

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ ДУ "ІНСТИТУТ ЕНДОКРИНОЛОГІЇ ТА ОБМІНУ РЕЧОВИН ім. В.П. Комісаренка НАМН УКРАЇНИ"

ISSN 1680-1466

eISSN 2524-0439

Індекс 74172

Ендокринологія

E N D O K R Y N O L O G I A



TOM 29
№2
2024

МАЛЕНЬКИЙ КРОК ДЛЯ ВАС, ВЕЛИКИЙ — ДЛЯ ВАШИХ ПАЦІЄНТІВ

Tiogama®. Піклується про нерви, пошкоджені діабетом¹
Оптимальна доза альфа-ліпоєвої кислоти, що забезпечує патогенетичне лікування сенсорних порушень при діабетичній полінейропатії¹



Скорочена інформація про лікарський засіб ТІОГАМА®. Реєстраційне посвідчення № UA/1523/02/01. **Фармакотерапевтична група.** Засоби, що впливають на травну систему і метаболічні процеси. Кислота тиоктова. Код АТХ A16A X01. **Діюча речовина:** α -ліпоєва кислота; склад: 1 таблетка містить α -ліпоєвої кислоти 600 мг. **Лікарська форма.** Таблеток, покритих плівковою оболонкою. **Фармакологічні властивості.** Після перорального прийому α -ліпоєва кислота швидко і майже повністю абсорбується з травного тракту. Виводиться нирками, переважно у вигляді метаболітів. Утворення метаболітів відбувається внаслідок окиснення бічного ланцюга та кон'югування. Період напіввиведення Tiogami® з сироватки крові становить 10-20 хв. **Показання.** Профілактика і лікування діабетичної полінейропатії. **Спосіб застосування та дози.** Препарат призначають дорослим. Таблетки приймають перорально, ковтаючи цілими та запиваючи достатньою кількістю води. Добова доза — 1 таблетка Tiogami® (що відповідає 600 мг α -ліпоєвої кислоти), яку потрібно приймати як разову дозу приблизно за 30 хв до першого прийому їжі. Тривалість лікування 1-4 місяці. У випадках тяжких проявів захворювання лікування бажано розпочинати з парентерального введення Tiogami® Turbo для інфузії. Надати слід продовжити прийом Tiogami® у таблетках у дозі 600 мг на добу. Одночасний прийом їжі може перешкодити всмоктуванню препарату. Діти. Ефективність та безпека застосування препарату дітям не встановлені, тому його не слід призначати цій віковій категорії пацієнтів. **Протипоказання.** Підвищена чутливість до α -ліпоєвої кислоти або до інших компонентів препарату. Не має клінічного досвіду застосування лікарського засобу дітям та підліткам. **Побічні реакції.** З боку нервової системи: дуже рідко: зміна або порушення смакових відчуттів. З боку травного тракту: дуже рідко: нудота, блювання, біль у животі та гастроінтестинальний біль, діарея. Метаболічні порушення: оскільки поліпшується утилізація глюкози, зменшується рівень цукру в крові. Були повідомлення про випадки гіпоглікемічних станів, а саме: запаморочення, підвищене потовиділення, головний біль та порушення зору. З боку дихальної системи: дуже рідко: алергічні реакції, у тому числі швидкі википання, кропив'янка (уртикарні висипання), свербіж, утруднене дихання. Частота невідома: аутоімунний неїдиційний синдром. **Категорія відпуску.** За рецептом. Інформація про лікарський засіб. Інформація для використання у професійній діяльності медичними і фармацевтичними працівниками. Лікарський засіб має побічні ефекти та протипоказання. **Скорочена інформація про лікарський засіб ТІОГАМА® Turbo.** Реєстраційне посвідчення № UA/1555/01/01. **Фармакотерапевтична група.** Засоби, що впливають на травну систему і метаболічні процеси. Код АТХ A16A X01. **Діюча речовина:** α -ліпоєва кислота; склад: 50 мл розчину містить 1,2% метітоліну олії α -ліпоєвої кислоти 1167,7 мг (що відповідає 600 мг α -ліпоєвої кислоти). **Лікарська форма.** Розчин для інфузії. **Фармакологічні властивості.** α -ліпоєва кислота зазнає значних змін при первинному проходженні через печінку. Спостерігаються значні міжіндивідуальні коливання у системній доступності α -ліпоєвої кислоти. Виводиться нирками переважно у вигляді метаболітів. Утворення метаболітів відбувається у результаті окиснення бікового ланцюга та кон'югації. Період напіввиведення Tiogami® Turbo із сироватки крові становить 10-20 хвилин. **Показання.** Порушення чутливості при діабетичній полінейропатії. **Спосіб застосування та дози.** Препарат вводять безпосередньо з флакона (тобто без розчинника) у вигляді внутрішньовенної краплинної інфузії дорослим у дозі 600 мг на добу (вміст 1 флакона) протягом щонайменше 30 хв. У зв'язку з тим, що α -ліпоєва кислота чутлива до дії світла, флакони слід зберігати у картонній упаковці до безпосереднього їх застосування. На початку курсу лікування препарат Tiogami® Turbo вводять внутрішньовенно. Курс лікування — 2-4 тижні. Для подальшої терапії використовувати пероральні форми препаратів тиоктової кислоти у дозі 300-600 мг на добу. **Протипоказання.** Підвищена чутливість до α -ліпоєвої кислоти або до інших компонентів препарату. **Категорія відпуску.** За рецептом. Інформація про лікарський засіб. Інформація для використання у професійній діяльності медичними і фармацевтичними працівниками. Лікарський засіб має побічні ефекти та протипоказання.

1. M. Reljanovic et al.: Treatment of diabetic polyneuropathy with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid): A two-year multicenter randomized double-blind placebo-controlled trial (ALADIN II). Free Rad. Res. 31, 171-179, 1999. Ziegler D, Amstov A, Barinov A, Dyck PJ, Gurieva I, Low PA, Munzel U, Yaksho N, Raz I, Novosadova M, Maus J, Samigullin R. Oral Treatment With α -Lipoic Acid Improves Symptomatic Diabetic Polyneuropathy: The SYDNEY 2 trial. Diabetes Care. 2006 Nov; 29(11): 2365-2370.

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Ендокринологія

ENDOKRYNOLOGIA

УДК 612.43/.45:616.43/.45-06-08-084-089.87:616.379-008.64-036.22-053.2.7:312.2:002

2024

TOM 29, № 2

VOLUME 29, No. 2

Науково-практичний медичний журнал
Scientific medical journal

Заснований у квітні 1996 р.
Founded in April 1996

Виходить 4 рази на рік
Frequency — 4 times a year

Scopus

Google
Scholar



OAJI
.net

Open Academic
Journals Index

ICJ JOURNALS
MASTER LIST

Загальнодержавна реферативна база даних «Україніка наукова»

УРЖ «Джерело»

Київ
Kyiv

Ендокринологія

2024 Том 29, №2

DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2

Засновник: Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка Національної академії медичних наук України»

Свідоцтво про державну реєстрацію KB № 14099-3070 ПР від 17.06.2008

Наказом Міністерства освіти і науки України від 02.07.2020 р. № 886 журнал внесено до Переліку наукових фахових видань України (медичні науки)

Наказом Міністерства освіти і науки України від 24.09.2020 р. № 1188 журнал внесено до Переліку наукових фахових видань України (біологічні науки)

Наказом Міністерства освіти і науки України від 20.12.2023 р. № 1543 журнал включено до категорії «А» Переліку наукових фахових видань України за медичними (222) і біологічними (091) спеціальностями.

Рішенням Національної ради України з питань телебачення і радіомовлення від 25.04.2024 р. № 1391 журнал зареєстрований як суб'єкт у сфері друкованих медіа

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

ТРОНЬКО М.Д. [головний редактор]
 ОРЛЕНКО В.Л., СОКОЛОВА Л.К. [заступники головного редактора з клінічної ендокринології]
 КОВЗУН О.І. [заступник головного редактора з експериментальної ендокринології]
 ПАСТЕР І.П. [відповідальний редактор]
 Богданова Т.І., Болгов М.Ю., Большова О.В., Власенко М.В., Гуда Б.Б., Зінич О.В., Караченцев Ю.І., Кравченко В.І., Лучицький Є.В., Місюра К.В., Попова В.В., Пушкарьов В.М., Резніков О.Г., Скрипник Н.В., Спринчук Н.А., Товкай О.А., Урбанович А.М., Халангот М.Д., Dagogo-Jack S. (Сполучені Штати Америки), Yamashita S. (Японія)

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»,
 вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна
 тел.: (044) 430-36-94, факс: (044) 428-19-96
 E-mail: endokrynologia.journal@gmail.com

Повнотекстову версію журналу представлено на сайті
<http://www.endokrynologia.com.ua> eISSN 2524-0439

Електронні копії опублікованих статей передаються до Національної бібліотеки ім. В.В. Вернадського для вільного доступу в режимі on-line

Затверджено до друку Вченою радою Державної установи «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка Національної академії медичних наук України» від 24.06.2024 (протокол №7)

Редакція не завжди поділяє думки авторів статей. Відповідальність за достовірність, добір та викладення фактів у статтях несуть автори.

Правову відповідальність за розміщення, зміст, достовірність та графічне відтворення рекламно-інформаційних матеріалів про лікарські засоби чи пристрої несе виробник, дистриб'ютор або інша структура, яка надала відповідні матеріали. Передрук та інше відтворення в будь-якій формі в цілому або частково статей, ілюстрацій та інших матеріалів дозволено тільки згідно з попередньою письмовою згодою редакції та з обов'язковим посиланням на джерело. Усі права захищено.

Видавець: ТОВ «Видавничий дім Медкнига», www.medknyha.com.ua
 Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи в державний реєстр видавців видавничої продукції DK № 5123 від 10.06.2016
 Керівник проекту — О.П. Влас, тел. (066) 785-11-56
 Відділ маркетингу — Т.Г. Овчаренко, тел. (066) 753-81-78, (067) 847-85-05
 Адреса: вул. Кирилівська, 160, м. Київ, 04124, Україна
 Тел.: (044) 587-81-07

Підписано до друку 24.06.2024 р. Наклад 4000 прим.
 Обсяг до 12 ум. др. арк., 24 обл.-вид. арк. Зам. № 199

© ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», 2024

© ТОВ «Видавничий дім Медкнига», 2024

ENDOKRYNOLOGIA

2024 Volume 29, No.2

DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2

Founder: State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»
 Registration Certificate KB № 14099-3070 PIP from 17.06.2008

According to the Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine dated 02.07.2020 N 886, the journal is entered into the List of specific scientific publications of Ukraine (medical sciences).

According to the Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine dated 24.09.2020 N 1188, the journal is entered into the List of specific scientific publications of Ukraine (biological sciences)

According to the Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine dated 20.12.2023 N 1543, the journal is included in category «A» of the List of specific scientific publications of Ukraine by medical (222) and biological (091) specialties.

According to the Decision of the National Council of Ukraine on Television and Radio Broadcasting dated 25.04.2024 N 1391, the journal is registered as a subject in the field of print media

EDITORIAL BOARD:

TRONKO M.D. [editor-in-chief]
 ORLENKO V.L., SOKOLOVA L.K. [deputy editors of the clinical endocrinology]
 KOVZUN O.I. [deputy editor of the experimental endocrinology]
 PASTEUR I.P. [executive editor]
 Bogdanova T.I., Bolgov M.Yu., Bolshova O.V., Guda B.B., Karachentsev Yu.I., Khalangot M.D., Kravchenko V.I., Luchytskyi Ye.V., Misiura K.V., Popova V.V., Pushkarev V.M., Reznikov O.G., Skrypnik N.V., Sprynchuk N.A., Tovkai O.A., Urbanovych A.M., Vlasenko M.V., Zynych O.V., Dagogo-Jack S. (United States of America), Yamashita S. (Japan)

EDITORIAL ADDRESS:

SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»,
 Vyshgorodska str., 69, Kyiv, 04114, Ukraine
 Tel.: +380 (44) 430-36-94, fax: +380 (44) 428-19-96
 E-mail: endokrynologia.journal@gmail.com

Full text of the journal presented on <http://www.endokrynologia.com.ua> eISSN 2524-0439

Electronic copies of the published articles are transmitted to the Vernadsky National Library of Ukraine for free access via Internet.

Approved for publication on the resolution of Scientific Council of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» (24 June, 2024, Protocol N 7)

The editorial board is not always shares the author's opinion. The authors are responsible for the significance of the facts, proper names and other information used in the articles. The manufacturer, distributor or other organization provided the relevant materials have legal responsibility for the publication, content, significance and graphic reproduction of advertising materials about drugs or devices.

No part of this publication, pictures or other materials may be reproduced or transmitted in any form or by any means without permission in writing form with reference to the original. All rights reserved.

Publisher: «Publishing house MEDKNYHA» LLC, www.medknyha.com.ua
 Publishing entity certificate DK № 5123 dated 10.06.2016
 Project Manager — O.P. Vlas, tel. +38 (066) 785-11-56
 Marketing Department — T.G. Ovcharenko, tel. +380 (66) 753-81-78, +380 (67) 847-85-05
 Address: Kyryliv'ska str., 160, Kyiv, 04124, Ukraine
 Tel.: +380 (44) 587-81-07

For printing on 24.06.2024. Circulation 4000 copies.

Printer's sheet to 12, standard publisher's signature. Order № 199

© SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 2024

© «Publishing house MEDKNYHA» LLC, 2024

АЙЛАР®

ІНСУЛІН ГЛАРГІН

КОНТРОЛЬ ГЛІКЕМІЇ ЗА СУЧАСНИМИ БІОТЕХНОЛОГІЯМИ



- ✓ біосиміляр оригінального лікарського засобу¹
- ✓ використовується в схемах інсулінотерапії для лікування ЦД у дорослих, підлітків та дітей віком від 2 років²
- ✓ 5 років застосування на фармацевтичному ринку України³

Витяг з інструкції для медичного застосування лікарського засобу Айлар® (Ilgar®):

Склад: діюча речовина: інсулін гларгін. Лікарська форма: Розчин для ін'єкцій. **Фармакотерапевтична група.** Інсуліни та аналоги тривалої дії для ін'єкцій. Код АТХ А10А Е04. **Показання.** Лікування цукрового діабету у дорослих, підлітків та дітей віком від 2 років. **Протипоказання.** Підвищена чутливість до діючої речовини або до будь-якої допоміжної речовини, що входить до складу лікарського засобу. **Застосування у період вагітності та годування груддю.** Препарат Айлар® можна призначати під час вагітності, якщо у цьому є потреба. Жодних метаболічних ефектів, спричинених проникненням інсуліну гларгіну в організм новонародженого/немовля із грудним молоком, не очікується. **Діти.** Застосовується дітям віком від 2 років. **Побічні реакції.** Гіпоглікемія, як правило, є найчастішою побічною реакцією, що спостерігається під час інсулінотерапії. Вона виникає тоді, коли доза введеного інсуліну набагато перевищує потребу у ньому. Як і при застосуванні будь-яких інших препаратів інсуліну, у місці ін'єкційного введення можуть виникати розлади шкіри та підшкірної клітковини – ліподистрофія та амфіодоз шкіри, внаслідок чого швидкість всмоктування інсуліну у місці ін'єкції зменшується. Постійна зміна місця ін'єкції в межах ділянки ін'єкції може допомогти зменшити або запобігти цим реакціям. **Особливості застосування.** Айлар® не є препаратом вибору для лікування діабетичного кетоацидозу. Замість нього у таких випадках рекомендується внутрішньовенне введення звичайного (регуляр) інсуліну. Якщо у результаті лікування не вдається досягти достатнього контролю рівня глюкози або спостерігається тенденція до збільшення епізодів гіпо- чи гіперглікемії, перед тим як змінювати дозування препарату, слід перевірити, чи дотримується хворий рекомендацій щодо режиму лікування, місця введення препарату, належної техніки ін'єкційного введення, а також оцінити інші важливі фактори, які впливають на ефективність лікування. Перед використанням шприц-ручки слід уважно прочитати інструкцію з її застосування. Айлар® потрібно використовувати відповідно до інструкції. Докладну інформацію про особливості

застосування можна знайти в інструкції до медичного застосування лікарського засобу Айлар®.

Умови зберігання. Зберігати у недоступному для дітей місці! **Невідкриті картриджі.** Зберігати при температурі від +2 °C до +8 °C (у холодильнику). Не заморожувати! **Умови зберігання див. у розділі «Термін придатності».** **Упаковка.** По 3 мл у картриджі. По 5 картриджів у блістері, по 1 блістеру в пачці. **Категорія відпуску.** За рецептом. **Виробник.** Біокон Байолоджикс Лімітед, Biocon Biologics Limited. АТ «Фармак». Р.П. № UA\15749\01\01, наказ МОЗ України № 56, зміни внесено наказом МОЗ України № 1053 від 20.06.2022 р.

Повний перелік показань, протипоказань, побічних ефектів, а також докладну інформацію про спосіб та особливості застосування дивіться в інструкції до медичного застосування лікарського засобу Айлар®.

1. Оригінальним лікарським засобом є Лантус, ТОВ «Санofi-Авентіс Україна». 2. Інструкція для медичного застосування лікарського засобу Айлар® (Ilgar®). 3. За даними PROXIMA RESEARCH 2023 UKR/ПРОМО/04/2023/АЙЛ/Л/001.

Реклама лікарського засобу. Інформаційний матеріал для розміщення у спеціалізованих виданнях, призначених для медичних установ та лікарів, а також для розповсюдження на семінарах, конференціях, симпозиумах з медичної тематики.

Виробник: АТ «Фармак», 04080, м. Київ, вул. Кирилівська, 63.

Тел.: +38 (044) 496-87-87;

e-mail: info@farmak.ua;

веб-сайт: www.farmak.ua

Farmak

Айглімет

vildagliptin+metformin

- Вплив на декілька патофізіологічних механізмів¹
- Терапевтично оптимальна комбінація дозувань
- Надійний комплаєнс



Айгліп[®]

Vildagliptin

- Глюкозозалежна регуляція вуглеводного обміну²
- Мінімальний ризик гіпоглікемії³
- Протективний вплив на функцію β-клітин⁴



МИСТЕЦТВО ЦІНУВАТИ ЧАС

Витяг з інструкції для медичного застосування препарату АЙГЛІМЕТ[®]

Склад. Діючі речовини: вільдагліптин, метформін гідрохлорид. **Лікарська форма.** Таблетки, вкриті плівковою оболонкою. **Фармакотерапевтична група.** Протидіабетичні препарати. Комбінація пероральних гіпоглікемізуючих препаратів. Код АТХ A10B D08. **Показання.** Айглімет показаний для лікування пацієнтів із цукровим діабетом II типу: дорослих пацієнтів, у яких належний контроль рівня глюкози не може бути забезпечений пероральним прийомом метформіну як монотерапевту у максимально переносимих дозах, або пацієнтів, які вже отримували лікування комбінацією вільдагліптину та метформіну у вигляді окремих препаратів; у комбінації зі сульфонілсечовиною (трикомпонентна комбінована терапія) як додатковий до дієти та вправ засіб при лікуванні пацієнтів, стан яких не контролюється належним чином при застосуванні метформіну та сульфонілсечовини; для проведення трикомпонентної комбінованої терапії з інсуліном як додатковий до дієти та вправ засіб для покращення контролю рівня глюкози при лікуванні пацієнтів, у яких застосування стабільної дози інсуліну та метформіну як монотерапії не забезпечує належного контролю рівня глюкози. **Протипоказання.** Підвищена чутливість до вільдагліптину, або метформіну гідрохлориду, або до будь-яких інших компонентів препарату. Діти. Айглімет не рекомендується застосовувати для лікування дітей та підлітків (віком до 18 років). **Побічні реакції.** Більшість випадків були легкими та зникли при продовженні застосування вільдагліптину та метформіну, повний перелік побічних дій можна знайти в інструкції для медичного застосування препарату. **Особливості застосування.** Айглімет не замінює інсулін для інсулінозалежних пацієнтів. Препарат не слід застосовувати у пацієнтів з діабетом I типу. **Умови зберігання.** Даний лікарський засіб не потребує спеціальних умов зберігання. Упаковка. По 7 таблеток у блистері, по 4 блистери у паці. **Категорія відпуску.** За рецептом. **Р.П.** № UA/18279/01/01 (Наказ МОЗ України від 04 вересня 2020 р. № 2032). **Р.П.** № UA/18310/01/01 (наказ МОЗ України від 17 вересня 2020 р. № 2119). **Виробник.** АТ «Фармак» (первинне та вторинне пакування, маркування, випуск серії з продукції in bulk фірми-виробника «Оман Фармасьютикал Продактс Компані ЛПС», Оман).

1. Інструкція для медичного застосування лікарського засобу Айглімет.

Витяг з інструкції для медичного застосування препарату АЙГЛІП[®]

Склад: діюча речовина: вільдагліптин; 1 таблетка містить вільдагліптину 50 мг. **Лікарська форма.** Таблетки. **Фармакотерапевтична група.** Гіпоглікемічні синтетичні та інші засоби. Інгібітори дипептидилпептидази-4. **Показання.** Лікування дорослих пацієнтів з цукровим діабетом типу II. Як монотерапія, у складі подвійної пероральної терапії у комбінації з: метформіном, сульфонілсечовиною, тіазолідиндоном, у складі потрійної пероральної терапії з: сульфонілсечовиною та метформіном, у комбінації з інсуліном (з метформіном або без), коли дієта та фізичні вправи разом зі стабільною дозою інсуліну не забезпечують адекватного глікемічного контролю. **Протипоказання.** Відомо гіперчутливість до вільдагліптину або до будь-якої допоміжної речовини. Застосування у період вагітності та годування груддю. Дітям та підліткам віком до 18 років застосування препарату Айгліп не рекомендується. **Спосіб застосування та дози.** Рекомендована добова доза вільдагліптину становить 100 мг, яку розділяють на два прийоми: 50 мг вранці та 50 мг ввечері. **Побічні реакції.** Більшість побічних реакцій, що виникали при прийомі вільдагліптину, були легкими за характером та тимчасовими і не вимагали припинення лікування. Повний перелік побічних ефектів можна знайти в інструкції для медичного застосування препарату. **Особливості застосування.** Препарат не слід застосовувати для лікування пацієнтів з діабетом типу I або діабетичним кетозацидозом. Досвід застосування препарату для лікування пацієнтів з помірними або тяжкими порушеннями функції нирок, а також пацієнтів із ННТС на гемодіалізі обмежений. Порушення функції печінки. Айгліп не рекомендований для застосування пацієнтам із порушеннями функції печінки, у тому числі пацієнтам, у яких до лікування рівень АЛТ або АСТ більше ніж у 3 рази перевищував верхню межу норми. Контроль рівнів ферментів печінки. **Умови зберігання.** Для лікарського засобу не потрібні спеціальні умови зберігання. **Упаковка.** По 10 таблеток у блистері. По 3 блистери у паці. **Категорія відпуску.** За рецептом. **Р.П.** № UA/17556/01/01, від 12 серпня 2019 р. (наказ МОЗ України від 12 серпня 2019 р. № 1772). **Виробник.** АТ «Фармак».

2. El-Ouaghlidi A, Rehring E, Holst JJ, et al. The dipeptidyl peptidase 4 inhibitor vildagliptin does not accentuate glibenclamide-induced hypoglycemia but reduces glucose-induced glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide secretion. J Clin Endocrinol Metab. 2007 Nov;92(11):4165-71. doi: 10.1210/jc.2006-1932. 3. Fonseca V, Schweizer A, Albrecht D. Addition of vildagliptin to insulin improves glycaemic control in type 2 diabetes. Diabetologia 2007; 50: 1148-1155. Garber A.J., Foley J.E., Banerji M.A. et al. Effects of vildagliptin on glucose control in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with a sulphonylurea. Diabetes Obes Metab 2008;10:1047-1056. 4. Eur J Pharmacol. 2011 Jan 15;650(2-3):703-7. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.10.062. Epub 2010 Nov 9. The DPP-4 inhibitor vildagliptin increases pancreatic beta cell mass in neonatal rats. Duttaroy A, Voelker F, Merriam K, Zhang X, Ren X, Subramanian K, Hughes TE, Burkey BF.

Повний перелік показань, протипоказань, побічних ефектів, а також докладну інформацію про спосіб та особливості застосування можна знайти в Інструкції для медичного застосування препаратів. Реклама лікарського засобу. Інформаційний матеріал для розміщення у спеціалізованих виданнях, призначених для медичних установ та лікарів, а також для розповсюдження на семінарах, конференціях, симпозіумах з медичної тематики.

УКР/ПРОМО/06/2021/АЙМ/АЙГ/ДМ/001

АТ «Фармак», 04080, м. Київ, вул. Кирилівська, 63. Тел.: +38 (044) 239-19-40 | факс: +38 (044) 485-26-86
e-mail: info@farmak.ua | www.farmak.ua

Farmak

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- 101 Вплив підвищення Ki67
проліферативного індексу на клініко-
гістопатологічні показники радіогенних
і спорадичних папілярних тиреоїдних
карцином залежно від BRAF^{V600E} статусу

*Богданова Т.І., Зурнадзхи Л.Ю., Саєнко В.О.,
Болгов М.Ю., Масюк С.В., Бурко С.В., Дегтярьова Т.Л.,
Чернишов С.В., Гулеватий С.В., Іто М., Рагунович Т.І.,
Тронько М.Д.*

- 119 Модуляція статевої поведінки
і показники оксидативного стресу
в сім'яниках дорослих щурів як наслідок
хронічного стресу в пубертатному віці

Резніков О.Г., Лимарева А.А., Сачинська О.В.

- 126 Два незвичайні фенотипи епітеліальних
клітин дозволяють виявляти папілярну
карциному в тонкоголкових аспіратах
щитоподібної залози

Божок Ю.М., Ніконенко О.Г.

- 135 Залежність перебігу ранового процесу
від рівня гормонів стресу в чоловіків
комбатантів

*Селюкова Н.Ю., Лурін І.А., Бойко М.О.,
Негодуйко В.В., Тижненко Т.В., Місюра К.В.*

- 142 Характер функціональних порушень
щитоподібної залози в пацієнтів
із цукровим діабетом 2-го типу
та діабетичною хворобою нирок

Урбанович А.М., Верещинська А.П.

ORIGINAL PAPERS

- 101 Effect of Ki67 labeling index on clinicohis-
topathological characteristics
of radiogenic and sporadic papillary
thyroid carcinoma with regard
to the BRAF^{V600E} mutational status

*Bogdanova T.I., Zurnadzhy L.Yu., Saenko V.O.,
Bolgov M.Yu., Masiuk S.V., Burko S.V., Degtyaryova T.L.,
Chernyshov S.V., Gulevatyi S.V., Ito M., Rogounovitch T.I.,
Tronko M.D.*

- 119 Modulation of sexual behavior
and indicators of oxidative stress in the
testes of adult rats as a consequence
of chronic stress during puberty

Reznikov A.G., Lymareva A.A., Sachynska O.V.

- 126 Two unusual epithelial cell phenotypes
allow to detect papillary carcinoma
in fine-needle aspirates
of the thyroid

Bozhok Yu.M., Nikonenko A.G.

- 135 The dependence of wound healing
process on the levels of stress hormone
in men-combatants

*Seliukova N.Yu., Lurin I.A., Boiko M.O.,
Nehoduiko V.V., Tyzhnenko T.V., Misiura K.V.*

- 142 Character of thyroid dysfunction
in patients with type 2 diabetes
and diabetic kidney disease

Urbanovych A.M., Vereshchynska A.P.

Зміст / Table of contents

- 148 Вплив стресу, пов'язаного з війною, на стан вуглеводного й ліпідного обмінів та темп метаболічного старіння в жінок різного віку

*Шатило В.Б., Наскалова С.С., Писарук А.В.,
Асанов Е.О., Бондаренко О.В., Кошель Н.М.,
Диба І.А., Сліпченко В.Г.*

- 155 Дефіцит гормону росту та вітамін D

Ризничук М.О., Кваченюк Д.А., Большова О.В.

ОГЛЯДИ

- 162 Вплив мелатоніну на стан оксидантного стресу при метаболічному синдромі

*Сергієнко В.О., Сегін В.Б.,
Сергієнко Л.М., Сергієнко О.О.*

- 172 Використання інгібіторів дипептидилпептидази 4 для лікування атеросклерозу

*Соколова Л.К., Пушкарьов В.М., Ковзун О.І.,
Пушкарьов В.В., Соколова А.М., Тронько М.Д.*

АКТУАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

- 183 Клінічні випробування при захворюваннях ендокринної системи в Україні згідно бази даних сайту ClinicalTrials.gov

Пастер І.П.

- 148 Effects of war-related stress on the state of carbohydrate and lipid metabolism and the rate of metabolic aging in women of different ages

*Shatylo V.B., Naskalova S.S., Pysaruk A.V.,
Asanov E.O., Bondarenko O.V., Koshel N.M.,
Dyba I.A., Slipchenko V.G.*

- 155 Growth hormone deficiency and vitamin D

Ryznychuk M.O., Kvachenjuk D.A., Bolshova O.V.

REVIEW

- 162 Effect of melatonin on the state of oxidative stress in metabolic syndrome

*Serhiyenko V.A., Sehin V.B.,
Serhiyenko L.M., Serhiyenko A.A.*

- 172 The use of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors for the treatment of atherosclerosis

*Sokolova L.K., Pushkarev V.M., Kovzun O.I.,
Pushkarev V.V., Sokolova A.M., Tronko M.D.*

ACTUAL INFORMATION

- 183 Clinical trials in endocrine system diseases in Ukraine according to the ClinicalTrials.gov site database

Pasteur I.P.

ДОСТУПНИЙ ЗАХИСТ ПРИ ЦД 2*



Метформіну

500 мг

850 мг

1000 мг

МЕТАФОРА®

Склад: 1 таблетка містить метформіну гідрохлориду 500 мг; 1 таблетка містить метформіну гідрохлориду 850 мг; 1 таблетка містить метформіну гідрохлорид 1000 мг. **Показання.** Цукровий діабет 2 типу при неефективності дієтотерапії та режиму фізичних навантажень, особливо у хворих з надлишковою масою тіла; Для зменшення ускладнень діабету у дорослих пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу і надлишковою масою тіла як препарат першої лінії після неефективної дієтотерапії. **Протипоказання.** Підвищена чутливість до метформіну або до будь-якого іншого компонента лікарського засобу; будь-який тип гострого метаболічного ацидозу (наприклад, лактоацидоз, діабетичний кетоацидоз); діабетична прекома; ниркова недостатність тяжкого ступеня (швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) < 30 мл/хв); печінкова недостатність, гостре отруєння алкоголем, алкоголізм. Максимальна рекомендована доза становить 3000 мг на добу, розподілена на 3 прийоми. **Протипоказання.** Найчастішими небажаними реакціями на початку лікування є нудота, блювання, діарея, біль у животі, відсутність апетиту. Ці симптоми у більшості випадків минають самостійно. **Побічні реакції.** 2 роки. **Категорія відпуску.** За рецептом. **Виробник.** АТ «КІЇВСЬКИЙ ВІТАМІННИЙ ЗАВОД».

МЕТАФОРА®-SR

Склад: 1 таблетка містить метформіну гідрохлориду 1000 мг. **Лікарська форма.** Таблетки пролонгованої дії. **Показання.** Зниження ризику або затримка початку цукрового діабету 2 типу у дорослих пацієнтів з надмірною масою тіла та з порушеною толерантністю до глюкози (ПТГ) та/або з порушеною глікемією натще (ПГН), та/або з підвищеним рівнем HbA1C. Лікування цукрового діабету 2 типу у дорослих, особливо у хворих з надмірною масою тіла, коли лише дієтотерапія та фізичні навантаження не забезпечують адекватний глікемічний контроль. **Протипоказання.** • Підвищена чутливість до метформіну або до будь-якого іншого компонента лікарського засобу; • будь-який тип гострого метаболічного ацидозу (наприклад, лактоацидоз, діабетичний кетоацидоз); • діабетична прекома; • ниркова недостатність тяжкого ступеня (швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) < 30 мл/хв); • гострі стани, що протікають з ризиком розвитку порушень функцій нирок: зневоднення організму, тяжкі інфекційні захворювання, шок; • захворювання, що можуть призводити до розвитку гіпоксії тканин (особливо гострі захворювання або загострення хронічної хвороби); декомпенсована серцева недостатність, дихальна недостатність, нещодавно перенесений інфаркт міокарда, шок; • печінкова недостатність, гостре отруєння алкоголем, алкоголізм. **Термін придатності.** 2 роки. **Категорія відпуску.** За рецептом. **Виробник.** АТ «КІЇВСЬКИЙ ВІТАМІННИЙ ЗАВОД».



КІЇВСЬКИЙ ВІТАМІННИЙ ЗАВОД
Якість без компромісів!

ЦД - цукровий діабет
*** American Diabetes Association: Standards of Medical Care in Diabetes, 2021**

ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ СПЕЦІАЛІСТІВ
МЕТАФОРА® - SR - РП МОЗ України №УА/18164/01/01 від 16.03.2021.
МЕТАФОРА® - РП МОЗ України №УА/18164/01/01, №УА/18164/01/02, №УА/18164/01/03 від 26.06.2020.
Інформація про лікарський засіб, призначена для розповсюдження серед медичних і фармацевтичних працівників на спеціалізованих семінарах, конференціях, симпозіумах з медичної тематики.

ЗДОРОВ'Я В КАПСУЛІ



ЩОДНЯ



ЩОТИЖНЯ

Скорочена інструкція ВІДЕЇН (VIDEYIN)

Склад: діюча речовина: холекальциферол; 1 капсула містить холекальциферолу 500 мкг (вітаміну D3 — 20000 МО). **Лікарська форма.** Капсули м'які.
Фармакотерапевтична група. Вітаміни. Препарати вітаміну D та його аналогів. Холекальциферол. Код АТХ A11C C05. **Показання:** для лікування клінічно підтвердженого дефіциту вітаміну D у дорослих; для профілактики дефіциту вітаміну D у пацієнтів з високим ризиком; доповнення до специфічної терапії остеопорозу у пацієнтів із дефіцитом вітаміну D або з високим ризиком нестачі вітаміну D; **Протипоказання:** підвищена чутливість до компонентів лікарського засобу; гіперкальціємія; гіперкальціурія; гіпервітаміноз D; псевдогіпопаратиреоз (потреба у вітаміні D може бути нижча, ніж у період нормальної чутливості до вітаміну, з ризиком тривалого передозування); нефролітіаз (сечокам'яна хвороба); ниркова недостатність; саркоїдоз; туберкульоз; додатковий прийом вітаміну D (може призвести до передозування). **Спосіб застосування та дози:** Початкове лікування дефіциту вітаміну D: 40000 МО на тиждень (6–12 тижнів). Лікування дефіциту вітаміну D та підтримка його рівня: від 60000 до 120000 МО на місяць (до 6 місяців). Профілактика дефіциту вітаміну D: 20000 МО на тиждень (з листопада по квітень). Доповнення до специфічної терапії остеопорозу у пацієнтів з дефіцитом вітаміну D або у пацієнтів із ризиком нестачі вітаміну D: 20000-40000 МО на місяць у поєднанні з препаратом кальцію, якщо це є потрібним. **Діти.** Не рекомендується застосування лікарського засобу дітям та підліткам (віком до 18 років). **Термін придатності.** 3 роки. **Умови зберігання.** Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 °С. Зберігати у недоступному для дітей місці. **Упаковка.** По 10 капсул у блістері; по 2 блістери в пачці. **Категорія відпуску.** За рецептом.
Виробник. АТ «КИЇВСЬКИЙ ВІТАМІННИЙ ЗАВОД».

Інформація про лікарський засіб, призначена для розповсюдження серед медичних і фармацевтичних працівників на спеціалізованих семінарах, конференціях, симпозіумах з медичної тематики. Відеїн - РП МОЗ України № UA/18050/01/03 від 23.04.2020; № UA/18050/01/04 від 15.08.2023. Перед застосуванням уважно ознайомтесь з інструкцією та проконсультуйтеся з лікарем.



КИЇВСЬКИЙ ВІТАМІННИЙ ЗАВОД
Якість без компромісів!

DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.101

Effect of Ki67 labeling index on clinicohistopathological characteristics of radiogenic and sporadic papillary thyroid carcinoma with regard to the BRAF^{V600E} mutational status

T.I. Bogdanova^{1,2†},
L.Yu. Zurnadzhly^{1,2†},
V.O. Saenko^{2†},
M.Yu. Bolgov¹,
S.V. Masiuk³,
S.V. Burko¹,
T.L. Degtyaryova¹,
S.V. Chernyshov¹,
S.V. Gulevatyi¹,
M. Ito⁴,
T.I. Rogounovitch²,
M.D. Tronko¹

¹State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

²Atomic Bomb Diseases Institute, Nagasaki University, Japan

³State Institution «National Research Center of Radiation Medicine, Hematology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

⁴National Hospital Organization Nagasaki Medical Center, Japan

[†]These authors have contributed equally to this work

Abstract. In papillary thyroid carcinomas (PTCs), Ki67 labeling index (LI) is a prognosticator of metastases and recurrence, but it is not clear whether this extends to patients exposed to radiation in childhood. The aim of this work was to determine whether certain associations exist between Ki67 LI and clinicohistopathological characteristics of radiogenic and sporadic PTCs removed from patients of different ages and whether possible associations depend on the BRAF^{V600E} status. **Material and methods.** Analysis of clinical histopathological and immunohistochemical (IHC) data on 552 PTCs (416 radiogenic and 136 sporadic) was performed using univariate tests and multivariate statistical modeling. **Results.** In radiogenic PTCs from patients aged up to 29 years, an increase in Ki67 LI was associated with the higher frequency of dominant papillary growth pattern (odds ratio (OR)=1.208, p=5.34E-04), BRAF^{V600E} mutation (OR=1.183, p=0.007) and oncocyctic changes (OR=1.120, p=0.044), and with the risk of recurrence (hazard ratio (HR)=1.249, p=0.033). An increase in Ki67 LI in the BRAF^{V600E}-positive tumors did not lead to significant changes in pathological and clinical PTCs characteristics, whereas in the BRAF^{V600E}-negative tumors it was associated with the risk of recurrent metastases (HR=1.227, p=0.038), including the radioiodine refractory ones (RAI-R, OR=1.551, p=0.037). The effect of Ki67 LI on

Оригінальні дослідження

the mentioned characteristics of sporadic PTC in the same age group was similar for most variables, but was absent for the risk of recurrences both in the whole group and in the BRAF^{V600E}-positive or BRAF^{V600E}-negative PTCs. In patients aged up to 49 years with radiogenic PTC, the effects of Ki67 LI were in line with those determined in younger patients. **Conclusions.** In radiogenic PTCs, unlike in sporadic tumors, an increase in Ki67 LI was associated with a worse postoperative prognosis, namely with an increase in the risk of recurrent metastases, including RAI-R, which, in turn, was associated exclusively with the BRAF^{V600E}-negative status. In the BRAF^{V600E}-positive PTCs, regardless of their etiology, an increase in Ki67 LI did not affect the clinical and histopathological indicators and the prognosis.

Keywords: papillary thyroid carcinoma, Chernobyl accident, Ki67 proliferative index, BRAF^{V600E} mutation, immunohistochemical study.

Ki67 (MIB-1) is the most common marker of proliferative activity of various tumors widely used in diagnostic pathology. As for PTCs, a number of studies have shown that their proliferative activity, namely the Ki67 LI, is associated with a larger tumor size [1-4] and has a significant prognostic power for regional metastases and recurrence [5-8]. However, whether these associations hold true for PTCs from patients exposed to ionizing radiation in childhood remains unknown.

In our previous works [9-11], which involved IHC study of the BRAF^{V600E} mutant protein expression in radiogenic and sporadic PTCs from patients of different ages, the frequency of RAI-R recurrent metastases was found to be increased in older patients with the BRAF^{V600E}-positive PTCs [11]. The available literature data regarding the relationship of Ki67 LI with BRAF^{V600E} are contradictory. Some groups claimed a higher Ki67 LI in the BRAF^{V600E}-positive PTCs [1, 12], whereas others observed no difference in Ki67 LI between the BRAF^{V600E}-positive and the BRAF^{V600E}-negative PTCs [13]. To date, no reports addressing the relationship between Ki67 LI and BRAF mutational status are available for patients with a history of radiation exposure.

In the current study, we aimed to determine whether there are associations between Ki67 LI and clinicohistopathological characteristics of radiogenic and sporadic PTCs removed from patients of different ages and whether such possible associations depend on the BRAF^{V600E} status.

Material and methods

Patients

Histopathological and IHC studies were performed on PTCs removed from 552 patients aged up to 49 years (416 radiogenic and 136 sporadic) operated on at the State Institution «V.P. Komisa-

renko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» (IEM) during the period from 1990 to 2017, and which were IHC stained with antibodies to the mutated BRAF^{V600E} protein (VE1) and Ki67 (MIB-1).

In the first two parts of the study, 236 radiogenic PTCs (patients aged up to 4 years at the time of the Chernobyl accident who lived in the most contaminated by ¹³¹I Kyiv, Chernihiv and Zhytomyr regions) and 136 sporadic PTC (patients who lived in the same regions but born after January 1st, 1987, thus not exposed to ¹³¹I) were analyzed, respectively. Considering the fact that patients with sporadic PTCs at the beginning of the study were aged up to 29 years, the radiogenic group in the first part of the work also included only patients of a similar age group.

For the third part of the study, 180 cases from patients aged 29 to 49 years old, operated in the IEM from 2015 to 2017, who were at the time of the accident in childhood and lived in the northern, most contaminated by ¹³¹I regions of Ukraine, were added to the 236 radiogenic PTCs from the first part; in total, there were 416 cases of radiogenic PTCs.

The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and was approved by the Bioethics Committee of IEM (protocols N 22-KE of April 26, 2018, and N 31-KE of February 27, 2020), the Chernobyl Tissue Bank (CTB, project N001-2020), and the Ethics Committee of Nagasaki University (protocol 20130401-7 of July 1, 2021, the latest update). Informed consent was obtained from all patients enrolled in the study or their guardians.

Histopathology

As in previous studies [9-11], the initial analysis of hematoxylin and eosin-stained histological speci-

mens, and establishment of PTC diagnosis was performed in the IEM by two experienced pathologists (TB and LZ). The pathological diagnosis was based on the 4th edition of the WHO Histological Classification [14]. The vast majority of cases were additionally reviewed by a pathology panel of the Chornobyl tissue bank project [15, 16]. The diagnosis of PTC was confirmed in all cases. pTNM categories were determined according to the latest 8th edition of tumor TNM classification [17].

PTCs were evaluated by size, dominant histological growth pattern, oncocytic changes, main invasive and clinical characteristics, as described in previous publications [9-11, 18]. To assess overall invasiveness, we used an integrative variable, the «invasiveness score» [11, 19], which included N1, M1, extra-thyroidal extension (either minimal or to the muscle), multifocal tumor growth and lymphatic/vascular invasion. The invasiveness score determined in this way ranged from «0» (no sign of invasiveness) to «5» (all the above signs present). Recurrent metastases examined after reoperation not earlier than 6 months after the 1st surgery were evaluated for being radioiodine-avid or RAI-R according to the recommendations of the American and European Thyroid Associations [20-22].

Immunohistochemistry

IHC studies were performed at Nagasaki University according to the protocol developed in the Department of Radiation Molecular Epidemiology of the Atomic Bomb Diseases Institute of the Nagasaki University (LZ, TR). IHC staining to determine BRAF^{V600E} expression was performed as previously described [9-11]. A positive IHC reaction with antibodies to BRAF^{V600E} was consistent with the presence of the BRAF^{V600E} mutation [23].

The proliferative activity of tumors was evaluated by IHC using a Ki67 antibody (clone MIB-1; DAKO, Glostrup, Denmark, 1:100 dilution) in a Ventana BenchMark ULTRA instrument. The Ki67 LI (Ki67 LI) was determined with the image-analyzing software (CountoCell, Ki67 antigen Semi-Auto Counter, Seiko Tec LTD, Fukuoka, Japan) in a total of approximately 1,000 PTC cells per case (LZ).

Thyroid dosimetry

Individual thyroid radiation doses due to ¹³¹I ingestion after the Chornobyl accident were calculated for each patient at the Radiation Protection Laboratory of the State Institution «National Scientific Center of Radiation Medicine, Hematology

and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» using an ecological and dosimetric model which combines the system of ecological transport of iodine and biokinetic models of iodine [24].

Probability of causation due to radiation

The probability of causation (POC) of a tumor by exposure to a known radiation dose of an individual of a given sex and age after a certain period of latency was determined using the US NIH/NCI Division of Cancer Epidemiology and Genetics' Interactive RadioEpidemiological Program – Probability of Cancer Causation from Radiation Version 5.7.1 software [25, 26]. This software, as mentioned in our previous works [11, 27], uses «Personal Information» and «Dose Exposure Information» and calculates POC ranging from the 1st to the 99th percentile based on 10,000 random-seeded simulations. POC estimate in this study is the 50th percentile value. The higher POC value reflects the higher likelihood of cancer development due to radiation exposure.

Statistical analysis

Logistic regression models were adjusted for age at operation and sex. Models with very small numbers of outcomes (<5 per cell) were conducted using Firth's approach to bias-reducing penalized maximum likelihood fit. To plot estimated probabilities obtained in the logistic regression models (SAS PROC LOGISTIC), the PROC LOESS was used for smoothing. Multivariable linear regression models were applied to continuous dependent variables. Effect of Ki67 LI on disease-free survival was estimated using the Kaplan-Meier method and the proportional hazard models.

Calculations were performed using SAS version 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA) or IBM SPSS Statistics Version 24 software (International Business Machines Corp., Armonk, NY, USA). All tests were two-sided; $p < 0.05$ was considered indicative of statistical significance.

