінантним аутосомним успадкуванням. Як і при ІНЦД загалом при цій формі діабету порушуються і дія інсуліну, і його секреція [39]. У частини хворих на MODY спостерігається зниження активності глюкочінази внаслідок мутації гена цього ферменту, розташованого у хромосомі 7 [40]. Ця патологія спостерігається у 56% родин з таким захворюванням у Франції [41] і 10-20% - у Великобританії [42]. У інших хворих на MODY виявлено мутацію неідентифікованого гена у хромосомі 20, який розташований поруч з геном аденозиндезамінази [43], але вона, за результатами дослідження зчеплення, не є головною причиною MODY.

Продовжуються дослідження щодо асоційованості MODY з іншими мутаціями. Зокрема, обстежено 15 родин з хворими на MODY, у яких захворювання не асоціювалося з мутацією у гені гексокінази [56]. У цих родин вивчали зв'язок з MODY мутацій у 9 інших генів-кандидатів, які кодуєть білки, що можуть впливати на секрецію або дію інсуліну. Це були гени регулюючого гексокіназу білка 2, рецептора глікогеноподібного пептиду 1, аполіпропротеїну С-II, глікогенсинтетази, аденозиндезамінази та фосфоенолпіруват карбоксикази. Для жодного з цих генів не встановлено зв'язку з розвитком MODY. Крім того, по одному або по два хворих з кожної родини були піддані скринінговому дослідженню на наявність у них мутації заміни аденіну на гуанін у нуклеотиді 3243 мітохондріальної транспортної РНК для лейцину. Такої мутації у обстежених осіб не виявлено.

Нещодавно встановлений взаємозв'язок між MODY і мікросателітним маркером у хромосомі 12q [45]. Зчеплення вказаного локусу з цією формою діабету виявлено для родин з Данії, Німеччини, США та Японії [46], тобто на нього не впливали расові та етнічні особливості.

Як впливає з вищевикладеного, поліетіологічність основних форм цукрового діабету зумовлена участю у їхньому розвитку багатьох різнобічних чинників. І увесь відомий спектр цих чинників слід враховувати під час аналізу патогенезу кожної з форм чи підформ цукрового діабету.

Отримані нами дані про експресію інсулінових рецепторів у хворих на ІЗЦД та ІНЦД свідчать про те, що й на рівні порушення функціонування цих рецепторів спостерігається певна відмінність серед хворих на кожну з форм діабету - ІЗЦД та ІНЦД, що підтверджує їхню поліетіологічність.

Зокрема, дані вивчення експресії інсулінових рецепторів плазматичних мембран жирових клітин у хворих з шойнодіагнованим ІЗЦД, які ще не лікувалися інсуліном, свідчать про гетерогенність її змін [1]. З 10 обстежених у віці 26-48 років у частини пацієнтів активність інсулінових рецепторів зменшувалася (1-ша група - 3 хворих), а у інших хворих - збільшувалася (2-га група - 7 хворих). У табл. 1 наведено дані про рівні специфічного і неспецифічного зв'язування ¹²⁵I-інсуліну та показники зв'язування, визначені за допомогою залежностей Scatchard [47] та Meys і Roth [48] для цих двох груп хворих та для контрольної групи, яка складалася з 9 осіб віком 18-37 років. Зменшення специфічного зв'язування ¹²⁵I-інсуліну у 1-й

групі хворих зумовлено зменшенням загальної кількості центрів зв'язування, визначених за залежністю Scatchard (R_0). Збільшення зв'язування у 2-й групі зумовлено збільшенням констант спорідненості вільних (K_e) та зайнятих (K_f) рецепторів, визначених за методами Мейтса та Рота. Високе неспецифічне зв'язування ^{125}I -інсуліну у хворих 2-ї групи може бути зумовлене змінами властивостей плазматичної мембрани. Обидві групи хворих мали однакові глікемію натще, глюкозурію, частоту кетонурії і концентрацію імунореактивного інсуліну у сироватці крові, що свідчить про незалежність виявлених відмінностей у стані інсулінових рецепторів від концентрації інсуліну крові або від ступеня декомпенсації. Ці дані, які свідчать на користь гетерогенності ІЗЦД, підтверджені під час вивчення інсулінових рецепторів моноцитів та еритроцитів нелікованих хворих на ІЗЦД [49, 50]. Вони доводять також те, що у деяких хворих на ІЗЦД, який характеризується абсолютною інсуліновою недостатністю, може існувати й відносна інсулінова недостатність, зумовлена певним зниженням чутливості периферичних тканин до інсуліну.

Дослідження функції інсулінових рецепторів у хворих на ІЗЦД говорить на користь гетерогенності за цим показником і цієї форми діабету.

Інсулінзв'язуюча активність еритроцитів у хворих на ІНЦД була знижена [51] (табл. 2) у відповідності з попередніми даними інших авторів щодо інсулінових рецепторів жирових клітин, моноцитів [52] та еритроцитів [53]. Обстежені хворі були у віці від 37 до 67 років, не отримували ін'єкцій інсуліну, але для зниження рівня цукру приймали сульфаніламід. Для з'ясування питання, з чим пов'язане зниження активності інсулінових рецепторів - із станом самих рецепторів чи з

Таблиця 1. Показники інсулінрецепторної взаємодії у плазматичних мембранах жирових клітин двох груп нелікованих інсуліном хворих на ІЗЦД і осіб контрольної групи

Група хворих	Зв'язування ^{125}I -інсуліну		R_0 нмоль/мг білка	K_e	K_f
	максимальне специфічне	неспецифічне			
1-ша (n=3)	9,1±1,3	3,13±1,0	0,16±0,03	16,5±1,1	6,2±0,4
p ₁	<0,001	>0,1	<0,001	>0,1	>0,1
p ₂	<0,001	<0,01	<0,05	<0,01	>0,1
2-га (n=7)	33,3±1,8	7,2±0,6	0,54±0,10	33,0±5,5	8,7±1,7
p ₁	<0,001	<0,01	>0,1	<0,001	<0,05
Контроль (n=9)	23,2±1,9	3,9±0,9	0,45±0,07	18,0±2,3	5,1±0,9

Примітка: p₁ - порівняння з контролем; p₂ - порівняння груп хворих поміж собою

Таблиця 2. Показники зв'язування ^{125}I -інсуліну еритроцитами здорових людей та хворих на ІНЦД

Об'єкт дослідження	n	Константи дисоціації (K_d , М)		Кількість зв'язуючих центрів на клітину (R_0)	
		$K_{d1} \cdot 10^{-9}$	$K_{d2} \cdot 10^{-8}$	R_{01}	R_{02}
Еритроцити здорових людей	5	0,36±0,10	6,9±1,1	24,2±6,0	710±127
Еритроцити хворих на ІНЦД	11	0,21±0,97*	7,3±0,8	25,7±5,7	357±67*

* Вірогідність зміни показників порівняно з показниками 1-ї групи; p < 0,05.

наявністю певних факторів у крові, досліджували вплив плазми крові здорових і хворих на ІНЦД на зв'язування еритроцитами ^{125}I -інсуліну у реципрокних дослідженнях. Результати такого дослідження наведено у табл. 3, де названо параметри зв'язування інсуліну з еритроцитами здорових донорів у присутності плазми крові здорових осіб та хворих на ІНЦД. Використана у цьому дослідженні плазма піддавалася перед дослідженням обробці покритим декстраном активованим вугіллям з метою видалення з плазми інсуліну, який, враховуючи часту гіперінсулінемію у хворих на ІНЦД, міг впливати на зв'язування ^{125}I -інсуліну з еритроцитами. Відсутність інсуліну у плазмі підтверджувалася радіоімунним визначенням його.

Таблиця 3. Вплив плазми крові хворих на ІНЦД на показники зв'язування ^{125}I -інсуліну з інсуліновими рецепторами еритроцитів здорових людей

Умови досліджу	n	Константи дисоціації (K_d , M)		Кількість зв'язуючих центрів на клітину (R_0)	
		$K_{d1} \cdot 10^{-9}$	$K_{d2} \cdot 10^{-8}$	R_{01}	R_{02}
Еритроцити + плазма крові здорових людей	5	0,36±0,10	6,9±1,1	24,2±6,0	710±127
Еритроцити здорових людей + плазма крові хворих на ІНЦД	10	0,30±0,07	10,9±1,2*	25,5±2,8	309±42*

* Вірогідність зміни показників; $p < 0,05$.

Для виявлення можливого внеску мембранного оточення рецепторів до порушення зв'язування інсуліну з еритроцитами при ІНЦД було доцільно дослідити зв'язування ^{125}I -інсуліну з солюбілізованими інсуліновими рецепторами еритроцитів хворих на ІНЦД. Солюбілізовані інсулінові рецептори отримували шляхом обробки плазматичних мембран еритроцитів 1% розчином тритону X-100 з наступною афінною хроматографією на колонці з іммобілізованим на агарозі лектином із зародків пшениці [54]. Виявлено, що рецептори інсуліну, солюбілізовані з еритроцитів хворих на ІНЦД, як і ті, що локалізовані на мембранах інтактних еритроцитів тих самих хворих, мають знижену здатність до зв'язування ^{125}I -інсуліну, головним чином, за рахунок зменшення кількості зв'язуючих центрів із низькою спорідненістю до інсуліну. Цікавим є той факт, що плазма хворих на ІНЦД зменшувала інсулінзв'язуючу активність солюбілізованих рецепторів, як це спостерігалася і для інсулінових рецепторів інтактних еритроцитів.

Отримані результати, з одного боку, свідчать про те, що виявлене зменшення зв'язування ^{125}I -інсуліну зумовлене станом самого рецептора, а з другого боку – що на цей стан впливають речовини плазми крові цих хворих.

Підтвердженням припущення про те, що знижена активність інсулінових рецепторів еритроцитів хворих на ІНЦД може бути зумовлена зв'язуванням ними циркулюючих у крові факторів, можуть бути результати дослідження впливу на інсулінзв'язуючу здатність рецепторів хворих на ІНЦД обробки еритроцитів 0,01 M ацетатним буферним розчином (pH 4,5) з 0,15 M NaCl, який в умовах *in vitro* відокремлював інсулін з його комплексу з рецептором. Обробка еритроцитів 11 хворих на ІНЦД ацетатним буфером призводила до нормалізації функціонування інсулінових рецепторів у 7 хворих (табл. 4). Для порівняння наведено також дані для здорових осіб з табл. 2. Аналогічна обробка еритроцитів 4 хворих, як і здорових, не впливала на інсулінзв'язуючу здатність інсулінових рецепторів на поверхні еритроцитів.