Results and discussion

1. The effect of Ki67 LI on radiogenic PTCs from patients aged up to 29 years

All data collected or generated for young patients with radiogenic PTCs are shown in **Fig. 1**. Among the 236 analyzed radiogenic PTCs, the median Ki67 LI was 2.6% (IQR=1.5-4.5%) with a significant prevalence of the frequency of tumors

Оригінальні дослідження

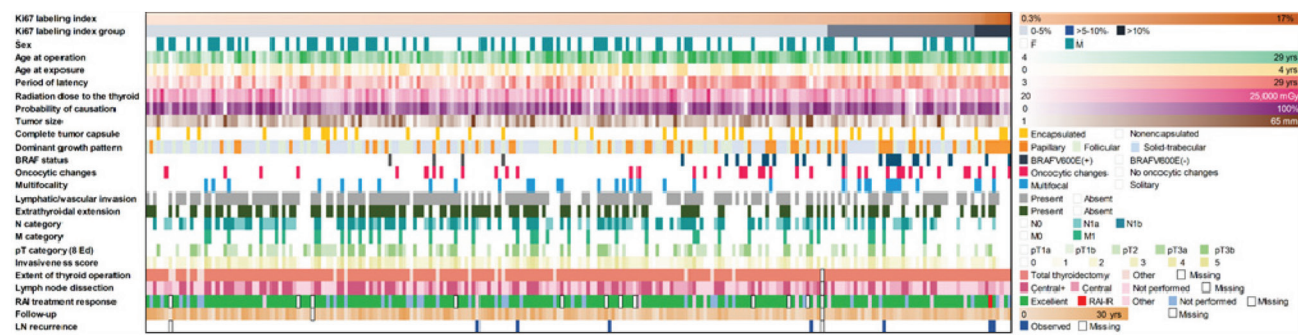


Fig. 1. Characteristics of 236 radiogenic PTCs from patients aged up to 29 years.

in which Ki67 LI≤5% (78.8% *vs* 21.2% with Ki67 LI>5%, *p*<0.001). Descriptive characteristics of the group of radiogenic PTCs were as follows: the median age of patients at the time of surgery was 16.0 (IQR=12.8-22.8) years, the median tumors size was 16 (IQR=12-30) mm, the most frequent dominant solid-trabecular growth pattern was observed was in 44.1% of tumors, the frequency of the *BRAF*^{V600E} mutation was rather low, 11.0%, the median invasiveness score was 2 (IQR=1-3). Most patients (93.2%) underwent total thyroidectomy and postoperative radioiodine

therapy (RIT, 79.7%). The frequency of recurrent metastases was low, 3.3%, and they were removed 0.8-9.4 years after the primary operation (**Table 1**). The analysis of Ki67 LI effect on the clinico-histopathological characteristics of radiogenic PTCs, which included univariate logistic, linear, and Cox proportional hazard regression models, established that Ki67 LI was statistically significantly associated with an increase in patient age at the time of surgery (*b*=0.169, *p*=9.48E-06), more frequent dominant papillary (OR=1.208, *p*=5.34E-04) and less frequent follicular growth pattern pat-

Table 1. Characteristics of 236 radiogenic PTCs from patients aged up to 29 years by Ki67 LI.

Parameters	Number (%) or median (range; IQR)	OR, b or HR (95%CI) ^a	p-value
Sex F/M (%M, F:M ratio)	156/80 (33.9%; 2.0:1)	0.942 (0.846-1.048) ^b	0.271
Age at operation, years	16.0 (4.2-28.9; 12.8-22.8)	0.169 (0.095-0.242) ^c	9.48E-06
Age at exposure, years	2.0 (0.1-4.0; 1-3)	-0.013 (-0.052-0.025) ^c	0.495
Period of latency, years	14.0 (3.8-28.2; 10.0-20.7)	0.294 (0.168-0.420) ^c	6.81E-06
Radiation dose to the thyroid, mGy	319 (28-24110; 160-712)	-0.012 (-0.037- 0.014) ^c	0.381
POC, %	70.7 (8.1-99.5; 53.5-84.4)	-0.248 (-1.181-0.684) ^d	0.6
Tumor size, mm	16 (1-65; 12-30)	-0.031 (-0.076-0.014)	0.179
Complete tumor capsule	36 (15.3%)	1.004 (0.886-1.137)	0.955
Dominant growth pattern		1.146 (1.072-1.224)	5.57E-05
papillary	54 (22.9%)	1.208 (1.085-1.334)	5.34E-04
follicular	78 (33.1%)	0.889 (0.791-0.999)	0.048
solid-trabecular	104 (44.1%)	0.939 (0.848-1.039)	0.221
Ki67 LI, %	2.6 (0.3-16.6; 1.5-4.5)	NA ^e	NA
0–5%	186 (78.8%)	NA	NA
>5–10%	40 (16.9%)	NA	NA

End of the table

Parameters	Number (%) or median (range; IQR)	OR, b or HR (95%CI) ^a	p-value
>10%	10 (4.2%)	NA	NA
BRAF ^{V600E} -positive	26 (11.0%)	1.183 (1.046-1.338)	0.007
Oncocytic changes	38 (16.1%)	1.120 (1.003-1.250)	0.044
Multifocality	34 (14.4%)	1.016 (0.897-1.151)	0.803
Lymphatic/vascular invasion	230 (55.3%)	0.952 (0.861-1.052)	0.335
Extrathyroidal extension (any)	160 (67.8%)	0.946 (0.857-1.044)	0.27
N category (N1)	124 (52.5%)	0.907 (0.820-1.003)	0.057
M category (M1)	37 (15.7%)	0.947 (0.811-1.106)	0.489
Invasiveness score	2 (0-5; 1-3)	0.938 (0.863-1.020)	0.133
Thyroid surgery volume, n=235			
total thyroidectomy	219 (93.2%)	1.810 (1.143-2.866)	0.011
organ-preserving operation	16 (6.8%)	0.552 (0.349-0.875)	0.011
Lymph node dissection, n=235			
RIT performed	188 (79.7%)	1.026 (0.907-1.159)	0.686
RIT response, n=188			
RAI-R recurrence vs other	1 (0.5%)	1.509 (1.055-2.159) ^f	0.024
excellent vs other	175 (93.1%)	0.818 (0.693-0.966)	0.018
Follow-up, years, n=234			
LN recurrence, n=214	7 (3.3%)	1.249 (1.018-1.532) ^g	0.033
LN recurrence, n=214	7 (3.3%)	1.259 (1.078-1.470) ^h	0.004
Time to recurrence, years			
	n=7; 3.0 (0.8-9.4; 1.0-8.3)	0.002 (-1.191-1.194)	0.997

Note: ^a – adjusted for age at operation and sex unless otherwise specified; ^b – adjusted for age at operation; ^c – adjusted for sex; ^d – non-adjusted; ^e – not available; ^f – Firth's penalized logistic regression; ^g – Cox proportional hazard model adjusted for patient age, sex, thyroid surgery volume and lymph node dissection; ^h – non-adjusted Cox proportional hazard model.

terns (OR=0.889, p=0.048), BRAF^{V600E}-positivity (OR=1.183, p=0.007) and oncocytic changes in PTC cells (OR=1.120, p=0.044). At the same time, Ki67 LI did not significantly affect any indicator of invasiveness. Of importance, Ki67 LI reduced the frequency of complete remission of the disease in response to RIT (OR=0.818, p=0.018) and increased the chance of recurrence (HR=1.249, p=0.033, **see Table 1**).

At the next step, we subdivided radiogenic PTCs by their BRAF^{V600E} status. First of all, it should be noted that Ki67 LI in the BRAF^{V600E}-positive tumors (4.8%, IQR=3.8-6.3%) significantly exceeded that

in the BRAF^{V600E}-negative tumors (2.3%, IQR=1.3-3.9%, p=7.64E-06, the Mann-Whitney test).

Analysis of the effect of Ki67 LI in the BRAF^{V600E}-positive and -negative subgroups of radiogenic PTCs (**Table 2**) did not detect Ki67 LI association with structural, invasive and clinical characteristics in the former, while in the latter it was statistically significantly associated with such important clinical indicators as the probability of developing recurrent metastases (HR=1.227, p=0.038), including the RAI-R metastases (OR=1.551, p=0.037).

Оригінальні дослідження

2. The effect of Ki67 LI on sporadic PTCs from patients aged up to 29 years

All data collected or generated for young patients with sporadic PTCs are shown in **Fig. 2**.

Among the 136 sporadic PTCs, the median Ki67 LI was 4.7% (IQR=2.8-7.2%) with a slight prevalence of tumors with Ki67 $\leq$ 5%, 55.9% vs. 44.1% of those with Ki67 LI>5%.

The median age of patients with sporadic PTC at the time of surgery was 17.5 (IQR=14.5-22.3) years, tumors size was 16 (IQR=10-28) mm. Almost a half (47.1%) of PTCs had a dominant papillary growth pattern. The frequency of the *BRAF*^{V600E} mutation was 29.4%, oncocyctic changes in tumor cells were observed in 45.6% of tumors, which appears to be higher than in radiogenic PTCs. Invasiveness score

was somewhat lower than in the radiogenic PTCs, of 1 (IQR=0-3). Most patients, as in the radiogenic group, underwent total thyroidectomy (85.3%) and postoperative RIT (79.4%). The recurrence rate was low, 2.9%; recurrent metastases were removed 0.7-6.3 years after the primary operation (**Table 3**).

Ki67 LI in sporadic PTCs, in contrast to radiogenic PTCs, was statistically significantly associated with a decrease in patient age at the time of surgery (b=-0.245, p=0.029), but similarly to radiogenic PTCs, it was associated with a decrease in tumor size (b=-0.310, p=0.001), an increase in the frequency of dominant papillary growth pattern (OR=1.133, p=0.018), *BRAF*^{V600E} mutation (OR=1.179, p=0.003) and oncocyctic changes in

Table 2. Effect of Ki67 LI on clinicopathological characteristics in the *BRAF*^{V600E}-positive and *BRAF*^{V600E}-negative radiogenic PTCs from patients aged up to 29 years.

Parameters	<i>BRAF</i> ^{V600E} -positive, n=26		<i>BRAF</i> ^{V600E} -negative, n=210	
	b, OR or HR (95%CI) ^a	p-value	b, OR or HR (95%CI) ^a	p-value
Tumor size, mm	0.016 (-0.124-0.156)	0.813	-0.023 (-0.073-0.028)	0.375
Dominant growth pattern	1.031 (0.723-1.471)	0.865	0.901 (0.817-0.993)	0.036
Oncocyctic changes	1.083 (0.810-1.449)	0.591	1.107 (0.977-1.255)	0.110
Multifocality	1.252 (0.861-1.822)	0.24	0.992 (0.859-1.145)	0.912
Lymphatic/vascular invasion	0.754 (0.502-1.130)	0.172	1.011 (0.901-1.134)	0.858
Extrathyroidal extension (any)	0.834 (0.491-1.416)	0.501	0.984 (0.883-1.096)	0.766
N category (N1)	0.651 (0.378-1.122)	0.122	0.946 (0.848-1.056)	0.321
N1a	0.863 (0.580-1.284)	0.467	0.007 (0.881-1.150)	0.923
N1b	0.224 (0.031-1.595)	0.135	0.930 (0.819-1.055)	0.257
M category (M1)	0.770 (0.198-2.998)	0.706	0.974 (0.831-1.143)	0.749
Invasiveness score	0.802 (0.573-1.122)	0.198	0.978 (0.892-1.072)	0.634
Total thyroidectomy			1.713 (1.063-2.759)	0.027
Lymph node dissection	0.921 (0.680-1.246)	0.593	1.018 (0.915-1.132)	0.742
RIT performed	1.117 (0.826-1.512)	0.472	1.061 (0.917-1.228)	0.423
RAI-R recurrence vs other	NA ^b (n=0)	NA	1.551 (1.027-2.341)	0.037
Excellent RIT response vs other	1.068 (0.598-1.906)	0.824	0.804 (0.675-0.958)	0.014
LN recurrence	NA	NA	1.227 (1.005-1.499) ^c	0.038
LN recurrence	NA	NA	1.343 (1.114-1.609) ^d	0.001

Note: ^a – adjusted for age at operation and sex unless otherwise specified; ^b – not available; ^c – Cox proportional hazard model adjusted for patient age, sex, thyroid surgery volume and lymph node dissection; ^d – non-adjusted Cox proportional hazard model.

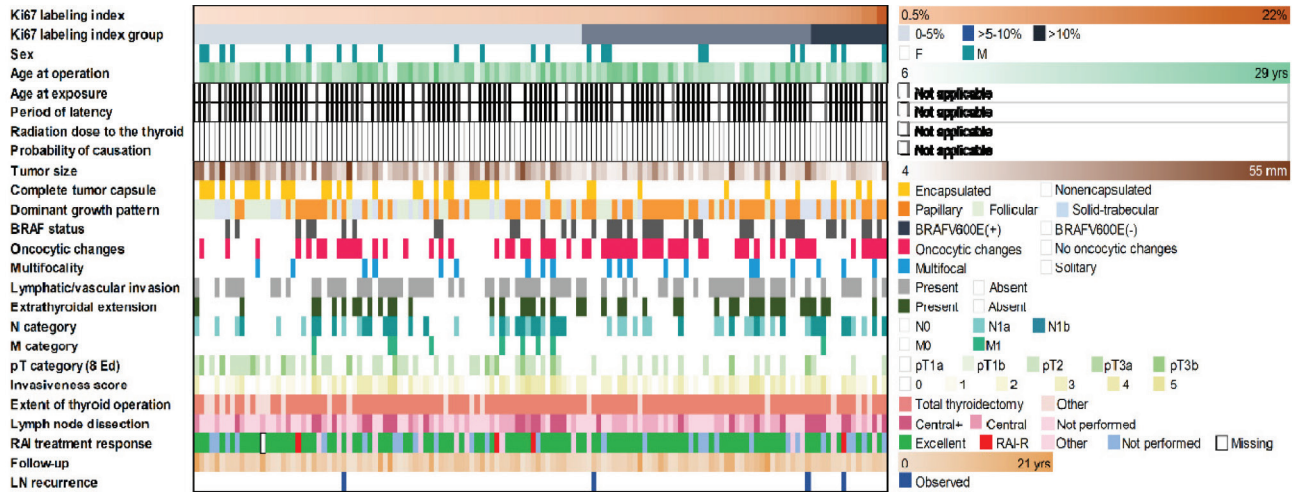


Fig. 2. Characteristics of 136 sporadic PTCs from patients aged up to 29 years

Table 3. Characteristics of 136 sporadic PTCs from patients aged up to 29 years by Ki67 LI.

Parameters	Number (%) or median (range; IQR)	OR, b or HR (95%CI) ^a	p-value
Sex F/M (%M, F:M ratio)	113/23 (16.9%; 4.9:1)	0.996 (0.883-1.125) ^b	0.955
Age at operation, years	17.5 (6.8-28.0; 14.5-22.3)	-0.245 (-0.465-0.026) ^c	0.029
Tumor size, mm	16 (4-55; 10-28)	-0.310 (-0.486-0.135)	0.001
Complete tumor capsule	37 (27.2%)	0.853 (0.739-0.985)	0.030
Dominant growth pattern		0.928 (0.847-1.016)	0.108
papillary	64 (47.1%)	1.133 (1.021-1.257)	0.018
follicular	37 (27.2%)	0.749 (0.626-0.896)	0.002
solid-trabecular	35 (25.7%)	1.018 (0.921-1.126)	0.721
Ki67 LI, %	4.7 (0.5-22.2; 2.8-7.2)	NA ^d	NA
0-5%	76 (55.9%)	NA	NA
>5-10%	45 (33.1%)	NA	NA
>10%	15 (11.0%)	NA	NA
BRAF ^{V600E} -positive	40 (29.4%)	1.179 (1.056-1.316)	0.003
Oncocytic changes	62 (45.6%)	1.137 (1.024-1.263)	0.016
Multifocality	20 (14.7%)	1.081 (0.958-1.220)	0.206
Lymphatic/vascular invasion	75 (55.1%)	0.964 (0.873-1.064)	0.465
Extrathyroidal extension (any)	43 (31.6%)	0.991 (0.896-1.097)	0.867
N category (N1)	57 (41.9%)	1.057 (0.961-1.162)	0.256
M category (M1)	9 (6.6%)	0.846 (0.660-1.085)	0.189
Invasiveness score	1 (0-4; 0-3)	1.013 (0.933-1.099)	0.761
Thyroid surgery volume			
total thyroidectomy	116 (85.3%)	1.102 (0.937-1.295)	0.240
organ-preserving operation	20 (14.7%)	0.907 (0.772-1.067)	0.024
Lymph node dissection	73 (53.7%)	1.033 (0.936-1.139)	0.519

Parameters	Number (%) or median (range; IQR)	OR, b or HR (95%CI) ^a	p-value
RIT performed, n=135	108 (79.4%)	1.060 (0.932-1.206)	0.372
RIT response, n=108		1.056 (0.900-1.240)	0.501
RAI-R recurrence vs other	4 (3.7%)	1.076 (0.876-1.322)	0.486
excellent vs other	90 (83.3%)	1.060 (0.901-1.247)	0.482
Follow-up, years	5.4 (0.01-21.0; 2.6-8.8)	0.112 (-0.654-0.878)	0.774
LN recurrence, n=126	4 (2.9%)	1.202 (0.908-1.536) ^e	0.135
LN recurrence, n=126	4 (2.9%)	1.174 (0.926-1.490) ^f	0.186
Time to recurrence, years	n=4; 1.3 (0.7-6.3; 0.8-4.0)	0.109 (NA-NA)	NA

Note: ^a – adjusted for age at operation and sex unless otherwise specified; ^b – adjusted for age at operation; ^c – adjusted for sex; ^d – not available; ^e – Cox proportional hazard model adjusted for patient age, sex, thyroid surgery volume and lymph node dissection; ^f – non-adjusted Cox proportional hazard model.

PTC cells (OR=1.137, p=0.016). Ki67 LI in sporadic PTCs, in agreement with observations in radiogenic tumors, did not affect any of the indicators of invasiveness, but in contrast to radiogenic PTCs, it did not reduce the frequency of complete remission (excellent *vs* other) in response to RIT (OR=1.060, p=0.482) and did not statistically significantly increase the chance of recurrence (HR=1.202, p=0.135, see **Table 3**).

Similarly to radiogenic PTCs, Ki67 LI in sporadic tumors was statistically significantly higher in the BRAF^{V600E}-positive PTCs (5.9%, IQR=4.3-8.7) than in the BRAF^{V600E}-negative tumors (4.1%, IQR=2.5-6.9, p=0.003).

Analysis of the Ki67 LI effects in the BRAF^{V600E}-positive and -negative subgroups of sporadic PTCs (**Table 4**) demonstrated that it was not associated with the structural, invasive and clinical characteristics, which is concordant with results in the radiogenic PTCs. Ki67 LI was also not associated with recurrence both in the BRAF^{V600E}-positive or in BRAF^{V600E}-negative PTCs despite the fact that three of the four recurrent sporadic PTCs, as shown in our previous studies [9, 10], were BRAF^{V600E}-positive. The only parameter that depended on Ki67 LI in sporadic PTCs was the increasing frequency of oncocyctic changes in the BRAF^{V600E}-negative PTC cells (OR=1.160, p=0.047).

Table 4. Effect of Ki67 LI on clinicopathological characteristics in the BRAF^{V600E}-positive and BRAF^{V600E}-negative sporadic PTCs from patients aged up to 29 years.

Parameters	BRAF ^{V600E} -positive, n=40		BRAF ^{V600E} -negative, n=96	
	b, OR or HR (95%CI) ^a	p-value	b, OR or HR (95%CI) ^a	p-value
Tumor size, mm	-0.702 (-1.418-0.014)	0.054	-0.491 (-1.268-0.284)	0.211
Dominant growth pattern	0.860 (0.647-1.098)	0.225	0.989 (0.884-1.108)	0.854
Oncocyctic changes	1.019 (0.866-1.199)	0.819	1.160 (1.002-1.342)	0.047
Multifocality	0.989 (0.791-1.237)	0.923	1.123 (0.942-1.139)	0.194
Lymphatic/vascular invasion	0.898 (0.747-1.078)	0.248	1.085 (0.934-1.261)	0.284
Extrathyroidal extension (any)	0.924 (0.751-1.137)	0.453	1.013 (0.886-1.157)	0.855
N category (N1)	0.942 (0.783-1.133)	0.526	1.127 (0.987-1.286)	0.077
N1a	0.962 (0.777-1.192)	0.723	0.999 (0.840-1.190)	0.995
N1b	0.924 (0.686-1.245)	0.604	1.139 (0.997-1.302)	0.056
M category (M1)	0.972 (0.746-1.268) ^b	0.706	0.872 (0.669-1.135)	0.307

End of the table 4

Parameters	BRAF ^{V600E} -positive, n=40		BRAF ^{V600E} -negative, n=96	
	b, OR or HR (95%CI) ^a	p-value	b, OR or HR (95%CI) ^a	p-value
Invasiveness score	0.909 (0.785-1.054)	0.207	1.069 (0.958-1.194)	0.233
Total thyroidectomy	0.736 (0.482-1.101)	0.136	1.204 (0.939-1.542)	0.143
Lymph node dissection	0.895 (0.741-1.082)	0.253	1.111 (0.967-1.277)	0.138
RIT performed	0.856 (0.666-1.102)	0.228	1.079 (0.915-1.273)	0.366
RAI-R recurrence vs other	0.987 (0.748-1.302)	0.928	1.547 (0.831-2.878)	0.168
Excellent RIT response vs other	1.168 (0.816-1.671)	0.396	1.005 (0.826-1.223)	0.957
LN recurrence	0.978 (0.545-2.052)	0.941	1.395 (0.808-5.039) ^c	0.432
LN recurrence	1.051 (0.679-1.411) ^c	0.778	3.981 (0.864-93.085) ^d	0.249

Note: ^a – adjusted for age at operation and sex unless otherwise specified; ^b – Firth's penalized logistic regression; ^c – Firth's penalized Cox proportional hazard model; ^d – Firth's penalized non-adjusted Cox proportional hazard model.

3. The effect of Ki67 LI on radiogenic PTCs from patients aged up to 49 years

All data collected or generated for patients aged up to 49 years with radiogenic PTCs are shown in **Fig. 3**.

Expansion of the radiogenic group size to 416 individuals by inclusion of patients aged at the time of surgery from 29 to 49 years (**Table 5**) led to an increase in their median age at operation to 26.5 (IQR=15.3-36.5) years, age at the time of the accident to 3.0 (IQR=1.0-7.0) years, latency period to 24.2 (IQR=13.0-29.6) years, and also to a decrease in ¹³¹I thyroid dose to 172 (IQR=63-454.0) mGy and POC level to 53.8 % (IQR=23.9-77.8%) as compared to the radiogenic group of younger patients (see **Table 1**). In line with our previous studies [11, 28], the longer latency period was associated with a higher frequency of PTCs with the dominant papillary growth pattern, oncocyctic changes and the BRAF^{V600E} mutation (up to 32.5%), and with a lower frequency of invasive features. Thyroidec-

tomy (92.5%) followed by RIT (79.3%) remained the main treatment approach. The recurrence rate remained virtually unchanged (3.4%), metastases were removed 0.7-9.4 years after primary surgery. Note however that the frequency of RAI-R metastases increased from 0.5% to 2.4% (see **Tables 1, 5**).

Analysis of the Ki67 LI effects on the clinicohistopathological characteristics of radiogenic PTCs from patients aged up to 49 years is shown in **Table 5** and **Fig. 4-6**. Ki67 LI was positively associated with age at the time of surgery, namely with adult patients aged 25 and older (**Fig. 4A**) and/or with adolescent and adult age groups (**Fig. 4B**), with age over 7 years at the time of the Chernobyl accident (**Fig. 4C**) and period of latency of 15-30 years (**Fig. 4D**). The probability of detecting radiogenic PTCs with Ki67 LI>10% in childhood cases was extremely low, approximately 5% (see **Fig. 4A, B**). Note that the probability of detecting PTCs in children aged up to 15 years in the sporadic group with Ki67 LI>10% was substantially higher – up to 60% (data

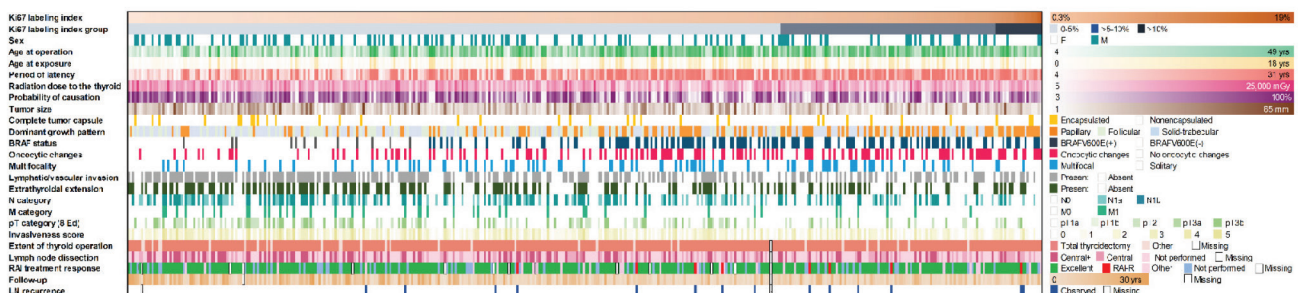


Fig. 3. Characteristics of 416 radiogenic PTCs from patients aged up to 49 years

Оригінальні дослідження

Table 5. Characteristics of 416 radiogenic PTCs from patients aged up to 49 years by Ki67 LI.

Parameters	Number (%) or median (range; IQR)	OR, b or HR (95%CI) ^a	p-value
Sex F/M (%M, F:M ratio)	292/124 (29.8%; 2.4:1)	0.960 (0.889-1.037) ^b	0.302
Age at operation, years	26.5 (4.2-49.1; 15.3-36.5)	0.261 (0.176-0.347) ^c	4.39E-09
Age at exposure, years	3.0 (1-18.6; 1.0-7.0)	0.040 (0.000-0.080) ^c	0.051
Period of latency, years	24.2 (3.8-31.2; 13.0-29.6)	0.407 (0.290-0.525) ^c	2.97E-11
Radiation dose to the thyroid, mGy	172 (6-24110; 63-454)	-0.036 (-0.060-0.011) ^c	0.004
POC, %	53.8 (1.3-99.5; 23.9-77.8)	-1.391 (-2.355-0.427) ^d	0.005
Tumor size, mm	15 (1-65; 10-24)	-0.054 (-0.085-0.023)	0.001
Complete tumor capsule	36 (8.7%)	1.029 (0.916-1.156)	0.626
Dominant growth pattern		1.146 (1.072-1.224)	5.57E-05
papillary	134 (32.2%)	1.210 (1.120-1.306)	1.00E-06
follicular	112 (26.9%)	0.855 (0.775-0.944)	0.002
solid-trabecular	170 (40.9%)	0.933 (0.867-1.003)	0.061
Ki67 LI, %	3.3 (0.3-18.7; 1.9-5.3)	NA	NA
0-5%	297 (71.4%)	NA	NA
>5-10%	98 (23.6%)	NA	NA
>10%	21 (5.0%)	NA	NA
BRAF ^{V600E} -positive	135 (32.5%)	1.162 (1.069-1.263)	4.01E-04
Oncocytic changes	138 (33.2%)	1.154 (1.069-1.245)	2.27E-04
Multifocality	85 (20.4%)	0.971 (0.889-1.060)	0.508
Lymphatic/vascular invasion	230 (55.3%)	0.935 (0.871-1.005)	0.068
Extrathyroidal extension (any)	169 (40.6%)	0.939 (0.872-1.012)	0.099
N category (N1)	183 (44.0%)	0.933 (0.868-1.004)	0.063
M category (M1)	41 (9.9%)	0.935 (0.808-1.082)	0.365
Invasiveness score	2 (0-5; 0-3)	0.927 (0.872-0.985)	0.014
Thyroid surgery volume, n=415			
total thyroidectomy	384 (92.5%)	1.250 (1.029-1.518)	0.024
organ-preserving operation	31 (7.5%)	0.800 (0.659-0.971)	0.024
Lymph node dissection, n=415	220 (53.0%)	1.004 (0.928-1.075)	0.902
RIT performed	330 (79.3%)	1.085 (0.987-1.193)	0.091
RIT response, n=330		0.914 (0.826-1.011)	0.081
RAI-R recurrence vs other	8 (2.4%)	1.100 (0.899-1.346)	0.352
excellent vs other	291 (88.2%)	0.907 (0.819-1.005)	0.061
Follow-up, years, n=414	5.4 (0.01-27.9; 3.1-14.1)	-0.466 (-0.672-0.261)	1.10E-05
LN recurrence, n=398	14 (3.4%)	1.192 (1.030-1.381) ^e	0.019
LN recurrence, n=398	14 (3.4%)	1.186 (1.049-1.341) ^f	0.006
Time to recurrence, years, n=14	1.7 (0.7-9.4; 0.9-3.0)	0.824 (-0.916-2.564)	0.316

Note: ^a – adjusted for age at operation and sex unless otherwise specified; ^b – adjusted for age at operation; ^c – adjusted for sex; ^d – non-adjusted; ^e – Cox proportional hazard model adjusted for patient age, sex, thyroid surgery volume and lymph node dissection; ^f – non-adjusted Cox proportional hazard model.

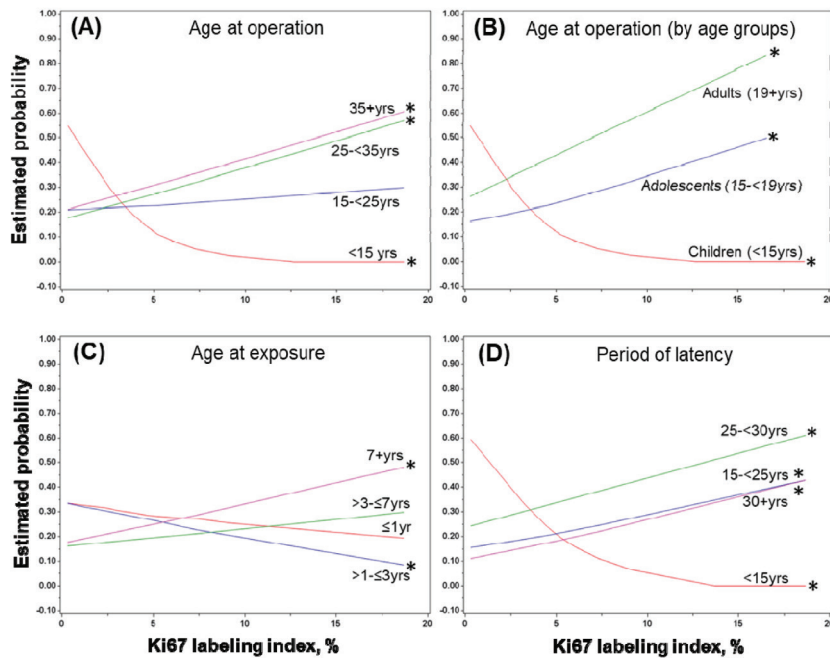


Fig. 4. Association of Ki67 LI with (A, B) age at operation, (C) age at exposure and (D) period of latency in 416 patients aged up to 49 years with radiogenic PTCs.

Note: Asterisks indicate statistical significance.

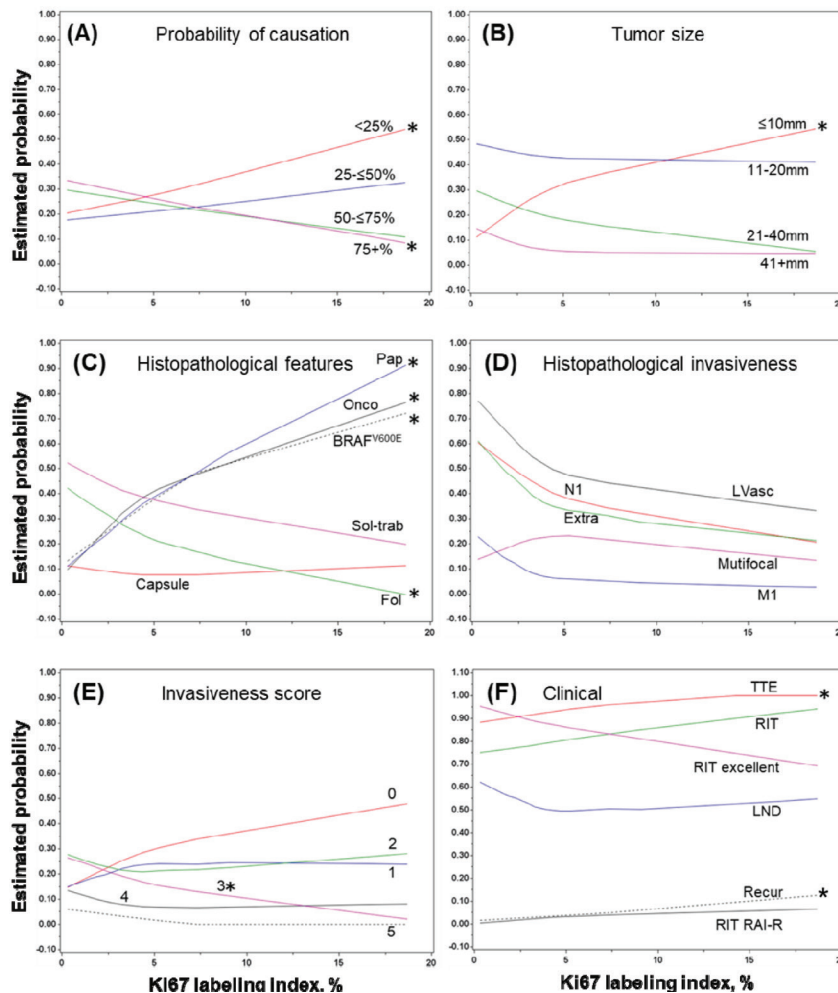


Fig. 5. Association of Ki67 LI with (A) probability of tumor causation due to radiation exposure, (B) tumor size, (C) histopathological features, (D) histopathological invasiveness, (E) invasiveness score and (F) clinical parameters of 416 radiogenic PTCs from patients aged up to 49 years.

Note: Asterisks indicate statistical significance.

Оригінальні дослідження

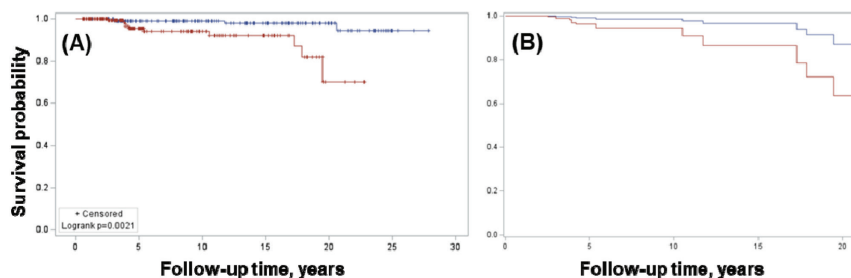


Fig. 6. Effect of Ki67 LI on disease-free survival in the Ki67 $\leq 3.5\%$ (blue lines) and $> 3.5\%$ (red lines) subgroups of 398 patients with radiogenic PTCs aged up to 49 years with available follow-up data. (A) The Kaplan-Meier survival estimates ($p=0.002$, the logrank test), vertical dashes indicate censored observations. (B) Disease-free survival functions computed using a proportional hazard model adjusted for age at surgery and sex (HR=4.444 (1.334-18.035), $p=0.022$).

not shown). As presented in **Table 5**, with a Ki67 LI increase, a decrease in POC level was observed ($b=-0.029$, $p=0.044$), likely due to the changes in its components, namely, an increase in patient age at the time of surgery ($b=0.261$, $p=4.39\text{E-}09$) and a decrease in ^{131}I thyroid dose ($b=-0.036$, $p=0.004$).

Estimated probability of detecting PTC with Ki67 LI greater than 10% and POC level greater than 75% was less than 20% (**Fig. 5A**). A higher Ki67 LI was also associated with a decrease in tumor size ($b=-0.054$, $p=0.001$) in parallel with a significant increase in the probability of detecting PTCs up to 10 mm in size, i.e. microcarcinoma (**Fig. 5B**), with a higher frequency of tumors with the dominant papillary growth pattern (OR=1.210, $p=1.00\text{E-}06$), oncocyctic changes (OR=1.154, $p=2.27\text{E-}04$) and the *BRAF*^{V600E} mutation (OR=1.162, $p=4.01\text{E-}04$) (**Fig. 5C**). At the same time, the invasive properties of PTC did not change significantly with increasing Ki67 LI (see **Table 5** and **Fig. 5D, E**), except for a statistically significant lower probability of detecting tumors with an invasiveness score of ≤ 3 . Among the clinical characteristics (**Fig. 5F**), there was a positive association of a higher Ki67 LI with thyroidectomy (OR=1.250, $p=0.024$) and the chance of recurrence (HR=1.1929, $p=0.019$, see **Table 5**).

Our analysis of disease-free survival using the Kaplan-Meier method (**Fig. 6A**) and the proportional hazard model (**Fig. 6B**) showed that, despite the relatively low frequency of recurrences, the Ki67 LI level higher than 3.5% in the given group of radiogenic PTCs was a statistically significant risk factor.

Ki67 LI in the *BRAF*^{V600E}-positive tumors (4.6%, IQR=3.6-6.3%, very close to that in patients aged up to 29 years), significantly exceeded KI67 LI in the *BRAF*^{V600E}-negative tumors (2.7%, IQR=1.6-4.6%, $p=1.43\text{E-}13$). Analysis of the Ki67 LI effects in the *BRAF*^{V600E} status subgroups showed that the

increase in proliferative activity in the *BRAF*^{V600E}-positive tumors (**Table 6; Fig. 7A, 7C, 8A, 8C, 8E; 9A, 9C**) did not lead to statistically significant changes in their structural, invasive and clinical characteristics (similarly to the effects in patients aged up to 29 years, see **Table 2**), except for a lower probability of the dominant follicular growth pattern (see **Fig. 7C**), and invasiveness score of ≤ 3 (**Fig. 8C**).

In contrast, an increase of Ki67 LI in the *BRAF*^{V600E}-negative PTCs (see **Table 6, Figs. 7B, 7D; 8B, 8D, 8F; 9B, 9D**) significantly contributed to the behavior of radiogenic tumors (see **Table 5, Figs. 4, 5, 6**), similarly to the changes in the whole groups of young/middle age patients (see **Table 1**). Specifically, in the *BRAF*^{V600E}-negative PTCs, a higher Ki67 LI was associated with an increased probability of detection of microcarcinomas (see **Fig. 7B**), with a higher frequency of tumors with the dominant papillary growth pattern and oncocyctic changes (see **Fig. 7D**), with a higher risk of recurrence and the decreased frequency of excellent response to RIT (see **Fig. 8F**), and with a lower disease-free survival of patients with radiogenic PTC under the age of 49 years at the Ki67 LI cut-off of 3.7% (see **Figs. 9B, 9D**).

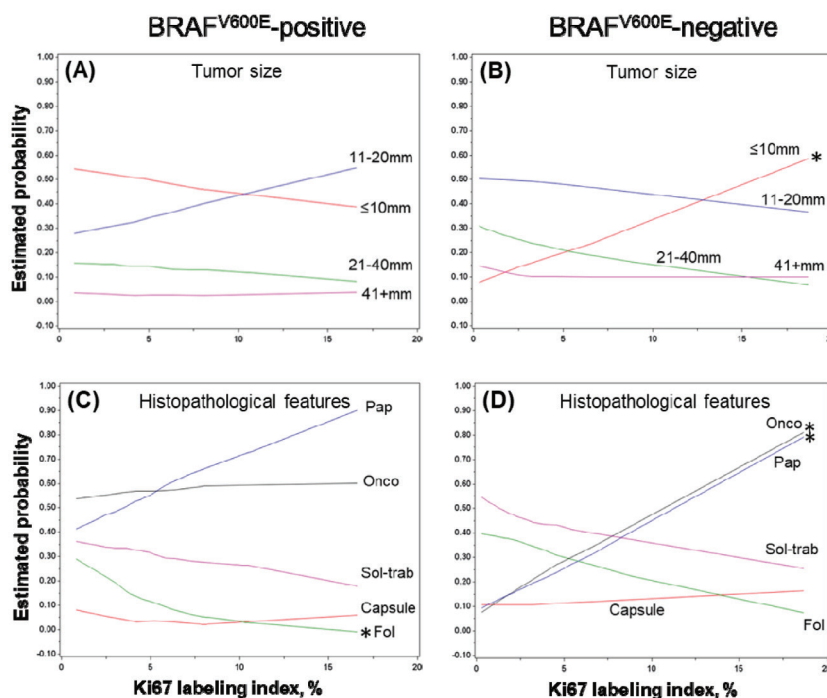
The results of our study demonstrate that Ki67 LI level, both in the radiogenic and sporadic PTCs from young patients aged up to 29 years, was associated with a smaller tumor size, more frequent papillary growth pattern, oncocyctic changes in tumor cells and the *BRAF*^{V600E} mutation, but did not affect the probability of more frequent appearance of invasive PTC features such as extrathyroidal extension, lymph node metastases, multifocality, and lymphatic/vascular invasion (see **Tables 1, 3**), which is at variance with the literature data on sporadic PTCs in older patients [29-31].

Note that, as our previous studies showed [32-34], radiogenic PTCs in young patients who were

Table 6. Effect of Ki67 LI on clinicopathological characteristics in the BRAF^{V600E}-positive and BRAF^{V600E}-negative radiogenic PTCs from patients aged up to 49 years.

Parameters	BRAF ^{V600E} -positive, n=135		BRAF ^{V600E} -negative, n=281	
	b, OR or HR (95%CI) ^a	p-value	b, OR or HR (95%CI) ^a	p-value
Tumor size, mm	-0.014 (-0.224-0.196)	0.897	-0.078 (-0.195-0.039)	0.191
Dominant growth pattern	0.904 (0.792-1.031)	0.134	0.891 (0.822-0.965)	0.005
Oncocytic changes	1.042 (0.919-1.181)	0.52	1.180 (1.069-1.303)	0.001
Multifocality	0.873 (0.746-1.021)	0.089	0.996 (0.889-1.117)	0.948
Lymphatic/vascular invasion	0.917 (0.800-1.052)	0.217	0.973 (0.889-1.065)	0.552
Extrathyroidal extension (any)	0.939 (0.813-1.084)	0.387	0.955 (0.872-1.047)	0.326
N category (N1)	0.936 (0.817-1.072)	0.337	0.945 (0.864-1.035)	0.222
N1a	0.980 (0.833-1.152)	0.804	0.985 (0.874-1.109)	0.798
N1b	0.910 (0.753-1.100)	0.329	0.946 (0.854-1.048)	0.289
M category (M1)	1.093 (0.733-1.629)	0.662	0.936 (0.800-1.096)	0.413
Invasiveness score	0.905 (0.809-1.013)	0.084	0.947 (0.878-1.021)	0.156
Total thyroidectomy	1.101 (0.752-1.614)	0.621	1.254 (1.004-1.566)	0.046
Lymph node dissection	1.000 (0.885-1.129)	0.997	1.010 (0.926-1.101)	0.825
RIT performed	1.128 (0.937-1.358)	0.203	1.085 (0.967-1.217)	0.166
RAI-R recurrence vs other	0.910 (0.634-1.306)	0.609	1.268 (0.968-1.660)	0.085
Excellent RIT response vs other	1.015 (0.836-1.234)	0.878	0.865 (0.762-0.981)	0.024
LN recurrence	0.970 (0.642-1.467) ^b	0.886	1.225 (1.023-1.466) ^b	0.027
LN recurrence	0.948 (0.697-1.289) ^c	0.733	1.312 (1.111-1.551) ^c	0.001

Note: ^a – djusted for age at operation and sex unless otherwise specified; ^b – Cox proportional hazard model adjusted for patient age, sex, thyroid surgery volume and lymph node dissection; ^c – non-adjusted Cox proportional hazard model.

**Fig. 7.** Association of Ki67 LI with (A, B) tumor size and (C, D) histopathological features of (A, C) 135 BRAFV600E-positive and (B, D) 281 BRAFV600E-negative radiogenic PTCs from patients aged up to 49 years.

Note: Asterisks indicate statistical significance.

Оригінальні дослідження

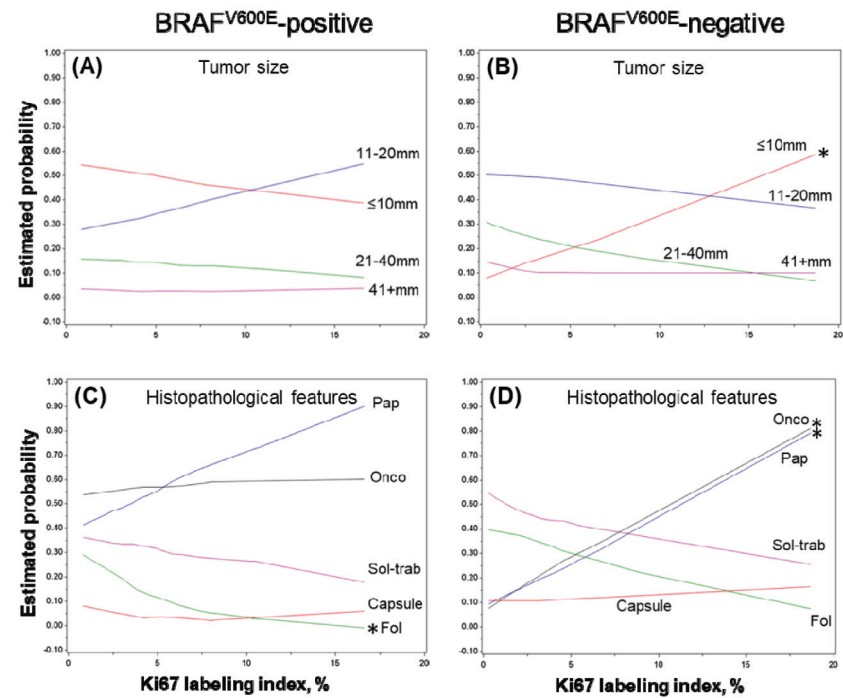


Fig. 7. Association of Ki67 LI with (A, B) tumor size and (C, D) histopathological features of (A, C) 135 BRAFV600E-positive and (B, D) 281 BRAFV600E-negative radiogenic PTCs from patients aged up to 49 years.

Note: Asterisks indicate statistical significance.

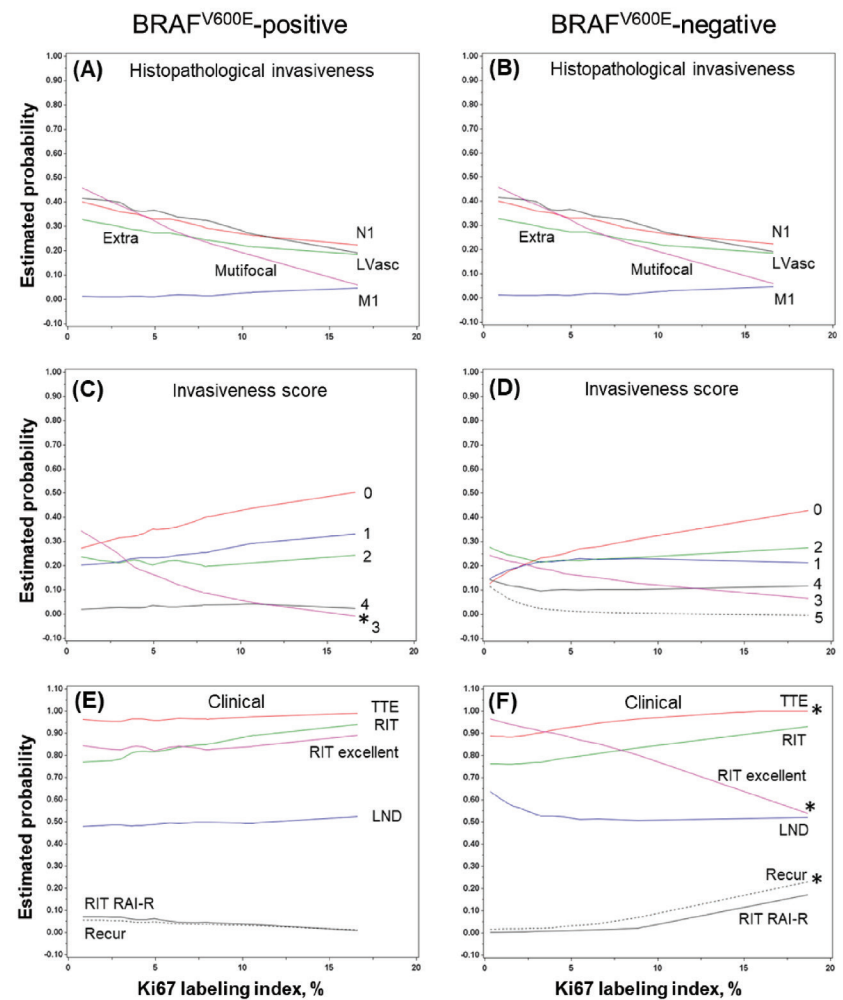


Fig. 8. Association of Ki67 LI with (A, B) histopathological invasiveness, (C, D) invasiveness score and (E, F) clinical parameters of the (A, C, E) 135 BRAFV600E-positive and (B, D, F) 281 BRAFV600E-negative radiogenic PTCs from patients aged up to 49 years.

Note: Asterisks indicate statistical significance.

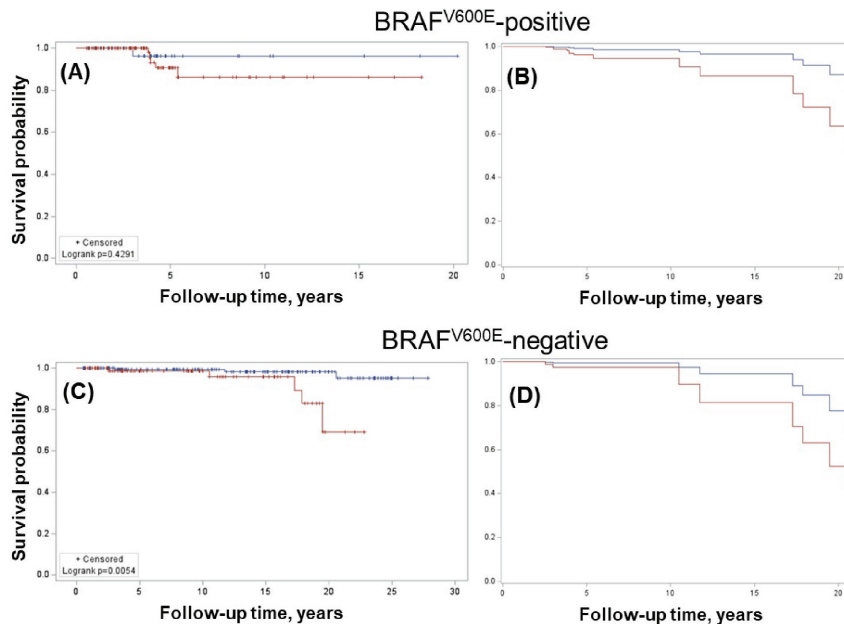


Fig. 9. Effect of Ki67 LI on disease-free survival in the Ki67 $\leq 3.7\%$ (blue lines) and $> 3.7\%$ (red lines) subgroups of (A, B) 132 patients with the BRAF^{V600E}-positive and 266 BRAF^{V600E}-negative radiogenic PTCs aged up to 49 years with available follow-up data. (A, C) The Kaplan-Meier survival estimates ($p=0.429$ for the BRAF^{V600E}-positive PTCs and $p=0.005$ for the BRAF^{V600E}-negative PTCs, the logrank test), vertical dashes indicate censored observations. (B, D) Disease-free survival functions computed using proportional hazard models adjusted for age at surgery and sex (HR=3.118 (0.473-61.234), $p=0.310$ for the BRAF^{V600E}-positive PTCs and HR=4.717 (1.040-25.640), $p=0.049$ for the BRAF^{V600E}-negative PTCs).

exposed to Chornobyl fallout in childhood differed from sporadic tumors in terms of more aggressive behavior, but as evidenced by the newly obtained data, this was not associated with an increase in Ki67 LI. Nevertheless, an increase in Ki67 LI in radiogenic PTCs, in contrast to that in sporadic ones, did affect the probability of disease recurrence (see **Tables 1, 3**), and, of importance, only in the BRAF^{V600E}-negative PTCs (see **Tables 2, 4**). Note that the BRAF^{V600E}-negative PTCs display a more aggressive behavior as compared with the BRAF^{V600E}-positive tumors in PTCs of either etiology [9, 10].

It is also important to emphasize that in the expanded group of patients with radiogenic PTCs (aged up to 49 years at the time of surgery), the frequency of BRAF^{V600E} was nearly 3 times higher than that in young patients (see **Tables 1, 5**). According to our previous study, the BRAF^{V600E} mutation was a risk factor for the RAI-R recurrent metastases [11]. Despite the BRAF^{V600E}-positivity strongly associates with elevated Ki67 LI, the current study shows that the latter does not affect the risk of recurrence nor it associates with the RAI-R recurrent metastases in the BRAF^{V600E}-positive PTCs (see **Table 6, Fig. 8E**). As in the young subjects, the increased Ki67 LI worsened prognostic indicators exclusively in the BRAF^{V600E}-negative PTCs in the middle-aged patients. With this in mind, note that recurrent BRAF^{V600E}-negative PTCs which were described in detail in our previous work [11, Supplementary

Table 2] demonstrated a significantly stronger association with radiation exposure than the recurrent BRAF^{V600E}-positive tumors in terms of higher POC level and ¹³¹I thyroid dose. It therefore seems appropriate, in order to optimize follow-up of patients who were exposed to Chornobyl radiation in childhood and have BRAF^{V600E}-negative PTCs (especially of the papillary structure with oncocytic changes), to recommend an additional IHC study with an antibody to Ki67 (MIB-1) which is available in most pathological laboratories of Ukraine. This may provide additional information regarding the chance of recurrence and its response to RAI therapy.

Conclusions

Ki67 LI in radiogenic and sporadic PTC of young patients aged up to 29 years was associated with the dominant papillary growth pattern, oncocytic changes and a more frequent BRAF^{V600E} mutation. Similar associations were found in radiogenic PTCs from patients aged up to 49 years.

In radiogenic PTCs, in contrast to sporadic ones, an increase in Ki67 LI was associated with a worse postoperative prognosis, namely with an increase in the chance of recurrence and of development of RAI-R recurrent metastases; this again was observed exclusively in the BRAF^{V600E}-negative tumors.

The BRAF^{V600E}-positive PTCs, regardless of their etiology, were associated with a higher Ki67

Оригінальні дослідження

LI as compared to the BRAF^{V600E}-negative tumors, but the Ki67 LI increase did not affect the clinico-histopathological characteristics of PTCs and the disease prognosis.

References

- Nakayama H, Yoshida A, Nakamura Y, Hayashi H, Miyagi Y, Wada N, et al. Clinical significance of BRAF (V600E) mutation and Ki-67 labeling index in papillary thyroid carcinomas. *Anticancer Res.* 2007 Sep-Oct;27(5B):3645-9.
- Wang M, Wu WD, Chen GM, Chou SL, Dai XM, Xu JM, et al. Could tumor size be a predictor for papillary thyroid microcarcinoma: a retrospective cohort study. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(18):8625-8. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.18.8625.
- Zhou Y, Jiang HG, Lu N, Lu BH, Chen ZH. Expression of ki67 in papillary thyroid microcarcinoma and its clinical significance. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(4):1605-8. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.4.1605.
- Avdalyan AM, Ivanov AA, Lushnikova EL, Molodykh OP, Vikhlyanov IV. The relationship of immunexpression of Ki-67 and Hsp70 with clinical and morphological parameters and prognosis of papillary thyroid cancer. *Bull Exp Biol Med.* 2020 Mar;168(5):688-93. doi: 10.1007/s10517-020-04781-1.
- Ito Y, Miyauchi A, Kakudo K, Hirokawa M, Kobayashi K, Miya A. Prognostic significance of ki-67 labeling index in papillary thyroid carcinoma. *World J Surg.* 2010 Dec;34(12):3015-21. doi: 10.1007/s00268-010-0746-3.
- Miyauchi A, Kudo T, Hirokawa M, Ito Y, Kihara M, Higashiyama T, et al. Ki-67 labeling index is a predictor of postoperative persistent disease and cancer growth and a prognostic indicator in papillary thyroid carcinoma. *Eur Thyroid J.* 2013 Mar;2(1):57-64. doi: 10.1159/000347148.
- Hirokawa M, Kudo T, Ota H, Suzuki A, Miyauchi A. Pathological characteristics of low-risk papillary thyroid microcarcinoma with progression during active surveillance. *Endocr J.* 2016 Sep 30;63(9):805-10. doi: 10.1507/endocrj.EJ16-0097.
- Tanaka A, Matsuse M, Saenko V, Nakao T, Yamanouchi K, Sakimura C, et al. *TERT* mRNA expression as a novel prognostic marker in papillary thyroid carcinomas. *Thyroid.* 2019 Aug;29(8):1105-14. doi: 10.1089/thy.2018.0695.
- Zurnadzyh LY, Rogounovitch TI, Saenko VO, Bolgov MYu, Masiuk SV, Burko SV, et al. Comparative immunohistochemical study of BRAF^{V600E} positive and BRAF^{V600E} negative radiogenic and sporadic papillary thyroid carcinomas. *Endokrynologia.* 2021;26(2): 105-18. doi: 10.31793/1680-1466.2021.26-2.105 (In Ukrainian).
- Zurnadzyh L, Bogdanova T, Rogounovitch TI, Ito M, Tronko M, Yamashita S, et al. The BRAF^{V600E} mutation is not a risk factor for more aggressive tumor behavior in radiogenic and sporadic papillary thyroid carcinoma at a young age. *Cancers (Basel).* 2021 Nov 30;13(23):6038. doi: 10.3390/cancers13236038.
- Zurnadzyh L, Bogdanova T, Rogounovitch TI, Ito M, Tronko M, Yamashita S, et al. Clinicopathological implications of the BRAF^{V600E} mutation in papillary thyroid carcinoma of Ukrainian patients exposed to the Chernobyl radiation in childhood: a study for 30 years after the accident. *Front Med (Lausanne).* 2022 Apr 26;9:882727. doi: 10.3389/fmed.2022.882727.
- Siironen P, Nordling S, Louhimo J, Haapiainen R, Haglund C. Immunohistochemical expression of Bcl-2, Ki-67, and p21 in patients with papillary thyroid cancer. *Tumour Biol.* 2005 Jan-Feb;26(1):50-6. doi: 10.1159/000084340.
- Huang L, Wang X, Huang X, Gui H, Li Y, Chen Q, et al. Diagnostic significance of CK19, galectin-3, CD56, TPO and Ki67 expression and BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma. *Oncol Lett.* 2018 Apr;15(4):4269-77. doi: 10.3892/ol.2018.7873.
- Lloyd RV, Osamura RY, Kloppel G, Rosai J, editors. WHO classification of tumours of endocrine organs: 4th edition. Lyon: IARC Press; 2017. 355 p. ISBN 978-92-832-4493-6.
- Thomas GA, Williams ED, Becker DV, Bogdanova TI, Demidchik EP, Lushnikov E, et al. Chernobyl tumor bank. *Thyroid.* 2000 Dec;10(12):1126-7. doi: 10.1089/thy.2000.10.1126a.
- Thomas GA. The Chernobyl Tissue Bank: integrating research on radiation-induced thyroid cancer. *J Radiol Prot.* 2012 Mar;32(1):N77-80. doi: 10.1088/0952-4746/32/1/N77.
- Brierley JD, Gospodarowich MK, Wittekind C, editors. TNM classification of malignant tumours. 8th edition. Oxford:Wiley-Blackwell;2017.233 p. ISBN 9781119263548 (Adobe PDF).
- Bogdanova T, Zurnadzyh L, Masiuk S, Burko S, Degtyarova T, Kovalenko A, et al. Histopathological characteristics and post-operative follow-up of patients with potentially radiogenic papillary thyroid carcinoma depending on oncocyctic changes availability in the tumor cells. *Exp Oncol.* 2019 Sep;41(3):235-41. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-41-no-3.13554.
- Bogdanova TI, Saenko VA, Hashimoto Y, Hirokawa M, Zurnadzyh LY, Hayashi T, et al. Papillary thyroid carcinoma in Ukraine After Chernobyl and in Japan after Fukushima: different histopathological scenarios. *Thyroid.* 2021 Sep;31(9):1322-34. doi: 10.1089/thy.2020.0308.
- Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, et al. 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: The American Thyroid Association guidelines task force on thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid.* 2016 Jan;26(1):1-133. doi: 10.1089/thy.2015.0020.
- Luster M, Aktolun C, Amendoeira I, Barczyński M, Bible KC, Duntas LH, et al. European perspective on 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: Proceedings of an Interactive International Symposium. *Thyroid.* 2019 Jan;29(1):7-26. doi: 10.1089/thy.2017.0129.
- Gulec SA, Ahuja S, Avram AM, Bernet VJ, Bourguet P, Draganescu C, et al. A joint statement from the American Thyroid Association, the European Association of Nuclear Medicine, the European Thyroid Association, the Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging on current diagnostic and theranostic approaches in the management of thyroid cancer. *Thyroid.* 2021 Jul;31(7):1009-19. doi: 10.1089/thy.2020.0826.
- Nakao T, Matsuse M, Saenko V, Rogounovitch T, Tanaka A, Suzuki K, et al. Preoperative detection of the TERT promoter mutations in papillary thyroid carcinomas. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2021 Nov;95(5):790-9. doi: 10.1111/cen.14567.
- Likhtarov I, Thomas G, Kovgan L, Masiuk S, Chepurny M, Ivanova O et al. Reconstruction of individual thyroid doses to the Ukrainian subjects enrolled in the Chernobyl Tissue Bank. *Radiat Prot Dosimetry.* 2013;156:407-23. doi: 10.1093/rpd/nct096.
- US NIH/NCI Division of Cancer Epidemiology and Genetics. Interactive Radioepidemiological Program – probability of cancer causation from radiation version 5.7.1. <https://radiationcalculators.cancer.gov/irep>. [Accessed December 14, 2021].
- Kocher DC, Apostolaei AI, Henshaw RW, Hoffman FO, Schubauer-Berigan MK, Stancescu DO, et al. Interactive RadioEpidemiological Program (IREP): a web-based tool for estimating probability of causation/assigned share of radiogenic cancers. *Health Phys.* 2008 Jul;95(1):119-47. doi: 10.1097/01.HP.00000291191.49583.f7.
- Bogdanova T, Chernyshov S, Zurnadzyh L, Rogounovitch TI, Mitsutake N, Tronko M, et al. The relationship of the clinico-pathological characteristics and treatment results of post-Chernobyl papillary thyroid microcarcinomas with the latency period and radiation exposure. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022 Dec 14;13:1078258. doi: 10.3389/fendo.2022.1078258.
- Bogdanova T, Saenko V, Shpak V, Zurnadzyh L, Voskoboinyk L, Dekhtyarova T, et al. Long-term analysis of the incidence and histopathology of thyroid cancer in Ukraine in adult patients who were children and adolescents at the time of the Chernobyl accident. In: Yamashita S, Thomas G, eds. *Thyroid cancer and nuclear accidents – long term after effects of Chernobyl and Fukushima*. Elsevier, Amsterdam; 2017:67-76. ISBN: 978-0-12-812768-1.
- Pan DH, Wen DY, Luo YH, Chen G, Yang H, Chen JQ, et al. The diagnostic and prognostic values of Ki-67/MIB-1 expression in thyroid cancer: a meta-analysis with 6,051 cases. *Onco Targets Ther.* 2017 Jul 3;10:3261-76. doi: 10.2147/OTT.S135593.
- Lei Y, Zhao X, Feng Y, He D, Hu D, Min Y. The value of Ki-67 labeling index in central lymph node metastasis and survival of papillary thyroid carcinoma: evidence from the clinical and molecular analyses. *Cancer Control.* 2023;30. doi: 10.1177/10732748231155701.

31. Lindfors H, Karlson M, Karlton E, Zedenius J, Larsson C, Ihre Lundgren C, et al. Thyroglobulin expression, Ki-67 index, and lymph node ratio in the prognostic assessment of papillary thyroid cancer. *Sci Rep*. 2023 Jan 19;13(1):1070. doi: 10.1038/s41598-023-27684-3.
32. Bogdanova TI, Saenko VO, Brenner AV, Zurnadzhy LY, Rogounovitch TI, Likhtarov IA, et al. Comparative histopathologic analysis of «radiogenic» and «sporadic» papillary thyroid carcinoma: patients born before and after the Chernobyl accident. *Thyroid*. 2018 Jul;28(7):880-90. doi: 10.1089/thy.2017.0594.
33. Bogdanova TI, Saenko VA, Zurnadzhy LY, Rogounovitch TI, Ito M, Chernyshov SV, et al. Chapter 70. Pathology of radiation-induced thyroid cancer: lessons from Chernobyl thyroid cancer study. In: Kakudo K, ed. *Thyroid FNA cytology. Differential diagnoses and pitfalls*, 2nd edition. 2019 Singapore: Springer, 549-64. ISBN 978-981-13-1896-2.
34. Bogdanova TI, Saenko VA, Hashimoto Y, Hirokawa M, Zurnadzhy LY, Hayashi T, et al. Papillary thyroid carcinoma in Ukraine after Chernobyl and in Japan after Fukushima: Different histopathological scenarios. *Thyroid*. 2021 Sep;31(9):1322-34. doi: 10.1089/thy.2020.0308.

Abbreviation

HR – hazard ratio
IEM – V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine
IHC – immunohistochemical
IQR – interquartile range
LI – labeling index
OR – odds ratio
POC – probability of causation
PTC – papillary thyroid carcinomas
RAI-R – radioiodine refractory
RIT – radioiodine therapy

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge the confirmation of Ukrainian diagnoses during 1998-2022 by the International Pathology Panel of the Chornobyl Tissue Bank, which was supported by National Cancer Institute grant number U24CA082102: Professors A. Abrosimov, T. Bogdanova, G. Fadda, J. Hunt, M. Ito, V. Livolsi, J. Rosai, E.D. Williams, Dr. N. Dvinskyh and Dr. L. Zurnadzhy.

Вплив підвищення Ki67 проліферативного індексу на клініко-гістопатологічні показники радіогенних і спорадичних папілярних тиреоїдних карцином залежно від BRAF^{V600E} статусу

Т.І. Богданова^{1,2†}, Л.Ю. Зурнаджи^{1,2†}, В.О. Саєнко^{2†}, М.Ю. Болгов¹, С.В. Масюк³, С.В. Бурко¹, Т.Л. Дегтярьова¹, С.В. Чернишов¹, С.В. Гулеватий¹, М. Іто⁴, Т.І. Рагунович², М.Д. Тронько¹

¹ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

²Інститут захворювань, пов'язаних із наслідками вибуху атомної бомби, університету Нагасакі (Японія)

³ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини, гематології та онкології НАМН України»

⁴Медичний Центр Нагасакі (Японія)

† Ці автори зробили рівний внесок у цю роботу

Резюме. У папілярних тиреоїдних карциномах (ПТК) Ki67 проліферативний індекс (ПІ) має прогностичне значення щодо розвитку метастазів та їхніх рецидивів, однак неясно чи розповсюджується це на пацієнтів, опромінених у дитинстві. **Мета** – визначити чи існують певні асоціації між Ki67 ПІ та клініко-гістопатологічними характеристиками радіогенних і спорадичних ПТК, видалених у пацієнтів різного віку та чи залежать такі можливі асоціації від BRAF^{V600E} статусу пухлини. **Матеріал і методи.** Аналіз клініко-гістопатологічних та імуногістохімічних досліджень 552 ПТК (416 радіогенних і 136 спорадичних) з використанням багатфакторних моделей логістичної та лінійної регресії. **Результати.** У радіогенних ПТК пацієнтів віком до 29 років підвищення Ki67 ПІ асоційовано зі збільшенням частот домінантної папілярної будови (відношення шансів (ВШ)=1,208, p=5,34E-04), BRAF^{V600E} мутації (ВШ=1,183, p=0,0007) та онкоцитарних змін (ВШ=1,120, p=0,044), а також із ризиком рецидивів (коефіцієнт ризику (КР)=1,249, p=0,033). Збільшення Ki67 ПІ в BRAF^{V600E}-позитивних пухлинах не призводило до суттєвих змін патологічних і клінічних характеристик ПТК, але в BRAF^{V600E}-негативних пухлинах було асоційовано з ризиком розвитку рецидивних метастазів (КР=1,227, p=0,038), зокрема й радіоїодрезистентних (ВШ=1,551, p=0,037). Вплив Ki67 ПІ на показники спорадичних ПТК пацієнтів такої ж вікової групи був подібним за більшістю змінних, але був відсутнім щодо ризику рецидивів як у цілому по групі, так і в BRAF^{V600E}-позитивних чи BRAF^{V600E}-негативних ПТК. У пацієнтів віком до 49 років із радіогенною ПТК ефект Ki67 ПІ співпадав із визначеним у молодших пацієнтів. **Висновки.** У радіогенних ПТК, на відміну від спорадичних, підвищення Ki67 ПІ пов'язано з гіршим післяопераційним прогнозом, а саме зі збільшенням ймовірності розвитку рецидивів метастазів, зокрема й радіоїодрезистентних, що асоційовано, у свою чергу, виключно з BRAF^{V600E}-негативним статусом пухлини. У BRAF^{V600E}-позитивних ПТК, незалежно від їхньої етіології, підвищення Ki67 ПІ не впливало на клініко-гістопатологічні показники ПТК і прогноз захворювання.

Ключові слова: папілярна тиреоїдна карцинома, Чорнобильська аварія, Ki67 проліферативний індекс, BRAF^{V600E} мутація, імуногістохімічне дослідження.

Для цитування: Богданова ТІ, Зурнаджи ЛЮ, Саєнко ВО, Болгов МЮ, Масюк СВ, Бурко СВ, Дегтярьова ТЛ, Чернишов СВ, Гулеватий СВ, Іто М, Рагунович ТІ, Тронько МД. Вплив підвищення Ki67 проліферативного індексу на клініко-гістопатологічні показники радіогенних і спорадичних папілярних тиреоїдних карцином залежно від BRAF^{V600E} статусу. *Ендокринологія*. 2024;29(2):101-118. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.101.

Адреса для листування: Богданова Тетяна Іванівна, tutlabogdanova1948@gmail.com; ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна.

Відомості про авторів: Богданова Тетяна Іванівна, д-рка біол. наук, проф., завідувачка лабораторії морфології ендокринної системи ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0001-5119-0236; Зурнаджи Людмила Юліївна, канд. мед. наук, ст. дослідн., пров. наук. співроб. лабораторії морфології ендокринної системи ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0001-5138-4532; Саєнко Володимир Олександрович, канд. біол. наук, асоційов. проф. відділу радіаційної молекулярної епідеміології Інституту захворювань, пов'язаних із наслідками вибуху атомної бомби університету Нагасакі, Японія, ORCID: 0000-0003-2844-3121; Болгов Михайло Юрійович, д-р мед. наук, проф., пров. завідувач відділу хірургії ендокринних залоз ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0002-9011-9982; Масюк Сергій Володимирович,

Оригінальні дослідження

канд. фіз-мат наук, завідувач лабораторії радіологічного захисту ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини, гематології та онкології НАМН України», ORCID: 0000-0002-2744-8046; Бурко Світлана Валентинівна, науков. співроб. лабораторії морфології ендокринної системи ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0001-7597-3008; Дегтярьова Тетяна Леонідівна, науков. співроб. лабораторії морфології ендокринної системи ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0003-4204-0003; Чернишов Сергій Вікторович, канд. мед. наук, ст. наук. співроб. відділу хірургії ендокринних залоз ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0003-3530-2124; Гулеватий Сергій Васильович, науков. співроб. лабораторії радіології та радіобіології ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0002-2382-2950; Іто Масахіро, MD, PhD, професор відділу діагностичної патології Національної клінічної організації Медичного Центру Нагасакі, Омура, Японія, ORCID: 0000-0001-9411-265X; Рагуновіч Тетяна Іванівна, MD, PhD, наук. співроб. відділу радіаційних медичних наук Інституту захворювань, пов'язаних із наслідками вибуху атомної бомби університету Нагасакі, Японія, ORCID: 0000-0002-0616-3383; Тронько Микола Дмитрович, д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН України, акад. НАМН України, завідувач відділу фундаментальної та прикладної ендокринології та директор ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0001-7421-0981.

Особистий внесок: Богданова Т.І. – ідея, дизайн дослідження, аналіз результатів, написання, оформлення, підготовка до друку статті; Зурнадзх Л.Ю. – участь у розробці концепції статті, перегляд та аналіз гістологічних препаратів, проведення імуногістохімічних досліджень і аналіз результатів, участь у написанні рукопису; Саєнко В.О. – статистичний аналіз результатів, підготовка рисунків, обговорення результатів, редагування англійського варіанта статті; Болгов М.Ю. – автоматизована підготовка електронної таблиці клінічних характеристик за власноручно розробленим алгоритмом; Масюк С.В. – дозиметричний супровід дослідження; Бурко С.В. – проведення гістологічних досліджень; Дегтярьова Т.І. – проведення гістологічних досліджень; Чернишов С.В. – аналіз клінічних даних; Гулеватий С.В. – аналіз результатів радіойодтерапії; Іто М. – обговорення отриманих результатів; Рагуновіч Т.І. – удпрацювання методики IGH виявлення мутованого BRAF^{V600E} протеїну, участь у проведенні імуногістохімічних досліджень; Тронько М.Д. – обговорення отриманих результатів.

Фінансування: дослідження проводилось у рамках бюджетного фінансування за планом науково-дослідних робіт ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» (№ державної реєстрації: 0122U000544) і за фінансової підтримки Інституту захворювань, пов'язаних із наслідками вибуху атомної бомби університету Нагасакі (Японія) та Програми спільного використання мережевого типу Науково-дослідного центру медичної науки про радіаційні катастрофи (Японія).

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 24.05.2024 р.; перероблена 31.05.2024 р.; прийнята до друку 24.06.2024 р.; надрукована 30.06.2024 р.

For citation: Bogdanova TI, Zurnadzhy LY, Saenko VO, Bolgov MYu, Masiuk SV, Burko SV, Degtyaryova TL, Chernyshov SV, Gulevatyi SV, Ito M, Rogounovitch TI, Tronko MD. Effect of Ki67 labeling index on clinicohistopathological characteristics of radiogenic and sporadic papillary thyroid carcinoma with regard to the BRAF^{V600E} mutational status. *Endokrynologia*. 2024;29(2):101-118. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.101.

Correspondence address: Bogdanova Tetiana Ivanivna, tutlabogdanova1948@gmail.com; SI «VP Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», Vyshgorodska Str., 69, Kyiv, 04114, Ukraine.

Information about the authors: Tetiana Ivanivna Bogdanova, Ph.D., Prof., Head of the Laboratory of Morphology of the Endocrine System of

the SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», ORCID: 0000-0001-5119-0236; Liudmyla Yuliivna Zurnadzhy, MD, Ph.D., Lead Researcher of Laboratory of Morphology of the Endocrine System of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», ORCID: 0000-0001-5138-4532; Volodymyr Oleksandrovych Saenko, Ph.D., Associated Prof. of the Department of Radiation Molecular Epidemiology, Atomic Bomb Diseases Institute, Nagasaki University, Japan, ORCID: 0000-0003-2844-3121; Mikhail Yurievych Bolgov, MD, Ph.D., Prof., Head of the Department of Endocrine Surgery of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», ORCID: 0000-0002-9011-9982; Sergii Volodymyrovych Masiuk, Ph.D., Head of the Radiation Protection Laboratory of the State Institution «National Research Center of Radiation Medicine, Hematology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», ORCID: 0000-0002-2744-8046; Svitlana Valentinivna Burko, Researcher of the Laboratory of Morphology of the Endocrine System of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», ORCID: 0000-0001-7597-3008; Tetiana Leonidivna Degtyaryova, Researcher of the Laboratory of Morphology of the Endocrine System of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», ORCID: 0000-0003-3530-2124; Serhii Viktorovych Chernyshov, MD, Ph.D., Senior Researcher of the Department of Endocrine Surgery of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», ORCID: 0000-0002-2382-2950; Masahiro Ito, MD, PhD, Professor of the Department of Diagnostic Pathology, National Hospital Organization Nagasaki Medical Center, Omura, Japan, ORCID: 0000-0001-9411-265X; Tatiana Ivanovna Rogounovitch, MD, PhD, Researcher of the Department of Radiation Medicine, Atomic Bomb Diseases Institute, Nagasaki University, Japan, ORCID: 0000-0002-0616-3383; Mykola Dmytrovych Tronko, MD, Ph.D., Prof., Corresponding Member NAS of Ukraine, Acad. NAMS of Ukraine, Head of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology and Director of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», ORCID: 0000-0001-7421-0981.

Personal contribution: Bogdanova T.I. – idea, research design, analysis of results, writing, design, preparation for publication of the paper; Zurnadzhy L.Yu. – participation in the development of the concept of the paper, review and analysis of histological specimens, IHC study and analysis of results, participation in the writing of the manuscript; Saenko V.O. – statistical analysis of results, design and preparation of the figures, discussion of the results obtained, editing of English manuscript; Bolgov M.Yu. – automated preparation of the spreadsheet of clinical characteristics according to a self-developed algorithm; Masiuk S.V. – dosimetric support of the study; Burko S.V. – histological study; Degtyaryova T.I. – histological study; Chernyshov S.V. – analysis of clinical data; Gulevatyi S.V. – analysis of RIT results; Ito M. – discussion of the results obtained; Rogounovitch T.I. – development of IHC detection of mutated BRAF^{V600E} protein, participation in IHC study; Tronko M.D. – discussion of the results obtained.

Funding: the study was carried out within the budget funding according to the plan of research work of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», registration number of the study: 0122U000544; the study also was supported in part by the Atomic Bomb Diseases Institute, Nagasaki University, Japan, and the Program of the Network-Type Joint Usage / Research Center for Radiation Disaster Medical Science.

Declaration of ethics: The authors have declared no conflicts of interest or financial obligations.

The article: received May 24, 2024; revised May 31, 2024; accepted June 24, 2024; published 30 June 2024.

Modulation of sexual behavior and indicators of oxidative stress in the testes of adult rats as a consequence of chronic stress during puberty

A.G. Reznikov,
A.A. Lymareva,
O.V. Sachynska

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Abstract. Children are often subjected to psychological or physical violence, experience strong emotional distress. Early life stress may lead to disorders of somato-sexual development, to delayed (in boys) or accelerated (in girls) puberty, delayed growth, immune system disorders, alteration of mental health. The sexual performance of adult men who experienced chronic stress during adolescence is not reflected in the scientific medical literature. Deferred effect of stress at adolescence on the androgen profile and sexual behavior of laboratory male animals has been studied very poorly. There are no data on long-term oxidative effects of stress experienced by human and animal adolescents in relation to the organs of the reproductive system. **The aims** of this work were to explore the sexual behavior, testosterone levels in blood and lipid peroxidation (LPO) in the testes of adult male rats in a distant period of time after chronic immobilization stress during puberty. White male rats were subjected to immobilization in plastic tubes for 1 hour a day during postnatal days 30-45. The non-stressed animals were used as controls. Some rats were decapitated at the age of 6 months, and the trunk blood samples were collected for hormone assay. Testosterone levels in blood serum were determined by immunoassay. The testicles were isolated to determine the content of the LPO products. At 7 months of age, the males were tested for the exhibition of male-type sexual behavior, and at 8 months for female-type sexual behavior after orchiectomy and priming with estradiol and progesterone. In stressed at puberty adult rats, testosterone levels did not differ from those of controls. Pubertal stress significantly reduced latency of the first and second mounts, that is increased the motivational component of male sexual behavior without increasing the number of mounts and intromissions. Stressed rats did not exhibit lordosis reaction in the presence of active male. As a result of stress in rats during puberty, the content of malonic dialdehyde and diene conjugates increased in the testicles of adult animals, which indicates the presence of oxidative stress.

Keywords: stress, puberty, sexual behavior, male rats, testosterone, lipid peroxidation.

Interest of scientists in the problems of stress and related diseases has never faded. The modern way of life, especially in developed countries, creates enormous psychological, emotional and phys-

ical burden on a person. When the war came to the land of Ukraine, interest in stress and its health consequences was renewed even more. And as in any emergency situation, the most vulnerable segment of the population turned out to be children. Today, in many regions of Ukraine, they live under the

Оригінальні дослідження

howl of sirens and the roar of bombings; many are forced to move with their families to a foreign environment, including to other countries, where they are forced to adapt to new living conditions. According to an online survey of internally displaced school-aged children and adolescents in Ukraine in connection with Russian aggression, a quarter of the children experienced panic attacks, feelings of fear, danger and defenselessness, about half experienced anger, nightmares, *etc.* [1]. But even in peacetime, children are often subjected to psychological or physical violence, experience strong emotional distress.

Early life stress may lead to disorders of somatosexual development, to delayed (in boys) or accelerated (in girls) puberty, delayed growth, immune system disorders, alteration of mental health, neuropsychiatric disorders, *etc.* Frequent consequences of chronic stress in adolescence are increased anxiety and depression due to stress-induced imbalance of hormones and neurotransmitters in the central nervous system, which is confirmed by clinical and experimental studies [1, 2-4].

One of the negative long-term consequences of chronic stress is disorders of the reproductive system, as evidenced by numerous clinical observations and results of animal research [5]. Common manifestations of post-traumatic stress disorders in men are weakened libido, erectile dysfunction, deterioration in sperm quality and its fertilizing ability. Early life stress is one of the reasons for decreased fertility. In adolescent girls, stress is a common cause of infertility [6]. It may cause primary hypothalamic amenorrhea because of stress-induced suppression of the secretion of GnRH, LH, FSH, and disorders of pulsatile secretion of gonadotropins [7], and accompanied by polycystic ovaries syndrome in almost 60% of patients [8]. There are many reports of risky sexual behavior in young men as a result of early stress associated with sexual abuse. However, the sexual performance of adult men who experienced chronic stress during adolescence is not reflected in the scientific medical literature.

Maternal separation of newborn male and female rats from 2 to 11 days of life did not affect their sexual behavior in adulthood [9]. Decreased sexual motivation a few months after chronic stress during puberty [10], and increased sexual activity [11] as an immediate result of stress in male rats during adolescence have been reported. Therefore, one of

the objectives of this work was to study the sexual behavior and testosterone levels in adult rats in a distant period of time after chronic immobilization stress during puberty.

In information databases, we have not found any studies of long-term oxidative effects of stress experienced by human and animal adolescents in relation to the organs of the reproductive system. For this reason, another aim of the study was to determine the content of LPO products in the testes of adult rats exposed to immobilization stress during the pubertal period of individual development.

Material and methods

Ethical approval. The experiments were carried out in accordance to European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, March 18, 1986), and Recommendations of the First National Congress on Bioethics Issues (Kyiv, Ukraine, September 20, 2001). The experimental design and procedures were approved by the Bioethics Commission of the Institute (the Protocol No 43-KE from June 06, 2022).

Design of the study. White female rats of the local Institute vivarium breeding with a regular 4-5 estrous cycle were recruited for fertilization. The animals were housed and treated under standard conditions. They were placed in the cages one by one together with sexually active male, and the day of appearance of spermatozoa in the vaginal smear was considered the first day of conception. Experimental and control male offspring groups were formed by randomization and allowed to be kept in the institutional vivarium until 6-8 months of age.

During postnatal days 30-45, the male offsprings were undergone to everyday strict restriction in plastic tubes for 1 hour a day. Taking into account the daily rhythm of fluctuations in the level of corticosterone in the blood, stress was carried out in the interval of 9-12 am. The non-stressed animals were used as controls.

Some males were decapitated at the age of 6 months and the testes were isolated to determine the content of the LPO products.

At 7 months of age, the males were tested for the exhibition of male-type sexual behavior, and at 8 months for female-type sexual behavior.

Hormone assay. After prompt decapitation, the trunk blood samples were collected, and blood

serum was obtained by centrifugation and kept at -20 °C prior to be analyzed for testosterone levels. Hormone immunoassays were carried out with Testosterone ELISA kit (LDN, Germany) followed by measuring at the immunoenzymatic Stat Fax analyzer (USA).

Male-type sexual behavior. To test male-type sexual behavior using the traditional method [12, 13], 6 animals delivered by different mothers were included into each animal group. The males were kept in the darkness for 4 hours, then they were moved to an empty cage for a 5-minute adaptation. One week before testing, the partner female was ovariectomized and injected intramuscularly with 0.1 mg estradiol diacetate (Sigma, USA) 48 hours before the test. 0.5 mg progesterone oil solution (Biopharma, Ukraine) was introduced 4 hours prior to the test. Then the female was placed in the cage under dim red light with the male. Over the course of 15 min, the following indices of copulative behavior were recorded: duration of latent periods of the first mount, and the first and second intromissions, the first ejaculation, post-ejaculatory refractory period, the numbers of ejaculations, mounts without intromission, and the total number of intromissions. Male-type behavior was tested twice at one-week interval taking into account that after the first test they gained some sexual experience.

Female-type sexual behavior. Because of female-type sexual behavior (in particular, lordotic reactions) depends of the sensitivity of the neuroendocrine behavior centers to estrogens, it was tested in previously castrated males, which were administered steroids at a way similarly to that of females. The males were introduced to sexually experienced males that were kept in the test cage under red dim light for at least 5 min. Testing lasted 10 min or up to 10 mounts of an active male. The number of lordotic reactions to approaches or mounts of the normal male was recorded, and lordosis index was calculated as percentage of the number of lordosis reactions referred to the total number of approaches and mounts of an active male.

Determination of LPO products. The contents of LPO products, diene conjugates (DC) [14] and malonic dialdehyde (MDA) [15] were determined in tissue homogenates of testicles and calculated per mg of protein, the content of which was measured by the Lowry method.

Statistical analysis. The results were averaged and compared with those of appropriate controls. They were presented as mean ($M \pm m$) and processed with Excel computer program by one-way analysis of independent experiments using the *t*-Student's criterion in a case of normal distribution of variants which was tested according to the Shapiro-Wilk criterion. In the absence of a normal statistical distribution, the Wilcoxon-Mann-Whitney non-parametric *U* criterion was used. The difference was set as significant at $p \leq 0.05$.

Results

Hormone levels. At the end of the experiment, testosterone levels in blood serum of stressed at puberty 6-month-old rats ($n=5$) did not differ from those of controls ($n=7$): (4.89 ± 0.77 ng/mL *vs.* 4.35 ± 0.58 ng/mL correspondingly, $p > 0.05$).

Male-type sexual behavior. Male-type behavior was tested twice at one-week interval taking into account that after the first test they usually gain some sexual experience.

Temporal and quantitative characteristics of sexual behavior by male type were analyzed separately for each of the two tests, because for some parameters the presence of statistically significant difference between the results of the first and second tests was noted, which is associated with the acquisition of sexual experience and the formation of stereotypical behavioral reactions.

The results of the study of sexual behavior by male type in 7-month-old male rats are shown in **Table 1**. The distribution of quantitative parameters in the control and experimental groups was non-parametric, so they are presented as medians and the scope values in the groups.

Analysis of the data obtained shows a significant reduction in the time to the first mounting and a noticeable tendency to reduce the latent period of the first and second intromissions in the first testing. In the second testing, the latent period of the second intromission was significantly reduced.

Female-type sexual behavior. When testing female sexual behavior, no lordosis reactions were detected in males of both groups. In the group of stressed males, homosexual behavior was detected in one male, *i.e.* matings were noted on a normally active male (**Table 2**).

Оригінальні дослідження

Table 1. Male sexual behavior parameters of 7-month-old pubertal-stressed male rats and control animals

Feature	First test		Second test	
	Control	Stressed	Control	Stressed
Latency period, sec				
first mount	74 (8-279)	8.5 (2-15) *	2 (1-355) +	1 (1-3) +
first intromission	89 (28-519)	27 (9-548)	10 (2-464) +	9 (3-10) +
second intromission	161 (45-611)	37 (11-675)	29 (4-576)	13 (7-22) **
first ejaculation	-	-	-	550
postejaculatory refractory period	-	-	-	881
Number				
mounts without intromission	4.5 (4-9)	3,5 (1-6)	3 (2-6)	3 (1-5)
mounts with intromission	8 (2-17)	22(2-22)	12 (4-26)	16 (14-21)
ejaculations	0	0	0	1

Notes: 6 rats in each group. The test lasted 15 min. The data are presented as medians and minimum, and maximum values (in the brackets). Statistical analysis by Wilcoxon-Mann-Whitney U criterion. * – $p \leq 0.05$ compared to controls; + – $p \leq 0.05$ compared to the first test.

Table 2. Parameters of female sexual behavior of 8-month-old pubertal-stressed male rats

Parameter	Intact males (control)	Stressed males
Number of lordosis	0	0
Lordosis index	0	0
Number of mounts of a receptive male on active male	0	10
Number of males with:		
- receptive female behavior	0/6	0/6
- homosexual behavior	0/6	1/6
- bisexual behavior	0/6	0/6

Note: 6 rats in each group. The duration of the test was 10 minutes.

LPO products in testes

The results of measuring the content of LPO products in the testicles of normal and stressed at puberty rats are shown in **Table 3**. The obtained data indicate the intensification of LPO in the testicles, which is a sign of oxidative stress.

Table 3. The content of LPO products in the testes of 6-month-old rats (nmol/mg protein)

Animal group	MDA	DC
Controls (n=8)	2.40±0.04	0.73±0.01
Stressed (n=6)	3.68±0.10*	1.27±0.04*

Note: * - $p < 0.05$ compared to controls.

Discussion

Immobilization of early pubertal rats for two weeks is an experimental model of chronic stress, because, unlike adults, adolescents did not demonstrate habituation to chronic stress and responded more strongly to repeated stress [16].

It is known that male sexual behavior consists of two main components – motivational (*i.e.*, heterosexual orientation and sexual desire) and copulatory one. In studies of male rat sexual behavior, the motivational component is quantitatively characterized by the length of time from the mating of a receptive female to the first mounting, *i.e.*, the corresponding latent period. In this work, the study of sexual behavior revealed a reliable dramatic reduction of the latent periods of the first mount: the median value in adult stressed males in the first testing decreased by 8.7 times in comparison with the control group of intact males. The latent time indicators of the first and second intromission in the first testing had a clear tendency to decrease. In the second testing, the latent period of the second intromission was more than halved.

There is a report on a weakening of sexual motivation in 3-month-old males who experienced stress from 25th to 50th postnatal day [10]. Contrary, the data obtained in our study definitely indicate a significant increase in sexual motivation against the background of a normal level of testosterone in the blood of adult animals five and a half months after prolonged stress during puberty.

Perhaps this difference is explained not so much by more duration of stress as by a different method of stressing: the rats were kept in social isolation, one by one in the cage, which caused psychoemotional stress.

In another study [3], immobilization of male rats for 6 hours daily for 15 or 60 days, starting from the 40th day of life, led to a prolongation of the latent period of the first mating, however, the authors concluded that stress had a stimulating effect on copulatory sexual behavior, because the frequency of intromissions increased by 2.5 times. In the meantime, they tested sexual behavior at the end of stressing period, that does not allow to compare their results with our data.

Thus, on the basis of findings of this work, it is possible to draw a conclusion about a certain stimulating effect of a prolonged state of immobilization stress during puberty on the male sexual behavior of adult male rats. This effect did not depend on the testosterone blood levels, therefore it was associated with modulation of neuroendocrine control of sexual behavior.

As mentioned above, in our study testosterone levels remained normal in the experimental males. Interestingly, other investigators have found out an increase in testosterone level in male rats exposed to pubertal stress by everyday 6 hours immobilization since 40th to 55th days [17] or a decrease when stressing was prolonged up to 100th day of life [18]. However, hormone assay has been done immediately after end of stressing. Possibly, experiment timing has a crucial role in those controversial results.

The results of testing female sexual behavior in stressed males, castrated and treated with sex hormones, indicate the preservation of refractoriness to the stimulating effect of estrogens on the hypothalamic secretion of LH-releasing hormone, which is characteristic of the female sex. Therefore, androgen-dependent sexual differentiation of the brain remains normal, which is consistent with modern ideas about the critical period of this process in the perinatal period of individual development of rats [19].

All types of stress are accompanied by a violation of pro-antioxidant status, which is an important factor in the pathogenesis of stress-induced disorders, including reproductive disorders [20, 21]. On the other hand, oxidative stress may be one of the long-term negative consequences of chronic stress. Unfortunately, the few retrospective studies of this problem in humans leave the exact age at which they were exposed to early life stress un-

known [22-24]. For the first time, it was found that chronic pubertal stress causes a state of oxidative stress in the testes in adult rats, which is confirmed by a 50% increase in the content of malonic dialdehyde and diene conjugates in them.

There are reports on delay of testicular maturation and decreased spermatogenic and androgenic testicular functions in adult rats submitted to immobilization-induced stress from prepuberty [11, 17, 18]. It is likely that the damaging effect of oxidative stress may cause disturbances in the generative and steroid-synthesizing function of the testicles.

Conclusions

1. Chronic pubertal stress increased the motivational component of male sexual behavior in adult male rats without increasing the number of mounts and intromissions.
2. Pubertal immobilization stress does not cause feminization of the sexual behavior in adult males.
3. As a result of stress in rats during puberty, the content of LPO products increases in the testicles of adult animals, which indicates the presence of oxidative stress.