Таблиця 4. Вплив обробки ацетатним буферним розчином (рН 4,5) на параметри зв'язування ^{125}I -інсуліну з інсуліновими рецепторами еритроцитів здорових людей та хворих на ІНЦД

Умови досліджу	n	Константи дисоціації (K_d , М)		Кількість зв'язуючих центрів на клітину (R_0)	
		$K_{d1} \cdot 10^{-9}$	$K_{d2} \cdot 10^{-8}$	R_{01}	R_{02}
Еритроцити здорових людей	5	0,36±0,10	6,9±1,1	24,2±6,0	710±127
Еритроцити здорових людей після обробки буфером	5	0,37±0,09	6,8±1,4	26,8±7,2	698±135
Еритроцити хворих на ІНЦД після обробки буфером:					
1-ша група	7	0,37±0,11	7,0±1,3	30,8±11,4	778±140
2-га група	4	0,37±0,12	6,9±1,5	28,8±12,5	350±109*

* Вірогідність зміни показників порівняно з показниками 1-ї групи; $p < 0,05$.

Отримані результати свідчать про те, що зниження активності інсулінових рецепторів еритроцитів у більшості обстежених хворих зумовлено не зменшенням їхньої кількості як такої, а циркулюючими чинниками, здатними зворотно блокувати рецептори і утруднювати їхню взаємодію з інсуліном. Наявність серед обстежених хворих на ІНЦД групи осіб, у якої обробка еритроцитів ацетатним буфером не підвищувала досі знижену активність рецепторів, свідчить на користь певної гетерогенності нозологічної одиниці ІНЦД щодо механізмів порушення функції інсулінових рецепторів. Ця обставина спонукала до пошуку причин цієї гетерогенності. Дослідження проводили у напрямку пошуку гуморальних факторів крові, які могли перешкоджати взаємодії ^{125}I -інсуліну з інсуліновими рецепторами еритроцитів. Із попередньо очищеної від інсуліну плазми крові хворих на ІНЦД та здорових людей за допомогою афінної хроматографії з використанням як сорбентів іммобілізованих на агарозі інсуліну або інсулінових рецепторів нами було виділено два чинники, названі контрінсуліновим (КІФ) та контррецепторним (КРФ) факторами, які елюювали з колонок за допомогою 0,01 М НСІ-гліцинового буферного розчину (рН 2,5) [55,56]. В реакції зв'язування ^{125}I -інсуліну з рецепторами інсуліну еритроцитів елюати КРФ діяли як інгібітори зв'язування, подібно до плазми крові хворих на ІНЦД, а саме зменшували кількість зв'язуючих центрів із низькою спорідненістю, що визначалась за методом Scatchard, до 217 ± 53 порівняно із 710 ± 127 за відсутності КРФ ($p < 0,02$), що практично не впливало на константу зв'язування. Це вказує на конкурентний характер інгібування специфічної інсулінрецепторної взаємодії досліджуваним чинником.

За результатами препаративного виділення з плазми крові обстежених хворих КРФ та КІФ (відповідно на афінних колонках з іммобілізованими на агарозі рецепторами інсуліну або інсуліном), у плазмі крові частини хворих (1-ша група; $n = 17$) було відзначено підвищену концентрацію білка КРФ (табл. 5) порівняно із показниками контрольної групи ($p < 0,01$). У другій частини пацієнтів (2-га група; $n = 14$), навпаки, концентрація КІФ у плазмі крові перевищувала контрольний рівень ($p < 0,01$), а концентрація КРФ від нього практично не відрізнялася (див. табл.5). Було з'ясовано, що саме у пацієнтів, що належали до 1-ї групи за ознакою високого вмісту КРФ, обробка еритроцитів ацетатним буфером нормалізувала

Таблиця 5. Вміст КРФ та КІФ у плазмі крові здорових людей і хворих на ІНЦД двох груп

Група обстежених	n	Вміст КРФ, мг/л	Вміст КІФ, мг/л
Здорові люди	6	67±9	70,0±10
1-ша група хворих	17	112±11*	79,1±10
2-га група хворих	14	80±10	122,0±12* **

* Вірогідність зміни показників порівняно з показниками контрольної групи; $p < 0,05$;

** Вірогідність зміни показників порівняно з показниками 1-ї групи; $p < 0,05$.

показники зв'язування ^{125}I -інсуліну, а у пацієнтів, що увійшли до 2-ї групи, подібного ефекту не спостерігалось (див. табл. 4).

Таким чином, відмінність між двома групами хворих на ІНЦД щодо впливу обробки еритроцитів ацетатним буфером на їх інсулінзв'язуючі властивості дістала додаткове обґрунтування під час дослідження плазми крові цих хворих. Отримані дані дозволили припустити, що зниження показників зв'язування інсуліну з інсуліновими рецепторами еритроцитів обумовлене у обох групах хворих різними молекулярними механізмами: у 1-й групі головну роль як конкурентного інгібітора зв'язування інсуліну, можливо, грає КРФ, який приєднується до клітинних рецепторів інсуліну, а в 2-й групі - КІФ, що може зв'язувати інсулін у плазмі крові. В обох випадках наслідком підвищення у плазмі крові вмісту одного з названих чинників може бути блокування зв'язування інсуліну з клітинними рецепторами, що призведе зрештою до змін обмінних процесів у різних тканинах, які характерні для цукрового діабету.

Гетерогенність серед обстежених хворих на ІНЦД проявлялась також у динаміці рівня глюкози в крові протягом доби. У 1-й групі рівень глюкози в крові натше був вищим, ніж у 2-й групі, через 60 хв після їди у цих хворих він знижувався, а через 180 хв наближався до вихідного. У 2-й групі через 60 хв зменшення рівня глюкози в крові не спостерігалось, через 180 хв він був вищим за вихідний. Це свідчить про сповільнення видалення глюкози з кровотоку у 2-й групі.

Отже, різниця у механізмах порушення інсулінрецепторної взаємодії позначається на динаміці вмісту глюкози в крові хворих на ІНЦД.

Наведені дані свідчать про те, що обидві нозологічні одиниці - ІЗЦД та ІНЦД - є гетерогенними у патогенетичному відношенні за низкою ознак, у тому числі - за механізмами порушення інсулінрецепторної взаємодії.

Література

1. Ефимов А.С., Бездробный Ю.В. Структура и функции инсулиновых рецепторов. К.: Наукова думка, 1987. 171 с.
2. Nouy A., Bilezikian J.P. Clinical review 63. Diabetes and pancreatic cancer: clues to the early diagnosis of pancreatic malignancy // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1994, 79, 1223-1231.
3. Nerup J., Andersen O.O., Bendixen G. et al. Antipancreatic cellular hypersensitivity in diabetes mellitus // Diabetes. 1971, 20, 424-427.
4. Bottazzo G.F., Florin-Christensen A., Doniach D. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies // Lancet. 1974, 2, 1279-1282.
5. Ефимов А.С., Полторак В.В. Аутоиммунные аспекты инсулинзависимого сахарного диабета. Гуморальный иммунитет // Пробл. эндокринологии. 1987, N1, 80-88.
6. Baekkeskov S., Nielsen T.H., Masner B. et al. Autoantibodies in newly diagnosed diabetic patients // Nature. 1982, 298, 167-169.
7. Baekkeskov S., Aanstoot H.J., Christgau S. et al. Identification of the 64 K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesising enzyme glutamic acid decarboxylase // Nature. 1990, 347, 151-156.

8. Мжельская Т.И., Ларский Э.Г., Миловидов Ю.К. Пресимптомная и пренатальная диагностика наследственных болезней методом анализа ДНК (обзор) // Лаб. дело. 1991, N 3, 3-10.
9. Rabin D.U., Pleasic S.M., Palmer-Clockner R., Shapiro J.A. Cloning and expression of IDDM-specific human autogenes // *Diabetes*. 1992, **41**, 183-186.
10. Nerup J., Mandrup-Poulsen T., Helqvist S. et al. On the pathogenesis of IDDM // *Diabetologia*. 1994, **37**, Suppl. 2, S82-S89.
11. Roll U., Christie M.R., Standl E., Zeigler A.-G. Associations of anti-GAD antibodies with islet cell antibodies and insulin autoantibodies in first degree relatives of type I diabetic patient // *Diabetes*. 1994, **43**, N 1, 154-160.
12. Ujihara N., Daw K., Gianani R. et al. Identification of glutamic acid decarboxylase heterogeneity and epitope regions in type I diabetes // *Diabetes*. 1994, **43**, 968-975.
13. Gianani R., Pugliese A., Bonner-Weir S. et al. Prognostically significant heterogeneity of cytoplasmic islet cell antibodies in relatives of patients with type I diabetes // *Diabetes*. 1992, **41**, 347-353.
14. Peakman M., Alviggi L., Hussain M.J. et al. Increased expression of T-cell markers of immunological memory associated with protection from type I diabetes. A study of identical twins // *Diabetes*. 1994, **43**, N 5, 712-717.
15. Lernmark A. Molecular biology of type I (insulin-dependent) diabetes mellitus // *Diabetologia*. 1985, **28**, 195-203.
16. Kockum I., Wassmuth R., Holmberg E. et al. HLA-DQ protection and HLA-DR susceptibility in type I (insulin-dependent) diabetes studied in population-based affected families and controls // *Am. J. Human Genet.* 1993, **42**, 150-167.
17. DeFronzo R.A. The triumvirate: b-cell, muscle, liver. A collision responsible for NIDDM // *Diabetes*. 1988, **37**, 667-687.
18. Taylor S.I., Accili D., Imai Y. Insulin resistance or insulin deficiency. Which is the primary cause of NIDDM? // *Diabetes*. 1994, **43**, 735-740.
19. Martin B.C., Warram J.H., Krolewski A.S. et al. Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study // *Lancet*. 1992, **340**, 925-929.
20. Damsbo P., Vaag A., Hother-Nielsen O., Beck-Nielsen H. Reduced glycogen synthase activity in skeletal muscles from obese patients with and without type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus // *Diabetologia*. 1991, **34**, 239-245.
21. Warram J.H., Martin B.C., Krolewski A.S. et al. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents // *Ann. Int. Med.* 1990, **113**, 909-915.
22. Arnoff S.L., Bennett P.H., Gorden P. et al. Unexplained hyperinsulinemia in normal and "prediabetic" Pima Indians compared with normal controls // *Diabetes*. 1977, **26**, 827-840.
23. Haffner S.M., Stern M.P., Hazuda H.P. et al. Increased insulin concentrations in nondiabetic offspring of diabetic parents // *New Engl. J. Med.* 1988, **319**, 1297-1301.
24. Johnston C., Ward W.K., Beard J.C. et al. Islet function and insulin sensitivity in the nondiabetic offspring of conjugal type 2 diabetic patients // *Diabetic Med.* 1990, **7**, 119-125.
25. McCance D.R., Pettitt D.J., Hanson R.L. et al. Glucose, insulin concentration and obesity in childhood and adolescence as predictors of NIDDM // *Diabetologia*. 1994, **37**, 617-623.
26. Rohner-Jeanrenaud F., Hochstrasser A.-C., Jeanrenaud B. Hyperinsulinemia of preobese and obese fa/fa rats is partly vagus nerve mediated // *Am. J. Physiol.* 1983, **244**, E317-E322.
27. Zawulich W.S., Kelley G.G. The pathogenesis of NIDDM: the role of the pancreatic beta cell // *Diabetologia*. 1995, **38**, 986-991.
28. Cerasi E. Insulin deficiency and insulin resistance in the pathogenesis of NIDDM: is a divorce possible? // *Diabetologia*. 1995, **38**, 992-997.
29. Porte D. β -cells in type II diabetes mellitus // *Diabetes*. 1991, **44**, 166-180.
30. Hales C.N., Barker D.J.P. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis // *Diabetologia*. 1992, **35**, 595-601.