References

1. Strashok LA, Rak LI, Danylenko HM, Yeshchenko AV, Kashina-Yarmak VL, Zavelya EM, et al. Impact of stress on adolescents during puberty (part 1). *Child's Health*. 2023;18(5):376-83. doi: 10.22141/2224-0551.18.5.2023.1616. Ukrainian.
2. Danylenko GM, Strashok LA, Zavelya EM, Isakova MJu, Bjeljaeva OE. Medical and social aspects of the health status of the adolescents-internally displaced persons. *Children and Adolescents Health Care*. 2022;(2):8-12. doi: 10.53457/2022.2.1. Ukrainian.
3. Harris EP, Villalobos-Manriquez F, Melo TG, Clarke G, O'Leary OE. Stress during puberty exerts sex-specific effects on depressive-like behavior and monoamine neurotransmitters in adolescence and adulthood. *Neurobiol Stress*. 2022 Oct 3;21:100494. doi: 10.1016/j.ynstr.2022.100494.
4. Strashok LA, Rak LI, Danylenko HM, Yeshchenko AV, Kashina-Yarmak VL, Zavelya EM, et al. Impact of stress on adolescents during puberty (part 2). *Child's Health*. 2023;18(6):465-73. doi: 10.22141/2224-0551.18.6.2023.1635. Ukrainian.
5. Reznikov AG. Stress-induced disorders of reproductive functions. *Fiziol Zh*. 2023;69:97-107. doi: 10.15407/fz69.06.097. Ukrainian.
6. Gleason JL, Shenassa ED, Thoma ME. Stressful life events, the incidence of infertility, and the moderating effect of maternal responsiveness: a longitudinal study. *J Dev Orig Health Dis*. 2021 Jun;12(3):465-73. doi: 10.1017/S2040174420000690.
7. Sophie Gibson ME, Fleming N, Zuidwijk C, Dumont T. Where have the periods gone? The evaluation and management of functional hypothalamic amenorrhea. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2020 Feb 6;12(Suppl1):18-27. doi: 10.4274/jcrpe.galenos.2019.2019.S0178.
8. Hager M, Dewailly D, Marculescu R, Ghobrial S, Parry JP, Ott J. Stress and polycystic ovarian morphology in functional hypothalamic amenorrhea: a retrospective cohort study. *Reprod Biol Endocrinol*. 2023 May 11;21(1):42. doi: 10.1186/s12958-023-01095-5.

Оригінальні дослідження

9. Yano K, Matsuzaki T, Iwasa T, Mayila Y, Yanagihara R, Tungalagsuud A, et al. The influence of psychological stress in early life on sexual maturation and sexual behavior in male and female rats. *Reprod Med Biol*. 2019 Dec 26;19(2):135-41. doi: 10.1002/rmb2.12313.
10. Hernández-Arteaga E, Hernández-González M, Bonilla-Jaime H, Guevara MA, Agmo A. Pubertal stress decreases sexual motivation and suppresses the relation between cerebral theta rhythms and testosterone levels in adult male rats. *Brain Res*. 2020 Oct 15;1745:146937. doi: 10.1016/j.brainres.2020.146937.
11. Almeida SA, Kempinas WG, Lamano Carvalho TL. Sexual behavior and fertility of male rats submitted to prolonged immobilization-induced stress. *Braz J Med Biol Res*. 2000 Sep;33(9):1105-9. doi: 10.1590/s0100-879x2000000900019.
12. Holson RR, Gough B, Sullivan P, Badger T, Sheehan DM. Prenatal dexamethasone or stress but not ACTH or corticosterone alter sexual behavior in male rats. *Neurotoxicol Teratol*. 1995 Jul-Aug;17(4):393-401. doi: 10.1016/0892-0362(94)00074-n.
13. Hull EM, Dominguez JM. Sexual behavior in male rodents. *Horm Behav*. 2007 Jun;52(1):45-55. doi: 10.1016/j.yhbeh.2007.03.030.
14. Stalnaya ID. Method for determining diene conjugation of unsaturated higher fatty acids. In: Orekhovich VN, ed. *Modern Methods in Biochemistry*. Moscow: Medicine; 1977. p. 63-4. Russian.
15. Stalnaya ID, Garishvili TG. Method for determining of malonic dialdehyde using thiobarbituric acid. In: Orekhovich VN, ed. *Modern Methods in Biochemistry*. Moscow: Medicine; 1977. p. 66-8. Russian.
16. Romeo RD, Bellani R, Karatsoreos IN, Chhua N, Vernov M, Conrad CD, et al. Stress history and pubertal development interact to shape hypothalamic-pituitary-adrenal axis plasticity. *Endocrinology*. 2006 Apr;147(4):1664-74. doi: 10.1210/en.2005-1432.
17. Almeida SA, Petenunci SO, Anselmo-Franci JA, Rosa e Silva AA, Carvalho TL. Chronic immobilization-induced stress increases plasma testosterone and delays testicular maturation in pubertal rats. *Andrologia*. 2000 Jan;32(1):7-11.
18. Almeida SA, Petenunci SO, Anselmo-Franci JA, Rosa e Silva AA, Lamano-Carvalho TL. Decreased spermatogenic and androgenic testicular functions in adult rats submitted to immobilization-induced stress from prepuberty. *Braz J Med Biol Res*. 1998 Nov;31(11):1443-8. doi: 10.1590/s0100-879x1998001100013.
19. Reznikov OG. Perinatal programming of disorders of endocrine functions and behavior. Kyiv: Naukova Dumka Publishing House; 2019. 272 p. Ukrainian.
20. Baraboy VA, Reznikov AG. *Physiology, biochemistry and psychology of stress*. Kyiv: Interservice; 2013. 314 p. doi: 10.5281/zenodo.3470144. Ukrainian.
21. Reznikov AG. Oxidative stress as a mandatory participant in the pathogenesis of stress-induced reproductive disorders. *Endokrynologia*. 2023;28(4):341-8. doi: 10.31793/1680-1466.2023.28-4.341. Ukrainian.
22. Fanning JR, Lee R, Gozal D, Coussons-Read M, Coccaro EF. Childhood trauma and parental style: Relationship with markers of inflammation, oxidative stress, and aggression in healthy and personality disordered subjects. *Biol Psychol*. 2015 Dec;112:56-65. doi: 10.1016/j.biopsycho.2015.09.003.
23. Alameda L, Fournier M, Khadimallah I, Griffa A, Cleusix M, Jenni R, et al. Redox dysregulation as a link between childhood trauma and psychopathological and neurocognitive profile in patients with early psychosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2018 Dec 4;115(49):12495-500. doi: 10.1073/pnas.1812821115.
24. Karanikas E, Daskalakis NP, Agorastos A. Oxidative dysregulation in early life stress and posttraumatic stress disorder: A comprehensive review. *Brain Sci*. 2021 May 29;11(6):723. doi: 10.3390/brainsci11060723.

Abbreviation

LPO – lipid peroxidation

Acknowledgement

The authors appreciate Inna Perchyk, Junior Researcher of the Department of Endocrinology of Reproduction and Adaptation, for assistance when conducting experiments.

Модуляція статевої поведінки і показники оксидативного стресу в сім'яниках дорослих щурів як наслідок хронічного стресу в пубертатному віці

О.Г. Резніков, А.А. Лимарева, О.В. Сачинська

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Діти часто піддаються психологічному чи фізичному насильству, відчувають сильні емоційні переживання. Стрес у ранньому віці може призвести до порушень сомато-статевого розвитку, до затримки (у хлопчиків) або прискореного (у дівчаток) статевого дозрівання, затримки росту, розладів імунної системи, зміни психічного здоров'я. Статева активність дорослих чоловіків, які пережили хронічний стрес у підлітковому віці, не відображена в науковій медичній літературі. Відтермінований вплив пубертатного стресу на андрогенний профіль і статево поведінку самців лабораторних тварин вкрай слабо досліджені. Немає даних щодо оксидантних ефектів тривалого впливу стресу, який відчувають підлітки людини і тварин, на органи репродуктивної системи. Цілі цієї роботи полягали в дослідженні сексуальної поведінки, рівня тестостерону в крові та перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) у статевих залозах дорослих самців щурів у віддалений період часу після хронічного іммобілізаційного стресу під час статевого дозрівання. Білих самців щурів піддавали іммобілізації в пластикових тубах протягом 1 год на добу з 30 по 45 день постнатального життя. Тварини без стресу були використані як контроль. Деякі щури були декапітовані у віці 6 місяців, а зразки крові були зібрані для гормонального аналізу. Рівень тестостерону в сироватці крові визначали імуноферментним методом. Яєчка виділяли для визначення вмісту продуктів ПОЛ. У віці 7 місяців самців перевіряли на статево поведінку чоловічого типу, а у 8 місяців – статево поведінку жіночого типу після орхіектомії та попередньої обробки естрадіолом і прогестероном. У дорослих щурів, підданих стресу під час статевого дозрівання, рівень тестостерону не відрізнявся від такого в контрольних тварин. Пубертатний стрес достовірно зменшував латентність першої та другої садок, тобто посилював мотиваційний компонент статевої поведінки самців без збільшення кількості садок і інтроемісії. Стресовані щури не виявляли реакції лордозу в присутності активного самця. У результаті стресу в період статевого дозрівання в сім'яниках дорослих тварин підвищувався вміст малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів, що свідчить про наявність окисного стресу.

Ключові слова: стрес, пубертація, статева поведінка, самці щурів, тестостерон, перекисне окислювання ліпідів.

Для цитування: Резніков ОГ, Лимарева АА, Сачинська ОВ. Модуляція статевої поведінки і показники оксидативного стресу в сім'яниках дорослих щурів як наслідок хронічного стресу в пубертатному віці. Ендокринологія. 024;29(2):119-125. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.119.

Адреса для листування: Резніков Олександр Григорович, reznikov39@gmail.com, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, Київ 04114, Україна.

Відомості про авторів: Резніков Олександр Григорович, д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН України, акад. НАМН України, завідувач відділу ендокринології репродукції та адаптації, ORCID: 0000-0002-0018-399X; Лимарева Анна Анатоліївна, старша наукова співробітниця відділу ендокринології репродукції та адаптації, ORCID: 0000-0002-6963-5157; Сачинська Ольга Володимирівна, канд. біол. наук, провідна наукова співробітниця відділу ендокринології репродукції та адаптації, ORCID: 0000-0002-1767-4912.

Особистий внесок: Резніков О.Г. – концепція та дизайн дослідження, аналіз результатів, написання статті. Лимарева А.А. – тестування статевої поведінки, визначення продуктів перекисного окислювання ліпідів; Сачинська О.В. – гормональне дослідження.

Фінансування: стаття підготовлена в рамках бюджетного фінансування НАМН України за планом науково-дослідних робіт ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України».

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 29.03.2024 р.; перероблена 09.05.2024 р.; прийнята до друку 24.06.2024 р.; надрукована 30.06.2024 р.

For citation: Reznikov AG, Lymareva AA, Sachynska OV. Modulation of sexual behavior and indicators of oxidative stress in the testes of adult rats as a consequence of chronic stress during puberty. Endokrynologia. 2024;29(2):119-125. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.119.

Correspondence address: Reznikov Aleksander Grygorovych, reznikov39@gmail.com, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Vyshgorodska Str., 69, Kyiv 04114, Ukraine.

Information about the authors: Reznikov Aleksander Grygorovych, Dr. Sci. (Medicine), Prof., Cor. Member of the NAS of Ukraine, Acad. of the NAMS of Ukraine, Head of the Department of Endocrinology of Reproduction and Adaptation, ORCID: 0000-0002-0018-399X; Limareva Anna Anatoliivna, Senior Researcher of the Department of Endocrinology of Reproduction and Adaptation, ORCID: 0000-0002-6963-5157; Sachynska Olga Volodymyrivna, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher of the Department of Endocrinology of Reproduction and Adaptation, ORCID: 0000-0002-1767-4912.

Personal contribution: Reznikov A.G. – preparation of the article, concept and design of the study, analysis of results, writing the article. Limareva A.A. – testing sexual behavior, determination of lipid peroxidation products; Sachynska O.V. – hormone assay.

Funding: The article was prepared within the framework of budgetary funding of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine according to the plan of research work of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine».

Declaration of ethics: The authors have declared no conflicts of interest or financial obligations.

Article: received March 29, 2024; revised May 09, 2024; accepted June 24, 2024; published 30 June 2024.

Two unusual epithelial cell phenotypes allow to detect papillary carcinoma in fine-needle aspirates of the thyroid

Yu.M. Bozhok¹,
A.G. Nikonenko²

¹State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

²Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine.

Abstract. Fine needle aspiration (FNA) biopsy is the most commonly used method for diagnosing papillary thyroid carcinoma (PTC) and other thyroid lesions. However, cytomorphologic markers of PTC currently used in diagnostic FNA cytology are insufficiently specific. They are observed in both malignant and benign lesions, expressed by cells of not every PTC subtype and by a varying fraction of the tumor cell population. **The aim** was to examine new morphological markers of PTC applicable in FNA smears of a thyroid gland material. **Material and methods.** The study material included FNA smears of nodular goiter (n=620), follicular thyroid adenoma (n=332), Hashimoto's thyroiditis (n=54), oncocytic cell lesions (n=50), follicular thyroid carcinoma (n=22), medullary thyroid carcinoma (n=42), and PTC (n=280). FNA smears from patients of both sexes (1164 women and 236 men) aged from 17 to 87 years were examined. To analyze them cytochemistry, immunocytochemistry and computer morphometry were applied. **Results.** Two unusual epithelial cell phenotypes were identified in FNA smears of PTC but never in smears of benign and non-PTC malignant lesions of the thyroid. Cytokeratin (CK) immunocytochemistry indicated the epithelial origin of these enlarged and pleomorphic cells. Key features of the first cell phenotype included a clear cytoplasm, sharply-delineated cell borders strongly refracting light, low or negative reaction for thyroglobulin, and epCAM-negativity. Cells of the second phenotype possessed a RNA-containing macula, displayed thyroglobulin-positivity and specific pattern of epCAM expression. The question whether cells of the two identified phenotypes are related cell forms is open to discussion. **Conclusions.** The cells revealed are observed only in PTC and, thus, can be used as highly specific morphological markers having a potential to improve the reliability of PTC detection in Giemsa-stained conventional FNA smears of the thyroid. The unusual morphology of these cells permits their easy identification without time-consuming immunocytochemistry.

Keywords: diagnostic cytology, fine-needle aspiration, papillary thyroid carcinoma.

Papillary thyroid carcinoma (PTC) is the most common subtype of thyroid cancer and FNA is a first-line procedure to detect PTC along with other thyroid lesions [1-3]. In FNA cytology, the diagnostic criteria for PTC deal primarily with nuclear features and include an enlarged size, irregular shape, powdery chromatin, nuclear grooves, and intranuclear pseudoinclusions [4, 5]. Features like a papillary cell pattern, squamoid cytoplasm, psammoma bodies, and others are thought to be less diagnostically important [2, 4].

PTC diagnostic markers currently used in FNA smears are not absolute being observed both in malignant and benign lesions, expressed not in every PTC of a particular subtype and by a varying fraction of tumor cell population. Reflecting mostly the level of genomic instability, these markers are believed to be less indicative for malignancy than such histopathologic features as vascular or capsule invasions.

Generally, cancer development may be viewed as a process driven by essentially blind somatic-cell mutations [6]. The resulting traits of cancer cells reflect the impact of subsequent clonal selection [7]. Some of these traits directly relate to invasive/metastatic properties while others lack such relation. However, even features from the latter category may be diagnostically useful if they are reproducibly displayed by cancer cells and easy to identify.

The aim of this study was to search for new morphological markers of PTC applicable in FNA smears of the thyroid.

Material and methods

The study population included FNA smears collected for patients from Ukraine who were examined, diagnosed with a tumor and underwent thyroid surgery in the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine» between 2005 and 2021. A total of 1400 FNA specimens were selected for this retrospective study. These included: nodular goiter (n=620), follicular thyroid adenoma (n=332), Hashimoto's thyroiditis (n=54), oncocytic cell lesions (n=50), follicular thyroid carcinoma (n=22), medullary thyroid carcinoma (n=42), and PTC (n=280). The patients were of both sexes (1164 women and 236 men) with their age ranging from 17 to 87 years. All reviewed cases had a histo-

pathologic diagnosis. Postoperative study of paraffin sections stained with hematoxylin and eosin was performed in the Laboratory of Morphology of the Endocrine System, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine». The histopathologic diagnosis was made according to the WHO classification of tumors [8].

FNA of the thyroid was performed under ultrasound guidance using a 21-gauge needle, usually without a syringe or suction. Dried FNA smears were fixed for 5 minutes in methanol followed by staining in Giemsa dye diluted in 0.067M phosphate buffer (pH 6.4) for 30 minutes. Before identifying polysaccharides with periodic acid Schiff reaction, smears were destained using 5% acetic acid. To analyze the chemical composition of intracellular maculae, FNA smears were destained using 5% acetic acid, treated with RNase (Sigma, 1 mg/10 mL, 1 hour at 37 °C), and restained by Giemsa dye. Immunocytochemistry was performed in representative Giemsa-stained smears. Antigens were unmasked as described previously [9]. Endogenous peroxidase was inactivated by incubation in 1% H₂O₂ in phosphate buffer (pH 7.4) at room temperature for 30 minutes. To identify certain antigens we applied indirect immunoperoxidase technique using primary monoclonal mouse antibodies against leukocyte-common antigen (CD45) (dilution 1:50, clone PD7/26 and 2B11, Dako, Denmark), macrophage antigen (CD68) (dilution 1:50, clone EBM11, Dako, Denmark), thyroglobulin (dilution 1:100, clone DAK-Tg6, Dako, Denmark), epithelial cell adhesion molecule (epCAM) (dilution 1:100, clone Ber-Ep4, Dako, Denmark) as well as against a number of CKs, namely CK7 (dilution 1:50, clone OV-TL 12/30, Dako, Denmark), CK8 (dilution 1:100; clone M20, Sigma, USA) and CK20 (dilution 1:50, clone KS20.8, DBS, USA). Polyclonal rabbit antibodies were used to detect calcitonin (dilution 1:100, DBS, USA).

Polyclonal rabbit anti-mouse and goat anti-rabbit antibodies conjugated to horseradish peroxidase (in both cases dilution 1:100, Dako, Denmark) were applied as enzyme-labeled secondary antibodies. 3,30-diaminobenzidine tetrahydrochloride (Sigma, USA) was used as a chromogen.

Digital images of cells were captured at resolution of 2048×1536 pixels using an Olympus CX41 microscope (Olympus Corporation, Japan) fitted with a DP12 camera (Olympus Corporation,

Оригінальні дослідження

Japan) and UplanFI $\times 40/0.75$ objective. Images of cells of interest were captured before and after cytochemistry or immunocytochemistry, using recorded coordinates to relocate these cells.

The area of a cell profile was selected as a measure of cell size, while the area of a nuclear profile was chosen to characterize the size of a nucleus. Measurements were made in digital images using Image J (v.1.54g, National Institutes of Health, USA). In total, 200 cells were analyzed per group. Values are shown as $M \pm SE$ of the mean. The non-parametric two-tailed Kolmogorov-Smirnov test was used to assess the differences between samples. $P < 0.01$ was considered statistically significant.

The study was performed in accordance with the standards of the bioethical committee of IEM (permit dated April 1, 2021, №35/5-KE), of the main provisions of the «Convention on the Protection of Human Rights and Dignity in the Application of Biology and Medicine: Convention on Human Rights and Biomedicine», adopted by the Council of Europe on April 4, 1997 of Good Clinical Practice (GCP) from 1996, the Declaration of Helsinki of the World Medical Association «Ethical Principles of Medical Research with Human Subjects», adopted in June 1964 and revised during 1975-2008 and the Order of the Ministry of Health of Ukraine «On the approval of the Procedure for conducting clinical trials of medicinal products and examination of clinical trial materials and the Standard Regulations on the Commission on Ethics» dated February 13, 2006 №66 with changes in 2006-2008.

Results and discussion

The study of FNA smears of PTC revealed follicular cells arranged in tissue fragments and singly, blood cells, macrophages (histiocytes) as well as more rare fibroblasts and endothelial cells. Some smears contained enlarged, mildly basophilic, presumably epithelial cells. A noticeable fraction of the latter displayed either of two distinct, partly overlapping phenotypes.

Cells of the first phenotype had a rounded shape and sharply delineated cell borders strongly refracting light (**Figure 1a**). For this reason, we named them 'refractive surface cells' (RSCs). In Giemsa-stained smears, their cytoplasm was mildly basophilic centrally and colorless at the periphery. Due to this, RSCs appeared lighter-colored with respect

to other cells. They were arranged as isolated single cells, cells integrated into monolayers of an irregular cell pattern, or isolated cell aggregates.

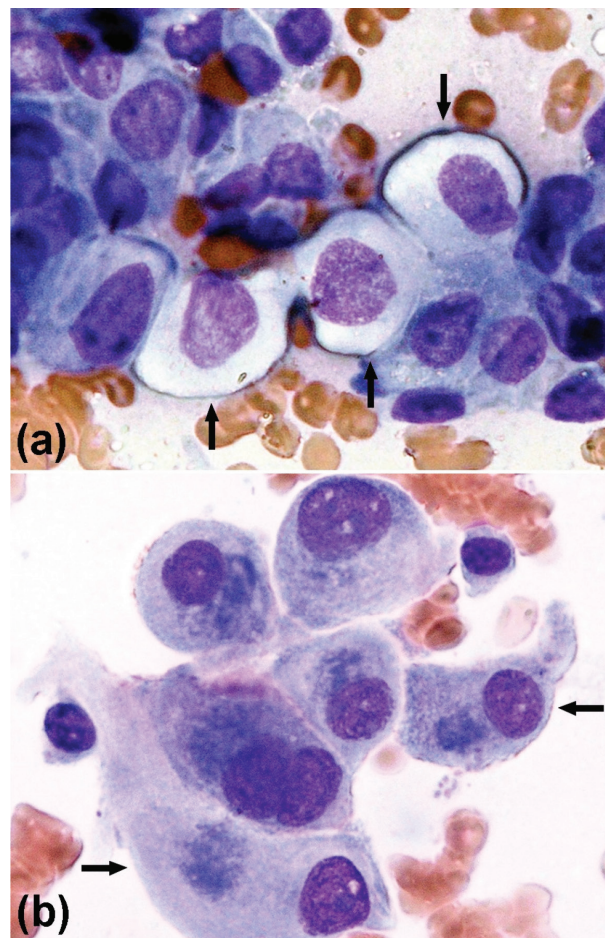


Fig. 1. 'Refractive surface cells' (arrows) (a; $\times 1000$) and 'macula cells' (arrows) (b; $\times 1000$) in FNA smears of PTC.

RSCs were more than double the size of other PTC epithelial cells, i.e., $626.2 \pm 21.7 \mu\text{m}^2$ vs $258.9 \pm 5.6 \mu\text{m}^2$ ($p < 0.01$) (**Figure 2a**). RSCs had rounded, pear-shaped or pleomorphic nuclei with a powdery chromatin and occasional intranuclear pseudoinclusions. The latter were revealed in 100% (25/25) of PTC lesions containing RSCs. RSCs' nuclear size equaled $168.2 \pm 4.1 \mu\text{m}^2$ being significantly larger than that of other PTC epithelial cells – $101.9 \pm 1.4 \mu\text{m}^2$ ($p < 0.01$). Sometimes, micronuclei were observed. The cytoplasm of RSCs had no metachromatically stained vacuoli typical of active follicular cells but sometimes contained a macula, the characteristic feature of another cell phenotype (detailed below). RSCs' cytoplasm showed no oxyphilia typical of oncocyctic cells.

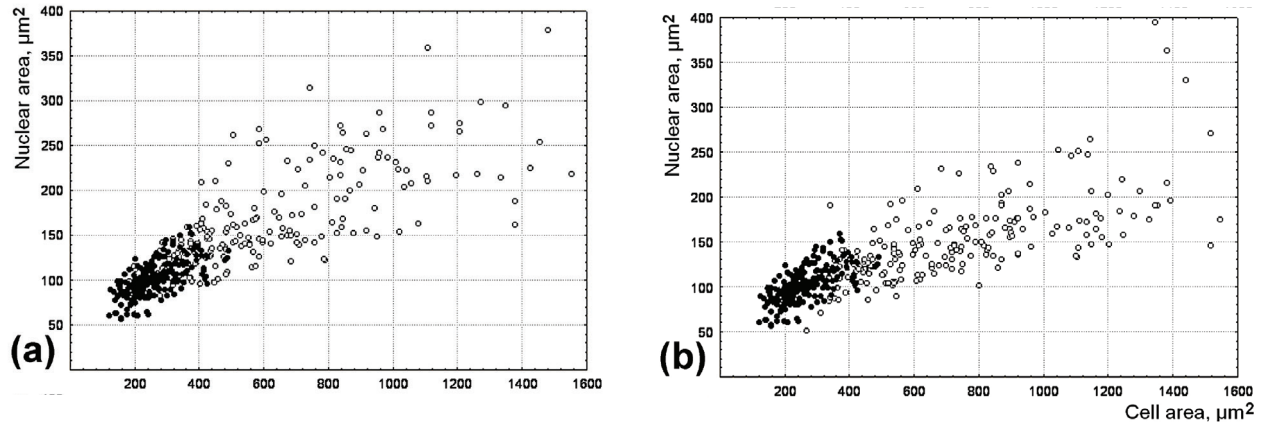


Fig. 2. Dot plots illustrating distributions of cell area and nuclear area values for 'refractive surface cells' (empty circles) (a), 'macula cells' (empty circles) (b) and other PTC epithelial cells (filled circles) (a-b).

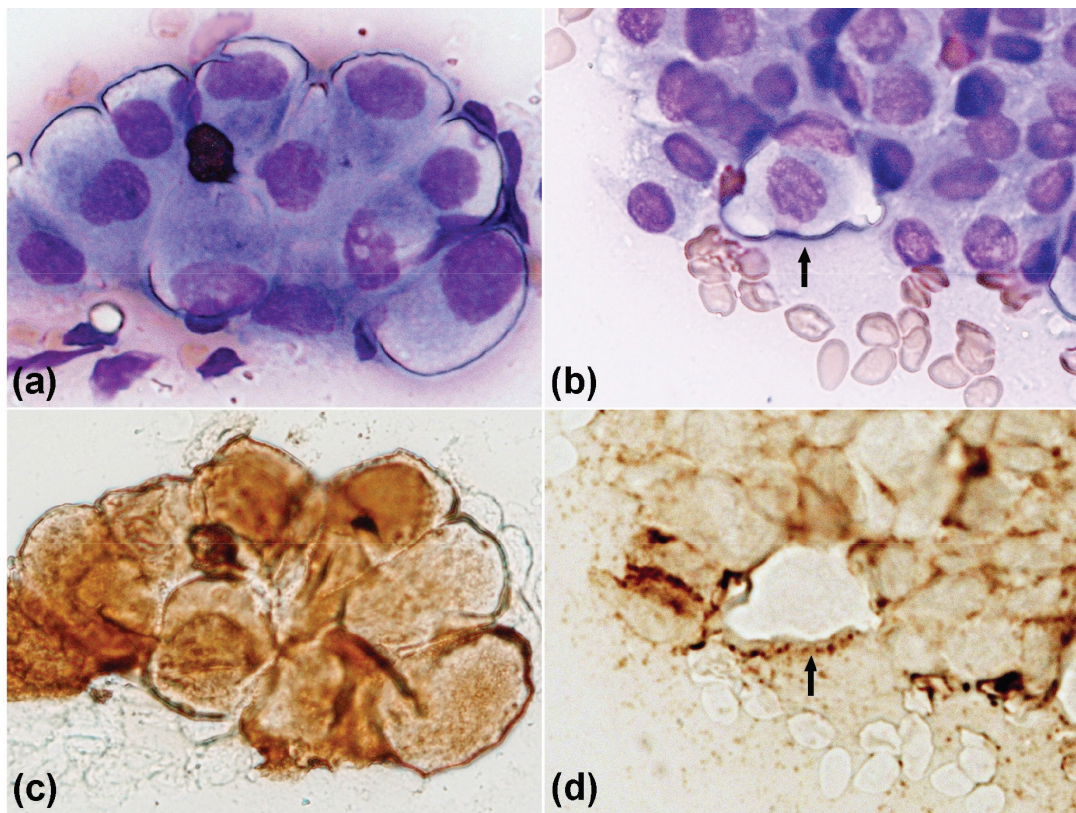


Fig. 3. 'Refractive surface cells' in FNA smears of PTC (a-d; $\times 1000$). CK7-positivity provides the evidence of the epithelial origin of these cells (c). In striking contrast to other PTC epithelial cells they are epCAM-negative (arrow) (d).

RSCs occasionally developed lobopodia-like structures and mimicked macrophages but were CD45- and CD68-negative. Besides, similar to ordinary follicular cells, RSCs were CK7-positive (**Figure 3a, 3c**), CK8-positive and CK20-negative. Surprisingly, these cells were negative for epCAM (**Figure 3b, 3d**).

In addition, RSCs were calcitonin-negative and showed poor or no reaction with anti-thyroglobulin

antibodies (**Figure 4a, 4c**). RSCs and other PTC epithelial cells were similar in their periodic acid Schiff positivity (**Figure 4b, 4d**).

Pleomorphic cells of another phenotype observed in FNA smears of PTC featured intracellular maculae (macula cells) (**Figure 1b**). This structure, mostly rounded and 4.5-18.0 μm in diameter, was located centrally, sometimes deforming the shape of a

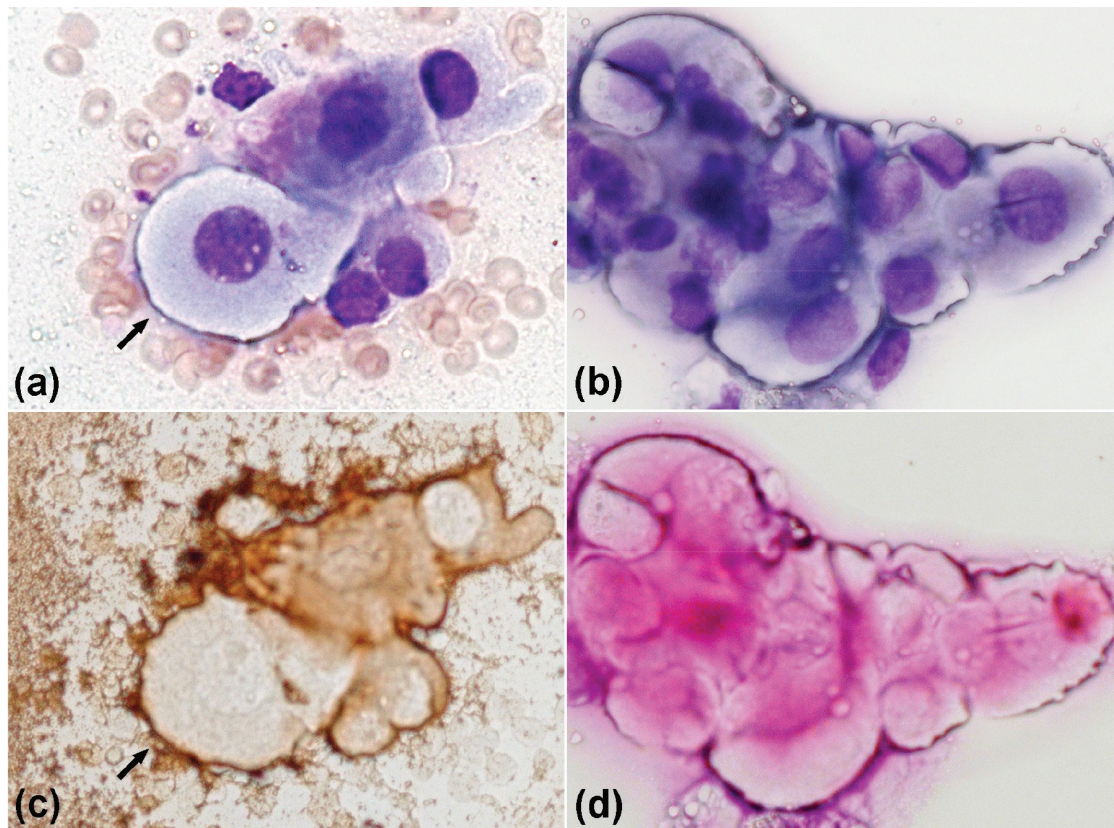


Fig. 4. 'Refractive surface cells' in FNA smears of PTC (a-d; $\times 1000$). Their cytoplasm is thyroglobulin-negative (arrow) (c) and periodic acid Schiff reaction shows no excessive accumulation of polysaccharides (d).

nucleus. Having fuzzy boundaries it was composed of a non-uniform, fine granular basophilic material stained blue by Giemsa dye. Macula cells (MCs) were arranged singly or in clusters, being either isolated or attached to epithelial sheets. MCs were more than double the size of other PTC epithelial cells, i.e., $773.1 \pm 25.0 \mu\text{m}^2$ ($p < 0.01$) (**Figure 2b**).

The cytoplasm of MCs was mildly basophilic, containing occasional inclusions and small vacuoli. In nuclear shape and chromatin structure MCs were similar to other PTC epithelial cells, and some of the former contained intranuclear pseudoinclusions. The latter were found in 67.4% (29/43) of MCs-containing PTC. MCs' nuclear size equaled $156.4 \pm 3.7 \mu\text{m}^2$ being statistically larger than that of other PTC epithelial cells ($p < 0.01$). Binucleate MCs were observed sporadically and some of these cells contained micronuclei.

Despite resembling macrophages visually (**Figure 5 a-d**), MCs were CD45- and CD68-negative. But similar to RSCs, they displayed positivity for CK7 and CK8 (**Figure 5c**) as well as CK20-negativity. The positive reaction for CK7 and CK8 was

often more intensive in the macular region. EpCAM was expressed by MCs in a very specific way. Normally, this molecule is found on the cell surface and in the cytoplasm of epithelial cells but MCs express epCAM only in laminar structures sometimes observed between contacting surfaces of these cells (**Figure 5d**).

MCs were calcitonin-negative and thyroglobulin-positive (**Figure 6a, 6c**), the latter reaction being poor or absent in the macular region. RNase digestion demonstrated that its basophilia was RNA-related (**Figure 6b, 6d**). Occasional mitoses seen in MCs showed they are not degenerative cellular forms.

We found RSCs in 28.2% (79/280) of PTC cases analyzed. In RSCs-containing lesions their share was up to 1.0% of all PTC epithelial cells, though in one case it was as high as 38%. In contrast, MCs were observed more frequently, i.e., in 48.9% (137/280) of analyzed PTC cases. In MCs-containing tumors MCs usually made up to 1% of epithelial cells on a FNA smear totaling up to 30.0% in some cases. We never found RSCs and/or MCs

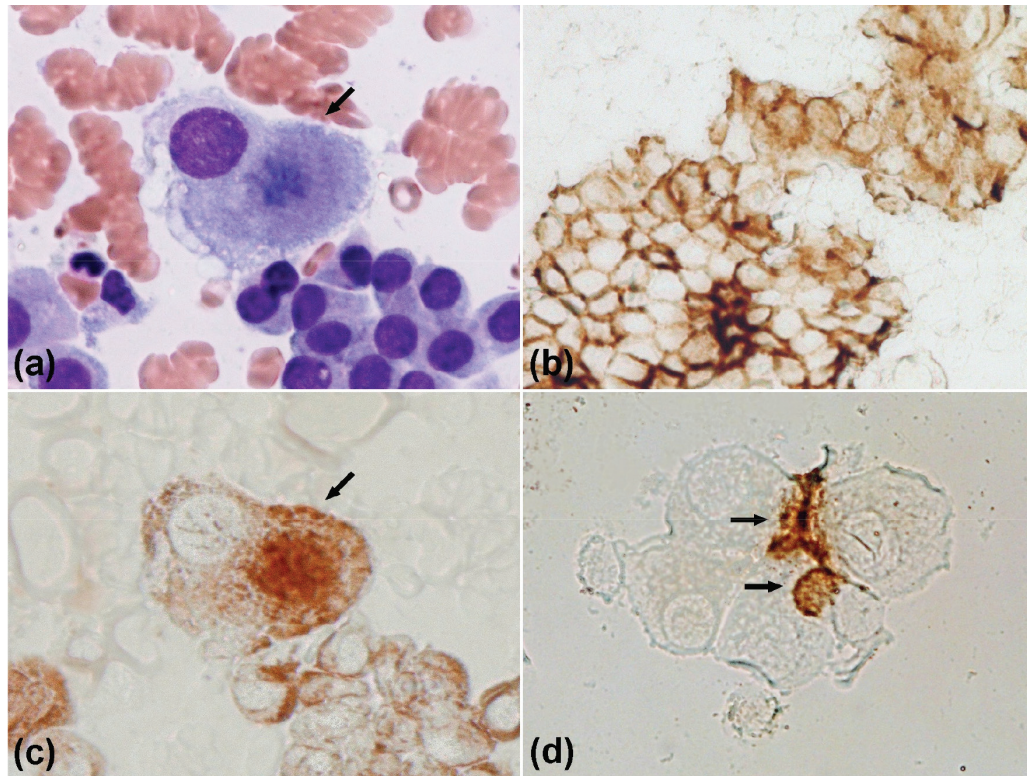


Fig. 5. 'Macula cells' in FNA smears of PTC (a-d). CK8-positivity indicates the epithelial origin of these cells (arrow) (c; $\times 1000$). In contrast to other PTC epithelial cells (b; $\times 700$), they demonstrate a peculiar pattern of epCAM positivity (arrows) (d; $\times 1000$).

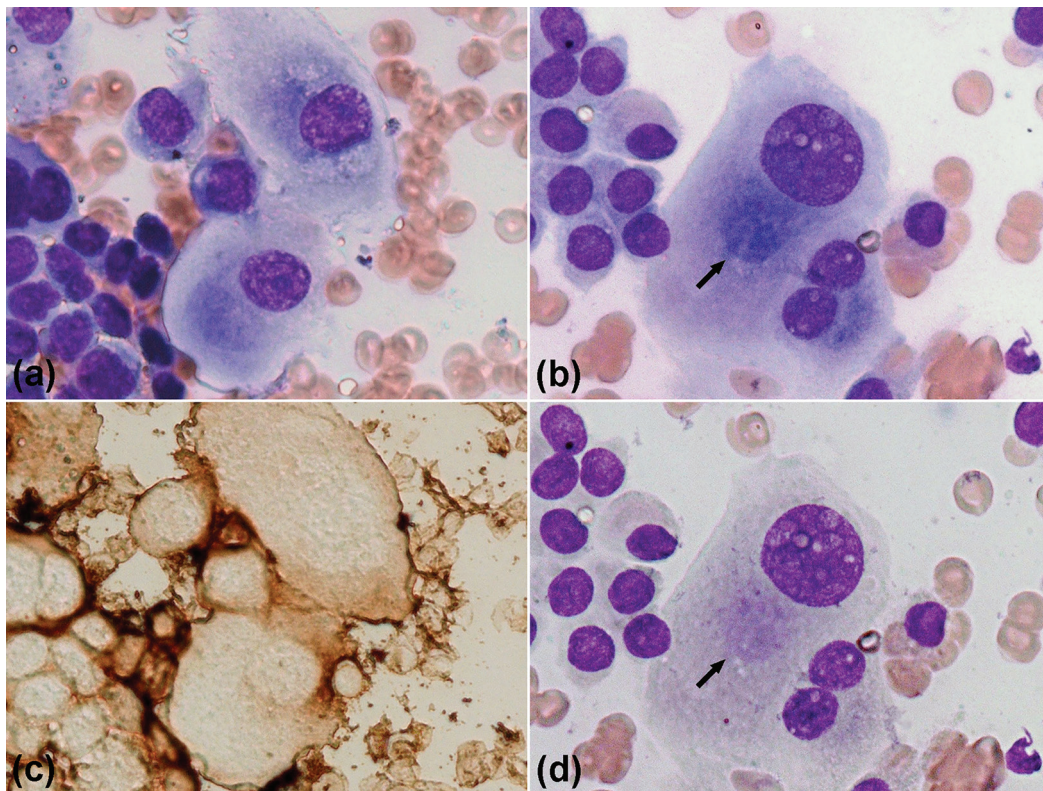


Fig. 6. "Macula cells" in FNA smears of PTC (a-d; $\times 1000$). Their cytoplasm is moderately thyroglobulin-positive (c). RNase digestion shows that the macula contains RNA (arrow) (b – before, d – after the digestion).

Оригінальні дослідження

in FNA smears of nodular goiter (0/620), follicular thyroid adenoma (0/332), Hashimoto's thyroiditis (0/54), oncocytic cell lesion (0/50), follicular thyroid carcinoma (0/22) or medullary thyroid carcinoma (0/42).

Enlarged pleomorphic cells of both phenotypes express CK7 and CK8 presuming their epithelial origin. They are also negative for CK20 and calcitonin. Cells of the first phenotype, i.e., RSCs, are epCAM-negative producing little or no thyroglobulin. The latter feature may be explained by earlier evidence of downregulated and patchy thyroglobulin expression in PTC [10, 11]. RSCs lack features either of oncocytic cells, i.e., large nucleolus and oxyphilic cytoplasm, or parafollicular cells, i.e., calcitonin-positivity. Thus, combined features of RSCs as well as their occasional integration into epithelial sheets indicate their epithelial and, most likely, follicular cell origin.

It remains to be investigated why the cytoplasm of RSCs turns 'clear'. Possible explanations include the accumulation of mitochondria-derived vesicles, mucin-depositing vacuoles, glycogen, thyroglobulin, or lipids reported earlier for PTC cells [12, 13]. However, the thyroglobulin-negativity, usual levels of periodic acid Schiff positivity and rare vacuoli or lipid inclusions observed in the cytoplasm of RSCs allow to exclude from consideration at least some factors mentioned above.

An intracellular macula is the most distinctive feature of another group of enlarged pleomorphic cells found in FNA smears of PTC, i.e., MCs. As evidenced by their immunophenotype, except epCAM expression, MCs are of follicular cell origin. The question whether RSCs and MCs are related cell forms is open to discussion.

It was found that RSCs and MCs could mimic macrophages. Atypical macrophage-like so-called 'histiocytoid' cells were described earlier in PTC [14]. A detailed comparison between RSCs and MCs, on the one hand, and 'histiocytoid' cells, on the other, may prove difficult because the immunophenotype of the latter is poorly studied. Though, a number of morphologic features, namely light-refracting cell borders of RSCs, basophilic macula of MCs, and small numbers of vacuoli typical of both RSCs and MCs make them different from 'histiocytoid' cells.

The sensitivity of RSCs and MCs as PTC markers was earlier found to be 28.4% and 48.9%, respectively [15]. It is lower than that of Hector Battifora

mesothelial antigen-1 [16-19], CK19 [17-19] and galectin-3 [17, 19, 20]. However, being inferior to other PTC markers in sensitivity, RSCs and MCs are superior in specificity. Notwithstanding the fact that intranuclear pseudoinclusions occur in 80-85% of PTC cases, they are unspecific being occasionally observed in papillary hyperplasia, Hashimoto's thyroiditis, hyalinizing trabecular tumor and oncocytic cell neoplasm [2, 20]. A meta-analysis demonstrated that Hector Battifora mesothelial antigen-1, CK19 and galectin-3 are 73-83% specific in the detection of PTC [20]. All this is in sharp contrast to 100% specificity shown either by RSCs or MCs.

Earlier, we found that fragments of transformed follicular epithelium observed in FNA smears of PTC display two distinct cell patterns never seen within the same epithelial cell sheet [9]. The first pattern, a regular one, is formed by evenly spaced cells and can be found frequently. The second, irregular cell pattern has the appearance of cohesive cell clusters formed by highly pleomorphic cells and can be seen occasionally. Our findings suggest that RSCs and MCs are, at least in part, responsible for the specific appearance of the second pattern.

This study was performed using air-dried, conventional Giemsa stained smears. In many aspects they are different from liquid-based preparations gaining popularity in the last decade, especially by the amount of the background material [21]. In conventional smears, cells are embedded into the homogeneous layer of a dried mixture of blood plasma and colloid. In this case refractive-index differences are small between the cytoplasm of a follicular cell and the background material, making cell borders barely discernible and sometimes invisible. This focuses the attention of a cytologist on RSCs ensuring their easier identification. One may assume that these cells look different in liquid-based preparations. Additional research is required to evaluate how they perform in the identification of RSC or MC.

Our study has several limitations. First, it is not clear whether the identified PTC cell phenotypes relate to independent clones of tumor cells. We can only assume, for now, that such relation is possible, on the ground of the specific morphology, immunophenotype and capacity of RSCs and MC to form cohesive clusters.

Second, the invasive/metastatic potential of RSCs and MCs and, thus, their value to predict the aggressive behavior of PTC remains unclear. An

impaired epCAM expression typical of RSCs and MCs may indicate the involvement of these cells in invasive processes. In this context, it would be useful to compare the occurrence of RSCs and MCs in PTC cases grouped by levels of invasive/metastatic growth, as well as to analyze the proliferative activity of these cells.

Third, as RSCs and MCs were identified and studied in FNA smears we do not know precisely what histological structures of a PTC (papillae, solid areas etc) they originate from. Such information would assist in exploring the diagnostic potential of RSCs and MCs. Further research is required to clarify the issues mentioned above.

Conclusions

Our findings suggest that RSCs and MCs occur in FNA smears of PTC but never in smears of benign or non-PTC malignant lesions of the thyroid, having the epithelial origin. RSCs and MCs demonstrate a limited sensitivity, but both show 100% specificity in the detection of PTC. The unusual morphology of these cells permits their easy identification without time-consuming immunocytochemistry. The use of RSCs or MCs as morphologic markers complementary to the panel of other PTC markers may improve the reliability of PTC detection in FNA cytology, especially in Giemsa-stained smears, in which nuclear features are less discernible.