31. Efendic S., Luft R., Waingot A. Aspects of the pathogenesis of type 2 diabetes // *Endocrinol. Rev.* 1984, 5, 395-410.
32. Rice H.E., Mathews D.R. Hormone signalling: basal insulin secretion and acute insulin response in normal and glucose intolerant man // *Diabetologia.* 1993, 36, Suppl. 1, p. A67.
33. Maassen J.A., Hart L.M., Heine R.J. et al. Increased frequency of Met95 insulin receptor variant in type II diabetic patients // *Diabetologia.* 1995, 38, Suppl.1, p. A77.
34. Widen E., Lehto M., Groop L. The association between β -adrenergic receptor gene polymorphism and insulin resistance // *Diabetologia.* 1995, 38, Suppl. 1, p. A35.
35. Alcolado J.C., Sherratt E., Edwards A. et al., A variety of mitochondrial DNA defects are present in NIDDM // *Diabetologia.* 1995, 38, Suppl. 1, p. A75.
36. Iwasaki N., Cox N.J., Kawamura M. et al. Genome-wide search for type 2 diabetes mellitus susceptibility genes in Japanese // *Diabetologia.* 1995, 38, Suppl. 1, p. A35.
37. Jansen J.J., Rutten C.F.A., Hart L.M. et al. Clinical presentation of diabetes associated with a mitochondrial DNA mutation // *Diabetologia.* 1995, 38, Suppl. 1, p. A75.
38. Rasker S.P., Jansen J.J., van den Ouweland J.M.W. et al. Natural course of MIDD (maternally inherited diabetes and deafness) // *Diabetologia.* 1995, 38, Suppl. 1, p. A78.
39. Beck-Nielsen H., Nielsen O.H., Pedersen et al. Insulin action and insulin secretion in identical twins with MODY: evidence for defects in both insulin action and secretion // *Diabetes.* 1988, 37, 730-733.
40. Gidh-Jain M., Takeda J., Wu L.Z. et al. Glucokinase mutations associated with non-insulin-dependent (type II) diabetes mellitus have decreased enzymatic activity: implications for structure/function relationships // *Proc. Nat. Acad. Sci USA.* 1993, 90, 1932-1936.
41. Froguel Ph., Zouali H., Vionnet N. et al. Familial hyperglycemia due to mutations in glucokinase: definition of a subtype of diabetes mellitus // *New Engl. J. Med.* 1993, 328, 697-702.
42. Dronsfield M.J., Tack C.J.J., Bain S.C. Linkage of the gene for maturity-onset diabetes of the young (MODY) with markers on the long arm of chromosome 12 // *Diabetologia.* 1995, 38, Suppl. 1, p. A60.
43. Bell G.J., Xiang K., Newman M.V. et al. Gene for non-insulin-dependent diabetes mellitus (MODY) subtype linked to DNA polymorphism on human chromosome 20q // *Proc. Nat. Acad. Sci USA.* 1991, 88, 1484-1488.
44. Vaxillaire M., Vionnet N., Vigouroux C. et al. Search for a third susceptibility gene for maturity-onset diabetes of the young. Studies with eleven candidate genes // *Diabetes.* 1994, 43, 389-395.
45. Velho G., Clement K., Pueyo M.E. et al. Clinical and metabolic profiles of MODY families linked to chromosome 12q // *Diabetologia.* 1995, 38, Suppl. 1, p. A34.
46. Menzel S., Fajans S.S., Iwasaki N. et al. Linkage between MODY and markers on chromosome 12 // *Diabetologia.* 1995, 38, Suppl.1, p. A74.
47. Scatchard L. The attractions of proteins for small molecules and ions // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1949, 51, N6, 660-672.
48. Meys P. de, Roth J. Cooperativity in ligand binding: a new graphic analysis // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1975, 66, N 8, 1118-1126.
49. Pedersen O., Beck-Nielsen H., Heding L. Insulin receptors on monocytes from patients with ketosis-prone diabetes mellitus // *Diabetes.* 1978, 27, N 11, 1098-1104.
50. Pedersen O., Beck-Nielsen H., Sorensen N.S., Svejgaard A. Heterogeneity of insulin receptors in patients with untreated insulin-dependent diabetes mellitus // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 1982, 55, N 11, 30-39.
51. Корпачев В.В., Гурина Н.М., Иванова Ж.В. Роль специфических факторов сыворотки крови в нарушении связывания инсулина с рецепторами плазматических мембран эритроцитов // *Укр. биохим. журнал.* 1994, 66, N 4, 65-68.
52. Olefsky J.M. Decreased insulin binding to adipocytes and circulating monocytes from obese subjects // *J. Clin. Invest.* 1976, 57, N 5, 1165-1172.
53. Kappy M.S., Plotnick L. Erythrocyte insulin binding in obese children and adolescents // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 1980, 51, N 6, 1440-1446.

54. Корпачов В.В., Гуріна Н.М., Іванова Ж.В. Спосіб одержання контрінсулінового фактора, який блокує зв'язування інсуліну з його рецептором та має діабетогенні властивості // Рішення від 22.10.1996 р. за заявкою N 95041881 про видачу патенту України на винахід.
55. Корпачов В.В., Гуріна Н.М., Іванова Ж.В. Спосіб одержання контррецепторного фактора, який блокує зв'язування інсуліну з його рецептором та має діабетогенні властивості // Рішення від 22.10.1996 р. за заявкою N 95041879 про видачу патенту України на винахід.

Роль нарушения рецепции инсулина в патофизиологической гетерогенности сахарного диабета (обзор литературы и результаты собственных исследований)

В.В. Корпачев, Н.М. Гурина, Ю.В. Бездробный, Ж.В. Иванова

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

Рассматриваются имеющиеся данные относительно полипатогенетичности как инсулинзависимого (ИЗСД), так и инсулиннезависимого сахарного диабета (ИНСД), во взаимосвязи с сопутствующими изменениями структуры и функции рецепторов инсулина.

Приведены данные о различиях в проявлении функции рецепторов инсулина в двух группах еще не леченных пациентов с ИЗСД: 1) с пониженным количеством инсулинсвязывающих центров (7 человек), 2) с повышенным сродством рецепторов к инсулину (3 человека).

Представлены данные о снижении инсулинсвязывающей емкости рецепторов инсулина эритроцитов у пациентов с ИНСД, которое было связано с повышением уровня в крови одного из двух белков плазмы: 1) контррецепторного фактора (у 17 человек), 2) контрінсулінового фактора (у 14).

Результаты исследований показывают, что предрасположенность к развитию сахарного диабета и его клиническое проявление для каждой из хорошо известных форм диабета, очевидно, обуславливается мультифакторным процессом.

Importance of insulin reception disorders in pathophysiological heterogeneity of diabetes mellitus (review of literature and original data)

V.V. Korpatchev, N.M. Gurina, Yu.V. Bezdrobny, Zh.V. Ivanova

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

The data indicating pathogenetical heterogeneity of either insulin-dependent (IDDM) and non-insulindependent diabetes mellitus (NIDDM) are reviewed in connection with accompanying changes in insulin receptor structure and function.

The investigation carried out allowed to establish the difference in insulin receptor binding function in two groups of nontreated IDDM patients: 1) with decreased number of insulin binding sites (7 patients), 2) with increased affinity to insulin (3 patients).

The reduced insulin binding capacity of erythrocyte insulin receptor which was connected with the rise of either of two plasma proteins: 1) counterreceptor factors (17 patients), 2) counterinsulin factors (14 patients) was demonstrated.

Thus, the results show that predisposition and clinical manifestation of well-known forms of diabetes seem to be caused by multifactor process which defines polyethiopathology and heterogeneity of the disease.

ФІЗІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ДІЇ ЕРИТРОПОЕТИНУ І КОРЕКЦІЯ АНЕМІЇ ПРИ ДІАБЕТИЧНІЙ НЕФРОПАТІЇ (мініюгляд)

Н.О. Зуєва

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

Еритропоетин - глікопротеїновий гормон, який через стимуляцію мітозу і диференціювання еритроїдних попередників стимулює еритропоез. Еритропоетин продукується переважно в інтерстиції внутрішнього шару кіркової речовини нирок під впливом різних чинників, головним із яких є гіпоксія.

У разі розвитку ниркової недостатності і зменшення вироблення еритропоетину внаслідок різних причин, у тому числі діабетичної нефропатії, необхідна замісна терапія гормоном. Проте застосовувати його при цукровому діабеті слід обережно, вводити тільки підшкірно і починати з малих доз (25-75 ОД/кг за тиж) через тяжку судинну патологію і можливе ускладнення самої терапії еритропоетином. У процесі терапії необхідний ретельний контроль за рівнями глюкози в крові, гематокриту, гемоглобіну, артеріального тиску та інших показників крові, у тому числі - біохімічних. За резистентності до еритропоетину треба знайти і по зможі усунути її причину, а потім проводити замісну терапію.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична нефропатія, лікування еритропоетином.

На даний час доведено роль глікопротеїнового гормону еритропоетину, який належить до цитокінів, у стимуляції гемопоезу, зокрема, в продукції еритроцитів. Еритропоетин активізує продукцію проеритробластів та базофільних еритробластів, запобігаючи деструкції ДНК і порушуючи таким чином запрограмовану загибель еритроїдних попередників. Еритропоетин також індукує синтез гемоглобіну. Для реалізації вказаних ефектів гормону потрібні достатня кількість еритроїдних попередників, нормальне мікрооточення кісткового мозку і наявність поживних речовин, таких як фоліева кислота, вітамін В₁₂ і особливо залізо [1 - 3].

Згідно із сучасними уявленнями, еритропоетин утворюється в перитубулярних інтерстиціальних клітинах, що локалізовані переважно у внутрішньому шарі кіркової речовини нирок. Точно тип клітин все ще не визначений, однак є припущення, що це видозмінені ендотеліальні клітини перитубулярних капілярів [1]. Продукція гормону цими клітинами регулюється рівнем ренальної оксигенації, що визначається рецепторним сенсором до гіпоксії, або кисневим сенсором [4].