References

- Sherman SI. Thyroid carcinoma. *Lancet*. 2003 Feb 8;361(9356):501-11. doi: 10.1016/s0140-6736(03)12488-9.
- Galera-Davidson H, Gonzalez-Campora R. Thyroid. In: Bibbo M, Wilbur DC. (eds.) *Comprehensive Cytopathology*, Philadelphia, USA: Saunders/Elsevier; 2008. p.633-70.
- Bozhok Y, Greenebaum E, Bogdanova TI, McConnell RJ, Zelinskaya A, Brenner AV, et al. NA cohort study of thyroid cancer and other thyroid diseases after the Chernobyl accident: cytohistopathologic correlation and accuracy of fine-needle aspiration biopsy in nodules detected during the first screening in Ukraine (1998-2000). *Cancer*. 2009 Apr 25;117(2):73-81. doi: 10.1002/cncy.20002.
- Clark DP, Faquin WC. *Thyroid cytopathology (Essentials in cytopathology)*. New York: Springer; 2010.
- Bozhok YM, Golovko O, Nikonenko AG. nPASym: an open-source plugin for ImageJ to quantify nuclear shape asymmetry. *Comput Methods Programs Biomed*. 2020 Nov;196:105562. doi: 10.1016/j.cmpb.2020.105562.
- Cong B, Cagan RL. Cell competition and cancer from *Drosophila* to mammals. *Oncogenesis*. 2024 Jan 3;13(1):1. doi: 10.1038/s41389-023-00505-y.
- Fennell KA, Vassiliadis D, Lam EYN, Martelotto LG, Balic JJ, Hollizeck S, et al. Non-genetic determinants of malignant clonal fitness at single-cell resolution. *Nature*. 2022 Jan;601(7891):125-31. doi: 10.1038/s41586-021-04206-7.
- Lloyd RV, Osamura RY, Kloppel G, Rosai J. (eds.) *WHO classification of tumours of endocrine organs: 4th ed*. Lyon: IARC Press; 2017.
- Nikonenko AG, Bozhok YM. Patterns of papillary thyroid carcinoma cells analyzed in fine-needle aspiration smears may reveal changes in tumor cell behavior. *Diagn Cytopathol*. 2012 May;40 Suppl 1:E55-61. doi: 10.1002/dc.21695.
- Rosignolo F, Maggisano V, Sponziello M, Celano M, Di Gioia CR, D'Agostino M, et al. Reduced expression of THR1 in papillary thyroid carcinomas: relationship with BRAF mutation, aggressiveness and miR expression. *J Endocrinol Invest*. 2015 Dec;38(12):1283-9. doi: 10.1007/s40618-015-0309-4.
- DeLellis RA, Shin SJ, Treaba DO. Immunohistology of endocrine tumors. In: Dabbs DJ. (ed.) *Diagnostic Immunohistochemistry*. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2010. p.291-339.
- Yang GC, Fried K, Scognamiglio T. Cytological features of clear cell thyroid tumors, including a papillary thyroid carcinoma with prominent hobnail features. *Diagn Cytopathol*. 2013 Sep;41(9):757-61. doi: 10.1002/dc.22935.
- Morrison C, Wakely P Jr. Aspiration cytopathology of metastatic mucinous papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol*. 2001 Apr;14(4):361-5. doi: 10.1038/modpathol.3880316.
- Harshan M, Crapanzano JP, Aslan DL, Vazquez MF, Saqi A. Papillary thyroid carcinoma with atypical histiocytoid cells on fine-needle aspiration. *Diagn Cytopathol*. 2009 Apr;37(4):244-50. doi: 10.1002/dc.20990.
- Bozhok YuM, Nikonenko AG. A strategy to search for new cytologic criteria in the differential diagnostics of thyroid cancers based on current (post-Chernobyl) practice in Ukraine. In: Kakudo K. (ed.) *Thyroid FNA cytology. Differential diagnoses and pitfalls*, Singapore: Springer Nature; 2019. p.563-77.
- Bizzarro T, Martini M, Marrocco C, D'Amato D, Traini E, Lombardi CP, et al. The role of CD56 in thyroid fine needle aspiration cytology: a pilot study performed on liquid based cytology. *PLoS One*. 2015 Jul 17;10(7):e0132939. doi: 10.1371/journal.pone.0132939.
- Schmitt AC, Cohen C, Siddiqui MT. Paired box gene 8, HBME-1, and cytokeratin 19 expression in preoperative fine-needle aspiration of papillary thyroid carcinoma: diagnostic utility. *Cancer Cytopathol*. 2010 Aug 25;118(4):196-202. doi: 10.1002/cncy.20082.
- Scognamiglio T, Hyjek E, Kao J, Chen YT. Diagnostic usefulness of HBME1, galectin-3, CK19, and CITED1 and evaluation of their expression in encapsulated lesions with questionable features of papillary thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2006 Nov;126(5):700-8. doi: 10.1309/044V-86JN-2W3C-N5YB.
- de Matos LL, Del Giglio AB, Matsubayashi CO, de Lima Farah M, Del Giglio A, da Silva Pinhal MA. Expression of CK-19, galectin-3 and HBME-1 in the differentiation of thyroid lesions: systematic review and diagnostic meta-analysis. *Diagn Pathol*. 2012 Aug 13;7:97. doi: 10.1186/1746-1596-7-97.
- LiVolsi VA. Papillary thyroid carcinoma: an update. *Mod Pathol*. 2011 Apr;24 Suppl 2:S1-9. doi: 10.1038/modpathol.2010.129.
- Faquin WC. Use of conventional smears versus liquid-based preparations for fine-needle aspirate specimens: the time has not come to abandon your conventional smears! *Cancer Cytopathol*. 2014 May;122(5):340-2. doi: 10.1002/cncy.21407.

Abbreviations

CK – cytokeratin
EpCAM – epithelial cell adhesion molecule
FNA – fine needle aspiration biopsy
MC – macula cell
PTC – papillary thyroid carcinoma
RSC – refractive surface cell

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge histologic confirmation provided by the Laboratory of Pathology (the head – Dr. T.I. Bogdanova, Ph.D., D.Sc.) of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine».

Оригінальні дослідження

Два незвичайні фенотипи епітеліальних клітин дозволяють виявляти папілярну карциному в тонкогілкових аспіратах щитоподібної залози

Ю.М. Божок¹, О.Г. Ніконенко²

¹ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

²Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

Резюме. Тонкогілкова аспіраційна біопсія (ТАБ) є найбільш часто використовуваним методом діагностики папілярної карциноми (ПКЩ) та інших уражень щитоподібної залози. Однак цитоморфологічні маркери ПКЩ, що застосовуються зараз у діагностичній ТАБ цитології, є недостатньо специфічними. Вони спостерігаються як при злоякісних, так і при доброякісних ураженнях, експресуються клітинами не кожного підтипу ПКЩ та різною часткою популяції клітин пухлини. **Мета** полягала в дослідженні нових морфологічних маркерів ПКЩ, що можуть бути застосовані при дослідженні мазків ТАБ матеріалу щитоподібної залози. **Матеріал і методи.** Матеріал дослідження включав ТАБ мазки вузлового зобу (n=620), фолікулярної аденоми щитоподібної залози (n=332), тиреоїдиту Хашимото (n=54), онкоцитарних пухлин (n=50), фолікулярної карциноми щитоподібної залози (n=22), медулярної карциноми щитоподібної залози (n=42) та ПКЩ (n=280). Були досліджені ТАБ мазки від пацієнтів обох статей (1164 жінки та 236 чоловіків) віком від 17 до 87 років. Для їх аналізу були застосовані цитохімія, імуноцитохімія та комп'ютерна морфометрія. **Результати.** В ТАБ мазках ПКЩ були ідентифіковані епітеліальні клітини двох незвичайних фенотипів, яких ніколи не виявляли в мазках доброякісних і не-ПКЩ злоякісних уражень щитоподібної залози. Імуноцитохімічне виявлення цитокератинів (ЦК) вказало на епітеліальне походження цих збільшених і плеоморфних клітин. Основні особливості першого фенотипу включали світлу цитоплазму, чітко окреслені контури клітин, що сильно заломлювали світло, низьку або негативну реакцію на тиреоглобулін та негативну реакцію на ерСМ. Клітини другого фенотипу мали макулу, що містила РНК, демонстрували позитивну реакцію на тиреоглобулін і специфічний патерн експресії ерСМ. Питання, чи є клітини двох ідентифікованих фенотипів спорідненими формами клітин, є відкритим для дискусії. **Висновки.** Виявлені клітини зустрічаються лише в ПКЩ і, таким чином, можуть бути використані як високоспецифічні морфологічні маркери, що потенційно здатні підвищити надійність виявлення ПКЩ при дослідженні звичайних ТАБ мазків щитоподібної залози, забарвлених за методом Гімза. Незвичайна морфологія цих клітин дозволяє легко ідентифікувати їх без труднощів імуноцитохімії.

Ключові слова: діагностична цитологія, тонкогілкова аспірація, папілярна карцинома щитоподібної залози.

For citation: Bozhok YM, Nikonenko AG. Two unusual epithelial cell phenotypes allow to detect papillary carcinoma in fine-needle aspirates of the thyroid. Endokrynologia. 2024;29(2):126-134. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.126.

Correspondence address: Bozhok Yuriy Mykhaylovych, yubozhok@gmail.com, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Vyshgorodska Str., 69, Kyiv 04114, Ukraine.

Information about the authors: Bozhok Yuriy Mykhaylovych, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher in the Department of Functional Diagnostics, ORCID: 0000-0003-0017-9787; Nikonenko Alexander Georgyovych, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher in the Department of Cytology, Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, ORCID: 0000-0003-2557-3406.

Personal contribution: Bozhok Y.M. – concept and design of the study, analysis of results; Nikonenko A.G. – computer morphometry, writing the article.

Funding: The article was prepared within the framework of budgetary funding of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine according to the plan of research work of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine».

Declaration of ethics: The authors have declared no conflicts of interest or financial obligations.

Article: received June 03, 2024; revised June 06, 2024; accepted June 24, 2024; published June 30, 2024.

Для цитування: Божок ЮМ, Ніконенко ОГ. Два незвичайні фенотипи епітеліальних клітин дозволяють виявляти папілярну карциному в тонкогілкових аспіратах щитоподібної залози. Ендокринологія. 2024;29(2):126-134. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.126.

Адреса для листування: Божок Юрій Михайлович, yubozhok@gmail.com, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, Київ 04114, Україна.

Відомості про авторів: Божок Юрій Михайлович, д-р біол. наук, провідний науковий співробітник відділу функціональної діагностики, ORCID: 0000-0003-0017-9787; Ніконенко Олександр Георгійович, д-р біол. наук, провідний науковий співробітник відділу цитології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця Національної академії наук України, ORCID: 0000-0003-2557-3406.

Особистий внесок: Божок Ю.М. – концепція та дизайн дослідження, аналіз результатів; Ніконенко О.Г. – комп'ютерна морфометрія, написання статті.

Фінансування: стаття підготовлена в рамках бюджетного фінансування НАМН України за планом науково-дослідних робіт ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України». Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 03.06.2024 р.; перероблена 06.06.2024 р.; прийнята до друку 24.06.2024 р.; надрукована 30.06.2024 р.

Залежність перебігу ранового процесу від рівня гормонів стресу в чоловіків комбатантів

Н.Ю. Селюкова^{1,2},
І.А. Лурін^{3,4},
М.О. Бойко²,
В.В. Негодуйко^{5,6},
Т.В. Тижненко²,
К.В. Місюра²

¹Національний фармацевтичний університет

²ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України»

³Національна академія медичних наук

⁴ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами

⁵Військово-медичний клінічний центр Північного району командування медичних сил

⁶Харківський національний медичний університет

Резюме. Посттравматичний стресовий розлад (ПТСР) – це розлад психічного здоров'я, що розвивається після пережитої або побаченої травматичної події. Такою подією може стати бій, отримання бойової травми, побачена загибель людини, ракетний обстріл, сексуальне насильство тощо. Проте безпечні для життя події, як-от раптова смерть близької людини, також можуть стати причиною ПТСР. Травматичне ушкодження є серйозним стресором для організму і викликає зміни в біологічній реакції. **Метою** нашого дослідження було визначення основних закономірностей між об'ємом ранового ушкодження та змінами рівнів гормонів стресу в сироватці крові комбатантів на різних етапах ранової (травматичної) хвороби. **Матеріал і методи.** Дослідження були проведені у Військово-медичному клінічному центрі Північного регіону Командування медичних сил ЗСУ, м. Харків, Україна. У дослідженні брали участь 120 чоловіків воїнів, які були розділені на 4 групи по 30 чоловік залежно від об'єму поранення. Досліджувалися рівні стресових гормонів. Була використана певна періодизація залежно від тих процесів, які відбуваються в організмі в певний період після отримання травми. **Результати.** На 1-3-у добу після поранення відбувалось підвищення рівнів адренокортикотропного гормону (АКТГ) в осіб із середніми та важкими травмами. Починаючи з 4-5-ї доби після поранення, збільшується рівень АКТГ в осіб із легким пораненням, але в пацієнтів із середніми та важкими пораненнями було виявлено зниження рівнів гормону. Таке падіння порівняно з початковими рівнями може свідчити про певні зміни в нейроендокринній відповіді організму на травму. Рівень альдостерону зростає у осіб із важкими пораненнями в термін 14 днів після травмування на тлі відсутності кровотечі, що підтверджує тривалий і кумулятивний вплив травматизації на активність ренін-ангіотензин-альдостеронової системи. **Висновки.** Встановлена позитивна залежність гормональних показників стресового стану від тяжкості та терміну поранення чоловіків комбатантів. Доцільним є продовження дослідження щодо рівнів кортизолу, альдостерону та АКТГ із залученням більшого загалу по-

Оригінальні дослідження

ранених із деталізацією локалізації поранення, «ендокринологічного» анамнезу пацієнтів, неврологічного та психічного статусу, параметрів гемодинаміки та системи гомеостазу.

Ключові слова: гормони стресу, комбатанти, ранова поверхня, посттравматичний стресовий розлад.

Події які розгортаються в Україні останні два роки, інтенсивно впливають на психологічний і фізичний стан військових та цивільних людей. У осіб, які зазнали впливу важкої травматичної події, дуже часто розвиваються ПТСР і гострий стресовий розлад. Ці стани психічного здоров'я, що виникають внаслідок травматичної, іноді шоккової, події в житті людини, такої як бойові дії, бойова травма, терористичні атаки, сексуальне насильство тощо [1]. Гострий стресовий розлад – це інтенсивна, неприємна реакція на сильний травматичний інцидент, яка починається незабаром після нього і триває менше як місяць. Симптоми гострого стресового розладу подібні до ПТСР і можуть включати почуття відстороненості від реальності та/або почуття відірваності від себе та своїх переживань. Після пережитої травматичної події в житті людини спочатку виникають психологічні зміни в її організмі, але на пізніх етапах це дуже сильно віддзеркалюється на фізичному здоров'ї, і це може проявлятися навіть через десятки років після отримання травми. Також стрес може бути викликаний наявністю ранової поверхні на тілі. Рани можуть викликати стрес із різних причин.

Раною заведено називати механічне пошкодження, що супроводжується порушенням цілості зовнішніх покривних тканин, у першу чергу шкіри. У загальному розумінні рана – це відкрита механічна травма, такий стан ще можна назвати ранова хвороба. Рановий процес – це реакція організму на травму, що характеризується певною послідовністю стадій, або фаз, що мають свої анатомічні, патогістологічні, біохімічні, клінічні особливості. Суть ранового процесу полягає в мобілізації загальних та місцевих захисних реакцій, спрямованих на загоєння рани [2].

Стрес – це стан фізіологічної або психологічної напруги, зумовлений різноманітними чинниками довкілля, що викликають порушення функцій організму та яких організм намагається уникнути. Стрес-реакція в кожній людини залежить від сили або дози й тривалості дії стресорних факторів [3, 4].

Із позиції імунного дистрес-синдрому, перебіг травматичної хвороби відбувається в чотири етапи. Перший етап характеризується гострою реакцією на травму і триває, у середньому, до двох діб. У цей період спостерігаються нейроендокринні реакції з активацією симпатoadреналової системи, порушення судинного тонуусу тощо. Другий етап – це період раннього прояву травматичної хвороби в перші 14 діб. У цей період відбувається імунотоксикоз, можливий розвиток імунопараліча. Третій період травматичної хвороби починається після 14 діб і характеризується її пізніми проявами, до яких належать розвиток дистрофічних та склеротичних процесів, гальмування консолидації переломів, розвиток хибних суглобів та посттравматичний остеомієліт. Четверта стадія травматичної хвороби – це період реабілітації, який характеризується частковим або повним відновленням функцій організму.

Кортикотропін-релізінг-гормон потрапляє до гіпофіза, де стимулює продукцію АКТГ, або діє як самостійний нейрогормон реалізації поведінкових та гормональних реакцій на емоційні стреси, а також бере участь у зміні функцій внутрішніх органів й імунної системи. Вазопресин так само стимулює продукцію АКТГ гіпофізом, підвищує активність симпатичної нервової системи, бере участь у захисній агресивній поведінці. Катехоламіни регулюють секрецію КРГ та залучені в складному нейромедіаторному механізмі контролю продукції, а також вивільнення кортикотропіну аденогіпофізом [5].

Травматичне ушкодження є серйозним стресором для організму і викликає зміни в біологічній реакції. Зокрема, реакція кортизолу, опосередкована гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковою віссю, є регулятором психопатологічної траєкторії у відповідь на стресові життєві події [6]. Секреція кортизолу є продуктивною реакцією на стрес, однак у деяких людей може спостерігатися порушення регуляції гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової вісі, наприклад підвищеним (гіперкортицизм) або зниженим (гіпокортицизм) рівнями секреції кортизолу після стресу [7].

Метою нашого дослідження було визначення основних закономірностей між об'ємом ранового ушкодження та змінами рівнів гормонів стресу в сироватці крові комбатантів на різних етапах ранової (травматичної) хвороби.

Матеріал і методи

Комплекс досліджень було проведено відповідно до етичних і морально-правових вимог Статуту Української асоціації з біоетики та норм GCP (1992 р.), GLP (2002 р.), принципів Гельсінської декларації прав людини, конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину й ухвалений комісією з питань етики та біоетики Військово-медичного клінічного центру Північного регіону Командування медичних сил ЗСУ.

У нашому дослідженні брали участь 120 чоловіків воїнів, які були розділені на 4 групи по 30 чоловік залежно від об'єму поранення. Перша група – поранення легкого ступеня (малий обсяг ушкодження); друга – поранення середнього ступеня (середній обсяг ушкодження); третя – поранення важкого ступеня (великий обсяг ушкодження), четверта – контроль.

Середній вік поранених $34,2 \pm 4,3$ роки, середня маса тіла становила $78,0 \pm 3,5$ кг. Досліджували рівні АКТГ та альдостерону, забір матеріалу проводили в ранковий час. Контрольні значення брали одноразово від здорових та неушкоджених чоловіків воїнів зазначеного віку та маси тіла. Концентрації гормонів, що досліджувались, визначали за допомогою наборів імуноферментного аналізу ТОВ «ХЕМА» (м. Київ, Україна) відповідно до інструкції у складі набору. Референтні значення: АКТГ – 5-46 пг/мл і альдостерону – <199 пг/мл.

Нами була використана певна періодизація залежно від тих процесів, які відбуваються в організмі в певний період після отримання травми:

1) 1-3-я доба – у цей період відбувається гострий стрес/гострий (шоковий) період / катаболічна фаза ранового процесу;

2) 4-5-а доба – відбувається імунотоксикоз/період нестійкої адаптації/анаболічна фаза ранового процесу;

3) 14-та доба – розвиток дистрофічних та склеротичних процесів/період стійкої адаптації ранової хвороби/регенерація та загоєння рани.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакета програм Microsoft Excel.

Нормальність розподілу цифрових масивів перевіряли використовуючи W-критерій Шапіро-Вілکا. Дані дослідження представлені у вигляді середніх значень та стандартної похибки ($M \pm m$). Статистичну вірогідність оцінювали за параметричним t-критерієм Стюдента. Різницю вважали вірогідною при $p < 0,05$.

Результати та обговорення

На першому етапі ми досліджували рівень АКТГ в сироватці крові здорових чоловіків і пацієнтів та оцінювали залежність концентрації гормонів від об'єму ранового ушкодження. У контрольній групі рівень АКТГ дорівнював у середньому $35,25 \pm 6,22$ пг/мл. Дані обстеження, представленого для аналізу (табл. 1), свідчать про вірогідне підвищення рівнів АКТГ на 1-3 добу після поранення в осіб із середнім (на 120%) та важким пораненнями (на 128%) ($p < 0,05$). Це підвищення рівня гормонів стресу може мати важливе значення для реакції організму на травму, включаючи зменшення запалення, стимулювання відновлення тканин та підтримку адаптації до травми.

Таблиця 1. Рівень АКТГ при пораненні різного ступеня (пг/мл)

Table 1. ACTH level in wounds of different degrees (pg/mL)

Період Period	Контрольна група Control group	Ступінь поранення Degree of injury		
		легкий mild	середній medium	важкий severe
1-3-я доба Days 1-3	$35,25 \pm 6,22$	$28,25 \pm 11,58$	$77,40 \pm 0,61^{1,2}$	$80,25 \pm 1,47^{1,2}$
4-5-а доба Days 4-5		$60,60 \pm 5,35^1$	$6,80 \pm 0,21^{1,2,3}$	$4,90 \pm 1,79^{1,2,3}$
14-а доба Days 14		$34,75 \pm 6,06$	$16,25 \pm 3,07^{1,2,3}$	$0,97 \pm 0,03^{1,2,3}$

Примітки: вірогідна різниця ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою (¹), групою легкого поранення (²) і групою поранення на 1-3-ю добу (³).

Notes: significant difference ($p < 0.05$) compared with the control group (¹), mildly wounded group (²) and the wounded group on days 1-3 (³).

На 4-5-у добу після поранення, збільшувався рівень АКТГ в осіб із легким пораненням, але в пацієнтів із середнім та важким пораненнями було відмічено зниження рівнів гормону. Таке падіння порівняно з початковими рівнями може свідчити про певні зміни в нейроендокринній

Оригінальні дослідження

відповіді організму на травму. Ці падіння можуть відображати певні адаптаційні процеси, що відбуваються в організмі під час загоювання ран та реабілітації після травматичних подій. Зниження рівня АКТГ може свідчити про те, що організм переходить із фази активної реакції на стрес до фази відновлення та адаптації. Додаткові дослідження можуть розкрити більше деталей щодо механізмів цих змін у рівнях гормонів стресу та їхнього впливу на процес загоювання ран та загальний стан організму після травматичних подій.

Вірогідне падіння вмісту АКТГ у термін 4-5-а доба може пояснюватися дією в цей період нестійкої адаптації на центральному рівні стрес-лімітуючих систем (по закону зворотного регулювання відносно великих концентрацій АКТГ у перші доби після поранення), до яких належать ГАМК-ергічна та опіоїдергічна системи, субстанція Р, нейропептид Y, оксид азоту. Ці активні речовини стрес-лімітуючих систем мають гальмівну дію, модифікують секрецію кортиколіберину, АКТГ, обмежують активність симпатoadреналової системи. Пригнічувальна дія гамма-аміномасляної кислоти та опіоїдних пептидів на катехоламінову ланку стрес-реалізуючої системи відбувається не лише в ЦНС, а й на периферії [8]. Доказом тісного зв'язку стрес-реалізуючих та стрес-лімітуючих систем можуть бути дані про те, що в гіпофізі АКТГ опіоїдні пептиди утворюються з єдиного попередника. Гальмівна субстанція Р утворюється в гіпоталамусі й амігдалі, інгібує функцію нейронів, які продукують КРГ. Оксид азоту блокує вивільнення норадреналіну із симпатичних нейронів та обмежує стресорну вазоконстрикцію [9]. Стрес-лімітуючі структури отримують також сигнали безпосередньо від гормонів, що циркулюють у крові, про що свідчить наявність на мембранах секреторних нейронів гіпоталамуса рецепторів до гормонів периферійних ендокринних залоз [5]. Але це твердження потребує підтвердження відносно обстежених осіб.

Щодо рівнів АКТГ на 14-у добу дослідження, були виявлені нижчі рівні гормону у 2,2 раза в осіб із середнім ступенем поранення відносно групи із легким пораненням ($p < 0,05$) та контролю, та в осіб із важким пораненням – майже в 36 разів нижчий ($p < 0,05$) відповідно до групи з легким ступенем поранення та групою контролю.

Щодо зниження рівня АКТГ на 14-ту добу при важкому пораненні, то це можна пояснити тим, що коли стресор діє тривалий час без достатньої можливості для відновлення та відпочинку, це може призвести до третьої стадії стресу, відомої як стадія виснаження. На цій стадії відбувається виснаження гормональних ресурсів організму, що може мати серйозні наслідки для функціонування систем організму. Важливо вчасно впізнавати ознаки тривалого стресу і вживати заходи для його зменшення та керування, щоб уникнути досягнення цієї стадії виснаження. Це може включати стратегії релаксації, медитації, фізичну активність, соціальну підтримку та інші методи для зменшення стресу та підтримки психофізіологічного благополуччя.

Важливим моментом також є визначення різниці у характері подальших змін рівнів АКТГ в осіб із пораненнями середнього та важкого ступенів. Якщо при середній важкості рівень гормону зростає починаючи з 14-ї доби, то в осіб із важкими пораненнями продовжував знижуватися, що може призвести до зменшення секреції кортизолу.

Вважаємо, що в цей період для цієї категорії поранених доцільним є визначення кортизолу крові/сечі/слини (тип дослідження підібрати залежно від технічної спроможності його проведення в пацієнтів). Саме концентрація цього гормону має клінічне значення в даному випадку [10]. При діагностуванні падіння рівнів кортизолу – доцільним є симптоматична терапія [11]. Визначення кортизолу може бути й маркером спроможності організму до регенерації.

Аналізуючи отримані результати, можна зробити висновок, що доцільним є продовження дослідження щодо рівнів кортизолу та АКТГ із залученням більшого загалу поранених із деталізацією локалізації поранення, «ендокринологічного» анамнезу пацієнтів, неврологічного та психічного статусу, параметрів гемодинаміки та системи гомеостазу.

Другим етапом нашої роботи було дослідження рівнів альдостерону (табл. 2). Встановлено вірогідне підвищення рівнів альдостерону на 1-3-у добу після поранення в пацієнтів із важкими травмами на 50% відносно групи контролю ($79,03 \pm 6,32$ пг/мл) та на 40% відносно групи з легким пораненням ($p < 0,05$) відповідно. Визначено, що в групі з тяжким пораненням рівні альдостерону продовжують зростати, на 14-ту добу

дослідження, що вірогідно вище, ніж в осіб із легкими та середніми пораненнями в аналогічний термін обстеження ($p < 0,05$), а також є найвищим у всі терміни обстеження осіб із тяжкими пораненнями ($p < 0,05$).

Таблиця 2. Рівень альдостерону при пораненні різного ступеня (пг/мл)

Table 2. Aldosterone level in wounds of different degrees (pg/mL)

Період Period	Контрольна група Control group	Ступінь поранення Degree of injury		
		легкий mild	середній medium	важкий severe
1-3-я доба Days 1-3	79,03±6,32	96,05±13,40	95,50±23,77	158,30±8,02 ^{1,2}
4-5-а доба Days 4-5		89,50±18,57	89,55±15,82	200,20±29,94 ^{1,2}
14-а доба Days 14		98,45±16,48	100,85±26,19	307,80±39,31 ^{1,2,3}

Примітки: вірогідна різниця ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою (¹), групою легкого поранення (²) і групою поранення на 1-3-ю добу (³).

Notes: significant difference ($p < 0.05$) compared with the control group (¹), mildly wounded group (²) and the wounded group on days 1-3 (³).

У нашому дослідженні звертає увагу факт, що в осіб із важкими пораненнями рівень альдостерону зростає навіть на 14-ту добу після поранення, коли вже кровотечі не буває. Підвищений рівень альдостерону в осіб із важкими пораненнями, може пояснюватися тим, що після травми та стресового впливу організм активує різні механізми для відновлення гомеостазу. Підвищений рівень альдостерону може бути частиною цього процесу, оскільки альдостерон впливає на рівень рідини та електролітів в організмі. Також рана може викликати активацію системи ренін-ангіотензин-альдостерон, навіть після того, як кровотеча вже припинилася. Активована система ренін-ангіотензин-альдостерону може стимулювати вироблення альдостерону, щоб зберегти воду та електроліти в організмі та допомогти відновити гомеостаз. Після травми організм перебуває у стані загостреного стресу, навіть після того, як кровотеча припинилася. Це може включати біль, запалення, імунну реакцію та інші стресові відповіді, які можуть спричиняти вироблення альдостерону.

Отже, підвищений рівень альдостерону через 14 днів після поранення може бути результатом активації різних фізіологічних механізмів в організмі, спрямованих на відновлення гомеостазу та адаптацію до стресового впливу.

Наше припущення підтверджується даними інших дослідників, які довели, що травми-зація має тривалий і кумулятивний вплив на активність ренін-ангіотензин-альдостеронової системи.

Під впливом АКТГ в тканинах наднирників відбувається підвищення синтезу ДНК і РНК, збільшуються розміри клітин, об'єм ядер, гіпертрофуються ядерця і пластинчастий комплекс, зростає число ліпідних включень і мітохондрій, збільшується об'єм гладенької ендоплазматичної мережі, утворюються та активуються ферменти. Ростстимулюючий ефект АКТГ *in vivo*, швидше за все, відбувається через активацію локальної та складної мережі автокринних факторів росту та їхніх власних рецепторів [12]. Функції альдостеронутворюючих клітин лише частково перебувають під контролем АКТГ [13].

Стереотипною початковою реакцією ендокринної системи на травму є активація практично всіх її комплексів та ланок. Кінцевим результатом її активації є вплив на різноманітні клітинні та міжклітинні структури, мобілізація глюкози, амінокислот, затримка натрію та води. Дослідження основних закономірностей між об'ємом ранового ушкодження та рівнями гормонів стресу в крові бійців на різних етапах ранової хвороби може бути важливим для розуміння впливу стресу на загоювання ран та загальний стан організму. Гормональна реакція на стрес включає ряд фізіологічних змін у тілі, включаючи вироблення АКТГ, альдостерону та кортизолу. Збільшення концентрації АКТГ та кортизолу в сироватці крові може спостерігатися навіть у перші хвилини після травматичної події. Встановлення взаємозв'язку між цими факторами може допомогти визначити оптимальні стратегії лікування та реабілітації для людей із ранами, особливо для тих, хто перебуває в ситуаціях стресу, таких як військові дії або аварійні ситуації. Такі дослідження дадуть змогу оптимізувати стратегії догляду за ранами та керування стресом у постраждалих [14].

Висновки

1. Встановлена позитивна залежність гормональних показників стресового стану від тяжкості та терміну поранення чоловіків комбатантів.

Оригінальні дослідження

2. На 1-3 добу після поранення відбувалось вірогідне підвищення рівнів АКТГ в осіб із середніми та важкими травмами. Але вже на 4-5-у та 14-ту добу спостерігалось падіння вмісту АКТГ в осіб із середніми та важкими пораненнями, що може пояснюватися дією в цей період нестійкої адаптації на центральному рівні стрес-лімітуючих систем.

3. Рівень альдостерону зростав у чоловіків із важкими пораненнями починаючи з першої доби після травми й це частково можна пояснити рясною крововтратою. Але рівень альдостерону продовжував зростати навіть на 14-ту добу після поранення на тлі відсутності кровотечі, що підтверджує тривалий і кумулятивний вплив травматизації на активність ренін-ангіотензин-альдостеронової системи.

4. Доцільним є продовження дослідження щодо рівнів кортизолу, альдостерону та АКТГ із залученням більшого загалу поранених із деталізацією локалізації поранення, «ендокринологічного» анамнезу пацієнтів, неврологічного та психічного статусу, параметрів гемодинаміки та системи гомеостазу.

Список використаної літератури

- Du J, Diao H, Zhou X, Zhang C, Chen Y, Gao Y, et al. Post-traumatic stress disorder: a psychiatric disorder requiring urgent attention. *Med Rev (Berl)*. 2022 Aug 2;2(3):219-43. doi: 10.1515/mr-2022-0012.
- Цимбалюк ВІ, ред. Вогнепальні поранення м'яких тканин (досвід антитерористичної операції/операції об'єднаних сил). Харків: Колегіум, 2020. 400 с. (Tsybalyuk VI, ed. Soft tissue gunshot wounds (counter-terrorist operation/joint force operation experience). Kharkiv: Collegium, 2020. 400 p. Ukrainian).
- Нечитайло ІС, Милославська ОВ. Психологічний дистрес населення України під час війни. Тези доповідей учасників міжнародного психологічного форуму «Особистість, Суспільство, Війна». 15 квітня 2022 р, Харків, Україна. Харків: ХНУВС; 2022. С. 85-7 (Nechitaylo IS, Myloslavska OV. Psychological distress of the population of Ukraine during the war. In: Abstracts of the reports of the participants of the international psychological forum «Personality, Society, War». 15 April 2022, Kharkiv, Ukraine. Kharkiv: KhNUIA; 2022. p. 85-7. Ukrainian).
- Барабой ВА, Резніков ОГ. Фізіологія, біохімія і психологія стресу. Київ: Інтерсервіс, 2013. 314 с. (Baraboy VA, Reznikov AG. Physiology, biochemistry and psychology of stress. Kiev: Interservice; 2013. 314 p. Ukrainian).
- Lamotte G, Shouman K, Benarroch EE. Stress and central autonomic network. *Auton Neurosci*. 2021 Nov;235:102870. doi: 10.1016/j.autneu.2021.102870.
- Oitzl MS, Champagne DL, van der Veen R, de Kloet ER. Brain development under stress: hypotheses of glucocorticoid actions revisited. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010 May;34(6):853-66. doi: 10.1016/j.neubiorev.2009.07.006.
- Saxbe DE. A field (researcher's) guide to cortisol: tracking HPA axis functioning in everyday life. *Health Psychol Rev*. 2008;2(2):163-90. doi: 10.1080/17437190802530812.
- Joëls M, Baram TZ. The neuro-symphony of stress. *Nat Rev Neurosci*. 2009 Jun;10(6):459-66. doi: 10.1038/nrn2632.
- Raise-Abdullahi P, Meamar M, Vafaei AA, Alizadeh M, Dadkhah M, Shafia S, et al. Hypothalamus and Post-Traumatic Stress Disorder: A Review. *Brain Sci*. 2023 Jun 29;13(7):1010. doi: 10.3390/brainsci13071010.
- Young EA, Tolman R, Witkowski K, Kaplan G. Salivary cortisol and posttraumatic stress disorder in a low-income community sample of women. *Biol Psychiatry*. 2004 Mar 15;55(6):621-6. doi: 10.1016/j.biopsych.2003.09.009.
- Sherin JE, Nemeroff CB. Post-traumatic stress disorder: the neurobiological impact of psychological trauma. *Dialogues Clin Neurosci*. 2011;13(3):263-78. doi: 10.31887/DCNS.2011.13.2/jsherin.
- Bertagna X. Effects of chronic ACTH excess on human adrenal cortex. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017 Mar 8;8:43. doi: 10.3389/fendo.2017.00043.
- Scott JH, Menouar MA, Dunn RJ. Physiology, Aldosterone. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470339/>.
- Kalaitzaki AE, Tamiolaki A. Russia-Ukraine War: Jeopardizing the mental health gains already been obtained globally. *Asian J Psychiatr*. 2022 Dec;78:103285. doi: 10.1016/j.ajp.2022.103285.

Список скорочень

АКТГ – адренокортикотропний гормон

ПТСР – посттравматичний стресовий розлад

The dependence of wound healing process on the levels of stress hormone in men-combatants

N.Yu. Seliukova^{1,2}, I.A. Lurin^{3,4}, M.O. Boiko², V.V. Nehoduiko^{5,6}, T.V. Tyzhnenko², K.V. Misiura²

¹National University of Pharmacy

²State Institution «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of NAMS of Ukraine»

³National Academy of Medical Sciences of Ukraine

⁴State Institution of Science «Research and Practical Center of Preventive and Clinical Medicine» of State Administrative Department

⁵Hospital for Emergency Aid, Military Medical Clinical Center of the Northern Region of Armed Forces Command

⁶Kharkiv National Medical University

Abstract. Post-traumatic stress disorder (PTSD) is a mental health disturbance that develops after experiencing or witnessing a traumatic event. Such an event could be a battle, receiving a combat injury, witnessing the death of a person, rocket fire, sexual assault, etc. However, life-threatening events, such as the sudden death of a loved one, can also cause PTSD. Traumatic injury is a major stressor to the body and causes changes in the biological response. **The aim** was to determine the main patterns between the wound volume and changes in the levels of stress hormones in the blood serum of combatants at different stages of wound (traumatic) disease. **Material and methods.** The studies were conducted at the Hospital for Emergency Aid, Military Medical Clinical Center of the Northern Region of Armed Forces Command, Kharkiv, Ukraine. The study involved 120 male combatants who were divided into 4 groups of

30 people depending on the wound volume. Levels of stress hormones were studied. A certain periodization was used depending on the processes that occur in the body in a certain period after injury. **Results.** On days 1-3 after wounding there was an increase in the levels of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in persons with medium and severe injuries. Starting from 4-5 days after injury, ACTH levels increase in individuals with mild wounding, but in patients with moderate and severe wounding, a decrease in hormone levels was found. Such a drop compared to initial levels may indicate certain changes in the body's neuroendocrine response to trauma. Aldosterone level increased in severe wounding persons 14 days after injury in the absence of bleeding, which confirms the long-term and cumulative effect of trauma on the activity of the renin-angiotensin-aldosterone system.

Conclusions. A positive dependence of hormonal stress indicators on the severity and duration of wounding in male combatants was established. It is advisable to continue studying the levels of cortisol, aldosterone and ACTH with the involvement of a larger number of wounded people, detailing the location of wounding, the «endocrinological» history of the patients, neurological and mental status, parameters of homeostasis system.

Keywords: hormones, combatants, wounded surface, post-traumatic stress disorder.

Для цитування: Селюкова НЮ, Лурін ІА, Бойко МО, Негодуйко ВВ, Тижненко ТВ, Місюра КВ. Залежність перебігу ранового процесу від рівня гормонів стресу в чоловіків комбатантів. Ендокринологія. 2024;29(2):135-141. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.135.

Адреса для листування: Бойко Марина Олександрівна, nauka@iper.com.ua; ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», вул. Алчевських, 10, Харків 61002, Україна.

Відомості про авторів: Селюкова Наталія Юріївна, д-рка біол. наук, доцентка, старша дослідниця, провідна наукова співробітниця відділу координації та внутрішнього контролю науково-методичної роботи ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», ORCID: 0000-0001-9657-6888; Лурін Ігор Анатолійович, д-р мед. наук, проф., віцепрезидент НАМН України, академік НАМН України, генерал-майор медичної служби ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами, ORCID: 0000-0001-6280-1725; Бойко Марина Олександрівна, канд. фарм. наук, старша дослідниця, вчена секретарка ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», ORCID: 0000-0001-5252-3418; Негодуйко Володимир Володимирович, д-р мед. наук, доцент, начальник клініки невідкладної медичної допомоги військово-медичного клінічного центру Північного району командування медичних сил, доцент кафедри хірургії №4 Харківського національного медичного університету, ORCID: 0000-0003-4540-5207; Тижненко Тетяна Василівна, канд. біол. наук, старша дослідниця ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», ORCID: 0000-0003-1223-6240; Місюра Катерина Василівна, д-рка мед. наук, проф., директорка ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», ORCID: 0000-0002-0258-9109.

Особистий внесок: Селюкова Н.Ю. – ідея, участь в обробці матеріалу та оформленні статті; Лурін І.А. – участь в обробці матеріалу та редагуванні статті; Бойко М.О. – участь в обробці матеріалу та переклад реферату; Негодуйко В.В. – ідея, аналіз літератури, збір та аналіз даних, участь в оформленні статті; Тижненко Т.В. – участь в обробці матеріалу; Місюра К.В. – участь в обробці матеріалу та редагуванні статті.

Фінансування: ініціативна публікація.

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 07.03.2024 р.; перероблена 05.06.2024 р.; прийнята до друку 24.06.2024 р.; надрукована 30.06.2024 р.

For citation: Seliukova NYu, Lurin IA, Boiko MO, Nehoduiko VV, Tyzhnenko TV, Misiura KV. The dependence of wound healing process on the levels of stress hormone in men-combatants. Endokrynologia. 2024;29(2):135-141. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.135.

For correspondence: Boiko Maryna, E-mail: nauka@iper.com.ua, State Institution «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of NAMS of Ukraine», 10, Alchevskykh Str., Kharkiv 61002, Ukraine,

Information about the authors: Seliukova Nataliya Yuriyivna, Dr. Sci. (Biology), Senior Scientist, Assistant Professor, Scientific Researcher of State Institution «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of NAMS of Ukraine», ORCID 0000-0001-9657-6888; Lurin Ihor Anatoliyovych, MD, Vice-President of the NAMS of Ukraine, Academician of the NAMS of Ukraine, Major General of the Medical Service, State Institution of Science «Research and Practical Center of Preventive and Clinical Medicine» State Administrative Department, ORCID 0000-0001-6280-1725; Boiko Maryna Oleksandrivna, Cand. Sci. (Pharmacology), Senior Scientist, Academic Secretary of State Institution «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of NAMS of Ukraine», ORCID 0000-0001-5252-3418; Nehoduiko Volodymyr Volodymyrovych, Dr. Sci. (Medicine), Associate Professor, Colonel of Medical Service, Head of Hospital for Emergency Aid, Military Medical Clinical Center of the Northern Region of Armed Forces Command, Professor of the Department of Surgery № 4 of Kharkiv National Medical University, ORCID 0000-0003-4540-5207; Tyzhnenko Tetyana Vasylivna, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher of State Institution «V. Danilevsky Institute for Endocrine pathology Problems of NAMS of Ukraine», ORCID 0000-0003-1223-6240; Misiura Kateryna Vasylivna, Dr. Sci. (Medicine), Prof., Director of State Institution «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of NAMS of Ukraine», ORCID 0000-0002-0258-9109.

Personal contribution: Seliukova N.Yu. – concept, statistical processing and writing the text of the article; Lurin I.A. – processing of the study results and text editing; Boiko M.O. – writing the text of the article and translation; Nehoduiko V.V. – concept, design of the study, examination of patients, text editing; Tyzhnenko T.V. – processing of the study results. Misiura K.V. – processing of the study results and text editing.

Funding: initiative publication.

Declaration of ethics: the authors declare no conflict of interest or financial obligations.

Article: received March 07, 2024; revised June 05, 2024; accepted June 24, 2024; published June 30, 2024.

А.М. Урбанович,
А.П. Верещинська

Характер функціональних порушень щитоподібної залози в пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу та діабетичною хворобою нирок

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Резюме. Цукровий діабет 2-го типу (ЦД2) є найпоширенішим метаболічним захворюванням, яке призводить до численних ускладнень. Діабетична хвороба нирок (ДХН) є одним із найчастіших хронічних ускладнень ЦД та охоплює функціональні, структурні та клінічні порушення нирок. У пацієнтів із ДХН часто спостерігається дисфункція щитоподібної залози (ЩЗ), яка ускладнює вже наявні метаболічні порушення. **Мета роботи:** дослідити характер функціональних порушень ЩЗ в пацієнтів із ЦД2 та ДХН. **Матеріал і методи.** У дослідження було включено 125 пацієнтів із ЦД2 та ДХН. Пацієнтів було розділено на три групи згідно зі ступенем ризику прогресування ДХН. Група з помірним ризиком (група 1) включала 76 осіб, група з високим ризиком (група 2) мала 33 учасника, а група з дуже високим ризиком (група 3) об'єднувала 16 осіб. Всім учасникам було визначено індекс маси тіла (ІМТ) та проведено лабораторні дослідження, а саме: глікований гемоглобін (HbA1c), загальний холестерин, креатинін, сечовину, тиреотропний гормон (ТТГ), вільний трийодтиронін (вТз), вільний тироксин (вТ4). Для оцінки функціонального стану нирок було розраховано швидкість клубочкової фільтрації (рШКФ) та визначено співвідношення альбумін-креатиніну (САК). **Результати.** За даними дослідження було встановлено, що частота прогресування ДХН була вищою серед жінок. Середній вік усіх пацієнтів становив $56 \pm 0,77$ року; однак, вищий ризик прогресування ДХН спостерігався переважно в осіб старшого віку ($55,11 \pm 0,91$, $57,93 \pm 1,56$ і $61,13 \pm 2,28$ року відповідно; $p < 0,01$); а також у пацієнтів із довшою тривалістю ЦД2 ($7,75 \pm 1,31$, $8,39 \pm 0,84$ і $10,15 \pm 1,23$ року відповідно; $p < 0,01$). У всіх учасників дослідження було виявлено ожиріння ($ІМТ \geq 30$ кг/м²) та мали незадовільний глікемічний контроль ЦД2, оскільки рівень HbA1c перевищував 9% ($p < 0,05$). Важливо відзначити, що рівень загального холестерину був підвищений лише в групі 2 ($6,07 \pm 0,29$ ммоль/л) і групі 3 ($6,11 \pm 0,36$ ммоль/л) ($p > 0,05$). У розглянутих групах пацієнтів виявлено підвищення рівня показників функціонального стану нирок, таких як креатинін ($85,93 \pm 1,98$, $102,02 \pm 3,71$ і $133,82 \pm 6,52$ мкмоль/л), сечовина ($5,34 \pm 0,99$, $6,26 \pm 0,33$ і $9,35 \pm 0,87$ ммоль/л) та САК ($120,85 \pm 7,09$, $214,00 \pm 13,40$ і $334,38 \pm 17,15$ мг/г) (для всіх показників $p < 0,01$).

Також відмічено зниження рівня рШКФ у всіх групах ($79,11 \pm 1,75$, $60,76 \pm 2,78$ і $41,33 \pm 2,34$ мл/хв/1,73 м² відповідно; $p < 0,01$), що відображає ступінь ризику прогресування ДХН. Також, варто зазначити в усіх групах поступове підвищення рівня ТТГ ($2,69 \pm 0,35$, $3,12 \pm 0,57$ і $4,89 \pm 0,80$ мкМО/мл; $p < 0,05$) та водночас зниження рівня вТ₃ ($2,48 \pm 0,21$, $2,35 \pm 0,36$ і $1,18 \pm 0,15$ пг/мл; $p < 0,05$) і вТ₄ ($15,03 \pm 1,21$, $12,40 \pm 1,81$ і $6,14 \pm 0,83$ пмоль/л; $p < 0,05$) пропорційні ступеню ризику прогресування ДХН. **Висновки.** Встановлено, що в пацієнтів із ЦД2 та ДХН спостерігається порушення функції ЩЗ, що проявляється змінами рівня тиреоїдних гормонів, і свідчить про взаємозв'язок між функцією ЩЗ та прогресування ДХН. Саме тому важливо вчасно діагностувати та запобігати розвитку цих захворювань.

Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу, діабетична хвороба нирок, розрахункова швидкість клубочкової фільтрації, співвідношення альбумін-креатиніну, тиреоїдні гормони.

ЦД2 – хронічне поступальне захворювання, що характеризується порушенням усіх видів обміну та призводить до стійкої гіперглікемії. З огляду на глобальне збільшення частоти та тривалості ЦД2, спостерігається зростання поширеності ДХН [1].

Результати попередніх досліджень підтверджують, що ДХН є одним із найбільш серйозних ускладнень ЦД2 та є провідною причиною вперше діагнованих випадків термінальної стадії ниркової недостатності [2]. Патогенез ДХН є багатофакторним і включає метаболічні, гемодинамічні та генетичні порушення [3], а сам розвиток цього стану може відбуватися різними шляхами, зокрема альбумінурийним та неальбумінурийним [4].

Проявом ДХН є стійке збільшення виділення білка з сечею та поступальне зниження рШКФ. Згідно з рекомендаціями KDIGO 2022, ДХН класифікують за ступенем ризику прогресування, використовуючи поєднання категорій альбумінурії та рШКФ. Розрізняють чотири ступеня ризику: низький, помірний, високий та дуже високий [5]. Вони відображають ступінь важкості захворювання та потенційні наслідки для пацієнтів із ЦД2.