Гіпоксія є не єдиним подразником, що здатний регулювати секрецію еритропоетину. Його секреція залежить від нервової системи: стимуляція гіпоталамуса у кролів зумовлює підвищення рівнів еритропоетину і ретикулоцитів у плазмі. Активізація β₂-адренорецепторів також підвищує рівень плазматичного еритропоетину, а β-адреноблокатори, відповідно, його знижують [3]. Стимуляторами утворення еритропоетину також є простагландини, андрогени, дефіцит АТФ. Протилежну дію чинять естрогени, блокатори аденозинових рецепторів, глюкокортикоїди, нестероїдні протизапальні засоби [2], а також ціла низка цитокінів: інтерферони альфа-і бета-, фактор некрозу пухлин, інтерлейкіни 1,6, рісттрансформуючий фактор β. Усі ці фактори передусім порушують метаболізм заліза [5,6]. Окрім того, вироблення еритропоетину підлягає циркадіанному ритму: вранці його рівень нижчий, ніж увечері [2].

Окрім нирок, еритропоетин у невеликій кількості може утворюватись у печінці, селезінці, гіпофізі, головному мозку, легенях, яєчках і загрудинній залозі.

Еритропоетин можуть виробляти пухлини різних органів: печінки, матки, надниркових залоз, мозочка. Підвищення продукції еритропоетину спостерігається при гідронефрозі [3].

У 1985 р. дві групи вчених під керівництвом Ліна і Джакобса, незалежно одна від одної, клонували ген, що кодує еритропоетин людини. Таким чином стало можливим отримати рекомбінантний еритропоетин, який за своєю структурою та дією аналогічний натуральному гормону. Це глікопротеїн, який складається із 165 амінокислот. Глікозильована молекула має масу близько 30,4 кД. Молекулярна маса протеїнового ланцюга - 18,4 кД. Молекула на 60% складається із білкової частини і на 40% - із вуглеводної. У молекулі є 2 дисульфідних містка і 4 глікозильованих ділянки. Біологічна активність гормону залежить від глікозилування. Десіалізація молекули в печінці призводить до його інактивації і видалення з кровотоку [7].

Рецептори до еритропоетину вперше були описані в 1987 р. [2]. Ці рецептори належать до великої родини рецепторів гемопоетичних ростових факторів, що включають рецептори до інтерлейкінів 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактора, циліарного нейротропінового фактора, фактора, що інгібує лейкемію, гормону росту і пролактину. Ген, що кодує рецептори до еритропоетину, міститься у 19-й хромосомі [2, 7].

Рецептори до гормону виявлено в незрілих еритроїдних клітинах, плаценті, мегакаріюцитах, ендотелії судин. Рецептори з дуже низькою афінністю є також у нервовій тканині. Роль рецепторів у нееритроїдних тканинах вивчена мало, хоча відомо, що, впливаючи на мегакаріюцити, еритропоетин підвищує кількість і агрегаційну здатність тромбоцитів. У ендотеліальних клітинах еритропоетин стимулює вироблення ендотеліну. У нервових клітинах і плаценті його роль не вивчена, хоча відомо, що гормон не проникає через гематоенцефалічний і плацентарний бар'єри. Останнє особливо важливо для лікування вагітних жінок [2, 3].

На мембрані незрілої еритроїдної клітини виявлено до 1000 рецепторів до гормону. Після зв'язування еритропоетину з рецептором спостерігається активізація ферменту тирозинкінази з послідовним розвитком ефектів (таблиця) [2].

Наслідками впливу на незрілі еритроїдні клітини кісткового мозку є їх дозрівання, проліферація та диференціювання в циркулюючі еритроцити. Зрілі еритроцити втрачають чутливість до еритропоетину [2].

Рекомбінантні людські еритропоетин-епрекс (епоеетин - α) та рекормон (епоеетин - β) є препаратами вибору в лікуванні анемії різного генезу, в тому числі й ниркової при цукровому діабеті [8]. Діабетична нефропатія є найбільш суттєвим

Внутрішньоклітинні ефекти еритропоетину в культурі проеритробластів мишей

<i>час</i>	<i>ефект</i>
1 хв	активізація фосфорилування, інтерналізація гормон-рецепторного комплексу
10 хв	деструкція гормон-рецепторного комплексу
1 год	підвищення поглинання глюкози
2 год	запобігання деградації ДНК
2 год	активізація транскрипції генів гліколізу
3 год	підвищення синтезу загальної РНК
6 год	збільшення кількості рецепторів трансферину активізація транскрипції гену глобіну
12 год	початок синтезу гемоглобіну
12-48 год	синтез протеїнів мембрани червоних клітин та їх енуклеація

проявом універсальної діабетичної ангіопатії, яка характеризується потовщенням базальних мембран, підвищеною проникністю капілярів і утворенням мікротромбів [9]. Названі зміни в стінках судин, у тому числі клубочках нирок, найчастіше є наслідком хронічної гіперглікемії і підвищеного метаболізму глюкози шляхом негліколітичних процесів через поганий контроль глікемії. Наслідком цього буде, з одного боку, глікозування різних протеїнів, що входять до складу стінок судин і гемоглобіну, а з іншого - підвищення вироблення антиеритропоетинової біологічно активної речовини - ристрансформуючого фактора β [5]. Такі біохімічні зміни призводять до гіпоксії різних органів, у тому числі нирок, та індукції вироблення еритропоетину. Це може негативно вплинути на потенціювання агрегаційної здатності тромбоцитів і активізацію вироблення ендотеліну [10], що зумовить погіршення стану мікроциркуляторного русла. Належний контроль глікемії може уповільнити або навіть запобігти розвитку нефропатії на вказаній стадії, а також зменшити гіпоксію [11].

У міру прогресування діабетичної нефропатії з розвитком гломерулосклерозу і наявністю симптомів ХНН, вироблення еритропоетину знижується, що вимагає відповідної замісної терапії. Як свідчать дані літератури [12 - 14], лікування препаратом еритропоетину - епрексом супроводжується поліпшенням функціонування цілої низки систем організму.

Гематологічні ефекти: відпадає необхідність у гемотрансфузіях; корекція гемосидерозу; зниження рівня анти-HLA антитіл; нормалізація фагоцитарної активності нейтрофілів [14]; поліпшення стану системи гемостазу [13]; нормалізація ліпідного складу крові [12].

Кардіоваскулярні ефекти: зменшення гіпертрофії лівого шлуночка серця; підвищення толерантності міокарда до фізичного навантаження.

Імунологічні ефекти: підвищення клітинного імунітету, посилення відповіді на вакцинацію проти гепатиту В.

Психологічна дія: підвищення якості життя; поліпшення пам'яті.

Ендокринні ефекти: зменшення діабетичного гастропарезу і уремічного свербежу [13]; запобігання діабетичній нефропатії або сповільнення її прогресування; розсмоктування набряку макули на тлі діабетичної ретинопатії [8].

Однак терапія епрексом при цукровому діабеті потребує деякої обережності, оскільки ця хвороба може супроводжуватися судинною патологією через макро- і мікроангіопатію. Можливі також ускладнення терапії епрексом. До таких належать гіпертензія, пов'язана, очевидно, з підвищенням продукції ендотеліну, інсульт, обумовлений гіпертензією і підвищенням агрегації тромбоцитів, гостра енцефалопатія, грипоподібний синдром, мікротромбоз, біль при ін'єкціях [13]. Особливо часто ці ускладнення виникають у разі внутрішньовенного введення препарату [15]. Тому при цукровому діабеті препарат слід призначати підшкірно і початкова доза не повинна перевищувати 25-75 ОД/кг (раз на тиждень) незалежно від ступеня анемії, з подальшим нарощуванням її на 1000-2000 ОД кожні 3-4 тижні під контролем гематокриту. Якщо тижнева доза становить 10000 ОД, її доцільно розділити на 2 ін'єкції.

Під час терапії епрексом потрібні належний контроль за рівнем глюкози в крові, артеріальним тиском, за кількістю рідини, що вживають та виділяють, а також дослідження гематокриту не рідше 1 разу на тиждень. Кожні 2-3 тижні треба визначати кількість ретикулоцитів, кожні 3-6 тижнів - рівень сечовини та креатиніну, електролітів, заліза у сироватці, загальну залізо зв'язувальну здатність крові, вміст трансферину і феритину в плазмі. Якщо гематокрит перевищує 35%, дозу препарату слід знижувати на 1000-2000 ОД на тиждень, якщо ж цей показник перевищує 40%, епрекс слід відмінити до зниження показника нижче 38%, а потім лікування можна продовжувати в дозі 2/3-3/4 від попередньої. Доза епрексу має бути підібрана індивідуально таким чином, щоб показник гематокриту був у межах 30-35%. При цьому доза препарату може широко коливатися від 25 до 200

ОД/кг на тиждень. Після того як доза препарату підібрана, контроль за вищевказаними показниками має проводитись кожні 3-6 тижнів. Якщо на початкових етапах терапії епрексом організм хворого переобтяжений залізом унаслідок частих попередніх гемотрансфузій, препарати заліза не призначають до нормалізації рівня його в крові. За відсутності підвищення вмісту заліза (феритин сировотки - понад 500 нг/мл) хворим треба призначати препарати заліза *per os* тричі на добу. В разі вичерпування запасів заліза (рівень феритину менше за 100 нг/мл) хворим слід призначати препарати заліза внутрішньовенно (декстран заліза). Таку саму схему введення препаратів заліза слід використовувати у разі дефекту мобілізації заліза із тканин або порушення транспорту катіону в кістковий мозок. Однак внутрішньовенно вводити препарат заліза слід обережно, зважаючи на можливість розвитку гіпотензії.

На тлі терапії епрексом доцільно вивчати агрегацію тромбоцитів. У разі підвищення останньої призначають антиагреганти: дитазол - по 400-800 мг/добу, тиклопідин - по 250-500 мг/добу, дипіридамо́л - по 150-300 мг/добу, аспірин - до 200 мг/добу [15]. Препарати приймають протягом усього курсу терапії епрексом. У разі підвищення артеріального тиску призначають антигіпертензивні препарати: блокатори кальцієвих каналів, альфа₁-адреноблокатори, β₁-адреноблокатори. У разі вираженої ХНН блокатори ангіотензинконвертуючого фактора не застосовують. Під час терапії епрексом не проводять гемотрансфузій [3, 13, 14, 15].

Якщо реакції на епрекс не спостерігається, слід шукати причини резистентності. Резистентністю прийнято вважати стан, коли тижнева доза перевищує 10000 ОД, а гематокрит - менше 30%. Найчастішими причинами резистентності є гострі та хронічні інфекції, хронічні запальні процеси, тяжкий вторинний гіперпаратиреоз, інтоксикація алюмінієм на тлі хронічного гемодіалізу, фіброз або інфільтративні процеси в кістковому мозку [6, 13]. У цих випадках слід у міру можливості усунути причину, а потім проводити терапію епрексом.

Терапію іншими препаратами еритропоетину, зокрема рекормоном, також рекомендують застосовувати за аналогічною схемою [16].

Таким чином, впровадження у клінічну практику препаратів рекомбінантного людського еритропоетину розширило можливості лікування анемії при діабетичній нефропатії.

Література

1. Ratcliffe P.J.. Molecular biology of erythropoetin //Kidney International. 1993, **44**, 887-904.
2. Sawyer S.T., Penta K.. Erythropoetin cell biology //Hematology/Oncology clinics of North Amer. 1994, **8**, N 5, 885-894.
3. Tabbara I.A.. Erythropoetin: biology and clinical applications //Arch. Intern. Med. 1993, **153**, N 3, 298-306.
4. Gregg L. Semenra. Regulation of erythropoetin production: new insights into molecular mechanisms of oxygen homeostasis // Hematology/Oncology clinics of North Amer. 1994, **8**, N 5, 863-885.
5. Wolf G., Sharma K.. High glucose-induced proliferation in mesangial cells is reversed by autocrine TGF-β // Kidney International. 1992, **42**, 647-656.
6. Casadevall N. Cellular mechanism of resistance to erythropoetin //Nephrol. Dial. Transplant. 1995, **10**, suppl. 6, 27-30.
7. Romanowski R.R., Sytkowski A.J.. The molecular structure of human erythropoetin //Hematology/Oncology clinics of North Amer. 1994, **8**, N 5, 885-894.
8. Friedman E.A., Browu C.D. Erythropoetin in diabetic macular edema and renal insufficiency // Am. J. Kidney Dis. 1995, **26**; 202-8.
9. The diabetes control and complications trial research group // N. Engl. Y. Med. 1993, N 329, 977-986.

10. Nitta K., Uchida K. Endothelin-1 mediates erythropoetin-stimulated glomerular endothelial cell-dependent proliferation of mesangial cells // *Excerpta Med.* 1996, 3, N 1, 53.
11. Ефимов А.С., Скробонская Н.А., Карабун П.М. Состояние и перспектива лечения сахарного диабета // *Клин. мед.* 1990, N 10, 17-23.
12. Pollock C.A., Wyndham R.. Effect of erythropoetin therapy on the lipid profile in endstage renal failure // *Kidney International.* 1994, 45, 897-902.
13. Jimenez L.F., Scheel P.J.. Clinical application of recombinant erythropoetin in renal dialysis patients // *Hematology/Oncology clinics of North Amer.* 1994, 8, N 5, 913-926.
14. Bartunkova J., Sulkova S. Influence of recombinant erythropoetin on the candidicidal activity of polymorphonuclear leukocytes in haemodialyzed patients // *Excerpta Medica.* 1996, 3, N 1, 50.
15. Caravaca F., Pizarro J. Antiplatelet therapy and development of hypertension induced by recombinant human erythropoetin in uremic patients // *Kidney International.* 1994, 45, 845-851.
16. Николаев А.Ю., Клепиков П.В., Пашутин С.В. Сравнение эффективности различных препаратов рекомбинантного эритропоетина при лечении почечной анемии // *Клин. фармакол. терап.* 1993, N 3, 30-33.

Физиологические аспекты действия эритропоетина и коррекция анемии при диабетической нефропатии (миниобзор)

Н.А. Зуева

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

Эритропоетин – гликопротеиновый гормон, который посредством стимуляции митоза и дифференцировки эритроидных предшественников стимулирует эритропоэз. Эритропоетин вырабатывается преимущественно в интерстиции внутреннего слоя коры почек под влиянием различных факторов, главным из которых является гипоксия.

В случае развития почечной недостаточности и падения выработки эритропоетина в результате различных причин, в том числе диабетической нефропатии, необходима заместительная терапия гормоном. Однако применять его при сахарном диабете следует с осторожностью, вводить только подкожно и начинать с малых доз (25-75 ЕД/кг в неделю) ввиду тяжелой сосудистой патологии и возможных осложнений самой терапии эритропоетином. В процессе терапии необходим строгий контроль за уровнями глюкозы в крови, гематокрита, гемоглобина, артериальным давлением и другими показателями крови, в том числе – биохимическими. При резистентности к эритропоетину следует найти и по возможности устранить ее причину, а затем проводить заместительную терапию.

Physiological aspects of erythropoietin action and correction of anemia in diabetic nephropathy (a minireview)

N.A. Zuyeva

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

Erythropoietin is a glycoprotein which, through stimulating mitosis and differentiating erythroid precursors, stimulates erythropoiesis. Erythropoietin is mainly produced in the interstitial tissue of the inner renal cortex under various factors, main of them being hypoxia. If renal failure progresses and erythropoietin production falls due to different causes including diabetic nephropathy, hormone substitution therapy is required. However, in diabetes it should be used with caution, i.e. subcutaneously, dose adjustments should be made as low as 25-75 u/kg per week because of severe vascular pathology and possible complications of erythropoietin therapy itself. Strict control of glycemia, hematocrit, hemoglobin, arterial tension and other blood parameters, including biochemical ones, is required during substitution treatment. In erythropoietin resistance it is necessary to find and remove its cause and then proceed with replacement therapy.

ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ МЕХАНІЗМИ ПОШКОДЖЕННЯ СУДИННОЇ СТІНКИ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ (мініюгляд)

Л.Є. Бобирєва

Українська медична стоматологічна академія, 314024 Полтава

Результати експериментальних та клінічних досліджень свідчать про підвищений рівень вільнорадикального окислення ліпідів, зменшення антиоксидантного забезпечення та зниження активності ферментативної ланки системи антиоксидантного захисту при експериментальному діабеті та у хворих на цукровий діабет з судинними порушеннями.

Застосування препаратів антиоксидантної дії у комплексній терапії цукрового діабету і його судинних ускладнень має протекторний ефект і тому є перспективним.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична ангіопатія, вільнорадикальне окислення, антиоксидант, система антиоксидантного захисту судинної стінки.

Цукровий діабет є провідною патологією в ендокринології, для якого характерні велика частота інвалідності та висока смертність. Вивчення поширення цукрового діабету в різних областях України засвідчило, що кількість хворих на цукровий діабет складає від 1,1% у західних регіонах до 1,9% - у східних і центральних [1]. Частота ураження судин (мікро-, макроангіопатія) при цукровому діабеті складає 68-91,3% [2]. Ураження периферичних судин у даних хворих спостерігається у 30 разів частіше, ніж у осіб аналогічного віку без цукрового діабету [3].

1. Вільнорадикальна патологія

Дослідження останніх років вітчизняних і зарубіжних авторів свідчать про важливу роль неферментативного вільнорадикального окислення (ВРО) ліпідів і біополімерів у патогенезі багатьох хронічних захворювань людини. Одноелектронні переноси можуть відбуватися у ферментативних та неферментативних біохімічних процесах. Ферментативні реакції характеризуються суворою структурно-просторовою організацією у клітинних органелах, а також постійною регуляцією різного рівня; можливе як інгібування, так і активізація цих процесів. Неферментативні реакції контролюються системою антиоксидантного захисту (САЗ), причому ця регуляція має односторонній характер інгібування [4].

Надлишкове неферментативне ВРО ліпідів у тканинах тваринного організму призводить до характерних змін - синдрому пероксидації (СП), який включає деструкцію мембран, інактивацію і трансформацію ферментів, порушення процесів поділу клітин і накопичення інертних продуктів полімеризації типу ліпофусцину. СП, що періодично повторюється, є патогенетичним фактором при низці хронічних захворювань, що стало приводом для виділення їх у групу вільнорадикальної патології [4].

Виділяють такі основні причини, які обумовлюють активізацію ВРО у тканинах: аліментарний дефіцит антиоксидантів (токоферолу, аскорбінової кислоти, біофлавоноїдів та ін.), стрес різного походження, надлишкове надходження калоригенних продуктів харчування, прооксидантів (пестициди, ліки-окислювачі, фотохімічні продукти смогу та ін.), фізичні агенти (радіоактивне опромінення, дія електромагнітних полів), гіпокінезія з низьким рівнем біологічного окислення, зниження активності антиоксидантних ферментів (вікове, природжене).

2. Система антиоксидантного захисту судинної стінки

Гальмування процесів аутоокислення у клітині здійснюється САЗ. Ця система включає антиоксиданти (АО), які гальмують ВРО на ініціальній стадії утворення вільних радикалів (токоферол, поліфеноли) або активних форм кисню - супер-оксиддисмутаза (СОД) в мембранах. Частки з неспареним електроном, які утворюються під час відновлення, радикали токоферолу або поліфенолів регенеруються аскорбіновою кислотою, яка міститься в гідрофільному шарі мембрани. Окислені форми аскорбату в свою чергу відновлюються тіоловими АО, що одержують атоми водню від НАДФ і НАД. Таким чином, радикальне інгібування здійснюється ланцюгом глутатіон → аскорбат → токоферол (поліфенол), який транспортує електрони (у складі атомів водню) від піридиннуклеотидів до вільних радикалів (ВР). Це гарантує стаціонарний, гранично низький рівень вільнорадикальних станів ліпідів та біополімерів у клітині. Поряд із ланцюгом АО в системі інгібування ВРО у живій клітині беруть участь ферменти, що каталізують окисно-відновні перетворення глутатіону і аскорбату, тобто глутатіонзалежні редуктази і дегідрогенази, а також ті, що розкладають перекиси, - каталаза і пероксидази.

Зрив антиоксидантного захисту характеризується розвитком вільнорадикальних пошкоджень органів і тканин. Полівалентність проявів вільнорадикальної патології в різних органах і тканинах, різна чутливість структур клітини до дії продуктів ВРО свідчать про неоднакове забезпечення органів і тканин біоантиоксидантами, очевидно, їх САЗ мають істотну різницю, тобто вони специфічні для кожного органа або тканини.

Судинна стінка (ангіопатії - найбільш часте ускладнення цукрового діабету) є найбільш уразливим об'єктом індукування ВРО ліпідів, що обумовлено високим рівнем кисню в крові і низькою його утилізацією. Існування значних, метаболічно інертних гідрофобних (еластичні волокна, мембрани міоцитів та ін.) і гідрофільних (мукополісахаридний матрикс) ділянок у судинній стінці вимагає надійних механізмів гальмування реакцій ВРО як у гідрофільних, так і гідрофобних фазах позаклітинної речовини. Наші попередні дослідження свідчать, що в судинній стінці відносно високий рівень ВРО - вищий, ніж у плазмі крові і міокарді. Результати дослідження компонентів САЗ у стінці судин показали наявність більшості антирадикальних інгібіторів і систем їх регенерації. В ній досить висока активність СОД, каталази, глутатіонпероксидази. Наявність антирадикальної ланки і системи антиоксидантних ферментів (АФ) сприяє ефективному гальмуванню процесів ВРО лише в умовах достатнього надходження екзогенних аліментарних АО. У разі токоферолової і поліантиоксидантної недостатності насамперед уражуються неклітинні структури судинної стінки: спостерігаються деструкція і фрагментація еластичних волокон, вільнорадикальна деполімеризація мукополісахаридів і поява "зшивок" колагену, обумовлених ВРО ліпідів. Ініціююче значення неферментативного аутоокислення ліпідів і біополімерів дозволяє відвести пускову роль у патогенезі СП недостатності САЗ організму.