Комплекс метаболічних порушень, характерних для ДХН, виявляє значний вплив на функціонування інших органів та систем [6]. Порівняно з усіма іншими мікросудинними ускладненнями ЦД2, ДХН у 4,8 рази частіше спричиняє виникнення порушень функцій ЩЗ [7]. Пацієнти з поступальною ДХН мають значно вищу поширеність первинного не автоімунного гіпотиреозу, ніж пацієнти з іншими видами ниркової недостатності [2]. ДХН має комбінований вплив на гіпоталамо-гіпофізарну вісь та периферичну регуляцію функції ЩЗ [6].

Нирки відіграють важливу роль у регуляції метаболізму та елімінації мікроелементів та гор-

монів ЩЗ. Вони спричиняють підвищення концентрації неорганічного та тиреоїдного йоду в сироватці крові пацієнтів із ДХН. Це може призвести до подовження ефекту Вольфа-Чайкова та сприяти розвитку дисфункції ЩЗ [2].

Гормони, які продукує ЩЗ є необхідними для метаболізму, зокрема для регуляції рівня глюкози та інсуліну в крові, забезпечення енергетичного гомеостазу та підтримку водно-електролітної рівноваги [8]. Тиреоїдні гормони впливають на преренальні та прямі ниркові функції, регулюючи нирковий кровотік, канальцеву реабсорбцію, водно-електролітну рівновагу, активність ренін-ангіотензин-альдостеронової системи та рШКФ [2].

Порушення функції ЩЗ призводить до патологічної регуляції гормонів ЩЗ. Зменшення активності ЩЗ (гіпотиреоз) призводить до розвитку гіперглікемії, гіперліпідемії, зниження рШКФ, гіпонатріємії, а також збільшення екскреції білка та зменшення екскреції води з сечею. Гіперфункція ЩЗ (гіпертиреоз) спричиняє гіперглікемію, гіперінсулінемію, підвищення рШКФ, збільшення ниркового кровотоку та збільшення протеїнемії [9].

Дисфункція ЩЗ та ДХН взаємопов'язані, тож зміна функції ЩЗ має значний вплив на перебіг та прогноз розвитку ДХН.

Мета роботи – дослідити характер функціональних порушень ЩЗ у пацієнтів із ЦД2 та ДХН.

Матеріал і методи

Набір пацієнтів для дослідження проводився на клінічній базі кафедри ендокринології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького – Львівському обласному державному клінічному лікувально-діагност-

Оригінальні дослідження

тичному ендокринологічному центрі за період з лютого 2022 р. по квітень 2023 р. Клінічне дослідження було схвалене комісією з біоетики Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (Протокол № 1 засідання вченої ради медичного факультету №2 Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького від 31 січня 2022 р.). Дослідження проводилося лише за умови підписання добровільної інформованої згоди пацієнта.

Всі учасники повинні відповідати критеріям включення, а саме: вік 35-70 років, встановлений діагноз ЦД2, порушення функціонального стану нирок, які підтверджені лабораторними методами дослідження (рШКФ ≥ 30 мл/хв/1,73м², альбумінурія ≥ 30 мг/г). Пацієнти на момент огляду застосовували цукрознижувальну терапію.

Для аналізу отриманих статистичних даних порівнювали дані між двома групами, використовуючи t-критерій Стюдента. Статистичну обробку матеріалів дослідження проводили з використанням методів біометричного аналізу, реалізованих у пакетах програм SPSS версії 21. Щоб встановити характер змін ШЗ при ЦД2 та ДХН, ми розраховували нескориговані й скориговані показники й відповідний їм 95% довірчий інтервал з нескоригованими й скоригованими моделями логістичної регресії. Статистична значущість була встановлена на $p \leq 0,05$. Результати представлені як $M \pm m$.

При роботі з пацієнтами, була зібрана інформація щодо анамнезу життя та захворювання. Зокрема, були проведені антропометричні вимірювання для визначення ІМТ [10].

Для дослідження забір крові проводився після 10 год голодування. Кожному пацієнту проведено загальний аналіз крові та загальний аналіз сечі. Хроматографічним методом визначено HbA1c, за допомогою наборів реагентів «D-10™ Dual Program HbA» («BIO RAD», США). Біохімічним методом за допомогою наборів реагентів «Monlab Test» («Monlab», Іспанія) визначено рівні загального холестерину (референтне значення: $< 5,2$ ммоль/л), креатиніну (референтне значення: 53,0-123,7 мкмоль/л) і сечовини (референтне значення: 2,5-7,5 ммоль/л).

Додатково досліджували функціональний стан ШЗ методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою наборів реагентів «NovaLisa» («NovaTec», Німеччина): визначали рівень ТТГ (референтне значення: 0,4-4,0 мкМО/мл),

вТ₃ (референтне значення: 1,4-4,2 пг/мл) і вТ₄ (референтне значення: 7,0-22,0 пмоль/л).

рШКФ розраховували за формулою Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) [1, 5]. САК визначали за допомогою смужок «MicroalbuminPHAN» («Erba Mannheim», Чехія) для напівкількісного визначення альбуміну та креатиніну в ранішній сечі. Інтерпретували результати за допомогою САК [1, 5].

Дослідження включало 125 пацієнтів, яких розділили на три групи, відповідно до ступенів ризику прогресування ДХН клінічних рекомендацій KDIGO Diabetes Working Group 2022 (табл. 1): група з помірним ризиком (група 1) включала 76 осіб, група з високим ризиком (група 2) мала 33 учасники, а група з дуже високим ризиком (група 3) об'єднувала 16 осіб.

Таблиця 1. Ступені ризику прогресування

Table 1. Stages of risk for DKD progression

Категорії рШКФ, мл/хв/1,73м ² eGFR categories, mL/min/1.73 m ²	Категорії альбумінурії (САК), мг/г Albuminuria categories, mg/g		
	A1 нормо- normal- ≤30	A2 мікро- micro- 31-299	A3 макро- macro- ≥300
G1 ≥90 нормальна G1 ≥90 normal	1	1	2
G2 89-60 незначно знижена G2 89-60 slightly decreased	1	1	2
G3a 59-45 помірно знижена G3a 59-45 moderately decreased	1	2	3
G3b 44-30 виражено знижена G3b 44-30 significantly decreased	2	3	3

Примітка: 1 – помірний ризик, 2 – високий ризик, 3 – дуже високий ризик.

Note: 1 – moderate risk, 2 – high risk, 3 – very high risk.

Результати та обговорення

Серед усіх досліджуваних учасників, середній вік становив $56,63 \pm 0,77$ року. Клініко-лабораторні параметри обстежених груп пацієнтів наведені в табл. 2. Встановлено, що спостерігається збільшення ризику прогресування ДХН у пацієнтів старшого віку та з довшою тривалістю ЦД2. Варто відзначити, що в пацієнтів, які мають ЦД2 в анамнезі понад 5 років, спостерігаються не лише його мікросудинні ускладнення, але й дисфункція ШЗ [9]. У досліджених гру-

пах кількість жінок та чоловіків була практично однаковою (64 і 61 відповідно), що свідчить про рівний розподіл статевих категорій серед учасників. Проте, аналізуючи учасників групи 3, виявлено, що жінок було втричі більше, ніж чоловіків, що може вказувати на швидше прогресування ДХН у жінок.

Таблиця 2. Клінічні характеристики в пацієнтів різних груп із ДХН (M±m)

Table 2. Clinical characteristics in patients of different groups with DKD (M±m)

Характеристики Characteristics	Група 1 Group 1 (n=76)	Група 2 Group 2 (n=33)	Група 3 Group 3 (n=16)
Вік, роки Age, years	55,11±0,91	57,93±1,56 ^{##}	61,13±2,28*
Тривалість ЦД, роки Duration of diabetes, years	7,75±1,31	8,39±0,84	10,15±1,23**
Чоловіки, n (%) Male, n (%)	43 (56,6%)	14 (42,4%)	4 (25,0%)
Жінки, n (%) Female, n (%)	33 (43,4%)	19 (57,6%)	12 (75,0%)
ІМТ, кг/м ² BMI, kg/m ²	31,41±0,67	31,23±0,71	31,54±0,90
HbA1c, %	9,27±0,20	9,53±0,42 ^{##}	9,91±0,39 ^{**++}
Загальний холестерин, ммоль/л Total cholesterol, mmol/L	5,55±0,22	6,07±0,29	6,11±0,36
Креатинін, мкмоль/л Creatinine, μmol/L	85,93±1,98	102,02±3,71 [#]	133,82±6,52 ^{*+}
Сечовина, ммоль/л Urea, mmol/L	5,34±0,99	6,26±0,33 [#]	9,35±0,87 ^{*+}
рШКФ, мл/хв/1,73м ² eGFR, mL/min/1.73 m ²	79,11±1,75	60,76±2,78 [#]	41,33±2,34 ^{*+}
САК, мг/г UACR, mg/g	120,85±7,09	214,0±13,40 [#]	334,38±17,15 ^{*+}
ТТГ, мкМО/мл TSH, μU/mL	2,69±0,35	3,12±0,57 ^{##}	4,89±0,80 ^{**++}
вТ ₃ , пг/мл FT ₃ , pg/mL	2,48±0,21	2,35±0,36	1,18±0,15 ^{**++}
вТ ₄ , пмоль/л FT ₄ , pmol/L	15,03±1,21	12,40±1,81	6,14±0,83 ^{**++}

Примітка: вірогідна різниця [#] - $p < 0,01$ і ^{##} - $p < 0,05$ порівняння між групами 1 і 2; вірогідна різниця * - $p < 0,01$ і ** - $p < 0,05$ порівняння між групами 1 і 3; вірогідна різниця + - $p < 0,01$ і ++ - $p < 0,05$ порівняння між групами 2 і 3.

Note: significant difference [#] - $p < 0.01$ and ^{##} - $p < 0.05$ comparisons between groups 1 and 2; significant difference * - $p < 0.01$ and ** - $p < 0.05$ comparisons between groups 1 and 3; significant difference + - $p < 0.01$ and ++ - $p < 0.05$ comparisons between groups 2 and 3.

Між порівнюваними групами не було виявлено суттєвої різниці щодо ІМТ, проте в усіх пацієнтів ІМТ ≥ 30 кг/м², що, згідно зі стандартами ВООЗ, вказує на наявність ожиріння [10].

Рівень HbA1c у всіх групах $>9\%$, що свідчить про наявність незадовільного глікемічного контролю ЦД2 та потенційно впливає на прогресування ДХН. Не було виявлено вірогідних змін щодо впливу загального холестерину на прогресування ДХН, хоча спостерігалася тенденція до підвищення серед досліджуваних груп.

Виявлено стійку зміну показників функціонального стану нирок у пацієнтів із вищим ризиком ДХН, що продемонстровано в табл. 2. Це відображає підвищення рівнів креатиніну та сечовини, що свідчить про їх накопичення в крові, внаслідок ураження ниркових клубочків. Поступальне зниження рівня рШКФ і підвищення рівня САК вказує на ушкодження та порушення фільтраційної функції клубочків, що спричинене патологічними змінами в структурі ниркових тканин.

Рівень ТТГ пропорційно підвищується, відповідно до ступеня ризику ДХН (табл. 2). Це може бути зумовлено негативним впливом гіперглікемії та порушенням функціонального стану нирок на гіпоталамо-гіпофізарну вісь, а саме порушення відповіді ТТГ на рилізінг гормони; збільшення періоду напіввиведення ТТГ та зменшення нічного піка ТТГ, внаслідок зниження рШКФ [9, 11, 12].

Концентрації вТ₃ та вТ₄ у крові демонструють виражену спадну тенденцію в усіх групах (табл. 2). Гіперглікемія знижує активність тироксиндейодинази, що пригнічує периферичне декодування тироксина до трийодтироніна в печінці ферментом дейодинази 3-го типу [9]. Зниження рШКФ призводить до накопичення запальних цитокінів, що уповільнюють експресію 5'-дейодинази, що також призводить до зниження периферичного перетворення тироксина в трийодтиронін [12]. Гіпоальбумінемія, яка є наслідком альбумінурії супроводжується зниженням рівня білків, які зв'язують тиреоїдні гормони (тироксинзв'язувальний глобулін, транстиретин) та призводить до зниження рівня вТ₄ і вТ₃ у плазмі крові [13, 15]. Ендотеліальна дисфункція, як основний складник ДХН може впливати на синтез та обмін тиреоїдних гормонів, зокрема знижуючи рівень вТ₃ [14].

Подібні тенденції було виявлено в показниках функціонального стану нирок, а саме: віро-

Оригінальні дослідження

гідне підвищення рівня (креатиніну, сечовини, САК) та вірогідне зниження рШКФ у пацієнтів із підвищенням ступеня ризику ДХН [8]. Крім того, пацієнти з прогресуванням ДХН показали значно вищий рівень ТТГ і нижчий рівень вТ₃. Щодо концентрації вТ₄, хоча була продемонстрована тенденція до зниження, різниці не досягла статистичної значущості.

Описані схожі до наших результатів вищий рівень ТТГ і низький рівень вТ₃ у пацієнтів із вищим ступенем ризику прогресуванням ДХН [16]. Проте це дослідження не продемонструвало зниження рівня вТ₄, а навпаки – його помірне підвищення.

Висновки

ДХН є найчастішим хронічним ускладненням ЦД2, яке спричиняє порушення функції ЩЗ. При проведенні аналізу характеру функціональних порушень ЩЗ в пацієнтів із ДХН серед досліджуваних груп, розподілених відповідно до ступенів ризику прогресування ДХН, зроблено наступні висновки.

- 1) Швидке прогресування ДХН частіше спостерігається в пацієнтів старшого віку та осіб жіночої статі; а також у хворих із тривалим перебігом та декомпенсацією ЦД2.
- 2) Не виявлено вірогідних змін щодо впливу ІМТ та загального холестерину на прогресування ДХН серед учасників дослідження.
- 3) Підтверджено поступальне підвищення рівня ТТГ, відповідно до ступеня ризику прогресування ДХН.
- 4) Виявлено поступове зниження рівня вТ₃, відповідно до погіршення функціонального стану нирок.
- 5) Ймовірно, що патофізіологічні механізми, які відбуваються при ДХН, призводять і до швидкого зниження рівня вТ₄ у крові.

Ці результати можуть покращити розуміння впливу ЦД2 та ДХН на функцію ЩЗ та підтверджують необхідність регулярного моніторингу функції ЩЗ у пацієнтів із ЦД2 та ДХН для своєчасного виявлення та лікування можливих порушень.

Список використаної літератури

1. Соколова ЛК. Хронічна хвороба нирок у практиці ендокринолога: підходи до діагностики та лікування. *Ендокринологія*. 2021;27(1):57-66 (Sokolova LK. Chronic kidney disease in

the practice of an endocrinologist: approaches to diagnosis and treatment. *Endokrynologia*. 2021;27(1):57-66. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2021.27-1.57.

2. Liu MC, Li JL, Wang YF, Meng Y, Cai Z, Shen C, et al. Association between thyroid hormones and diabetic kidney disease in Chinese adults. *BMC Endocr Disord*. 2023 Mar 8;23(1):56. doi: 10.1186/s12902-023-01299-1.
3. Prabhu RA, Shenoy SV, Nagaraju SP, Rangaswamy D, Rao IR, Bhojaraja MV, et al. Acute kidney injury and progressive diabetic kidney disease: an epidemiological perspective. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2021 Feb 9;14:23-31. doi: 10.2147/IJNRD.S291319.
4. Урбанович А, Верещинська А. Патофізіологічні особливості тиреоїдної дисфункції у хворих на цукровий діабет 2 типу та хронічну хворобу нирок (огляд літератури та власні спостереження). *Міжнародний ендокринологічний журнал (Україна)*. 2024;19(8):573-8 (Urbanovych A, Vereshchynska A. Pathophysiological features of thyroid dysfunction in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease (a literature review and own observations). *International Journal of Endocrinology (Ukraine)*. 2024;19(8):573-8. Ukrainian). doi: 10.22141/2224-0721.19.8.2023.1340.
5. de Boer IH, Khunti K, Sadusky T, Tuttle KR, Neumiller JJ, Rhee CM, et al. Diabetes management in chronic kidney disease: a consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Diabetes Care*. 2022 Dec 1;45(12):3075-90. doi: 10.2337/dci22-0027.
6. Shakyia S, Kumar S, Verma V, Gupta H, Sonkar SK, Atam V. Evaluation of interactions between thyroid dysfunction in end-stage renal disease patients: a cross-sectional study. *Cureus*. 2023 Feb 16;15(2):e35088. doi: 10.7759/cureus.35088.
7. Oputa RN, Chinenye S. Diabetes mellitus: a global epidemic with potential solutions. *Afr J Diabet Med*. 2012 Nov;20(2):33-5.
8. Zhao W, Li X, Liu X, Lu L, Gao Z. Thyroid function in patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy: a single center study. *J Thyroid Res*. 2018 Dec 2;2018:9507028. doi: 10.1155/2018/9507028.
9. Ogbonna SU, Ezeani IU. Risk factors of thyroid dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Jul 4;10:440. doi: 10.3389/fendo.2019.00440.
10. World Health Organization. Data for 2016. Available from: <http://www.who.int> [Accessed Dec 2, 2023].
11. Yang Z, Duan P, Li W, Nie R, Lou X, Wang L, et al. The correlation between thyroid hormone levels and the kidney disease progression risk in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2022 Jan 5;15:59-67. doi: 10.2147/DMSO.S347862.
12. Ansari I, Kumar S, Acharya S, Agrawal S, Saboo K. Thyroid dysfunction at different stages of chronic kidney disease: a cross-sectional study at a Rural Teaching College in Central India. *Cureus*. 2023 Jul 19;15(7):e42130. doi: 10.7759/cureus.42130.
13. Biondi B, Kahaly GJ, Robertson RP. Thyroid dysfunction and diabetes mellitus: two closely associated disorders. *Endocr Rev*. 2019 Jun 1;40(3):789-824. doi: 10.1210/er.2018-00163.
14. Stefanowicz-Rutkowska MM, Matuszewski W, Gontarz-Nowak K, Bandurska-Stankiewicz EM. Is there a relationship between the prevalence of autoimmune thyroid disease and diabetic kidney disease? *Open Life Sci*. 2021 Jun 21;16(1):611-9. doi: 10.1515/biol-2021-0064.
15. Basu G, Mohapatra A. Interactions between thyroid disorders and kidney disease. *Indian J Endocrinol Metab*. 2012 Mar;16(2):204-13. doi: 10.4103/2230-8210.93737.
16. Chen Y, Zhang W, Wang N, Wang Y, Wang C, Wan H, et al. Thyroid parameters and kidney disorder in type 2 diabetes: results from the METAL study. *J Diabetes Res*. 2020 Mar 28;2020:4798947. doi: 10.1155/2020/4798947.

Список скорочень

вТ₃ – вільний трийодтиронін

вТ₄ – вільний тироксин

ДХН – діабетична хвороба нирок

ІМТ – індекс маси тіла

рШКФ – розрахункова швидкість клубочкової фільтрації

САК – співвідношення альбуміну до креатиніну в сечі

ТТГ – тиреотропний гормон

ЦД2 – цукровий діабет 2-го типу

ЩЗ – щитоподібна залоза

HbA1c – глікований гемоглобін

Character of thyroid dysfunction in patients with type 2 diabetes and diabetic kidney disease

A.M. Urbanovych, A.P. Vereshchynska

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Abstract. Type 2 diabetes (T2D) is the most common metabolic disease that leads to numerous complications. Diabetic kidney disease (DKD) is one of the most frequent chronic complications of diabetes mellitus and includes functional, structural, and clinical disorders of the kidneys. Patients with DKD often have thyroid dysfunction, which complicates pre-existing metabolic abnormalities. **The aim of the work is** to investigate the character of thyroid dysfunction in patients with T2D and DKD. **Material and methods.** 125 patients with T2D and DKD were included in the study. Patients were divided into three groups according to the risk degree of DKD progression. The moderate-risk group (group 1) included 76 people, the high-risk group (group 2) had 33 participants, and the very high-risk group (group 3) included 16 people. Body mass index was determined for all participants, and laboratory tests were performed, namely: glycated hemoglobin, total cholesterol, creatinine, urea, thyroid-stimulating hormone, free triiodothyronine, and free thyroxine. To assess the functional state of the kidneys, the estimated glomerular filtration rate was calculated, and the albumin-creatinine ratio was determined. **Results and discussion.** According to the study, the rate of DKD progression was higher among women. The average age of all patients was $56 \pm \pm 0.77$ years; however, a higher risk of DKD progression was observed mainly in older individuals (55.11 ± 0.91 , 57.93 ± 1.56 and 61.13 ± 2.28 years, respectively; $p < 0.01$), as well as in patients with longer duration of T2D (7.75 ± 1.31 , 8.39 ± 0.84 and 10.15 ± 1.23 years, respectively; $p < 0.05$). All study participants were found to be obese (body mass index ≥ 30 kg/m²) ($p = 0.43$) and had unsatisfactory glycemic control of T2D, as the HbA1c level exceeded 9% ($p < 0.05$). It is important to note that the level of total cholesterol was increased only in group 2 (6.07 ± 0.29 mmol/L) and group 3 (6.11 ± 0.36 mmol/L) ($p > 0.05$). In the considered groups of patients, an increase in the level of indicators of the kidney functional state, such as creatinine (85.93 ± 1.98 , 102.02 ± 3.71 and 133.82 ± 6.52 μ mol/l), urea (5.34 ± 0.99 , 6.26 ± 0.33 and 9.35 ± 0.87 mmol/L) and albumin-creatinine ratio (120.85 ± 7.09 , 214.0 ± 13.4 and 334.38 ± 17.15 mg/g) (in all indicators $p < 0.01$). A decrease in the level of estimated glomerular filtration rate was also noted in all groups (79.11 ± 1.75 , 60.76 ± 2.78 and $41.33 \pm \pm 2.34$ mL/min/1.73 m², respectively; $p < 0.01$), which reflects the degree of risk for DKD progression. It is also worth noting the gradual increase in the level of thyroid-stimulating hormone in all groups (2.69 ± 0.35 , $3.12 \pm \pm 0.57$ and 4.89 ± 0.80 μ U/mL; $p < 0.05$) and at the same time the decrease in the levels of free triiodothyronine (2.48 ± 0.21 , 2.35 ± 0.36 and 1.18 ± 0.15 pg/mL; $p < 0.05$) and free thyroxine (15.03 ± 1.21 , 12.40 ± 1.81 and 6.14 ± 0.83

pmol/L; $p < 0.05$) are proportional to the degree of risk for DKD progression.

Conclusions. It was found that in patients with T2D and DKD, thyroid dysfunction is observed, manifested by changes in the level of thyroid hormones, and indicates the relationship between thyroid function and the DKD progression. That is why it is essential to diagnose and prevent the development of these diseases in a timely manner.

Keywords: Type 2 diabetes, diabetic kidney disease, glomerular filtration rate, urinary albumin to creatinine ratio, thyroid hormones.

Для цитування: Урбанович АМ, Верещинська АП. Характер функціональних порушень щитоподібної залози в пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу та діабетичною хворобою нирок. Ендокринологія. 2024;29(2):142-147. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.142.

Адреса для листування: Урбанович Аліна Мечиславівна, alinaur@dr.com; Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна.

Відомості про авторів: Урбанович Аліна Мечиславівна, д-рка мед. наук, проф., завідувачка кафедри ендокринології, ORCID: 0000-0003-3676-7345; Верещинська Андріана Петрівна, аспірантка кафедри ендокринології, ORCID: 0000-0001-9643-7589.

Особистий внесок: Урбанович А.М. – аналіз проблеми, концепція й дизайн дослідження, написання та редагування тексту, оформлення статті; Верещинська А.П. – підбір та клінічне обстеження пацієнтів, аналіз літератури, аналіз даних, дизайн статті, написання тексту.

Фінансування: стаття підготовлена в рамках бюджетного фінансування МОН України за планом науково-дослідної роботи «Особливості патогенезу, діагностики та лікування захворювань серцево-судинної, травної, ендокринної та дихальної систем в клініці та експерименті» кафедри ендокринології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (№ держреєстрації 0120U002142).

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 16.03.2024 р.; перероблена 12.04.2024 р.; прийнята до друку 24.06.2024 р.; надрукована 30.06.2024 р.

For citation: Urbanovych AM, Vereshchynska AP. Character of thyroid dysfunction in patients with type 2 diabetes and diabetic kidney disease. Endokrynologia. 2024;29(2):142-147. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.142.

Correspondence address. Urbanovych Alina, alinaur@dr.com; Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Pekarska street, 69, Lviv, 79010, Ukraine.

Information about the authors: Urbanovych Alina Mechyslavivna, Dr. Sci. (Medicine), Prof., Head of the Department of Endocrinology, ORCID: 0000-0003-3676-7345; Vereshchynska Andriana Petrivna, PhD-student at the Department of Endocrinology, ORCID: 0000-0001-9643-7589.

Personal contribution: Urbanovych A.M. – analysis of the problem, study concept and design, writing and editing of the text, article formatting; Vereshchynska A.P. – patient selection and clinical examination, literature review, data analysis, article design, writing the text.

Funding: the article was prepared within the budgetary funding of the Ministry of Education and Science of Ukraine under the plan of research work «Features of pathogenesis, diagnosis and treatment of cardiovascular, digestive, endocrine and respiratory system diseases in clinic and experiment» of the Department of Endocrinology of Danylo Halytsky Lviv National Medical University (state registration number 0120U002142).

Declaration of ethics: the authors have declared no conflicts of interest or financial obligations.

Article: received March 16, 2024; revised April 12, 2024; accepted June 24, 2024; published June 30, 2024.

Вплив стресу, пов'язаного з війною, на стан вуглеводного й ліпідного обмінів та темп метаболічного старіння в жінок різного віку

В.Б. Шатило¹,
С.С. Наскалова¹,
А.В. Писарук¹,
Е.О. Асанов¹,
О.В. Бондаренко¹,
Н.М. Кошель¹,
І.А. Диба¹,
В.Г. Сліпченко²

¹ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова Національної академії медичних наук України»

²Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут ім. Ігоря Сікорського»

Резюме. Хронічний стрес є фактором ризику розвитку порушень ліпідного та вуглеводного обміну, ожиріння та цукрового діабету 2-го типу (ЦД2). **Мета роботи** полягала в оцінці стану вуглеводного і ліпідного обмінів та темпу метаболічного старіння (МС) у цивільних жінок різного віку під час війни. **Матеріал і методи.** Обстежено 91 жінку різного віку, які під час активних бойових дій у лютому й березні 2022 р. зазнали впливу таких факторів війни як ракетні та артилерійські обстріли, перебування в бомбосховищах чи інших укриттях. Для порівняння використано дані 79 жінок різного віку, обстежених до російсько-української війни. Визначали антропометричні показники, концентрацію глюкози в плазмі крові натще та через 2 год стандартного глюкозотолерантного тесту (ГТТ), рівень інсуліну та кортизолу в плазмі крові, розраховували індекс інсулінорезистентності HOMA-IR. **Результати.** У жінок, обстежених під час війни, статистично значимо вища концентрація глюкози в крові як натще, так і через 2 год стандартного ГТТ, інсуліну та вищий індекс інсулінорезистентності HOMA-IR порівняно з групою жінок, обстежених до війни. Загальний бал опитувальника FINDRISK вказує на збільшення в них ризику розвитку ЦД2 в найближчі 10 років. У жінок усіх трьох вікових груп, обстежених під час війни, статистично значимо вища концентрація в плазмі крові кортизолу, ніж у відповідних групах жінок, обстежених до війни. Виявлено зростання частоти предіабетичних порушень вуглеводного обміну порівняно з їх частотою під час війни. Пришвидшення темпу МС під час війни відбулось у молодих жінок (до 45 років) та жінок похилого віку (60-74 років). **Висновок.** Посттравматичний стрес, пов'язаний із війною, призвів до порушення вуглеводного та ліпідного обміну. Більш значні зміни спостерігались у жінок старшого віку. Під час війни в жінок зростає частота предіабетичних порушень вуглеводного обміну, підвищується ризик розвитку ЦД2 в найближчі 10 років, пришвидшується темп МС.

Ключові слова: стрес, війна, порушення вуглеводного та ліпідного обміну, біологічний вік, темп метаболічного старіння.

Військові дії, руйнування інфраструктури, соціальні потрясіння та економічна нестабільність, які викликані повномасштабним вторгненням росії в Україну надають негативний вплив на фізичний та психологічний стан, призводять до серйозних наслідків для здоров'я цивільного населення.

Один з основних чинників, що впливають на здоров'я людей в умовах війни, є стрес. Постійна небезпека, втрата близьких, невизначеність майбутнього викликають психологічні проблеми, депресію, тривожність та інші психоемоційні порушення. Ці емоційні проблеми впливають на фізичне здоров'я, збільшують ризик серцево-судинних захворювань, знижують імунітет, погіршують загальне самопочуття та призводять до метаболічних розладів [1-3].

Посттравматичний стрес сприяє збільшенню поширеності метаболічного синдрому [1]. Катаболічні порушення метаболізму внаслідок посттравматичного стресу можуть викликати втрату або збільшення ваги [4]. Дослідження показують, що існує сильний зв'язок між посттравматичним стресом та ризиком центрального ожиріння [5]. Своєю чергою, ожиріння зумовлює розвиток резистентності до інсуліну, сприяє порушенню толерантності до вуглеводів та підвищує кардіометаболічний ризик [6, 7].

У людей, які перебувають у стані посттравматичного стресу, частіше спостерігаються такі метаболічні порушення як ожиріння, дисліпідемія, порушення толерантності до вуглеводів та ЦД2 [2, 3]. Порушення метаболізму вуглеводів в умовах військового стресу пов'язано з активацією гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи, біологічним маркером якої є підвищений рівень кортизолу в крові [4, 7]. Зміни кишкового мікробіому, нестача сну та зниження фізичної активності також відіграють важливу роль у розвитку порушень толерантності до вуглеводів при посттравматичному стресі [8, 9].

Експериментальні дослідження на тваринах показали, що посттравматичний стрес, пов'язаний із вибухами низької потужності, які не викликають механічну травму, призводять до розвитку метаболічних порушень, які включають зміну метаболізму глюкози, пов'язану з переходом від аеробних до анаеробних метаболічних шляхів [10]. При цьому збільшується співвідношення лактат/піруват, знижується

енергетичний резерв, розвивається окислювальний стрес та запалення [10-12].

Водночас порушення вуглеводного обміну тісно пов'язані з процесом старіння [13]. Останні дослідження показують, що, з одного боку, накопичення продуктів глікування білків при старінні сприяє розвитку порушень вуглеводного обміну. З іншого боку, продукти глікування білків є ключовим чинником серцевої та судинної дисфункції [14]. Річ у тім, що продукти глікування білків, які накопичуються з віком та у великих кількостях при ЦД2, реагують з оксидом азоту та інактивують його [15]. Також було показано, що за наявності резистентності до інсуліну пришвидшуються процеси старіння [16].

В експериментальних дослідженнях доведено спільність механізмів старіння та порушень вуглеводного обміну. Так, встановлено, що збільшення тривалості життя через обмеження калорійності їжі реалізується через регуляцію сигнальних шляхів інсуліну IGF1 [17, 18]. З іншого боку, встановлено зв'язок набору генів, що беруть участь у довголітті людини, зі шляхом інсулін/IGF1 [19]. Вважається, що взаємодія генів IGF1R та IRS2, яким належить важлива регуляторна роль у метаболізмі глюкози, може зменшити вікові метаболічні порушення та впливати на збільшення тривалості життя [20].

Таким чином, посттравматичний стрес може призводити до порушень вуглеводного обміну та пришвидшувати процеси старіння. Проте досі відсутні дослідження, присвячені з'ясуванню особливостей впливу воєнного стресу на стан вуглеводного і ліпідного обміну та темп МС в цивільних жінок різного віку.

Мета роботи полягала в оцінці стану вуглеводного і ліпідного обмінів та темпу метаболічного старіння в цивільних жінок різного віку під час війни.

Матеріал і методи

Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської Декларації. Всі учасники до початку дослідження отримали письмову інформацию про дослідження, після ознайомлення з нею вони добровільно підписали поінформовану згоду на участь у дослідженні.

Оригінальні дослідження

Обстежено 91 жінку різного віку (основна група), які під час активних бойових дій у лютому-березні 2022 р. перебували в м. Києві або в Київській області. Частина з них тривалий час перебувала в окупації, а інші з травня 2022 р. по травень 2023 р. зазнали сильного впливу таких факторів війни як ракетні та артилерійські обстріли, перебування в бомбосховищах чи інших укриттях, що позначилось на їх психоемоційному стані. Для порівняння використано дані 79 цивільних жінок різного віку, обстежених до російсько-української війни (контрольна група).

Визначали антропометричні показники: масу тіла та зріст, окружність талії та окружність стегон у положенні стоячи. Індекс маси тіла розраховували як відношення маси тіла в кг до квадрата зросту в метрах.

Для виявлення прихованих порушень вуглеводного обміну проводили стандартний пероральний ГТТ за методикою Всесвітньої організації охорони здоров'я (World Health Organization, 1999) та Американської асоціації з вивчення цукрового діабету (American Diabetes Association, 1997) [2]. Якщо рівень глюкози в плазмі натще становив 6,1-6,9 ммоль/л, то діагностували порушену глікемію натще, а при рівні глюкози в плазмі через 2 години стандартного ГТТ у межах 7,8-11,0 ммоль/л – порушену толерантність до глюкози.

Концентрацію глюкози в плазмі визначали глюкозооксидазним методом на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі BTS-330, використовуючи реагенти «Глюкоза» набору «Bio LATEST Lachema Diagnostica» (Іспанія). Рівень інсуліну та кортизолу в плазмі визначали імуноферментним методом використовуючи набори «DRG Insulin ELISA» та «DRG Cortisol ELISA» («DRG Instruments GmbH», Німеччина). У здорових людей референтні концентрації становлять: інсуліну натще – 2,0-25,0 мкОд/мл, кортизолу – 138-635 нмоль/л, холестерину загального – <5,17 ммоль/л, ХС ліпопротеїдів високої щільності – 0,9-1,42 ммоль/л, ХС ліпопротеїдів низької щільності – <3,37 ммоль/л, тригліцеридів – <1,71 ммоль/л.

Розраховували індекс інсулінорезистентності НОМА-IR (Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance) за формулою:

НОМА-IR = глюкоза плазми натще (ммоль/л) × інсулін плазми натще (мкОд/мл) / 22,5.

Для оцінки стану ліпідного обміну визначали концентрацію в сироватці крові загального холестерину (ХС), ХС ліпопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ), ХС ліпопротеїдів низької щільності (ХС ЛПНЩ) і тригліцеридів (ТГ) за стандартними біохімічними методиками на автоматичному біохімічному аналізаторі «BM Autolab PM 4000/3» («Boehringer Mannheim», Німеччина). Рівні ХС та ТГ досліджували ферментативно-колориметричним методом, використовуючи реагенти фірми «BioSystems» (Іспанія), ХС ЛПВЩ – методом преципітації з фосфорно-вольфрамовою кислотою, використовуючи реагенти фірми «BioSystems» (Іспанія). Розрахунок концентрації ХС ЛПНЩ проводили за прийнятими математичними формулами.

Статистична обробка отриманих даних виконана за допомогою програми Statistica 7 («Stat Soft», США). Використані стандартні статистичні процедури, що включають варіаційний і регресійний аналіз. Достовірність відмінностей середніх значень показників у групах визначалася за критерієм Стюдента. Вірогідними вважалися відмінності при $p < 0,05$.

Результати та обговорення

Оскільки серед факторів ризику розвитку порушень вуглеводного обміну важливе значення надається загальному та вісцеральному ожирінню, були оцінені такі антропометричні показники як маса тіла, індекс маси тіла, окружність талії. Дані **табл. 1** свідчать про відсутність статистично значущих відмінностей за всіма антропометричними показниками між відповідними віковими групами жінок, які були обстежені до війни й під час війни.

Що стосується частоти виявлення тих чи інших предіабетичних порушень вуглеводного обміну, то підвищений рівень глікемії натще (6,10-6,99 ммоль/л) до війни був виявлений у 6%, а під час війни – у 19% ($p = 0,017$). Порушену толерантність до глюкози до війни мали 10% жінок, під час війни – 25% ($p = 0,011$). Поєднане предіабетичне порушення вуглеводного обміну, яке до війни в жінок не спостерігалось, під час війни було виявлено в 9% обстежених ($p = 0,007$).

Як відомо, одним із головних чинників розвитку порушень вуглеводного обміну є вік [15, 16]. У більшості популяційних досліджень час-

Таблиця 1. Антропометричні показники в жінок різного віку ($M \pm m$)**Table 1.** Anthropometric parameters in women of different ages ($M \pm m$)

Показники Indicators	Вікові групи до війни, роки Age groups before the war, years			Вікові групи під час війни, роки Age groups during the war, years		
	30-44 (n=14)	45-59 (n=30)	60-74 (n=35)	30-44 (n=24)	45-59 (n=39)	60-74 (n=28)
Вік, роки Age, years	37,5 $\pm$ 1,0	51,7 $\pm$ 0,8	68,0 $\pm$ 0,6	39,3 $\pm$ 0,6	52,1 $\pm$ 0,7	67,9 $\pm$ 0,9
Зріст, см Height, cm	164,2 $\pm$ 1,6	162,7 $\pm$ 0,9	160,2 $\pm$ 1,0	162,5 $\pm$ 1,2	163,4 $\pm$ 1,0	163,2 $\pm$ 1,1
Маса тіла, кг Body mass, kg	64,7 $\pm$ 3,5	72,4 $\pm$ 2,7	71,8 $\pm$ 2,0	68,2 $\pm$ 3,1	70,1 $\pm$ 2,0	75,4 $\pm$ 2,3
Індекс маси тіла, кг/м ² Body mass index, kg/m ²	23,8 $\pm$ 1,0	27,4 $\pm$ 0,9	27,9 $\pm$ 0,8	25,7 $\pm$ 1,1	26,2 $\pm$ 0,6	28,4 $\pm$ 0,9
Окружність талії, см Waist circumference, cm	77,0 $\pm$ 0,3	84,6 $\pm$ 2,3	89,3 $\pm$ 3,1	78,1 $\pm$ 2,5	80,9 $\pm$ 1,6	89,5 $\pm$ 2,0

тота виявлення порушеної толерантності до глюкози зростає з віком, тоді як ізольоване підвищення рівня глюкози натще більш характерно для людей середнього віку [16]. У дослідженнях «Програма профілактики діабету» («Diabetes Prevention Program», DDP) і «Дослідження запобігання інсулінонезалежного цукрового діабету» («Study to Prevent Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus», STOP-NIDDM) показано, що в осіб старше 45 років порушення толерантності до глюкози зустрічається значно частіше, і саме вони зумовлюють вищий ризик розвитку кардіоваскулярних захворювань [21].

Ми проаналізували особливості змін метаболічних показників під час війни в жінок різного віку (табл. 2). У жінок вікових груп 45-59 та 60-74 років, обстежених під час війни, виявлено статистично значуще підвищення рівня глюкози натще. Крім того, у вікових групах 30-44 та 60-74 років під час війни вищий рівень глюкози в крові через 2 години стандартного ГТТ. У всіх трьох вікових групах під час війни статистично значимо вищі рівні в плазмі крові інсуліну та вищий індекс інсулінорезистентності HOMA-IR. Кількість балів за шкалою FINDRISK статистично значимо зростає в жінок вікових груп 30-44 та 45-59 років, що свідчить про підвищення в них ризику розвитку цукрового діабету протягом наступних 10 років.

Порушення вуглеводного обміну під час війни пов'язані не лише з розвитком інсулінорезистентності, а й з активацією гіпофізарно-над-

нирникової системи. Про це свідчить зростання концентрації в плазмі крові кортизолу (див. табл. 2). У жінок всіх вікових груп під час війни статистично значимо вища концентрація в плазмі крові кортизолу, як основного гормонального маркера стресу, порівняно з концентрацією кортизолу у відповідних групах жінок, обстежених до війни. При цьому зростання кортизолу було дещо більшим у жінок старшої вікової групи.

Хронічний стрес, зумовлений війною, призвів до певних змін стану ліпідного обміну. Вік людини суттєво впливає на концентрацію ХС в крові [6]. Концентрація ЛПДНГ і ЛПВГ протягом життя мало змінюються, тоді як концентрація ЛПНГ суттєво зростає після 30 років. У жінок під час війни статистично значимо вищий (хоча і в межах норми) індекс атерогенності (див. табл. 2).

Для інтегральної оцінки ступеня вікових змін метаболізму ми розробили модель метаболічного віку (МВ). МВ визначали за формулою, отриманою нами під час обстеження здорових людей віком від 20 до 80 років до війни [22]. Темп МС розраховували як різницю між МВ та хронологічним віком (ХВ). У табл. 3 представлені дані розрахунку МВ та темпу старіння в жінок різних вікових груп до і під час війни.

Розрахунок МВ та темпу старіння показав, що статистично значимі зміни темпу МС відбулися в групі молодих жінок (до 45 років) і жінок похилого віку (60-74 років), у яких під час війни пришвидшився темп старіння.

Оригінальні дослідження

Таблиця 2. Показники вуглеводного та ліпідного обмінів, концентрації кортизолу в плазмі крові в жінок різного віку (M±m)

Table 2. Indicators of carbohydrate and lipid metabolism, plasma cortisol concentration in women of different ages (M±m)

Показники Indicators	Вікові групи до війни, роки Age groups before the war, years			Вікові групи під час війни, роки Age groups during the war, years		
	30-44 (n=14)	45-59 (n=30)	60-74 (n=35)	30-44 (n=24)	45-59 (n=39)	60-74 (n=28)
Глюкоза натще, ммоль/л Fasting plasma glucose, mmol/ L	5,04±0,12	5,32±0,09	5,18±0,18	5,14±0,13	5,62±0,09*	5,67±0,12*
Глюкоза через 2 год ГТТ, ммоль/л Plasma glucose 2 hours post GTT, mmol/L	5,40±0,26	6,19±0,30	6,29±0,30	6,40±0,32*	6,71±0,32	7,24±0,35*
Інсулін натще, мкОд/мл Fasting insulin, μU/mL	8,2±1,2	9,6±1,4	10,8±1,5	13,8±1,1*	16,5±1,8*	18,4±2,2*
Індекс інсулінорезистентності HOMA index	1,80±0,24	2,30±0,36	2,41±0,31	3,06±0,27*	4,17±0,43*	4,70±0,62*
ХС, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	5,19±0,24	5,88±0,23	5,65±0,27	5,55±0,24	5,97±0,17	6,12±0,25
ХС ЛПВЩ, ммоль/л HDL-cholesterol, mmol/ L	1,62±0,05	1,64±0,03	1,57±0,01	1,62±0,07	1,61±0,06	1,49±0,06
ХС ЛПНЩ, ммоль/л LDL-cholesterol, mmol/ L	3,17±0,23	3,65±0,22	3,59±0,23	3,45±0,24	3,78±0,18	4,15±0,24
ТГ, ммоль/л Triglycerides, mmol/ L	0,89±0,04	1,32±0,13	1,13±0,08	1,12±0,15	1,27±0,18	1,34±0,12
Індекс атерогенності Atherogenic index	2,21±0,13	2,60±0,14	2,54±0,15	2,55±0,20	2,78±0,18	3,35±0,28*
Загальний бал опитувальника «FINDRISK» Score FINDRISK	3,69±0,80	8,53±0,90	12,8±0,8	6,9±0,8*	12,5±1,7*	14,2±0,7
Кортизол, нмоль/л Cortisol, nmol/L	379±28	323±27	339±26	670±80*	660±59*	785±101*

Примітка: * – $p<0,05$ порівняно із показником до війни у відповідній віковій групі.

Note: * – $p<0.05$ compared to the pre-war rate in the corresponding age group.

Таблиця 3. Показники метаболічного віку та темпу метаболічного старіння (M±m)

Table 3. Indicators of metabolic age and rate of metabolic aging (M±m)

Показники Indicators	Вікові групи до війни, роки Age groups before the war, years			Вікові групи під час війни, роки Age groups during the war, years		
	30-44 (n=14)	45-59 (n=30)	60-74 (n=35)	30-44 (n=24)	45-59 (n=39)	60-74 (n=28)
МВ, років Metabolic age, years	42,1±1,8	56,1±2,5	66,2±2,1	48,2±1,9*	59,4±2,2	73,1±2,2*
ХВ, років Chronological age, years	37,50±0,98	51,7±0,8	68,00±0,59	39,30±0,59	52,10±0,67	67,90±0,92
МВ–ХВ, років Metabolic age–Chronological age, years	4,65±1,10	4,44±2,32	-1,85±1,55	8,88±1,22*	7,26±1,81	5,20±2,55*

Примітка: * – $p<0,05$ порівняно з показником до війни у відповідній віковій групі.

Note: * – $p<0.05$ compared to the pre-war rate in the corresponding age group.

Висновки

1. Посттравматичний стрес, пов'язаний із війною, призвів до порушення вуглеводного та ліпідного обміну. Більш значні зміни спостерігались у жінок, особливо в літньому віці.
2. Під час війни у жінок зростає частота передіабетичних порушень вуглеводного обміну, підвищується ризик розвитку ЦД2 в найближчі 10 років.
3. Під час війни пришвидшується темп МС в жінок молодшої і старшої вікових груп.