3. Стан аутоокислення при експериментальному діабеті та у хворих з діабетичними ангіопатіями

Вільнорадикальна теорія патогенезу атеросклерозу дозволяє припустити єдність перекисних механізмів у розвитку діабетичних ангіопатій і атеросклеротичних змін у судинній стінці. Посилення ВРО ліпідів виявлене у тварин з експериментальними моделями цукрового діабету. Надлишкове утворення ВР, накопичення первинних та вторинних продуктів ВРО порушують гідрофобні зв'язки макромолекул судинної стінки, а також острівців Лангерганса [5]. При цьому спостерігається роз'єднання окислювального фосфорилування, лабілізація лізосом, що зрештою призводить до зниження синтезу проінсуліну і загибелі β-клітин. Деякі автори вка-

зують на посилення ВРО ліпідів і порушення ензимної ланки САЗ при алоксановому діабеті [5,6].

Багато дослідників механізм токсичної дії алоксану пов'язують з його пошкоджуючою дією шляхом утворення ВР. Експериментально доведено, що здатність алоксану до окисно-відновних перетворень пов'язана зі споживанням відновних еквівалентів і молекулярного кисню. Унаслідок цих перетворень алоксан, який накопичився через тропність у β -клітинах, генерує $O_2^{\cdot -}$, $\cdot OH$, H_2O_2 , що призводить до підвищення витрат відновних еквівалентів і їх виснаження. З іншого боку, утворені ВР та перекиси ініціюють розвиток ВРО з подальшим пошкодженням структур судинної стінки і β -клітин. Слід зазначити, що β -клітини мають дуже слабку антиокисну активність, що було доведено за допомогою редоксстатметрії [7]. Результати наших досліджень свідчать про підвищення інтенсивності сигналу ЕПР від ВР підшлункової залози у щурів з алоксановим діабетом. Аналіз механізмів діабетичної дії алоксану в умовах хронічної поліантиоксидантної недостатності дозволяє дійти висновку, що зниження забезпечення організму аліментарними АО посилює діабетогенний ефект алоксану [8]. Зіставлення інтенсивності сигналу ЕПР від ВР підшлункової залози у щурів з алоксановим діабетом і тварин, які попередньо утримувалися в умовах зниженого надходження аліментарних АО, засвідчує його вірогідне посилення. Вміст інтермедіантів ВРО ліпідів у стінці судин тварин з алоксановим діабетом вірогідно перевищувало величини інтактних тварин. Це дає підставу вважати, що виявлені структурні зміни в судинах обумовлені впливом надлишкового ВРО ліпідів і біополімерів. Аналогічні гуморальні та локальні зміни виявлені і при стрептозотоциновому діабеті.

Імовірний механізм впливу інтермедіантів ВРО на структури стінки судин при діабетичних ангіопатіях можна уявити таким чином: активні форми кисню (супероксиданіонрадикал, синглетний кисень) і перекиси, які утворюються під час метаболізму алоксану, а також ті, що індукуються дефіцитом екзогенних АО, впливають на судинний ендотелій, зумовлюючи його десквамацію; в утворені дефекти проникають компоненти плазми, в тому числі атерогенні фракції ЛП, одночасно ВР атакують еластичні і колагенові волокна судинної стінки, призводячи до утворення поперечних "зшивок", деструкції та фрагментації. Внаслідок впливу протеаз і лізосомальних ферментів виникають набряк (переважно в дрібних судинах) і потовщення базальної мембрани; в магістральних судинах (артерії) - інфільтрація ліпідів, осередки деструкції, у тяжких випадках з елементами кальцинозу. Посилення ВРО ліпідів сприяє розвитку гіперкоагуляції та мікроциркуляторним розладам.

Описані механізми розвитку діабетичних ангіопатій підтверджені даними вітчизняної та світової літератури. Пошкодження ендотелію переважно обумовлене $O_2^{\cdot -}$ [9]. Дефіцит АО, який спостерігається у хворих на цукровий діабет, інгібує вивільнення простагліцину і посилює утворення фактора активації тромбоцитів ендотеліальними клітинами [10]. Є дані про гальмування простагліцину під дією перекисів [11]. Доведена участь перекисів ліпідів у пошкодженні ендотеліальних клітин. К. Arfors [12] вважає, що поліморфоядерні нейтрофіли здатні генерувати супероксидний радикал, який пошкоджує ендотелій. У модельних дослідах доведено можливість вільнорадикальної деструкції еластичних волокон. При діабетичних ангіопатіях продемонстроване накопичення так званих жовтих пігментів, які є продуктами ПОЛ. Деструкція колагену може відбуватися під дією активних форм кисню, надалі цей механізм може індукувати деградацію колагену за рахунок дії протеаз і лізосомальних ферментів. Аналізуючи отримані результати, V. Monnier та співавтори [13] прямо вказують на роль неферментативних процесів у поперечному зв'язуванні колагену і появі його окислених ("потемнілих") форм при діабеті.

Клінічні спостереження підтвердили посилення ВРО ліпідів у хворих з різними формами цукрового діабету, що супроводжуються судинними ускладненнями.

Індукція аутоокислення при цукровому діабеті з судинними ускладненнями може бути обумовлена кількома причинами. Порушення функціонування антиоксидантного ферментативного захисту у хворих на цукровий діабет може грати важливу роль у його патогенезі [14]. Виявлене різке збільшення вмісту продуктів аутоокислення у хворих на цукровий діабет, яке корелює з тяжкістю судинних ускладнень. У хворих на цукровий діабет знижене забезпечення вітамінами антиоксидантної дії. Дефіцит ретинолу та каротиноїдів виявлений у 36% хворих на інсулінзалежний цукровий діабет з судинними ускладненнями [15]. Слід зазначити, що аналогічні зміни спостерігались у 74% хворих з інсуліннезалежним цукровим діабетом. Дефіцит вітаміну Е спостерігався у 54% і 67,3% хворих відповідно. Зниження забезпечення аскорбіновою кислотою спостерігалось у 71,4% хворих і мало тенденцію до збільшення з прогресуванням судинних ускладнень. Дефіцит інсуліну, який спостерігається у хворих на цукровий діабет, призводить до зниження активності пентозного циклу, який є основним джерелом відновних еквівалентів, і тим самим до зниження антирадикальної ланки САЗ. Підтверджує недостатність САЗ у хворих на цукровий діабет також зниження забезпечення організму гідрофільними (глутатіон, аскорбінова кислота) та гідрофобними (токоферол) АО. Розвиток цукрового діабету корелює з дефіцитом в організмі аскорбінової та нікотинової кислот.

Наведені літературні й власні дані, на наш погляд, переконливо підтверджують участь процесів ВРО ліпідів і біополімерів у патогенезі експериментального та клінічного цукрового діабету, що супроводжується судинними ускладненнями. Використання препаратів антиоксидантної дії при експериментальних моделях цукрового діабету має виразну протекторну дію стосовно гуморальних і локальних проявів патології [5].

Як і в експериментальних дослідженнях, використання АО у комплексній терапії цукрового діабету і його судинних ускладнень сприяло зниженню інтенсивності ВРО, підвищенню антиоксидантного забезпечення та поліпшенню загального стану хворих.

Таким чином, результати експериментальних та клінічних досліджень свідчать про підвищення рівня ВРО ліпідів, зниження антиоксидантного забезпечення та зменшення активності ферментативної ланки САЗ при діабеті. Наслідком недостатності САЗ є індукція ВРО, токсичні продукти якого здатні ушкоджувати макромолекули судинної стінки, β -клітини підшлункової залози, що призводить до зниження продукції інсуліну. Застосування препаратів антиоксидантної дії у комплексній терапії цукрового діабету та його судинних ускладнень виявляє протективний ефект.

Література

1. Паньків В.И. Эпидемиология сахарного диабета // Пробл. эндокринолог. 1995, **41**, N 3, 44-46.
2. Ефимов А.С. Диагностика и лечение диабетических ангиопатий // Лікування та діагностика. 1996, N 4, 15-18.
3. Greene D.A. Acute and chronic complications of diabetes mellitus in older patients // Amer. J. Med. 1986, **80**, N 5, 39-53.
4. Вознесенский О.Н., Бобырев В.Н. Биоантиоксиданты - облигатные факторы питания // Вопр. мед. хим. 1992, N 2, 21-25.
5. Горельшева В.А., Смирнова О.Н., Дедов И.И. Использование никотинамида при лечении инсулинзависимого сахарного диабета в дебюте заболевания // Пробл. эндокринолог. 1996, **42**, N 6, 26-30.
6. Hagglof B., Marklund S.L., Holmgren G. Cu, Zn superoxide dismutase, Mn superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in lymphocytes and erythrocytes in insulin-dependent diabetic children // Acta endocrinol. 1983, **102**, N 2, 235-239.

7. Николаева М.Я., Пархимович Р.М., Зарайский А.В. Цитотоксичность аллоксана: новый аспект проблемы // Пробл. эндокринологии. 1986, **32**, N 3, 75-80.
8. Бобырев В.Н., Почерняева В.Р., Думенко И.Л., Бобырева Л.Е. Свободнорадикальные процессы в патогенезе аллоксанового диабета // Пробл. эндокринологии. 1992, **38**, N 8, 55-57.
9. Gryglewski R.J. The role of oxygen free radicals in the destruction of endothelium derived relaxing factor (EDRF) // Agents and Actions. 1987, **22**, N 3-4, 351-352.
10. Шестакова С.А., Степанян М.А., Титова В.А., Байкова Н.Б. Роль тромбоцитарно-сосудистого звена гемостаза в формировании диабетической микроангиопатии у крыс // Патологическая физиология органов и систем. Типовые патологические процессы (экспериментальный и клинический аспекты): Тез. докл. I Рос. конгр. патофизиол. (Москва, 17-19 окт. 1996 г.). М., 1996, с.183.
11. Tokoro K. Cerebral vasospasm and lipoperoxide damage: Morphological localization and measurement of lipoperoxide in prolonged cerebral vasospasm // Neurol. Surg. 1984, **12**, N 9, p.1049.
12. Arfors K.E. Free radicals in microcirculation // J. Cell. Biochem. 1988, suppl. **12A**, p.32.
13. Monnier V., Sell D.R., Abdul-Karim F.W., Emancipator S.N. Collagen browning and cross-linking are increased in chronic experimental hyperglycemia. Relevance to diabetes and aging // Diabetes. 1988, **37**, N 7, 867-872.
14. Лебедева Е.А. Антиокислительные системы плазмы крови в патогенезе диабетических микроангиопатий // Пробл. эндокринологии. 1996, **42**, N 5, 10-12.
15. Зелинский Б.А., Зелинский С.Ц. Витаминный обмен при основных эндокринопатиях // Современные проблемы экспериментальной и клинической эндокринологии: Тез. докл. 4 съезда эндокринологии. УССР (Львов, 29 сент.-1 окт. 1987 г.). К., 1987, 149-150.

Свободнорадикальные механизмы повреждения сосудистой стенки при сахарном диабете (миниобзор)

Л.Е.Бобырева

Украинская медицинская стоматологическая академия, 314024 Полтава

Результаты экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о повышении уровня свободнорадикального окисления липидов, снижении антиоксидантной обеспеченности и падении активности ферментативного звена системы антиоксидантной защиты при экспериментальном диабете и у больных сахарным диабетом с сосудистыми осложнениями. Применение препаратов антиоксидантного действия в комплексной терапии сахарного диабета и его сосудистых осложнений оказывает протекторный эффект и поэтому является перспективным.

Free radical mechanisms of the vascular wall damage in diabetes mellitus (minireview)

L.E. Bobyreva

Ukrainian Medical Stomatological Academy, 314024 Poltava, Ukraine

The results of experimental and clinical research demonstrate the increasing high level of free radical oxidation of lipids, lowering of antioxidative protection and fall of enzymatic antioxidative activity in experimental diabetes and in diabetic patients with angiopathies. Use of antioxidants in complex therapy of diabetes mellitus and its vascular complications provides protective effect and is therefore promising.

Короткі повідомлення

УДК 612.452.018:612.453:616-092.19]-092.9

**ТРИВАЛІ ЗМІНИ СТРЕСРЕАКТИВНОСТІ
КАТЕХОЛАМІНОВОЇ СИСТЕМИ
ГІПОТАЛАМУСА І КОРИ НАДНИРКОВИХ
ЗАЛОЗ У ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕСОВАНИХ
САМОК ЩУРІВ**

Н.Д.Носенко

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

Стресові впливи, що їх зазнають вагітні самки щурів, призводять до тривалих порушень нейроендокринної регуляції адаптаційних процесів, насамперед, стресреактивності гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи (ГГНС) у дорослих нащадків [1-3]. Важливим чинником для визначення подальшої реактивності ГГНС є загальний баланс гормонів надниркових залоз у вагітних тварин [4]. Пренатальне підвищення рівня кортикостероїдів у крові плода внаслідок стресу або порушення глюкокортикоїдного балансу у вагітних тварин [5] необоротно модифікує активність ключового ферменту синтезу катехоламінів (КА) тирозингідроксилази, що поряд із зниженням чутливості норадренергічної системи гіпоталамуса лежить в основі змін стресреактивності ГГНС у дорослих нащадків самців [2, 6-9]. Відомо, що нейроендокринна реакція на стресові стимули має статеві відмінності, що асоційовані з наявністю секспецифічних статевих гормонів [10-12]. Проте питання про вплив стресу матері на формування стресової реакції ГГНС у нащадків жіночої статі залишається нез'ясованим.

Метою досліджень було вивчення вікової зміни стресреактивності ГГНС у самок щурів, що були піддані пренатальним стресовим діям.

За модель пренатального стресу правила щодобова, протягом 1 год, іммобілізація вагітних щурів з 15-ї по 21-шу добу вагітності. Контрольні групи склалися з потомків нестресованих тварин. Стресреактивність ГГНС вивчали у інтактних і пренатально стресованих самок у стадії дієт-рису віком 3 та 20 міс, що зазнали одногодинного іммобілізаційного стресу. Тварини були декапітовані відразу після закінчення дії стресу. У гіпоталамусі визначали вміст норадреналіну (НА) і дофаміну (ДА) [13], у плазмі крові - рівень кортикостерону (КС) [14]. Для статистичної обробки даних використовували t-критерій Стьюдента і U-критерій Вілкоксона-Манна-Уїтні.

Результати досліджень продемонстрували вікові зміни базального рівня КА у гіпоталамусі як інтактних, так і пренатально стресованих самок щурів (таблиця). У старих щурів гіпоталамічні концентрації НА і ДА були значно нижчими, ніж у статевозрілих тварин. Спостережувані вікові зміни базальних рівнів гіпоталамічних моноамінів можуть бути спричинені функціональним дефіцитом катехоламінів, що виникає у період старіння

Вміст катехоламінів у гіпоталамусі та рівень кортикостерону в плазмі крові пренатально стресованих статевозрілих і старих самок щурів, підданих гострому стресу (M ± m, n = 6)

Група тварин	Катехоламіни, нмоль/г тканини		Кортикостерон, нмоль/л
	Норадреналін	Дофамін	
<i>Статевозрілі (3 міс)</i>			
Інтактні	8,13 ± 1,04	5,04 ± 0,46	1358,5 ± 302,3
Інтактні+гострий стрес	6,05 ± 0,35*	4,60 ± 0,64	2437,1 ± 278,3*
Пренатально стресовані	8,41 ± 0,41	5,16 ± 0,50	1879,9 ± 321,9
Пренатально стресовані+гострий стрес	6,04 ± 0,34**	4,16 ± 0,52	3260,5 ± 271,4 **
<i>Старі (20 міс)</i>			
Інтактні	4,28 ± 0,70	3,67 ± 0,48	1336,6 ± 302,9
Інтактні+гострий стрес	3,02 ± 0,11	2,70 ± 0,23	2557,6 ± 259,2*
Пренатально стресовані	3,47 ± 0,24	3,27 ± 0,19	1390,7 ± 155,5
Пренатально стресовані+гострий стрес	3,29 ± 0,29	3,20 ± 0,31	2343,8 ± 252,3**

*P < 0,05 в порівнянні з показниками інтактних тварин: **P < 0,05 у порівнянні з показниками пренатально стресованих тварин

[15, 16]. Пренатальний стрес не впливав на вміст КА у гіпоталамусі щурів різних вікових груп, проте дещо підвищував базальний рівень КС у плазмі крові статевозрілих тварин.

Застосування гострого іммобілізаційного стресу, спрямоване на виявлення резервних можливостей ГГНС, дозволило встановити типову стресову реакцію центральної катехоламінової системи у статевозрілих інтактних і пренатально стресованих щурів, що виявилась у зменшенні вмісту НА у гіпоталамусі відповідно на 26% і 28% порівняно з ідентичними показниками групи тварин, не підданих гострому стресу. Цілком імовірно, що спостережуване зниження гіпоталамічного рівня НА у статевозрілих щурів може бути спричинено перевагою процесів виділення моноаміну над синтезом під час стресу [15]. Стресреактивність надниркової ланки ГГНС у пренатально стресованих самок статевозрілого віку виявилась підвищеною порівняно з такою інтактних тварин. Однак амплітуда стрес-індукованого підйому рівня КС у плазмі крові інтактних і пренатально стресованих щурів була майже однаковою.

На відміну від статевозрілих тварин, у старих самок відзначено зниження адаптивних можливостей центральних ланок регуляції функції надниркових залоз. Старі тварини, як інтактні, так і пренатально стресовані, не реагували на гострий стрес зменшенням вмісту НА у гіпоталамусі. Відсутність стресових змін гіпоталамічного рівня моноаміну і пов'язане з цим його накопичення свідчать про зниження активізації центральної катехоламінової системи у старих самок [15], що може розглядатися як захисна реакція від виснаження нервових клітин головного мозку при стресі [17]. Разом із тим, у період старіння у самок щурів зберігалась чутливість адренортикальної системи до стресових стимулів. Проте зростання рівня

КС у плазмі крові після гострого стресу у старих пренатально стресованих самок було помітно меншим, ніж у статевозрілих пренатально стресованих тварин. Порівняння одержаних даних з результатами попередніх досліджень щодо відсутності кортикостероїдної відповіді на гострий стрес у старих самців [2, 3] свідчить про більш пізнє згасання периферичних адаптивних механізмів у самок щурів і дає підставу висловити припущення про те, що ефекти пренатального стресу на гормональну адаптацію ГНС у щурів реалізуються різними секспецифічними механізмами [10].

Наведені факти дозволяють дійти висновку, що стрес матері в останній тиждень вагітності не впливає на характер вікової зміни стресреактивності катехоламінової системи гіпоталамуса, але підсилює стресову реакцію кори надниркових залоз у статевозрілих самок щурів.

Література

1. Takahashi L.k., Cai N., Turner J.G., Kalin N. Temporal characteristics of stress-induced secretion of pituitary-adrenal hormone and brain catecholamines in prenatally stressed male rat pups // Soc. Neurosci. Abstr. 1990, 16, 272.
2. Reznikov A.G., Nosenko N.D. Catecholamines in steroid-dependent brain development // J. Steroid Biochem. 1995, 53, 349-353.
3. Резніков О.Г., Носенко Н.Д., Тарасенко Л.В. та ін. Патофізіологічні механізми порушень регуляції репродукції та адаптації внаслідок пренатального стресу // Ендокринологія. 1996. 1, N 1, 14-24.
4. Naumenko E.V., Dygalo N.N. Role of maternal corticosteroids and epinephrine changes during pregnancy in alteration of pituitary-adrenal reactivity of adult offspring. Stress: The Role of Catecholamines and Other Neurotransmitters. NY: Gordon and Breach Sci. Publ. 1984, 839-847.
5. Ward I.L., Weisz J. Differential effects of maternal stress on circulating levels of corticosterone, progesterone, and testosterone in male and female rat fetuses and their mothers // Endocrinology. 1984, 114, 1635-1643.
6. Науменко Е.В., Дыгало Н.Н., Кудрявцева Н. Н. Норadreналиновые механизмы головного мозга взрослых крыс после воздействия гидрокортизоном в пренатальный период // Докл. АН СССР. 1979, 248, N 4, 1004-1006.
7. Дыгало Н.Н., Науменко Е.В. Роль глюкокортикоидов матери во время беременности в определении реакции гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы взрослого потомства при эмоциональном стрессе // Докл. АН СССР. 1982, 271, N 4, 1003-1006.
8. Takahashi L.K., Turner J., Kalin N. Prenatal stress alters brain catecholaminergic activity and potentiates stress-induced behaviour in adult rats // Brain Res. 1992, 574, 131-137.
9. Fameli M., Kitraki E., Stylianopoulon F. Effects of hyperactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during pregnancy on the development and brain monoamines of the offspring // Int. J. Dev. Neurosci. 1994, 12, 651-659.
10. McCormick C.M., Smythe J.W., Sharma S., Meaney M.J. Sex-specific effects of prenatal stress on hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress and brain glucocorticoid receptor density in adult rats // Develop. Brain Res. 1995, 84, 55-61. Patchev V.K., Hayashi S., Orikasa S., Almeida O.F. Implications of estrogen-dependent brain organization for gender differences in hypothalamo-pituitary-adrenal regulation // FASEB. 1995, 9, 419-423.
11. Handa R.J., Burgess L.H., Kerr J.E., Okeefe J.A. Gonadal steroid hormone receptors and sex differences in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis // Hormones & Behav. 1994, 28, 464-476.
12. Jacobowitz D., Richardson J. Method for the determination of norepinephrine, dopamine and serotonin in the same brain regions // Pharmac. Biochem. Behav. 1978, 8, 515-519.
13. De Moor P., Steeno O., Raskin M., Hendrix A. Fluorimetric determination of the plasma 11-hydroxycorticosteroids in man // Acta Endocrinol. 1960, 33, 297-307.
14. 15. Rodriguezgomez J.A., Delarozza C., Machado A., Cano J. The effect of age on the monoamines of the hypothalamus // Mechanisms of Ageing and Development. 1995, 77, 185-195.