Список використаної літератури

1. Kales SN, Soteriades ES, Christophi CA, Christiani DC. Emergency duties and deaths from heart disease among firefighters in the United States. *N Engl J Med*. 2007 Mar 22;356(12):1207-15. doi: 10.1056/NEJMoa060357.
2. Farr OM, Sloan DM, Keane TM, Mantzoros CS. Stress- and PTSD-associated obesity and metabolic dysfunction: a growing problem requiring further research and novel treatments. *Metabolism*. 2014 Dec;63(12):1463-8. doi: 10.1016/j.metabol.2014.08.009.
3. Michopoulos V, Vester A, Neigh G. Posttraumatic stress disorder: A metabolic disorder in disguise? *Exp Neurol*. 2016 Oct;284(Pt B):220-229. doi: 10.1016/j.expneurol.2016.05.038.
4. Somvanshi PR, Mellon SH, Flory JD, Abu-Amara D; PTSD Systems Biology Consortium; Wolkowitz OM, et al. Mechanistic inferences on metabolic dysfunction in posttraumatic stress disorder from an integrated model and multiomic analysis: role of glucocorticoid receptor sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2019 Nov 1;317(5):E879-98. doi: 10.1152/ajpendo.00065.2019.
5. Dedert EA, Becker ME, Fuemmeler BF, Braxton LE, Calhoun PS, Beckham JC. Childhood traumatic stress and obesity in women: the intervening effects of PTSD and MDD. *J Trauma Stress*. 2010 Dec;23(6):785-63. doi: 10.1002/jts.20584.
6. Miao Z, Alvarez M, Ko A, Bhagat Y, Rahmani E, Jew B, et al. The causal effect of obesity on prediabetes and insulin resistance reveals the important role of adipose tissue in insulin resistance. *PLoS Genet*. 2020 Sep 14;16(9):e1009018. doi: 10.1371/journal.pgen.1009018.
7. Krantz DS, Shank LM, Goodie JL. Post-traumatic stress disorder (PTSD) as a systemic disorder: Pathways to cardiovascular disease. *Health Psychol*. 2022 Oct;41(10):651-62. doi: 10.1037/hea0001127.
8. Zeamer AL, Salive MC, An X, Beaudoin FL, House SL, Stevens JS, et al. Association between microbiome and the development of adverse posttraumatic neuropsychiatric sequelae after traumatic stress exposure. *Transl Psychiatry*. 2023 Nov 18;13(1):354. doi: 10.1038/s41398-023-02643-8.
9. Wang Z, Jiang B, Wang X, Li Z, Wang D, Xue H, et al. Relationship between physical activity and individual mental health after traumatic events: a systematic review. *Eur J Psychotraumatol*. 2023;14(2):2205667. doi: 10.1080/20008066.2023.2205667.
10. Cernak I, Savic J, Malicevic Z, Zunic G, Radosevic P, Ivanovic I, et al. Involvement of the central nervous system in the general response to pulmonary blast injury. *J Trauma*. 1996 Mar;40(3 Suppl):S100-4. doi: 10.1097/00005373-199603001-00023.
11. Readnower RD, Chavko M, Adeeb S, Conroy MD, Pauly JR, McCarron RM, et al. Increase in blood-brain barrier permeability, oxidative stress, and activated microglia in a rat model of blast-induced traumatic brain injury. *J Neurosci Res*. 2010 Dec;88(16):3530-9. doi: 10.1002/jnr.22510.
12. Cernak I, Merkle AC, Koliatsos VE, Bilik JM, Luong QT, Mahota TM, et al. The pathobiology of blast injuries and blast-induced neurotrauma as identified using a new experimental model of injury in mice. *Neurobiol Dis*. 2011 Feb;41(2):538-51. doi: 10.1016/j.nbd.2010.10.025.
13. Morley JE. Diabetes and aging: epidemiologic overview. *Clin Geriatr Med*. 2008 Aug;24(3):395-405, v. doi: 10.1016/j.cger.2008.03.005.
14. Simm A. Protein glycation during aging and in cardiovascular disease. *J Proteomics*. 2013 Oct 30;92:248-59. doi: 10.1016/j.jprot.2013.05.012.
15. Bucala R. Diabetes, aging, and their tissue complications. *J Clin Invest*. 2014 May;124(5):1887-8. doi: 10.1172/JCI175224.
16. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004 Dec;114(12):1752-61. doi: 10.1172/JCI21625.
17. Fontana L, Partridge L, Longo VD. Extending healthy life span--from yeast to humans. *Science*. 2010 Apr 16;328(5976):321-6. doi: 10.1126/science.1172539.
18. Taguchi A, White MF. Insulin-like signaling, nutrient homeostasis, and life span. *Annu Rev Physiol*. 2008;70:191-212. doi: 10.1146/annurev.physiol.70.113006.100533.
19. Bonafé M, Olivieri F. Genetic polymorphism in long-lived people: cues for the presence of an insulin/IGF-pathway-dependent network affecting human longevity. *Mol Cell Endocrinol*. 2009 Feb 5;299(1):118-23. doi: 10.1016/j.mce.2008.10.038.
20. Barbieri M, Boccardi V, Esposito A, Papa M, Vestini F, Rizzo MR, et al. A/ASP/VAL allele combination of IGF1R, IRS2, and UCP2 genes is associated with better metabolic profile, preserved energy expenditure parameters, and low mortality rate in longevity. *Age (Dordr)*. 2012 Feb;34(1):235-45. doi: 10.1007/s11357-011-9210-z.
21. Yale JF. Prevention of type 2 diabetes. *Int J Clin Pract Suppl*. 2000 Oct;(113):35-9.
22. Писарук АВ, Чижова ВП, Шатило ВБ. Біологічний вік жінок з метаболічним синдромом. *Ендокринологія*. 2023;28(3):207-213 (Pysaruk AV, Chyzhova VP, Shatylo VB. Biological age of women with the metabolic syndrome. *Endokrynologia*. 2023;28(3):207-213. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2023.28-3.207.

Список скорочень

ГТТ – глюкозо-толерантний тест

МВ – метаболічний вік

МС – метаболічне старіння

ХВ – хронологічний вік

ХС – холестерин

ХС ЛПВЩ – холестерин ліпопротеїдів високої щільності

ХС ЛПНЩ – холестерин ліпопротеїдів низької щільності

ЦД2 – цукровий діабет 2-го типу

Effects of war-related stress on the state of carbohydrate and lipid metabolism and the rate of metabolic aging in women of different ages

V.B. Shatylo¹, S.S. Naskalova¹, A.V. Pysaruk¹, E.O. Asanov¹, O.V. Bondarenko¹, N.M. Koshel¹, I.A. Dyba¹, V.G. Slipchenko²

¹ State Institution «D.F. Chebotarev Institute of Gerontology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

² National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute»

Abstract. Chronic stress is a risk factor for the development of lipid and carbohydrate metabolism disorders, obesity and type 2 diabetes (T2D). The purpose of the work was to assess the state of carbohydrate and lipid metabolism and the rate of metabolic aging in civilian women of various ages during the war. **Material and methods.** We examined 91 women of all ages who, during active hostilities in February and March 2022, were influenced by such war factors as rocket and artillery attacks, staying in bomb shelters or other shelters. The data of 79 women of different ages examined before the Russian-Ukrainian war were used for comparison. Anthropometric parameters, fasting plasma blood glucose concentration and

Оригінальні дослідження

after 2 hours of the standard glucose tolerance test (GTT), plasma insulin and cortisol levels were determined, and the HOMA-IR insulin resistance index was calculated. **Results.** Women examined during the war had a statistically significantly higher concentration of glucose in the blood both fasting and after 2 h of the standard GTT, insulin and a higher index of insulin resistance NOMA-IR compared to the group of women examined before the war. The FINDRISK total score indicates an increased risk of developing T2D in the next 10 years. Women of all three age groups examined during the war had a statistically significantly higher plasma blood cortisol concentration than in the corresponding groups of women examined before the war. An increase in the frequency of prediabetic disorders of carbohydrate metabolism was revealed in comparison with their frequency before the war. An acceleration in the rate of metabolic aging during the war occurred in young women (up to 45 years old) and older women (60-74 years old). **Conclusion.** Post-traumatic stress associated with the war led to disturbance of carbohydrate and lipid metabolism. More significant changes were observed in older women. During the war, the frequency of prediabetic carbohydrate metabolism disorders in women increases, the risk of developing T2D in the next 10 years increases, and the rate of metabolic aging accelerates.

Keywords: stress, war, carbohydrate and lipid metabolism disorders, biological age, rate of metabolic aging.

Для цитування: Шатило ВБ, Наскалова СС, Писарук АВ, Асанов ЕО, Бондаренко ОВ, Кошель НМ, Діба ІА, Сліпченко ВГ. Вплив стресу, пов'язаного з війною, на стан вуглеводного й ліпідного обміну та темп метаболічного старіння в жінок різного віку. Ендокринологія. 2024;29(2):148-154. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.148.

Адреса для листування: Писарук Анатолій Васильович; avpisaruk54@gmail.com; ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», вул. Вишгородська, 67, Київ, 04114, Україна.

Відомості про авторів: Шатило Валерій Броніславович, д-р мед. наук, проф., завідувач відділу клінічної фізіології та патології внутрішніх органів, заступник директора з наукової роботи ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», ORCID: 0000-0001-7114-9150; Наскалова Світлана Сергіївна – канд. мед. наук, провідна наукова співробітниця відділу клінічної фізіології та патології внутрішніх органів ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», ORCID: 0000-0001-9518-2633; Писарук Анатолій Васильович, д-р мед. наук, завідувач лабораторії математичного моделювання процесів старіння ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», ORCID: 0000-0001-5522-0172; Асанов Ервін Османович, д-р мед. наук, проф., головна наукова співробітниця відділу клінічної фізіології та патології внутрішніх органів ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», ORCID: 0000-0003-4021-1710; Бондаренко Олена Володимирівна – канд. мед. наук, старша наукова співробітниця відділу клінічної фізіології та патології внутрішніх органів ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», ORCID: 0000-0002-8270-5316; Кошель Наталія Михайлівна, канд. біол. наук, провідна наукова співробітниця лабораторії математичного моделювання процесів старіння ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України»: ORCID: 0000-0003-1429-2326; Діба Ірина Андріївна – канд. мед. наук, старша наукова співробітниця відділу клінічної фізіології та патології внутрішніх органів ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», ORCID: 0000-0002-4212-8868; Сліпченко Володимир Георгійович – д-р техн. наук, професор кафедри цифрових технологій в енергетиці Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут ім. Ігоря Сікорського», ORCID: 0000-0002-3405-0781.

Особистий внесок: Шатило В.Б. – концепція та дизайн дослідження, редагування рукопису; Наскалова С.С. – дослідження метаболізму; Писарук А.В. – розрахунок біологічного віку, написання рукопису; Асанов Е.О. – написання рукопису; Бондаренко О.В. – дослідження метаболізму; Кошель Н.М. – статистичний аналіз даних; Діба І.А. – дослідження метаболізму; Сліпченко В.Г. – статистичний аналіз даних, аналітичний аналіз літературних даних.

Фінансування: стаття підготовлена в рамках бюджетного фінансування Національної академії медичних наук України.

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 19.03.2024 р.; перероблена 11.04.2024 р.; прийнята до друку 24.06.2024 р.; надрукована 30.06.2024 р.

For citation: Shatylo VB, Naskalova SS, Pysaruk AV, Asanov EO, Bondarenko OV, Koshel NM, Dyba IA, Slipchenko VG. Effects of war-related stress on the state of carbohydrate and lipid metabolism and the rate of metabolic aging in women of different ages. Endokrynologia. 2024;29(2):148-154. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.148.

Correspondence address: Pysaruk Anatoliy Vasylovych; avpisaruk54@gmail.com; State Institution «D.F. Chebotarev Institute of Gerontology of the NAMS of Ukraine», Vyshhorodska Str., 67, Kyiv 04114, Ukraine.

Information about the authors: Shatylo Valeriy Bronislavovych, Dr. Sci. (Medicine), Prof., Head of the Department of Clinical Physiology and Pathology of Internal Organs, State Institution «D.F. Chebotarev Institute of Gerontology of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0001-7114-9150; Naskalova Svitlana Serhiivna, Cand. Sci. (Medicine), Leading Researcher, State Institution «D.F. Chebotarev Institute of Gerontology of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0001-9518-2633; Pysaruk Anatoliy Vasylovych, Dr. Sci. (Medicine), Head of the Laboratory of Mathematical Modeling of Aging Processes, State Institution «D.F. Chebotarev Institute of Gerontology of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0001-5522-0172; Asanov Ervin Osmanovych, Dr. Sci. (Medicine), Prof., Chief Researcher of the Department of Clinical Physiology and Pathology of Internal Organs, State Institution «D.F. Chebotarev Institute of Gerontology of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0003-4021-1710; Bondarenko Olena Volodymyrivna, Cand. Sci. (Medicine), Senior Researcher, State Institution «D.F. Chebotarev Institute of Gerontology of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0002-8270-5316; Koshel Natalia Mykhaylivna, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, State Institution «D.F. Chebotarev Institute of Gerontology of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0003-1429-2326; Dyba Iryna Andriivna, Cand. Sci. (Medicine), Senior Researcher, State Institution «D.F. Chebotarev Institute of Gerontology of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0002-4212-8868; Slipchenko Volodymyr Georgiyovich, Dr. Sci. (Technical), Prof. at the Department of Digital Technologies in Energy, National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute»; ORCID: 0000-0002-3405-0781.

Personal contribution: Shatylo V.B. – research concept and design, manuscript editing; Naskalova S.S. – research of metabolism; Pysaruk A.V. – calculation of biological age, writing a manuscript; Asanov E.O. – writing a manuscript; Bondarenko O.V. – research of metabolism; Koshel N.M. – statistical data analysis; Dyba I.A. – research of metabolism; Slipchenko V.G. – statistical data analysis and analytical analysis of literature data.

Funding: the article was prepared within the budget funding of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.

Ethics declaration: the authors declare no conflict of interest or financial obligations.

Article: received March 19, 2024; revised April 11, 2024; accepted June 24, 2024; published June 30, 2024.

Дефіцит гормону росту та вітамін D

М.О. Ризничук¹,
Д.А. Кваченюк²,
О.В. Большова²

¹Буковинський державний медичний університет

²ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Припускають тісний взаємозв'язок між вітаміном D (віт. D) і віссю гормон росту (ГР)/інсуліноподібний чинник росту-1 (ІПЧР-1) та можливий вплив віт. D на зріст дитини, однак точний механізм їхньої взаємодії доки що не з'ясований.

Метою нашого дослідження стало вивчення статусу віт. D у дітей із дефіцитом ГР. **Матеріал і методи.** Проведено обстеження 36 дітей, в яких виявлений дефіцит ГР, та які перебували на лікуванні в ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України». Статистичну обробку результатів дослідження виконували з використанням статистичних програм Microsoft Excel. **Результати.** У більшості пацієнтів (31 дитина; 86,11%) спостерігали гіповітаміноз D (дефіцит у 17 осіб, недостатність – у 14 осіб). Дефіцит віт. D виявлений у 50% дітей чоловічої статі із дефіцитом ГР, недостатність виявлена в 35,7% хлопчиків, і лише в 14,3% виявлено нормальний рівень віт. D. Водночас, у дівчат переважно спостерігали недостатність віт. D (50% випадків), дефіцит віт. D встановлений у 37,5% дітей жіночої статі із дефіцитом ГР, у 12,5% виявлено нормальний рівень віт. D. Базальний рівень ГР у дітей із дефіцитом віт. D був низьким, але в 3,6 раза нижчим він був у дівчаток, порівняно з хлопчиками; у дітей із недостатністю віт. D базальний рівень ГР у хлопчиків був у 2,5 раза меншим, порівняно з дівчатками. При проведенні інсулінового тесту спостерігався підйом рівня ГР незалежно від рівня віт. D, але не досягав нормальних показників, що вказувало на його абсолютну недостатність. Рівень ГР після стимуляції інсуліном був у 2,1 раза більшим у хлопчиків із дефіцитом віт. D порівняно з дівчатками, та 1,6 раза вищим у дівчаток із недостатністю віт. D порівняно із протилежною статтю. Рівень ІПЧР-1 був у 0,7 раза нижчим у хлопчиків із дефіцитом віт. D, та в 0,7 раза нижчим у дівчаток із недостатністю віт. D порівняно з хлопчиками. Усі досліджувані біохімічні показники були в межах норми, незалежно від статі пацієнта. **Висновки.** У більшості пацієнтів (86,11%) із дефіцитом ГР на тлі різкого зниження базального та стимульованого рівнів ГР спостерігається гіповітаміноз D (дефіцит у 47,22% осіб, недостатність – у 38,88% осіб). Дефіцит віт. D частіше спостерігався в хлопчиків, недостатність віт. D – у дівчаток. Наявність гіповітамінозу D у дітей із дефіцитом ГР зумовлює доцільність включення препаратів віт. D в комплексну терапію таких пацієнтів.

Ключові слова: вітамін D, гіповітаміноз, діти, недостатність гормону росту.

На сучасному етапі все більше уваги приділяється впливу віт. D на організм людини та наслідкам його дефіциту. Хоча дефіцит віт. D, як і раніше, залишається найпоширенішим дефіцитом серед вітамінів у світі, однак, довгий час може залишатися не виявленим [1]. Поширеність цього дефіцитного стану в усьому світі сильно варіює залежно від країни й у деяких

випадках охоплює 98% населення. За оцінками, близько 1 млрд людей у світі страждають на дефіцит/недостатність віт. D, причому найбільша кількість випадків трапляється в дитячому віці [2]. Тяжкий дефіцит віт. D викликає низку серйозних захворювань, які асоціюються з порушенням росту та розвитку дитини [3]. Гіповітаміноз D, пов'язаний із такими патологічними станами як ожиріння та метаболічні порушення, целіакія, муковісцидоз, запальні захворювання кишківника, а також із прийманням деяких

Оригінальні дослідження

ліків [4]. Однак, брак сонячного світла, харчові звички та відсутність профілактики є основними причинами його гіповітамінозу [5]. Нестача віт. D у матері під час вагітності може сприяти виникненню його гіповітамінозу і, як наслідок, зменшення кількості віт. D у грудному молоці [6, 7]. Недостатність віт. D може негативно впливати на мінералізацію кісток у дитинстві [8, 9]. Крім впливу на кальцієво-фосфорний обмін, кілька досліджень останніх років показали, що віт. D також має позаскелетну дію [1], ймовірно, тому, що більшість клітин організму мають рецептори до віт. D. Встановлено, що віт. D сприяє експресії понад 1250 генів [10]. Доведено зв'язок між дефіцитом віт. D та автоімунними [11], онкологічними [12], інфекційними [13], респіраторними [14], серцево-судинними [15] захворюваннями.

Основним гормоном, що бере участь у рості на кожній стадії розвитку, є ГР разом із його медіатором, ІПЧР-1. Наявність змін в осі ГР/ІПЧР-1 у дитячому віці призводить до порушення зросту. Припускають тісний взаємозв'язок між віт. D і віссю ГР/ІПЧР-1 та можливий вплив віт. D на зріст дитини, однак точний механізм їхньої взаємодії доки що не з'ясований.

Мета роботи – вивчення статусу віт. D у дітей із дефіцитом ГР.

Матеріал і методи

Обстежено 36 дітей, в яких виявлений дефіцит ГР, та які перебували на лікуванні в ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України». Були враховані: стать та вік пацієнта, антропометричні дані, рівень гідроксивітаміну D (25(OH)D) у сироватці крові (виключені літні місяці набору хворих), кістковий вік, рівень ГР на тлі двох стимуляційних тестів (клонідин, інсулін), рівні ІПЧР-1 (референтні значення: 39-537 нг/мл), рівень у крові загального (референтні значення: 2,19-2,69 ммоль/л) та іонізованого кальцію (референтні значення: 1,09-1,35 ммоль/л), фосфору (референтні значення: 1,26-1,94 ммоль/л), холестерину (референтні значення: 3,15-5,8 ммоль/л), сечовини (референтні значення: <8 ммоль/л), креатиніну (референтні значення: 44-71 мкмоль/л). Середній вік дітей із дефіцитом ГР (28 хлопчиків, 8 дівчаток), включених у дослідження, становив $11,33 \pm 3,04$ року. Середне

відставання в зрості становило мінус $2,37 (\pm 0,77)$ SDS. Ht-SDS вираховували за допомогою перцентильних кривих зросту тіла, отриманих на основі даних антропометричних обстежень здорових дітей різного віку та статі [16].

На момент обстеження всі пацієнти знаходились у стані еутиреозу. У дослідження були включені діти, які не отримували препарати кальцію та віт. D упродовж ≥ 6 місяців. Для вивчення показників фізичного розвитку використано антропометричні методи (вимірювання росту за допомогою стадіометра «Harpender stadiometr» («Holtain Ltd», Велика Британія) та масу тіла – за допомогою електронних ваг «BC 587» («Tanita», Японія). Для визначення кісткового віку використано атлас W.W. Greulich, S.P. Pyle [17].

Загальний та біохімічний аналізи фосфору, загального та іонізованого кальцію крові досліджували за допомогою стандартних наборів фірми «Sentinelch» (Італія) і «Elitech» (Китай) на автоматичному гематологічному аналізаторі «BC 3000 Plus» («Mindray», Китай) та фотометрі «BTS-330» («Biosystems», Іспанія). Рівні ГР, ІПЧР-1 у плазмі крові (нг/мл) визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням наборів «Immulite 2000 XPI» («Siemens», США). Діагностика недостатності ГР ґрунтувалась на дослідженні фонового значення, піку викиду ГР на тлі фармакологічної стимуляції (інсулін, клонідин). За норму стимульованої секреції ГР при стандартних пробах вважали рівні 10 нг/мл та вище [18].

Рівень 25(OH)D у сироватці крові визначали імунохемілюмінесцентним методом на мікрочастинках («Abbott», США). Дефіцитом віт. D вважали рівні 25(OH)D у сироватці крові нижче 30 нмоль/л (референтні значення: <12 нг/мл), а недостатність віт. D – при рівні 25(OH) від 30 до 50 нмоль/л (референтні значення: 12-20 нг/мл), відповідно до Рекомендацій Глобального консенсусу з профілактики та лікування рахіту внаслідок дефіциту віт. D у харчуванні [19].

Статистичну обробку результатів дослідження виконували із використанням статистичних програм Microsoft Excel.

Дослідження проводилося відповідно до основних принципів біоетики Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (4 квітня 1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої асоціації охорони здоров'я про етичні принципи проведення медичних досліджень за

участю людей (1964-2013 рр.). Протокол дослідження погоджений Локальним етичним комітетом для всіх, хто брав участь. Комісія з біомедичної етики ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» порушень моральних і правових норм під час дослідження не виявлено. Була отримана інформована згода учасників та їх батьків (опікунів).

Результати та обговорення

При вивченні показників росту дітей із недостатністю ГР встановлено, що показник Ht-SDS (показник стандартного відхилення зросту залежно від хронологічного віку) не мав статевих відмінностей і коливався в межах – 2,36-2,40. Кістковий вік відставав від паспортного на 1,84-2,44 року (табл. 1). Тобто, пацієнти мали суттєве відставання в рості та затримку диференціювання кісткової тканини.

Таблиця 1. Показники росту в дітей із недостатністю ГР

Table 1. Growth indicators in children with growth hormone (GH) insufficiency

Показники Indicators	Хлопчики Boys (n=28)	Дівчатка Girls (n=8)	Всього Total (n=36)
Вік, роки Age, years	11,05±2,92	9,53±2,93	11,33±3,04
Ht-SDS	-2,36±0,81	-2,40±0,68	-2,37±0,77
Кістковий вік, роки Bone age, years	9,23±3,61	7,71±3,11	8,89±3,52

У дітей із недостатністю ГР досліджувані біохімічні показники були в межах норми, незалежно від статі пацієнта (табл. 2).

Таблиця 2. Деякі біохімічні показники сироватки крові в дітей із недостатністю ГР

Table 2. Some biochemical indicators of blood serum in children with GH insufficiency

Показники Indicators	Хлопчики Boys (n=28)	Дівчатка Girls (n=8)	Всього Total (n=36)
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	4,79±1,08	4,55±0,39	4,73±0,97
Креатинін, мкмоль/л Creatinine, μmol/L	55,04±17,26	51,50±7,95	54,25±11,49
Кальцій загальний, ммоль/л Total calcium, mmol/L	2,46±0,10	2,38±0,10	2,44±0,10
Кальцій іонізований, ммоль/л Ionized calcium, mmol/L	1,21±0,10	1,18±0,05	1,21±0,06
Фосфор, ммоль/л Phosphorus, mmol/L	1,53±0,26	1,46±0,17	1,51±0,24
Сечовина, ммоль/л Urea, mmol/L	4,11±0,82	4,19±0,17	4,13±0,89

У дітей із недостатністю ГР базальний рівень ГР був низьким, але в дівчаток даний показник був у 1,7 раза нижчим (табл. 3).

Після проведення клонідинового та інсулінового тестів, рівень ГР підвищувався, але не досягав норми, що вказувало на суттєвий дефіцит ГР у пацієнтів. Рівень тиреотропного гормону

Таблиця 3. Гормональні показники сироватки крові в дітей із недостатністю ГР

Table 3. Hormonal indicators of blood serum in children with GH insufficiency

Показники Indicators	Хлопчики Boys (n=28)	Дівчатка Girls (n=8)	Всього Total (n=36)
ГР (базальний рівень), нг/мл Basal GH level, ng/mL	0,61±0,04	0,35±0,04	0,55±0,05
ГР (клонідиновий тест), нг/мл GH level after clonidine stimulation test, ng/mL	4,71±0,229	4,11±0,31	4,57±0,49
ГР (інсуліновий тест), нг/мл GH level after insulin stimulation test, ng/mL	4,56±0,25	4,07±0,30	4,45±0,26
ІПЧР-1, нг/мл Insulin-like growth factor-1, ng/mL	98,92±5,49	100,69±5,41	89,31±5,40
Тиреотропний гормон, мМОд/мл Thyroid-stimulating hormone, mIU/mL	2,16±0,97	2,68±0,15	2,27±0,12
25(OH) ₂ D, нмоль/л 25(OH) ₂ D, nmol/L	51,36±1,69	54,86±2,07	52,14±1,76

Оригінальні дослідження

Таблиця 4. Рівень віт. D у дітей із дефіцитом ГР

Table 4. The vitamin D level in children with GH deficiency

Показники Indicators	Хлопчики Boys (n=28)	Дівчатка Girls (n=8)	Всього Total (n=36)
Нормальний рівень віт. D (≥ 75 нмоль/л) Normal vitamin D level (≥ 75 nmol/ L)	4 (14,3%)	1 (12,5%)	5 (13,9%)
Недостатність віт. D (50,1-74,9 нмоль/л) Vitamin D insufficiency (50.1-74.9 nmol/ L)	10 (35,7%)	4 (50,0%)	14 (38,9%)
Дефіцит віт. D (≤ 50 нмоль/л) Vitamin D deficiency (≤ 50 nmol/L)	14 (50,0%)	3 (37,5%)	17 (47,2%)

гіпофіза, як у хлопчиків, так і в дівчаток був у межах нормальних показників. У більшості пацієнтів (31 дитина; 86,11%) спостерігали гіповітаміноз D (дефіцит у 17 осіб, недостатність – у 14 осіб). Дефіцит віт. D частіше спостерігався у хлопчиків, недостатність віт. D – у дівчаток. Дефіцит віт. D виявлений у 50% дітей чоловічої статі із недостатністю ГР, недостатність виявлена у 35,7% хлопчиків, і лише у 14,3% виявлено нормальний рівень віт. D (табл. 4).

Водночас, у дівчат переважно спостерігали недостатність віт. D (50% випадків), дефіцит віт. D встановлений у 37,5% дітей жіночої статі із недостатністю ГР, у 12,5% – виявлено нормальний рівень віт. D.

Ht-SDS незалежно від рівня віт. D та статі коливався в межах – 2,28-2,50 (табл. 5).

Базальний рівень ГР у дітей із дефіцитом віт. D був низьким, але в 3,6 раза нижчим він був у дівчаток, порівняно з хлопчиками; у дітей із недостатністю віт. D базальний рівень ГР у хлопчиків був у 2,5 раза меншим, порівняно з дівчатками. При проведенні інсулінового тесту спостерігався підйом рівня ГР незалежно від рівня віт. D, але не досягав нормальних показників, що вказувало на його абсолютну недостатність. Рівень ГР після стимуляції інсуліном був у 2,1 раза більшим у хлопчиків із дефіцитом віт. D порівняно з дівчатками, та 1,6 раза вищим у дівчаток із недостатністю віт. D порівняно із про-

Таблиця 5. Ауксологічні показники залежно від рівня віт. D у дітей із недостатністю ГР

Table 5. Auxological indicators depending on the vitamin D level in children with GH insufficiency

Показники Indicators	Дефіцит віт. D Deficiency of vit. D		Недостатність віт. D Insufficiency of vit. D	
	Хлопчики Boys (n=14)	Дівчатка Girls (n=3)	Хлопчики Boys (n=10)	Дівчатка Girls (n=4)
Вік, роки Age, years	11,64 $\pm$ 2,75	11,13 $\pm$ 1,51	12,35 $\pm$ 2,59	8,71 $\pm$ 2,78
Ht-SDS	-2,28 $\pm$ 0,76	-2,31 $\pm$ 0,12	-2,50 $\pm$ 0,10	-2,31 $\pm$ 0,22
ГР (базальний рівень), нг/мл Basal level of GH, ng/mL	0,90 $\pm$ 0,07	0,25 $\pm$ 0,07	0,19 $\pm$ 0,01	0,47 $\pm$ 0,06
ГР (клонідиновий тест), нг/мл GH level after clonidine stimulation test, ng/mL	4,77 $\pm$ 0,31	4,08 $\pm$ 0,34	4,89 $\pm$ 0,32	4,88 $\pm$ 0,91
ГР (інсуліновий тест), нг/мл GH level after insulin stimulation test, ng/mL	5,18 $\pm$ 0,24	2,46 $\pm$ 0,19	3,72 $\pm$ 0,27	6,13 $\pm$ 0,27
ІПЧР-1, нг/мл Insulin-like growth factor 1, ng/mL	84,26 $\pm$ 5,34	116,17 $\pm$ 6,95	117,30 $\pm$ 5,19	83,00 $\pm$ 5,25
Тиреотропний гормон, мкОд/мл Thyroid-stimulating hormone, mIU/mL	2,27 $\pm$ 0,95	2,69 $\pm$ 0,13	2,26 $\pm$ 0,11	2,47 $\pm$ 0,21
25(OH) ₂ D, нмоль/л 25(OH) ₂ D, nmol/L	38,25 $\pm$ 1,04	38,85 $\pm$ 0,64	58,91 $\pm$ 5,54	63,38 $\pm$ 4,78

тилежною статтю. Рівень ІПЧР-1 був у 0,7 раза нижчим у хлопчиків із дефіцитом віт. D, порівняно з дівчатками, та в 0,7 раза нижчим у дівчаток із недостатністю віт. D порівняно із хлопчиками. Рівень тиреотропного гормону в сироватці крові був нормальним та не відрізнявся за статтю та рівнем віт. D. Рівні віт. D у дітей із його дефіцитом практично не відрізнялися в обох статей. За умов недостатності віт. D спостерігався вищий рівень віт. D у дівчаток порівняно з хлопчиками.

На сьогодні практично не досліджено вплив віт. D на функціонування системи ГР/ІПЧР-1 у дітей та підлітків із захворюваннями ендокринної системи, зокрема не вивчена роль віт. D у патогенезі різних форм патології росту й фізичного розвитку [20]. Взаємодія між віт. D та віссю ГР/ІПЧР-1 є доволі складним процесом і відбувається як на ендокринному, так і на паракринному рівнях [21].

Наші дані збігаються з даними низки авторів, які визначають вищу частоту гіповітамінозу D у дітей із низькорослістю внаслідок дефіциту ГР [22-24]. Раніше ми встановили наявність гіповітамінозу D у 83,33% дітей із множинною недостатністю гормонів гіпофіза та в 68,49% – з ізольованим дефіцитом ГР [25]. Визначення вмісту 25(ОН)D у сироватці крові дітей із недостатністю ГР показало наявність гіповітамінозу віт. D у переважній більшості пацієнтів (86,11%) – рівень 25(ОН)D становив, у середньому, $52,14 \pm 1,76$ нмоль/л, що відповідало ступеню недостатності цього вітаміну. У цілому по групі дефіцит/недостатність віт. D встановлені в 17/14 осіб відповідно, тільки 5 дітей мали задовільний вміст 25(ОН)D у сироватці крові.

У наших дослідженнях встановлено, що дефіцит віт. D найчастіше фіксувався в осіб чоловічої статі (50% проти 37,5% у дівчат), одночасно низькорослість відмічена у 77,77% хлопчиків проти 22,22% у дівчат. Багато авторів відмітили значене переважання хлопчиків серед пацієнтів із дефіцитом ГР, співвідношення хлопчиків до дівчат становило 2,5-2,9:1 [26-28], однак причини такого явища не відомі.

Ми не спостерігали змін із боку деяких біохімічних показників (холестерин, креатинін, сечовина, кальцій загальний та іонізований, фосфор). Також не було виявлено зв'язку між 25(ОН)D та рівнями кальцію, фосфору та паратгормону в дітей із недостатністю ГР до та на тлі терапії рекомбінантним ГР [22].

Отримані результати свідчать про доцільність включення препаратів віт. D у комплекс терапії пацієнтів із недостатністю ГР. Крім того, встановлено, що за наявності зниження ефективності терапії препаратами рекомбінантного ГР після перших років лікування вважається доцільним застосування комбінованої терапії дітей із дефіцитом ГР препаратами рекомбінантного ГР та віт. D [29].

Висновки

1. У більшості пацієнтів (86,11%) із дефіцитом ГР на тлі різкого зниження базального та стимульованого рівнів ГР спостерігається гіповітаміноз D (дефіцит у 47,22% осіб, недостатність – у 38,88% осіб). Дефіцит віт. D частіше спостерігався у хлопчиків, недостатність віт. D – у дівчаток.
2. Наявність гіповітамінозу D у дітей із дефіцитом ГР зумовлює доцільність включення препаратів віт. D в комплексну терапію таких пацієнтів.
3. У дітей із недостатністю ГР та гіповітамінозом D не виявлено порушень із боку низки біохімічних показників – креатиніну, сечовини, холестерину, кальцію (загального та іонізованого) та фосфору в крові.

Список використаної літератури

1. Holick MF. Vitamin D: extraskeletal health. *Rheum Dis Clin North Am.* 2012 Feb;38(1):141-60. doi: 10.1016/j.rdc.2012.03.013
2. Zhang F, Huang J, Zhang G, Dai M, Yin T, Huang C, Liu J, Zhang Y. No evidence of a causal relationship between miscarriage and 25-hydroxyvitamin D: a Mendelian randomization study. *Hum Reprod Open.* 2024 Feb 19;2024(2):hoae011. doi: 10.1093/hropen/hoae011.
3. Alharazy S, Naseer MI. Use of whole exome sequencing for identification of genetic variants related to Growth Hormone Deficiency and Short Stature: A Family-Based Study. *Pak J Med Sci.* 2023 Sep-Oct;39(5):1337-44. doi: 10.12669/pjms.39.5.7601.
4. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord.* 2017 Jun;18(2):153-65. doi: 10.1007/s11154-017-9424-1.
5. Uday S, Högl W. Nutritional rickets & osteomalacia: A practical approach to management. *Indian J Med Res.* 2020 Oct;152(4):356-67. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1961_19.
6. Benamer T. Seasonal Variations in 25-Hydroxyvitamin D Levels among Pediatric Patients Attending the Healthcare Centre. *Nutrients.* 2024 Jan 27;16(3):379. doi: 10.3390/nu16030379.
7. Biasucci G, Donini V, Cannalire G. Rickets Types and Treatment with Vitamin D and Analogues. *Nutrients.* 2024 Jan 31;16(3):416. doi: 10.3390/nu16030416.
8. Hribar M, Pravst I, Pogačnik T, Žmitek K. Results of longitudinal Nutri-D study: factors influencing winter and summer vitamin D status in a Caucasian population. *Front Nutr.* 2023 Nov 15;10:1253341. doi: 10.3389/fnut.2023.1253341.
9. Fang A, Zhao Y, Yang P, Zhang X, Giovannucci EL. Vitamin D and human health: evidence from Mendelian randomization

Оригінальні дослідження

- studies. *Eur J Epidemiol.* 2024 Jan 12. doi: 10.1007/s10654-023-01075-4.
10. Delrue C, Speeckaert MM. Vitamin D and Vitamin D-Binding Protein in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 28;24(5):4642. doi: 10.3390/ijms24054642.
 11. Sherchand O, Niraula A, Mishra B, Subedi M, Maskey R. Autoimmune Thyroid Disease in Patients with Hypovitaminosis D in Department of Biochemistry of a Tertiary Care Centre: A Descriptive Cross-sectional Study. *JNMA J Nepal Med Assoc.* 2022 Jul 1;60(251):600-3. doi: 10.31729/jnma.7493.
 12. Kárász N, Juhász O, Imrei M, Garami M. Long-Term Prognosis in Relation to Vitamin D Status in Pediatric Solid Tumor Patients. *Nutrients.* 2023 Oct 27;15(21):4571. doi: 10.3390/nu15214571.
 13. Gao N, Raduka A, Rezaee F. Vitamin D 3 protects against respiratory syncytial virus-induced barrier dysfunction in airway epithelial cells via PKA signaling pathway. *Eur J Cell Biol.* 2023 Sep;102(3):151336. doi:10.1016/j.ejcb.2023.151336.
 14. Ogeyingbo OD, Ahmed R, Gyawali M, Venkatesan N, Bhandari R, Botleroo RA, et al. The relationship between vitamin D and asthma exacerbation. *Cureus.* 2021 Aug 18;13(8):e17279. doi: 10.7759/cureus.17279.
 15. Zhang Z, Qiu S, Wang Z, Hu Y. Vitamin D levels and five cardiovascular diseases: A Mendelian randomization study. *Heliyon.* 2023 Dec 12;10(1):e23674. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e23674.
 16. World Health Organization. WHO child growth standards. Head circumference-for-age, arm circumference-for-age, triceps skinfold-for-age and subscapular skinfold-for-age. Methods and development. Geneva: WHO Press; 2017. 217 p.
 17. Greulich WW, Pyle SI. Radiological atlas of skeletal development of the hand and wrist. Stanford, CA: Stanford University Press; 1959. 272 p.
 18. Ranke MB. Diagnosis of growth hormone deficiency and growth hormone stimulation tests. In: Ranke MB, ed. *Diagnostics of endocrine function in children and adolescents.* Basel: S. Karger AG; 2003. 107-28. doi: 10.1159/000073547.
 19. Munns CF, Shaw N, Kiely M, Specker BL, Thacher TD, Ozono K, et al. Global consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016 Feb;101(2):394-415. doi: 10.1210/jc.2015-2175.
 20. Gannagé-Yared MH, Chahine E, Farah V, Ibrahim T, Asmar N, Halaby G. Serum insulin-like growth factor 1 in lebanese schoolchildren and its relation to vitamin D and ferritin levels. *Endocr Pract.* 2017 Apr 2;23(4):391-8. doi: 10.4158/EP161623.0R.
 21. Morris HA, Anderson PH. Autocrine and paracrine actions of vitamin d. *Clin Biochem Rev.* 2010 Nov;31(4):129-38.
 22. Ciresi A, Ciccio F, Giordano C. High prevalence of hypovitaminosis D in Sicilian children affected by growth hormone deficiency and its improvement after 12 months of replacement treatment. *J Endocrinol Invest.* 2014 Jul;37(7):631-8. doi: 10.1007/s40618-014-0084-7.
 23. Hamza RT, Hamed AI, Sallam MT. Vitamin D status in prepubertal children with isolated idiopathic growth hormone deficiency: effect of growth hormone therapy. *J Investig Med.* 2018 Jun;66(5):1-8. doi: 10.1136/jim-2017-000618.
 24. Ciresi A, Giordano C. Vitamin D across growth hormone (GH) disorders: From GH deficiency to GH excess. *Growth Horm IGF Res.* 2017 Apr;33:35-42. doi: 10.1016/j.ghir.2017.02.002.
 25. Большова ОВ, Кваченюк ДА, Ризничук МО. Система гормон росту/інсуліноподібний чинник росту-1 та вміст вітаміну D у дітей із соматотропною недостатністю. *Ендокринологія.* 2023;28(1):67-74 (Bolshova OV, Kvachenyuk DA, Ryznychuk MO. Growth hormone/insulin-like growth factor-1 system and vitamin D content in children with somatotrophic deficiency. *Endocrinology.* 2023;28(1):67-74. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2023.28-1.67.
 26. Smczyńska J, Lewiński A, Hilczer M, Stawerska R, Karasek M. Partial growth hormone deficiency (GHD) in children has more similarities to idiopathic short stature than to severe GHD. *Endokrynol Pol.* 2007 May-Jun;58(3):182-7.
 27. Essaddam L, Kallali W, Cherifi E, Guedri R, Mattoussi N, Fitouri Z, et al. Characteristics and etiologies of short stature in children: Experience of an endocrine clinic in a Tunisian tertiary care hospital. *Int J Pediatr Adolesc Med.* 2020 Jun;7(2):74-7. doi: 10.1016/j.ijpam.2019.07.005.
 28. Essaddam L, Becher SB. 3M Syndrome: A rare cause of short stature. *Indian Pediatr.* 2019 Sep 15;56(9):799.
 29. Кваченюк ДА, Большова ОВ. Оцінка ефективності комбінованої терапії препаратами рекомбінантного гормону росту та вітаміну D дітей препубертатного віку із соматотропною недостатністю. *Сучасна педіатрія. Україна.* 2023;(3):31-6 (Kvachenyuk DA, Bolshova OV, Evaluation of the effectiveness of combined therapy with recombinant growth hormone and vitamin D in prepubertal children with somatotrophic deficiency. *Modern pediatrics. Ukraine.* 2023;(3):31-6. Ukrainian). doi: 10.15574/SP.2023.131.31.

Список скорочень

віт. D – вітамін D

ГР – гормон росту

ІІЧР-1 – інсуліноподібний чинник росту-1

Нt-SDS – показник стандартного відхилення зросту залежно від хронологічного віку

Growth hormone deficiency and vitamin D

M.O. Ryznychuk¹, D.A. Kvachenyuk², O.V. Bolshova²

¹Bukovinian State Medical University

²State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Abstract. Suggest a strong relationship between vitamin D (vit. D) and the growth hormone (GH)/insulin-like growth factor-1 axis and the possible influence of vit. D on child growth, but the exact mechanism of their interaction has not yet been clarified. **The aim** of our study was to investigate the vitamin D status in children with GH deficiency. **Material and methods.** We examined 36 children with GH deficiency treated in the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine». Statistical processing of the study results was performed using Microsoft Excel statistical programs. **Results.** The majority of patients (31 children; 86.11%) had hypovitaminosis D (deficiency – 17 patients, insufficiency – 14 patients). Vit. D deficiency was detected in 50% of male children with GH deficiency, insufficiency – in 35.7% of boys, and only 14.3% had normal vit. D level. At the same time, vit. D insufficiency was mainly observed among girls (50% of cases), and vit. D deficiency was found in 37.5% of female children with GH deficiency, and a normal vit. D level – in 12.5%. The basal GH level in children with vit. D deficiency was low, but it was 3.6 times lower in girls than in boys; in children with vit. D insufficiency, the basal GH level was 2.5 times lower in boys than in girls. During the insulin test, an increase in the GH level was observed regardless of the vit. D level, but did not reach normal values, indicating its absolute insufficiency. GH level after insulin stimulation was 2.1 times higher in boys with vit. D deficiency than in girls, and 1.6 times higher in girls with vit. D insufficiency compared to the opposite sex. The level of insulin-like growth factor-1 was 0.7 times lower in boys with vit. D deficiency and 0.7 times lower in girls with vitamin D insufficiency compared to boys. All biochemical parameters studied were within normal limits, regardless of the patient's gender. **Conclusions.** In most patients (86.11%) with GH deficiency, hypovitaminosis D is observed against the background of a sharp decrease

in basal and stimulated GH levels (deficiency – in 47.22% of patients, insufficiency – in 38.88% of patients). Vit. D deficiency was observed more often in boys, vit. D insufficiency – in girls. The presence of hypovitaminosis D in children with GH deficiency determines the advisability of including vit. D preparations into complex therapy of such patients.

Keywords: vitamin D, hypovitaminosis, children, growth hormone deficiency.

Для цитування: Ризничук МО, Кваченюк ДА, Большова ОВ. Дефіцит гормону росту та вітамін D. Ендокринологія. 2024;29(2):155-161. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.155.

Адреса для листування: Ризничук Мар'яна Олександрівна, rysnichuk.mariana@gmail.com; Буковинський державний медичний університет, пл. Театральна, 2, Чернівці 58001, Україна.

Відомості про авторів: Ризничук Мар'яна Олександрівна – канд. мед. наук, доцентка кафедри педіатрії та медичної генетики Буковинського державного медичного університету, ORCID: 0000-0002-3632-2138; Кваченюк Дмитро Андрійович – PhD, науковий співробітник ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0001-6886-3804; Большова Олена Василівна – д-рка мед. наук, проф., керівниця відділу дитячої ендокринної патології ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0003-1999-6031.

Особистий внесок: Ризничук М.О. – написання тексту, клінічне обстеження пацієнтів, збір та обробка матеріалів; Кваченюк Д.А. – статистичний аналіз отриманих даних; Большова О.В. – клінічне обстеження пацієнтів, концепція та дизайн дослідження.

Фінансування: стаття підготовлена в рамках бюджетного фінансування Національної академії медичних наук України за планом науково-дослідної роботи «Вивчити стан системи гормон росту/ростові фактори в дітей та підлітків з ендокринною патологією залежно від забезпеченості вітаміном D і варіантів поліморфізму гена його рецептора» (N державної реєстрації: 0122U000420).

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 09.04.2024 р.; перероблена 10.05.2024 р.; прийнята до друку 24.06.2024 р.; надрукована 30.06.2024 р.

For citation: Ryznychuk MO, Kvachenyuk DA, Bolshova OV. Growth hormone deficiency and vitamin D. Endokrynologia. 2024;29(2):155-161. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.155.

Correspondence address: Ryznychuk Mariana Oleksandrivna, rysnichuk.mariana@gmail.com; Bukovinian State Medical University, square Teatralna, 2, Chernivtsi 58001, Ukraine.

Information about the authors: Ryznychuk Mariana Oleksandrivna – Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor of the Department of Pediatrics and Medical Genetics of Bukovinian State Medical University, ORCID: 0000-0002-3632-2138; Kvachenyuk Dmytro Andriyovych – PhD, Researcher of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0001-6886-3804; Bolshova Olena Vasylivna – Dr. Sci. (Medicine), Prof., Head of the Department of Pediatric Endocrine Pathology of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0003-1999-6031.

Personal contribution: Ryznychuk M.O. – preparation and writing of the article, clinical examination of patients, collection and processing of materials; Kvachenyuk D.A. – statistical analysis of results; Bolshova O.V. – research concept and design, clinical examination of patients.

Funding: the article was prepared within the budget funding of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine according to the research work plan «To study the state of the growth hormone/growth factors system in children and adolescents with endocrine pathology depending on the supply of vitamin D and polymorphism variants of its receptor gene» (state registration number: 0122U000420).

Declaration of ethics: the authors declared no conflict of interests and financial obligations.

Article: received April 09, 2024; revised May 10, 2024; accepted June 24, 2024; published June 30, 2024.