15. Cizza G., Pacak K., Kvetnansky R. et al. Decreased stress responsivity of central and peripheral catecholaminergic systems in aged 344 IN Fischer rats// J. Clin. Invest. 1995, 95, 1217-1224.
16. Харази Л.И. Моноамини гипоталамуса при стрессе в старости. Автореферат дис. канд. мед. наук. К., 1991.

УДК 612.453: 612.433.664: [612.453: 611.018.72]

ТРОФІЧНИЙ ЕФЕКТ ПРОЛАКТИНУ В ПЕРВИННІЙ КУЛЬТУРІ АДРЕНОКОРТИКАЛЬНИХ КЛІТИН

Ю.Ю. Саутін

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

Кількість факторів, причетних до регуляції функції аденокортикальних клітин - стероїдогенезу, чи їх проліферації щороку зростає [1, 2]. АКТГ та ангіотензин II вже давно втратили роль єдиних провідників регуляторної інформації до аденокортикоцитів, а серед нових факторів вивчають не тільки гормони, а й ростові фактори, нейротрансмітери, імуномодулятори. Дія більшості з них має два компоненти - стероїдогенний та ростовий у тій чи іншій пропорції.

Важлива регуляторна функція притаманна пролактину (ПРЛ). Залежно від виду, фізіологічних умов та схеми експерименту ПРЛ здатен викликати стимуляцію кортикостероїдогенезу або принаймні потенціювати ефект АКТГ [3 - 6], а також спричиняти помітні зміни у трофічних процесах. За дії гормону спостерігали посилення синтезу ДНК [6] та морфофункціональні зміни у субклітинних органелах аденокортикоцитів [7, 8], а зрештою - й збільшення маси надниркових залоз [5, 9]

Дане питання вивчали переважно з використанням моделей *in vivo*. Поодинокі дослідження ефектів ПРЛ в аденокортикальних клітинах *in vitro* були зосереджені на вивченні змін секреції кортикостероїдів [10, 11].

Метою цієї роботи було дослідити в експериментах *in vitro* на культурі клітин надниркових залоз не тільки їх функціональну відповідь на ПРЛ, а й зміну трофічних процесів, а саме - здатності включати у ДНК мічений тимідин.

Для одержання первинних культур використовували надниркові залози новонароджених поросят. Суспензію клітин, одержаних диспергуванням тканини колагеназою, висівали в пробірки по $\approx 1 \times 10^6$ клітин та культивували в середовищі 199, яке містило 10% сироватки великої рогатої худоби при температурі 37 °С. Всі експерименти починали на 3-тю добу культивування клітин. Функціональний стан клітин оцінювали за здатністю секретувати кортикостероїди та відповідати на АКТГ. Утворення кортикостероїдів контролювали, вимірюючи вміст 11-ОКС¹ у культуральному середовищі флуорометричним методом. [³H]-тимідин ("Ізотоп", Росія; 1 мккюри/мл) додавали в живильне середовище на 4 останніх години

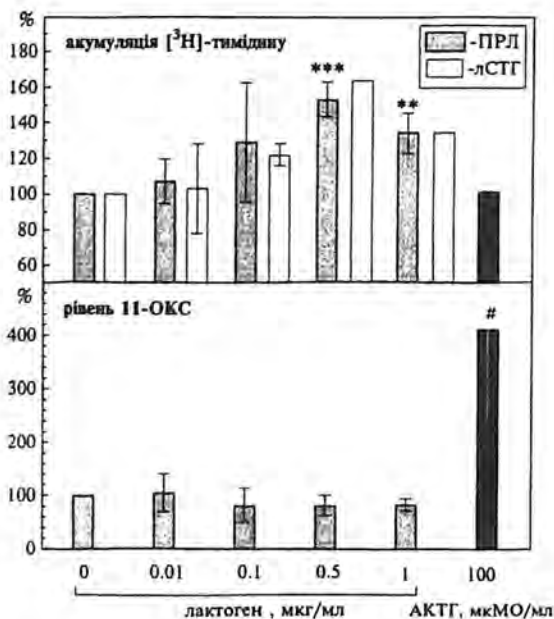
¹ - Автор висловлює щире подяку канд. біол. наук. І.С. Челнаковій за допомогу у флуорометричному визначенні 11-ОКС.

інкубації. Клітини переводили з моношару у суспензію за допомогою розчину версену. Нуклеїнові кислоти осаджували охолодженою трихлороцтовою кислотою (ТХО, кінцева концентрація 5%) з аліквот гомогенату. Осад промивали на фільтрах GF/C ("Whatman") 5% розчином ТХО (15 - 20 мл, 3 - 4 рази) та етанолом (8 - 10 мл, 3 рази). Радіоактивність фільтрів вимірювали на рідинно-сцинтиляційному лічильнику Beckman LS5000. Радіоактивність ДНК розраховували на вміст клітинного білка [12]. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою непараметричного критерію U Вілкоксона - Мана - Уїтні та t-критерію Стьюдента, а також однофакторного дисперсійного аналізу.

Базальний рівень включення [³H]-тимідину в ДНК варіював у різних культурах від ≈ 1000 до 40000 розп/хв на 100 мкг білка, а концентрація 11-ОКС в культуральному середовищі в кінці експерименту коливалася в межах 30 - 200 мкг/л, а за умов стимуляції АКТГ - 200 - 600 мкг/л.

ПРЛ в концентраціях 10 - 1000 нг/мл був присутній в середовищі протягом трьох діб і за таких умов посилював інкорпорування [³H]-тимідину в ДНК (мал.). Дозозалежне прискорення включення [³H]-тимідину під впливом гормону при концентрації 500 нг/мл стає достовірним. Ніяких змін секреції кортикостероїдів при цьому не спостерігалось (мал.).

Для того, щоб верифікувати, що дія ПРЛ на трофічні процеси в адренокортикоцитах є специфічним ефектом ПРЛ, тобто здійснюється через рецептори ПРЛ, ми в таких самих культурах дослідили вплив на включен-



Ефект ПРЛ, ЛСТГ та АКТГ на включення [³H]-тимідину в ДНК та продукування 11-ОКС культурою кори надниркових залоз новонароджених поросят.

У первинну культуру клітин кори надниркових залоз на 3-тю добу вносили різні концентрації ПРЛ або ЛСТГ, а також АКТГ, в присутності яких клітини культивувалися ще 3 доби. Наведено результати дослідження 8 незалежних культур для ПРЛ, 2 культур для ЛСТГ та 3 культур для АКТГ (в 3 - 4 повторностях кожна). Дані наведено у відсотках по відношенню до контролю.

** , *** - P<0,01 та P<0,001 по відношенню до контролю (N = 8, t-тест); # - P<0,05 (U-тест)

ня [^3H]-тимідину соматотропіну людини, який, як відомо, у всіх інших ссавців є специфічним агоністом рецепторів ПРЛ. Як помітно, ефект СТГ людини ($P < 0,06$ за даними однофакторного дисперсійного аналізу) був дуже подібним до ефекту ПРЛ великої рогатої худоби. Отже, можна вважати, що стимуляція біосинтезу ДНК в адренкортикальних клітинах є специфічною для ПРЛ, або іншими словами - спричинюється через активацію лактогенних рецепторів.

У тих же самих культурах для контролю ми перевірили вплив АКТГ. У даній системі АКТГ не викликав змін біосинтезу ДНК, і при цьому, як і слід було очікувати, стимулював секрецію кортикостероїдів (мал.).

Отже, отримані результати свідчать про те, що в первинній культурі адренкортикальних клітин ПРЛ спричинює активацію трофічних процесів, що проявляється як посилення біосинтезу ДНК без помітного впливу на кортикостероїдогенез. АКТГ чинить альтернативну дію - стимулює секрецію кортикостероїдів та не впливає на синтез ДНК. Здатність ПРЛ до безпосереднього впливу на біосинтез ДНК створює основу його проліферативного [5, 6, 9], зокрема мітогенного [13], ефекту на кору надниркових залоз, що не раз спостерігався в експериментах *in vivo*.

Література

1. Vinson G.P., Whitehouse B., Hinson J. The adrenal cortex. New Jersey: Prentice Hall, 1992. 316 p.
2. Toth I.E., Hinson J.P. Neuropeptides in the adrenal gland: distribution, localization of receptors, and effects on steroid hormone synthesis // *Endocr. Res.* 1995, **21**, N 1-2, 39-51.
3. Colby H.D. Mechanism of action of prolactin on adrenocortical steroid secretion in hypophysectomized female rats // *Endocrinology.* 1979, **104**, N 5, 1299-1303.
4. Ogle T.F., Kitay J.I. Interaction of prolactin and adrenocorticotropin in the regulation of adrenocortical secretions in female rats // *Endocrinology.* 1979, **104**, N 1, 40-44.
5. Albertson B.D., Sienkiewicz M.L., Kimball D. et al. New evidence for a direct effect of prolactin on rat adrenal steroidogenesis // *Endocr. Res.* 1987, **13**, N 3, 317-333.
6. Sautin Yu.Yu., Chelnakova I.S., Tronko N.D., Mikosha A.S. Trophic effect and modulation of ACTH-dependent stimulation of steroidogenesis by prolactin in guinea pig adrenal cortex // *Endocr. Regul.* 1992, **26**, 35-39.
7. Robba C., Rebuffat P., Mazzocchi G., Nussdorfer G.G. Opposed effects of chronic prolactin administration on the zona fasciculata and zona reticularis of the rat adrenal cortex: an ultrastructural stereological study // *J. Submicrosc. Cytol.* 1985, **17**, N 2, 255-261.
8. Mazzocchi G., Robba C., Rebuffat P., Nussdorfer G.G. Effects of prolactin administration on the zona glomerulosa of the rat adrenal cortex: stereology and plasma hormone concentrations // *Acta Endocrinol.* 1986, **111**, N 1, 101-105.
9. Villanua M.A., Agrasal C., Esquifino A.I. Time-dependent effects of increased serum prolactin levels on corticosterone synthesis and secretion in male rats // *Endocr. Res.* 1990, **16**, N 2, 241-254.
10. Eldridge J.C., Lyman grover J.R. Prolactin stimulates and potentiates adrenal steroid secretion *in vitro* // *Horm. Res.* 1984, **20**, 252-260.
11. O'Connell Y., McKenna T.J., Cunningham S.K. The effect of prolactin, human chorionic gonadotropin, insulin and insulin-like growth factor-1 on adrenal steroidogenesis in isolated guinea-pig adrenal cells // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 1994, **48**, N 2-3, 235-240.
12. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* 1976, **72**, 248-254.
13. Lewinski A., Sewerynek E., Webb S. et al. Stimulatory effect of prolactin on the mitotic activity of the adrenal cortex in snell mice with hereditary dwarfism // *Res. Exp. Med.* 1988, **188**, 87-94.