Вплив мелатоніну на стан оксидантного стресу при метаболічному синдромі

В.О. Сергієнко,
В.Б. Сегін,
Л.М. Сергієнко,
О.О. Сергієнко

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Резюме. Метаболічний синдром (МС) – це сукупність кількох взаємопов'язаних кардіометаболічних чинників ризику, таких як абдомінальне ожиріння, порушення толерантності до глюкози/гіперглікемія, дисліпопротеїнемія, а також тромботичних та прозапальних станів. Оксидантний стрес (ОС), що виникає внаслідок надмірного внутрішньоклітинного накопичення реактивних форм кисню (РФК) і азоту (РФА), інших вільних радикалів сприяє розвитку ожиріння, МС, стеатотичної хвороби печінки, пов'язаної з метаболічною дисфункцією (СХПМД), метаболічної кардіоміопатії, цукрового діабету 2-го типу (ЦД2). Посилення ОС призводить до прискореного утворення кінцевих продуктів глікування, що ініціює каскад патофізіологічних сигнальних шляхів з утворенням прозапальних цитокінів і, таким чином, ще більше активує ОС. З метою оптимізації негативного впливу вільних радикалів широко застосовують антиоксиданти, особливе місце серед яких посідає гормон епіфіза мелатонін (МЕЛ). Нейрогормон володіє прямими, непрямими та рецепторно-опосередкованими ефектами. Зокрема, МЕЛ та його метаболіти є прямими поглиначами більшості вільних радикалів в клітинах, із певною специфічною спорідненістю до субстратів. МЕЛ є більш ефективним у захопленні гідроксильних радикалів і зменшує перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) під час окиснювальних викликів, ймовірно, шляхом затримки його ініціації, а не прямого знешкодження пероксидних радикалів. МЕЛ, завдяки активації антиоксидантних і пригнічення прооксидантних ферментів, ліпоксигеназ і, ймовірно, хінонредуктази 2, активації мРНК антиоксидантних ферментів і збільшення внутрішньоклітинного глутатіону (GSH), відновлює окисно-відновну рівновагу. Однак, залишаються нез'ясованими особливості впливу МЕЛ на перебіг МС і коморбідних захворювань. **Метою** цього огляду є з'ясування особливостей механізмів антиоксидантного впливу МЕЛ при МС, а також аналіз даних експериментальних досліджень та клінічних випробувань.

Ключові слова: мелатонін, оксидантний стрес, метаболічний синдром, ожиріння, стеатотична хвороба печінки, пов'язана з метаболічною дисфункцією, метаболічна кардіоміопатія, цукровий діабет.

МС – це сукупність взаємопов'язаних кардіометаболічних чинників ризику, зокрема ожиріння, порушення толерантності до глюкози/гіперглікемії, атерогенної дисліпопротеїнемії, протромботичних і прозапальних станів. Ці чинники підвищують ризик розвитку ЦД2, СХПМД, артеріальної гіпертензії, метаболічної кардіоміопатії та серцевої недостатності [1, 2].

Патогенез МС значною мірою зумовлений дисбалансом прооксидантів і антиоксидантів [3], зокрема, надлишок РФК та РФА призводить до

ОС [4]. У пацієнтів із МС спостерігається пригнічення активності антиоксидантних ферментів та вищі рівні маркерів ОС, головним чином ПОЛ [5]. ОС, що виникає внаслідок надмірного внутрішньоклітинного накопичення РФК і РФА та інших вільних радикалів сприяє розвитку ожиріння, МС, ЦД2, посттравматичного стресового розладу та інш. [3]. Посилення ОС призводить до прискореного формування кінцевих продуктів глікування, а їх взаємодія із рецепторами ініціює каскад патофізіологічних сигнальних шляхів з утворенням прозапальних цитокінів і, таким чином, ще більше активує ОС [6].

Порушення толерантності до глюкози/гіперглікемія і дисліпопротеїнемія збільшують продукцію РФК та окиснювальне пошкодження, сприяють розвитку інсулінової резистентності (ІР), ендотеліальної дисфункції та енергетичного дисметаболізму [7, 8]. Дисбаланс між активністю каталази (КАТ) і Cu-Zn супероксиддисмутази (СОД) та продукцією РФК підвищує ризик розвитку ОС. Надлишкове утворення РФК і РФА та/або знижена здатність їх усунення при ОС-асоційованих розладах сприяє пригніченню активності антиоксидантних ферментів, що призводить до оксидантного ушкодження [9].

Ожиріння, МС та їх ускладнення пов'язані також із метазапаленням (хронічним запаленням низької інтенсивності (ХЗНІ), мітохондріальною дисфункцією, клітинним апоптозом та ОС, які своєю чергою, можуть бути причиною порушень секреції інсуліну, ІР та енергетичного гомеостазу [10].

З метою оптимізації негативного впливу вільних радикалів широко застосовують антиоксиданти (бета-каротин, вітаміни С і Е, селен та ін.) [11]. Особливе місце серед антиокислювачів посідає гормон епіфіза МЕЛ [12, 13]. Зокрема, вважається, що МЕЛ є більш потужним поглиначем вільних радикалів, ніж вітамін Е [14].

В останні роки спостерігається зацікавленість до вивчення взаємозв'язків між МС, ожирінням, ОС і МЕЛ [15]. Припускають, що МЕЛ зменшує ОС завдяки своїм потенційним властивостям поглинання вільних радикалів [16].

МЕЛ: особливості антиоксидантних ефектів

Вивільнення МЕЛ з епіфіза, яке опосередковується супрахіазматичним ядром, є центральним регулятором добового ритму. Десинхронізація циркадного ритму викликає метаболічні порушення [14]. Зокрема, гострими наслідками десинхронозу можуть бути порушення чутливості до інсуліну, секреції кортизолу та МЕЛ, артеріального тиску, модуляції серцевої діяльності автономною нервовою системою тощо [17]. Десинхронізація добових ритмів асоціюється з низкою захворювань, зокрема, серцево-судинними та метаболічними розладами [18, 19].

Продемонстровано, що в самців щурів лінії Wistar, які знаходились в умовах примусової десинхронізації внутрішніх ритмів, спостерігаються порушення рухової активності, дисліпопротеїнемія, значна гіпертрофія пучкової зони

кори надниркових залоз, низька експресія білків β -субодиниці інсулінового рецептора (insulin receptor subunits β , IR β), субстрату інсулінового рецептора 2 (insulin receptor substrates 2, IRS2), фосфатидилинозитол-3-кінази (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K), протеїнкінази В (protein kinase B, Akt), СОД, КАТ, а також підвищена експресія фосфоенолпіруваткарбоксикінази (phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK) в печінці. Вихідні показники частоти серцевих скорочень і середнього артеріального тиску зберігались, однак спостерігається зниження барорефлекторної чутливості [20]. Отже, десинхронізація добового часу може спричинити кардіометаболічні порушення.

Центральна нервова система і мозок схильні до ОС, а використання антиоксидантів, таких як МЕЛ, може запобігти прооксидантно-антиоксидантному дисбалансу [21]. Продемонстровано, що пероральне призначення 10 мг МЕЛ/кг маси тіла протягом 15 днів сприяє зменшенню вмісту 4-гідроксиноненалу (4-hydroxynonenal, 4-HNE) – одного з основних цитотоксичних альдегідів ПОЛ, запобігає підвищенню рівнів гомоцистеїну, амілоїду- β 42 (amyloid- β 42) і таубілка (microtubule-associated protein tau, MAPT) в структурах гіпокампа та кори головного мозку щурів із стрептозотоцином (streptozotocin, STZ)-нікотинамід індукованим ЦД2.

Вважається, що виявлені зміни зумовлені зниженням рівнів дофаміну, серотоніну та глутамату і свідчать про регуляторний вплив МЕЛ на нейромедіаторні шляхи центральної нервової системи [22, 23]. Імовірно, що екзогенний МЕЛ здатний впливати на накопичення та вивільнення нейромедіаторів у гіпоталамусі шляхом модифікації механізмів їх поглинання, а не шляхом конкуренції з трансмітером [24, 25]. МЕЛ значно знижує рівень каспази-3 (caspase-3, CASP3) та апоптотичного білка (apoptosis regulator, Bax), а також суттєво збільшує кількість антиапоптотичного білка (apoptosis regulator, Bcl-2) та гліальних фібрилярних кислих протеїнів (glial fibrillary acidic protein, GFAP)-позитивних астроцитів. Відомо, що рівень співвідношення апоптотичного білка та Bcl-2 визначає виникнення апоптозу клітин [26]. Отже, МЕЛ володіє антиапоптотичними ефектами й запобігає структурним змінам у гіпокампі та корі головного мозку.

МЕЛ діє безпосередньо через рецепторзалежні сигнальні шляхи, а також опосередковано

Огляди

як поглинач вільних радикалів. МЕЛ опосередковує свою дію через два різні G-білки (guanine nucleotide-binding proteins, G-proteins) спряжені рецептори (G protein-coupled receptors, GPCR), а саме рецептор МЕЛ 1-го типу (Melatonin receptor type 1A) та рецептор МЕЛ 2-го типу (Melatonin receptor type 1B). При зв'язуванні з рецепторами МЕЛ може впливати на кровоносні судини та серце [27].

Повідомляється, що експресія генів рецептора МЕЛ 3-го типу (Melatonin receptor type 1C) пригнічує генерацію РФК в мітохондріях (Мт), запобігає надходженню відновлювальних еквівалентів в електронно-транспортний ланцюг [28]. Білок рецептора МЕЛ 3-го типу на 95% ідентичний хінон-редуктази 2 (quinone reductase 2, QR2) людини [29]. Оскільки рецептор МЕЛ 3-го типу є цитозольним ферментом, то МЕЛ спроможний здійснювати антиоксидантну дію рецепторно-незалежним від клітинної поверхні шляхом. МЕЛ здатний діяти як природний антиоксидант і поглинач, зменшувати вміст РФА і РФК, що сприяє підтримці окисно-відновного гомеостазу у клітинах та їх захисту від ОС [30].

Зв'язування МЕЛ з рецептором 1-го типу ініціює каскад клітинних подій, які призводять до транслокації сиртуїну 3 (nicotinamide adenine dinucleotide (NAD)-dependent deacetylase sir-tuin-3, SIRT3) в мембрани ендоплазматичного ретикулуму, пов'язані із Мт (mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes, MAMs), зону взаємодії Мт з ендоплазматичним ретикулумом [31].

На користь антиоксидантних властивостей МЕЛ свідчать наступні положення: ідентифіковано метаболіт МЕЛ, циклічний-3-гідроксимелатонін (cyclic-3-hydroxymelatonin, c3ОНМ), який утворюється в результаті знешкодження двох гідроксильних радикалів; МЕЛ здатний безпосередньо поглинати киснево-центровані вільні радикали (oxygen-centered radicals, OCR) і РФК, а також зменшувати інтенсивність окиснювального пошкодження ключових біологічних клітинних макромолекул; циклічний-3-гідроксимелатонін також бере участь у детоксикації радикалів, як і його наступні метаболіти, N-ацетил-N-форміл-5-метоксикінурамін (N-acetyl-N-formyl-5-methoxykynuramine, AFMK), N-ацетил-5-метоксикінурамін (N-acetyl-5-methoxykynuramine, AMK). Цей антиоксидантний каскад дозволяє МЕЛ передбачувано нейтралізувати до десяти продуктів, що контрастує з

класичними поглиначами вільних радикалів, які детоксикують лише одну окиснювальну молекулу [12, 32]. Таким чином, метаболіти МЕЛ мають антиоксидантні ефекти та посилюють його дію [33].

Отже, МЕЛ володіє прямими, непрямими та рецепторно-опосередкованими ефектами. Зокрема, нейрогормон та його метаболіти є прямими поглиначами більшості вільних радикалів у клітинах із певною специфічною спорідненістю до субстрату. МЕЛ – це не потужний прямий поглинач супероксидного аніон-радикала, але більш ефективний у захопленні гідроксильних радикалів, ніж його метаболіти або попередники (N-ацетилсеротонін і серотонін). МЕЛ зменшує ПОЛ під час окиснювальних викликів, ймовірно, шляхом затримки його ініціації, а не прямого знешкодження пероксидного радикала [13].

Окрім цих прямих (безпосередніх) ефектів, МЕЛ діє опосередковано, а саме, відновлює окисно-відновну рівновагу шляхом активації антиоксидантних ферментів (СОД, глутатіонпероксидази (ГПО), глутатіонредуктази й КАТ); пригнічення активності прооксидантних ферментів (синтаз оксиду азоту (nitric oxide synthases, NOS), ліпоксигенази і, ймовірно, хінонредуктази 2 [28]. МЕЛ, в основному, підвищує рівні мРНК Mn СОД, Cu-Zn СОД і ГПО, а також внутрішньоклітинні рівні GSH. Цей ефект досягається шляхом стимуляції γ -глутамілцистеїнсинтази (γ -glutamylcysteine synthase, GCL), ферменту, що обмежує швидкість синтезу GSH [24]. МЕЛ також регулює транскрипційний фактор Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2), який зв'язується в ядрі з елементом антиоксидантної відповіді (antioxidant response element, ARE) на промоторній ділянці СОД і ГПО [33].

Вплив МЕЛ на процеси адипогенезу, ожиріння та стан ОС

Адипогенез тісно пов'язаний із процесами утворення РФК, зокрема, жирова тканина є одним з основних джерел РФК при МС [34, 35]. Мезенхімальні стовбурові клітини (mesenchymal stem cells, MSCs) шляхом диференціювання переходять у білі, бежеві та бурі преадипоцити й, надалі, зрілі адипоцити [36]. Ожиріння характеризується накопиченням білої жирової тканини (white adipose tissue, WAT) і при МС спостерігається нагромадження білих адипоцитів (white adipocytes, WA), яке є більш

інтенсивним у вісцеральній ділянці. «Побуріння» білих адипоцитів пов'язане з покращенням метаболічних фенотипів, зокрема, активацією ліполізу. Отже, пошук фармакологічних підходів із метою досягнення ефектів «побуріння» білих адипоцитів є новим напрямком у лікуванні ожиріння, а МЕЛ володіє такими ефектами [37].

Продemonстровано, що МЕЛ сприяє диференціації мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих із ліпоаспіратів людини та щурів лінії Zucker diabetic fatty (ZDF) з ожирінням. Крім того, МЕЛ посилює експресію термогеніну (thermogenin, uncoupling protein 1, UCP1) та γ -коактиватора-1- α рецептора, що активується проліфератором пероксисом (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α , PGC-1 α) в диференційованих адипоцитах. Ці результати свідчать, що МЕЛ збільшує кількість бурої жирової тканини (brown adipose tissue, BAT) внаслідок трансдиференціації адипоцитів і диференціації *de novo* [38]. Крім того, МЕЛ регулює експресію генів термогеніну, який, як відомо, пригнічує продукцію мітохондріальних РФК, ймовірно, шляхом зниження мембранного потенціалу Мт (mitochondria membrane potential, MMP) [39, 40].

Повідомляється, що додавання в питну воду одного мг МЕЛ/кг/добу, протягом десяти тижнів мишам-самцям лінії C57BL/6 з ожирінням, індукованим високожировою дієтою (high fat diet, HFD), запобігає збільшенню маси тіла. Виявлені зміни відбуваються завдяки зниженню швидкості ліпогенезу та активації ліполітичної здатності білих адипоцитів зі збільшенням споживання кисню та експресії рецепторів- γ коактиватора проліфератора пероксисом 1- α . У сукупності це запобігає гіпертрофії адипоцитів, і, відповідно, зменшенню ожиріння. Нарешті, МЕЛ зменшує утворення «корончастої» структури (crown-like-structure, CLS), а також знижує експресію генів лептину і моноцитарного хемотаксичного протеїну-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) [41]. Отже, МЕЛ демонструє потенціал для відновлення протизапального й оксидантного статусу в адипоцитах тварин з ожирінням.

Вживання щурами-самцями лінії Wistar з ожирінням, індукованим високожировою дієтою, 4 мг МЕЛ/кг протягом 12 тижнів сприяє зменшенню ваги, рівня малонового діальдегіда (МДА), інтерлейкіна (ІЛ)-6, сечової кислоти,

глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, GSH, оксиду азоту та циркулюючого обестатину в крові, жировій тканині та печінці. Отже, МЕЛ активно залучений для корекції порушень ліпідного і печінкового метаболізму при ожирінні. Ймовірними шляхами впливу МЕЛ може бути пригнічення ОС/ХЗНІ-залежних механізмів та підвищення рівня циркулюючого обестатину [42].

Внутрішньоперитонеальне введення 20 мг МЕЛ/кг протягом 12 тижнів мишам лінії C57BL/6J з ожирінням, індукованим високожировою дієтою стимулює активність бурої жирової тканини, супроводжується зменшенням ваги, ІР, гіпертрофії адипоцитів і проявів ХЗНІ та СХПМД. Крім того, МЕЛ сприяє збільшенню експресії термогеніна в бурій жировій тканині. Зокрема, МЕЛ спричиняє зсув енергетичного метаболізму на користь утилізації жирів, підвищує рівень фактора росту фібробластів 21 (fibroblast growth factor 21, FGF21) в жировій тканині й печінці; активність СОД, КАТ, ГПО в печінці та фосфорилування АМФ-активованої протеїнкінази (AMP-activated protein kinase, AMPK) в посмугованих м'язах. Ймовірно, що ці ефекти МЕЛ залежать від стану активності експресії фактора росту фібробластів 21 [40]. Відомо, що цей фактор росту регулює диференціювання в бурі адипоцити (brown adipocytes, BA), зокрема, підвищує регуляцію термогеніна та рецепторів- γ коактиватора проліфератора пероксисом 1- α , отже, сприяє термогенезу в жировій тканині [40].

Продemonстровано, що у хворих з ожирінням, які отримували 10 мг МЕЛ/добу протягом одного місяця на тлі гіпокалорійної дієти, спостерігається значне зниження маси тіла, зменшення концентрації МДА, значуще зростання рівнів адипонектину та оментину-1, а також активності глутатіонредуктази [43].

Результати рандомізованого клінічного дослідження (РКД) впливу шести мг МЕЛ/добу або плацебо з низькокалорійною дієтою протягом 40 днів на показники ХЗНІ та ОС у жінок з ожирінням показали, що МЕЛ сприяє значущому зменшенню середніх рівнів фактора некрозу пухлини- α (ФНП- α), ІЛ-6, високочутливого С-реактивного білка (high-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP) та МДА в сироватці крові [44]. Результати РКД у хворих із МС продемонстрували, що призначення 6 мг/добу МЕЛ у капсулах протягом 12-тижневого періоду сприяє зна-

Огляди

чушому зниженню рівня ендотеліну-1 та МДА, а також вірогідному збільшенню активності СОД [45].

Вплив МЕЛ на антиоксидантну систему печінки

Відомо, що порушення гомеостазу печінки сприяє розвитку ряду метаболічних захворювань, а Мт та ендоплазматичний ретикулум є ключовими регуляторами метаболізму. Ці органели, з метою обміну ліпідів, Ca^{2+} та регуляції клітинного гомеостазу, контролю сигналізації та метаболізму інсуліну в печінці, взаємодіють на ділянках мембрани ендоплазматичного ретикулуму, пов'язаної з Мт.

МЕЛ відіграє важливу роль у мітохондріальному гомеостазі, зокрема підтримує потік електронів, підвищує активність комплексів I і IV дихального ланцюга, перешкоджає злиттю Мт при ОС [46]. Отже, однією з важливих фізіологічних функцій МЕЛ є його здатність пом'якшувати перебіг ОС і врівноважувати про-оксидантно-антиоксидантний дисбаланс [47].

Циркулюючий МЕЛ, особливо в умовах інтенсивного перебігу ОС, швидко зникає з крові, можливо, через його поглинання клітинами. Зокрема, аналіз субклітинного розподілу МЕЛ виявив, що концентрація індолу в Мт значно перевищує вміст у крові. Припускається, що МЕЛ цілеспрямовано потрапляє в Мт і, ймовірно, функціонує як провідний антиоксидант. Крім того, відповідно до положень теорії ендосимбіогенезу, МЕЛ також може вироблятися в Мт. Таким чином, МЕЛ не тільки поглинається Мт, але ці органели також, ймовірно, продукують МЕЛ. Високі концентрації МЕЛ та його антиоксидантні властивості забезпечують потужний антиоксидантний захист Мт, які чутливі до зростання вмісту вільних радикалів [12].

Апоптоз гепатоцитів, на додаток до наслідків активації процесів ОС, може бути ключовим компонентом патогенезу СХПМД. Повідомляється, що в щурів з ожирінням, індукованим високожировою дієтою, візуалізуються численні апоптозні гепатоцити, що пов'язують із вищим рівнем розщеплення неактивного попередника каспази-3. Розщеплення й активація одних каспаз іншими сприяє формуванню протеолітичного каскаду, який суттєво посилює сигнал і, з певного моменту, апоптоз стає незворотним процесом. Крім того, спостерігається активація c-Jun

N-кінцевої кінази (c-Jun N-terminal kinase, JNK) і проапоптичних білків. Отже, підвищений ОС і пов'язана з ним активація c-Jun N-кінцевої кінази, а також дисбаланс про- і антиапоптичних білків родини Bcl-2 сприяють високому рівню апоптозу клітин, що може відігравати важливу роль у патогенезі СХПМД [48]. На додаток, цитокінам, розвитку ХЗНІ належать провідна роль у регулюванні накопичення ліпідів у печінці та прогресуванні СХПМД. Неспроможність імунної системи збалансувати надлишок прозапальних цитокінів призводить до посиленого утворення РФК і порушень ліпідного обміну. Надлишок РФК в клітинній мембрані також збільшує вивільнення ФНП- α в жировій тканині, клітинах Купфера (Kupffer cells) тощо [49].

Продемонстровано, що МЕЛ послаблює ПОЛ, знижує рівень окисненого GSH і підвищує активність ГПО в печінці щурів із ліпополісахарид (lipopolysaccharide (LPS)-індукованим ОС [33]. Отже, імовірно, що МЕЛ може бути універсальним гепатопротектором.

МЕЛ і метаболічна кардіоміопатія

ОС і ХЗНІ прогресивно змінюють перебіг метаболічних процесів у серці, що може призвести до формування фенотипу метаболічної кардіоміопатії й, зрештою, до серцевої недостатності [50, 51]. РФК активують різні сигнальні кінази та фактори транскрипції, які сприяють росту міокарда, реорганізації матриксу та клітинній дисфункції [23, 52].

Відомо, що ендотеліальні клітини мікросудин міокарда (microvascular endothelial cells, SMECs) є не тільки важливими клітинними медіаторами васкуляризації серця, але й відіграють важливу роль у патофізіології низки захворювань, зокрема метаболічної кардіоміопатії. Zhu H. et al. вивчали механізми, за допомогою яких ОС провокує загибель ендотеліоцитів мікросудин міокарда та особливостей впливу МЕЛ на їх виживання. Показано, що ОС, індукований пероксидом водню (hydrogen peroxide, H_2O_2) значно активує шлях циклічного аденозинмонофосфату (cyclicadenosinemonophosphate, cAMP)-білок, що зв'язує cAMP-залежний елемент (cAMP response element-binding protein, CREB), який посилює транскрипцію та експресію інозитол-1,4,5-трифосфатзв'язаних рецепторів (inositol 1,4,5-triphosphate receptor, IP3R) і потенціалзалежний аніонний канал (voltage-

dependent anion channel, VDAC) [53]. Виявлені зміни призводять до перевантаження цитоплазматичним ($[Ca^{2+}]_c$) і мітохондріальним кальцієм ($[Ca^{2+}]_m$).

Висока концентрація $[Ca^{2+}]_m$ пригнічує мембранний потенціал Мт (mitochondrial membrane potential, $\Delta\Psi_m$), відкриває мітохондріальні пори перехідної проникності (mPTP) в Мт і вивільняє цитохром с (cytochrome complex, cyt c) у цитоплазму, що активує Мт-залежний шлях загибелі. МЕЛ стимулює сигнальний шлях протеїнкінази, що активується мітогенами (mitogen-activated protein kinase, MAPK)/позаклітинної сигнал-регульованої кінази (extracellular signal-regulated kinase, ERK) і супроводжується інактивацією білка, що зв'язує cAMP-залежний елемент і, таким чином, блокує посилення регуляції інозитол-1,4,5-трифосфатзв'язаних рецепторів/потенціалзалежних аніонних каналів та перевантаження цитоплазматичного/мітохондріального Ca^{2+} . Отже, МЕЛ підтримує структурну та функціональну цілісність Мт і, зрештою, блокує мітохондріально-опосередковану клітинну загибель [53].

Результати метааналізу 12 РКД у хворих із ССЗ продемонстрували зв'язок між вживанням МЕЛ та значним підвищенням показників загальної антиоксидантної здатності крові (total antioxidant capacity, TAC), рівня GSH, активності СОД, глутатіонредуктази, а також значущим зниженням рівня МДА. Отже, МЕЛ сприяє значному позитивному впливу на стан ОС [16].

Антиоксидантні ефекти МЕЛ при цукровому діабеті

β -клітини володіють слабкою антиоксидантною здатністю. Зокрема, експресія генів антиоксидантів у β -клітинах підшлункової залози, порівняно з печінкою, майже вдвічі нижча [54, 55]. Продemonстровано, що в культурі клітин інсуліноми щурів INS-1 (INS-1 cell), в умовах глюкотоксичності та глюколіпотоксичності, індукованих гіперглікемією та додаванням пальмітату, спостерігається прискорене старіння, активація апоптозу, зупинка клітинного циклу, скомпрометований ендегенний антиоксидантний захист та порушення глюкозо-стимульованої секреції інсуліну (glucose stimulated insulin secretion, GSIS). МЕЛ сприяє зменшенню апоптозу та експресії білків, пов'язаних зі старінням, підвищенню ендегенного антиоксидантного

захисту та глюкозо-стимульованої секреції інсуліну. МЕЛ нормалізує рівні Мп-СОД і КАТ у глюкотоксичних умовах, підвищує їх активність у глюколіпотоксичних умовах. Отже, МЕЛ захищає β -клітини підшлункової залози від апоптозу, зменшує експресію маркерів, пов'язаних із прискореним старінням, та покращує порушення, спричинені глюко- і глюколіпотоксичністю [56].

Продemonстровано, що в щурів лінії Wistar зі стрептозотоцин-індукованим діабетом спостерігається значуще підвищення концентрації глюкози в крові, загальної антиоксидантної здатності крові, креатинкінази-МВ, ендотеліну-1, міоглобіну, серцевого білка, що зв'язує жирні кислоти (cardiac fatty acid binding protein, H-FABP), сечовини та креатиніну. Водночас виявлено вірогідне зниження концентрації інсуліну в крові й загальної антиоксидантної здатності крові, а також гістологічні зміни структури міофібрил і ядер кардіоміоцитів. Внутрішньоочеревинне введення 10 мг/кг/добу МЕЛ протягом чотирьох тижнів сприяє значному покращенню біохімічних показників, позитивним змінам гістологічних порушень [57].

Вживання щурами лінії Zucker diabetic fatty з ожирінням 10 мг МЕЛ/кг маси тіла протягом шести тижнів, збільшує показники коефіцієнта дихального контролю (respiratory control ratio, RCR) в Мт, отриманих із бурих адипоцитів. Крім того, МЕЛ позитивно впливає на показники індексу спряження дихання/фосфорилювання аденозинмонофосфату (phosphorylation coefficient, ADP/O ratio), знижує, внаслідок зменшення рівня нітритів та активації СОД, нітрозативний та окиснювальний статус Мт. Важливо, що МЕЛ пригнічує мітохондріальну пору перехідної проникності. Отже, МЕЛ покращує мітохондріальне дихання в бурих адипоцитах, одночасно зменшує ОС і нітрозативний стрес та чутливість адипоцитів до апоптозу [47].

Моделювання стрептозотоцин-нікотинамід-індукованого діабету в щурів-самців лінії Wistar супроводжується значним збільшенням рівня 4-гідроксинонелалу в міокарді та підшлунковій залозі. Крім того, виявлено суттєве зменшення рівня GSH, активності ГПО, вмісту ІЛ-10, підвищення вмісту ФНП- α , ІЛ-6 та ІЛ-1 β в крові [58]. Пероральне введення 10 мг МЕЛ/кг/добу протягом 15 днів значно запобігає підвищенню рівня 4-гідроксинонелалу, сприяє збільшенню вмісту GSH, активності глутатіонредуктази та

Огляди

зменшенню концентрації прозапальних цитокінів. Крім того, МЕЛ підвищує рівень ІЛ-10 та експресію антиапоптотичного білка Bcl-2. Імуногістохімічне дослідження тканин міокарда та β -клітин виявило виражену експресію Bcl-2 в кардіоміоцитах та підшлунковій залозі [58]. Отже, МЕЛ суттєво запобігає розвитку ОС, що свідчить про його високу антиоксидантну здатність.

Повідомляється, що в пацієнтів із ЦД2 спостерігається значуще зниження середніх рівнів МЕЛ, оксиду азоту, загальної антиоксидантної здатності крові, ПОЛ і зростання активності СОД [59]. Результати РКД продемонстрували, що призначення хворим на ЦД із хронічним коронарним синдромом 10 мг МЕЛ/добу (МЕЛ капсули по 5 мг) протягом 12 тижнів виявили значуще підвищення рівня GSH, високочутливого С-реактивного білка та зниження рівнів біомаркерів ОС, зокрема, МДА і карбонільних груп білків (protein carbonyl, PCO). Отже, МЕЛ може принаймні частково пом'якшити процеси активації ОС [60]. Результати систематичного огляду та метааналізу 16 РКД впливу добавок МЕЛ свідчать, що висновки 56% РКД продемонстрували позитивні ефекти МЕЛ на вміст глюкози крові, глікованого гемоглобіну A1c та стан ІР [61].

Результати РКД показали ефективність МЕЛ у лікуванні захворювань, коморбідних із МС. Зокрема, використання препаратів магнію з МЕЛ в лікуванні 84 жінок із синдромом полікістозних яєчників протягом восьми тижнів супроводжується зменшенням проявів гірсутизму, ІР, рівня ФНП- α та значним підвищенням загальної антиоксидантної здатності крові. Крім того, МЕЛ, як монотерапія, сприяє зниженню концентрації ФНП- α в крові [62].

Впродовж життя людини, із підліткового до старечого віку, рівень МЕЛ в організмі десятикратно знижується. Отже, ймовірно, що екзогенний МЕЛ може сповільнювати процеси старіння [63]. Таким чином, екзогенний МЕЛ володіє потенціалом для уповільнення процесів старіння та лікування захворювань, пов'язаних із віком.

Висновки

МЕЛ є ефективним хронобіотиком, що змінює фазу та амплітуду добових ритмів. МЕЛ

діє як потужний антиоксидант, здатний долати гематоенцефалічний бар'єр, пригнічувати ОС і ХЗНІ. Нейрогормон має значні цитопротекторні властивості, запобігає низці наслідків ОС при МС, що продемонстровано на тваринних моделях. Отже, МЕЛ є потенційним кандидатом для корекції прооксидантно-антиоксидантного дисбалансу при МС завдяки його біологічному впливу на метаболізм жирової тканини, ліполіз і мітохондріальні процеси, а також його антиоксидантним і протизапальним властивостям. МЕЛ може забезпечити інноваційну стратегію лікування МС, поєднуючи свій вплив на добовий ритм із цитопротекторними властивостями.

Однак, результати лише кількох РКД свідчать, що МЕЛ корисний для корекції наслідків ОС при МС, ожирінні, СХПМД, метаболічній кардіоміопатії й ЦД2. Отже, необхідні більш масштабні довгострокові РКД із більшою гетерогенністю хворих на МС, визначенням біомаркерів і особливостей вживання препаратів МЕЛ.

Список використаної літератури

1. Ziegler D, Porta M, Papanas N, Mota M, Jermendy G, Beltramo E, et al. The role of biofactors in diabetic microvascular complications. *Curr Diabetes Rev.* 2022 Apr 6;18(4):e250821195830. doi:10.2174/1871527320666210825112240.
2. Peneva VM, Terzieva DD, Mitkov MD. Role of melatonin in the onset of metabolic syndrome in women. *Biomedicines.* 2023 May 30;11(6):1580. doi:10.3390/biomedicines11061580.
3. Hayden MR. Overview and new insights into the metabolic syndrome: risk factors and emerging variables in the development of type 2 diabetes and cerebrocardiovascular disease. *Medicina (Kaunas).* 2023 Mar 13;59(3):561. doi:10.3390/medicina59030561.
4. Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, et al. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *Int J Mol Sci.* 2015 Nov 2;16(11):26087-124. doi:10.3390/ijms161125942.
5. Grandl G, Wolfrum C. Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic syndrome. *Semin Immunopathol.* 2018 Feb;40(2):215-24. doi:10.1007/s00281-017-0666-5.
6. Reddy VP. Oxidative stress in health and disease. *Biomedicines.* 2023 Oct 29;11(11):2925. doi:10.3390/biomedicines11112925.
7. Oguntibeju OO. Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2019 Jun 15;11(3):45-63.
8. Serhiyenko V, Serhiyenko A, Segin V, Serhiyenko L. Association of arterial stiffness, N-terminal pro-brain natriuretic peptide, insulin resistance, and left ventricular diastolic dysfunction with diabetic cardiac autonomic neuropathy. *Vessel Plus.* 2022 Feb 17;6:11. doi:10.20517/2574-1209.2021.83.
9. Monserrat-Mesquida M, Quetglas-Llabrés M, Capó X, Bouzas C, Mateos D, Pons A, et al. Metabolic syndrome is associated with oxidative stress and proinflammatory state. *Antioxidants (Basel).* 2020 Mar 12;9(3):236. doi: 10.3390/antiox9030236.
10. de Mello AH, Costa AB, Engel JDG, Rezin GT. Mitochondrial dysfunction in obesity. *Life Sci.* 2018 Jan 1;192:26-32. doi: 10.1016/j.lfs.2017.11.019.
11. Claustat B, Leston J. Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie.* 2015 Apr-Jun;61(2-3):77-84. doi:10.1016/j.neuchi.2015.03.002.

12. Reiter RJ, Rosales-Corral S, Tan DX, Jou MJ, Galano A, Xu B. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: one of evolution's best ideas. *Cell Mol Life Sci.* 2017 Nov;74(21):3863-81. doi:10.1007/s00018-017-2609-7.
13. Genario R, Cipolla-Neto J, Bueno AA, Santos HO. Melatonin supplementation in the management of obesity and obesity-associated disorders: A review of physiological mechanisms and clinical applications. *Pharmacol Res.* 2021 Jan;163:105254. doi:10.1016/j.phrs.2020.105254.
14. Aykan U, Güvel MC, Paykal G, Uluoglu C. Neuropharmacologic modulation of the melatonergic system. *Explor Neurosci.* 2023;2:287-306. doi:10.37349/en.2023.00029.
15. Abood SJ, Abdulsahib WK, Hussain SA, Ismail SH. Melatonin potentiates the therapeutic effects of metformin in women with metabolic syndrome. *Sci Pharm.* 2020 Jun 3;88(2):28. doi:10.3390/scipharm88020028.
16. Morvaridzadeh M, Sadeghi E, Agah S, Nachvak SM, Fazeli-an S, Moradi F, et al. Effect of melatonin supplementation on oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis. *Pharmacol Res.* 2020 Nov;161:105210. doi:10.1016/j.phrs.2020.105210.
17. Kervezee L, Kosmadopoulos A, Boivin DB. Metabolic and cardiovascular consequences of shift work: The role of circadian disruption and sleep disturbances. *Eur J Neurosci.* 2020 Jan;51(1):396-412. doi:10.1111/ejn.14216.
18. Cherkas A, Abrahamovych O, Golota S, Nersesyan A, Pichler C, Knasmüller S, et al. The correlations of glycated hemoglobin and carbohydrate metabolism parameters with heart rate variability in apparently healthy sedentary young male subjects. *Redox Biology.* 2015 Aug;5:301-7. doi:10.1016/j.redox.2015.05.007.
19. Serhiyenko VA, Serhiyenko LM, Sehin VB. Pathophysiological and clinical aspects of the circadian rhythm of arterial stiffness in diabetes mellitus: A minireview. *Endocr Regul.* 2022 Oct 20;56(4):284-94. doi:10.2478/enr-d2022-0031.
20. de Oliveira IGB, Junior MDF, Lopes PR, Campos DBT, Ferreira-Neto ML, Santos EHR, et al. Forced internal desynchrony induces cardiometabolic alterations in adult rats. *J Endocrinol.* 2019 Aug;242(2):25-36. doi:10.1530/JOE-19-0026.
21. Chrutek A, Olszewska-Slonina D. Melatonin as a powerful antioxidant. *Acta Pharm.* 2020 Dec 31;71(3):335-54. doi:10.2478/acph-2021-0027.
22. Amer ME, Othamn AI, El-Missiry MA. Melatonin ameliorates diabetes-induced brain injury in rats. *Acta Histochem.* 2021 Feb;123(2):151677. doi:10.1016/j.acthis.2020.151677.
23. Masenga SK, Kabwe LS, Chakulya M, Kirabo A. Mechanisms of oxidative stress in metabolic syndrome. *Int J Mol Sci.* 2023 Apr 26;24(9):7898. doi:10.3390/ijms24097898.
24. Cardinali DP, Hardeland R. Inflammaging, Metabolic syndrome and melatonin: A call for treatment studies. *Neuroendocrinology.* 2017 May 11;104(4):382-97. doi:10.1159/000446543.
25. Anderson G. Why do anti-amyloid beta antibodies not work? Time to reconceptualize dementia pathophysiology by incorporating astrocyte melatonergic pathway desynchronization from amyloid-beta production. *Braz J Psychiatry.* 2023 May 8;45(2):89-92. doi:10.47626/1516-4446-2022-2949.
26. Kale J, Osterlund EJ, Andrews DW. BCL-2 family proteins: changing partners in the dance towards death. *Cell Death Differ.* 2018 Jan;25(1):65-80. doi:10.1038/cdd.2017.186.
27. Tobeiha M, Jafari A, Fadaei S, Mirazimi SMA, Dashti F, Amiri A, et al. Evidence for the benefits of melatonin in cardiovascular disease. *Front Cardiovasc Med.* 2022 Jun 20;9:888319. doi:10.3389/fcvm.2022.888319.
28. Nikolaev G, Robeva R, Konakchieva R. Membrane melatonin receptors activated cell signaling in physiology and disease. *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 31;23(1):471. doi:10.3390/ijms23010471.
29. Ahmad SB, Ali A, Bilal M, Rashid SM, Wani AB, Bhat RR, et al. Melatonin and health: insights of melatonin action, biological functions, and associated disorders. *Cell Mol Neurobiol.* 2023 Aug;43(6):2437-58. doi:10.1007/s10571-023-01324-w.
30. Li YY, Wang H, Zhang YY. *Melatonin receptor 1B* gene rs10830963 C/G polymorphism associated with type 2 diabetes mellitus: An updated meta-analysis of 13,752 participants. *Heliyon.* 2022 Nov 21;8(11):e11786. doi:10.1016/j.heliyon.2022.e11786.
31. Theurey P, Rieusset J. Mitochondria-associated membranes response to nutrient availability and role in metabolic diseases. *Trends Endocrinol Metab.* 2017 Jan;28(1):32-45. doi:10.1016/j.tem.2016.09.002.
32. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *J Pineal Res.* 2016 Oct;61(3):253-78. doi:10.1111/jpi.12360.
33. Hohor S, Mandanach C, Maftai A, Zugravu CA, Oțelea MR. Impaired melatonin secretion, oxidative stress and metabolic syndrome in night shift work. *Antioxidants (Basel).* 2023 Apr 19;12(4):959. doi:10.3390/antiox12040959.
34. Koliaki C, Liatis S, Kokkinos A. Obesity and cardiovascular disease: revisiting an old relationship. *Metabolism.* 2019 Mar;92:98-107. doi:10.1016/j.metabol.2018.10.011.
35. Recinella L, Orlando G, Ferrante C, Chiavaroli A, Brunetti L, Leone S. Adipokines: new potential therapeutic target for obesity and metabolic, rheumatic, and cardiovascular diseases. *Front Physiol.* 2020 Oct 30;11:578966. doi:10.3389/fphys.2020.578966.
36. Dempersmier J, Sul HS. Shades of brown: a model for thermogenic fat. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2015 May 8;6:71. doi:10.3389/fendo.2015.00071.
37. Cheng L, Wang J, Dai H, Duan Y, An Y, Shi L, et al. Brown and beige adipose tissue: a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus. *Adipocyte.* 2021 Dec;10(1):48-65. doi:10.1080/21623945.2020.1870060.
38. Salagre D, Chayah M, Molina-Carballo A, Oliveras-López M-J, Munoz-Hoyos A, Navarro-Alarcón M, et al. Melatonin induces fat browning by transdifferentiation of white adipocytes and de novo differentiation of mesenchymal stem cells. *Food Funct.* 2022 Mar 1;13:3760-75. doi:10.1039/d1fo04360a.
39. Pan R, Chen Y. Management of oxidative stress: crosstalk between brown/beige adipose tissues and skeletal muscles. *Front Physiol.* 2021 Sep 16;12:712372. doi:10.3389/fphys.2021.712372.
40. Xu L, Li D, Li H, Zhang O, Huang Y, Shao H, et al. Suppression of obesity by melatonin through increasing energy expenditure and accelerating lipolysis in mice fed a high-fat diet. *Nutr Diabetes.* 2022 Oct 7;12(1):42. doi:10.1038/s41387-022-00222-2.
41. de Farias TDSM, Cruz MM, de Sa RCDC, Severi I, Perugini J, Senzacqua M, et al. Melatonin supplementation decreases hypertrophic obesity and inflammation induced by high-fat diet in mice. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019 Nov 5;10:750. doi:10.3389/fendo.2019.00750.
42. Obayemi MJ, Akintayo CO, Oniyide AA, Aturamu A, Badejogbin OC, Atuma CL, et al. Protective role of melatonin against adipose-hepatic metabolic comorbidities in experimentally induced obese rat model. *PLoS One.* 2021 Dec 8;16(12):e0260546. doi:10.1371/journal.pone.0260546.
43. Szweczyk-Golec K, Rajewski P, Gackowski M, Mila-Kierzenkowska C, Wesolowski R, Sutkowy P, et al. Melatonin supplementation lowers oxidative stress and regulates adipokines in obese patients on a calorie-restricted diet. *Oxid Med Cell Longev.* 2017 Sep 21;2017:8494107. doi:10.1155/2017/8494107.
44. Mesri Alamdari N, Mahdavi R, Roshanravan N, Lotfi Yaghini N, Ostadrahimi AR, Faramarzi E. A double-blind, placebo-controlled trial related to the effects of melatonin on oxidative stress and inflammatory parameters of obese women. *Horm Metab Res.* 2015 Jun;47(7):504-8. doi:10.1055/s-0034-1384587.
45. Zhang X, Zheng Y, Wang Z, Gan J, Yu B, Lu B, et al. Melatonin as a therapeutic agent for alleviating endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: Emphasis on oxidative stress. *Biomed Pharmacother.* 2023 Nov;167:115475. doi:10.1016/j.biopha.2023.115475.
46. Sun H, Wang X, Chen J, Song K, Gusdon AM, Li L, et al. Melatonin improves non-alcoholic fatty liver disease via MAPK-JNK/P38 signaling in high-fat-diet-induced obese mice. *Lipids Health Dis.* 2016 Nov 23;15(1):202. doi:10.1186/s12944-016-0370-9.
47. Agil A, Navarro-Alarcón M, Ali FAZ, Albrakati A, Salagre D, Campoy C, et al. Melatonin enhances the mitochondrial functionality of brown adipose tissue in obese-diabetic rats. *Antioxidants (Basel).* 2021 Sep 17;10(9):1482. doi:10.3390/antiox10091482.
48. Nath A, Ghosh S, Dey T, Chattopadhyay A, Bandyopadhyay D. The therapeutic potential of melatonin against hepatotoxicity

Огляди

- caused by obesity and NSAIDs: A comprehensive review. *Melatonin Res.* 2023 Dec;6:4. doi:10.32794/mr112500162.
49. Prasun P, Ginevic I, Oishi K. Mitochondrial dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease and alcohol related liver disease. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2021 Jan 5;6:4. doi:10.21037/tgh-20-125.
 50. Cherkas A, Eckl P, Gueraud F, Abrahamovych O, Serhiyenko V, Yatskevych O, et al. Helicobacter pylori in sedentary men is linked to higher heart rate, sympathetic activity, and insulin resistance but not inflammation or oxidative stress. *Croat Med J.* 2016 Apr 23;57(2):141-9. doi:10.3325/cmj.2016.57.141.
 51. Wenzl FA, Ambrosini S, Mohammed SA, Kraler S, Lüscher TE, Costantino S, et al. Inflammation in metabolic cardiomyopathy. *Front Cardiovasc Med.* 2021 Oct 4;8:742178. doi:10.3389/fcvm.2021.742178.
 52. Senoner T, Dichtl W. Oxidative stress in cardiovascular diseases: still a therapeutic target? *Nutrients.* 2019 Sep 4;11(9):2090. doi:10.3390/nu11092090.
 53. Zhu H, Jin Q, Li Y, Ma Q, Wang J, Li D, et al. Melatonin protected cardiac microvascular endothelial cells against oxidative stress injury via suppression of IP3R-[Ca²⁺]_i/VDAC-[Ca²⁺]_m axis by activation of MAPK/ERK signaling pathway. *Cell Stress Chaperones.* 2018 Jan;23(1):101-13. doi:10.1007/s12192-017-0827-4.
 54. Ježek P, Holendová B, Jabůrek M, Tauber J, Dlkavová A, Plecítá-Hlavatá L. The pancreatic β-cell: the perfect redox system. *Antioxidants (Basel).* 2021 Jan 29;10(2):197. doi:10.3390/antiox10020197.
 55. Patel R, Parmar N, Pramanik Palit S, Rathwa N, Ramachandran AV, Begum R. Diabetes mellitus and melatonin: Where are we? *Biochimie.* 2022 Nov;202:2-14. doi:10.1016/j.biochi.2022.01.001.
 56. Lee YH, Jung HS, Kwon MJ, Jang JE, Kim TN, Lee SH, et al. Melatonin protects INS-1 pancreatic β-cells from apoptosis and senescence induced by glucotoxicity and glucolipotoxicity. *Islets.* 2020 Jul 3;12(4):87-98. doi:10.1080/19382014.2020.1783162.
 57. Elmahallawy EK, Alsharif KF, Alblihd MA, Hamad AA, Nasreldin N, Alsanie W, et al. Melatonin ameliorates serobiochemical alterations and restores the cardio-nephro diabetic vascular and cellular alterations in streptozotocin-induced diabetic rats. *Front Vet Sci.* 2023 Mar 31;10:1089733. doi:10.3389/fvets.2023.1089733.
 58. Abdulwahab DA, El-Missiry MA, Shabana S, Othman AI, Amer ME. Melatonin protects the heart and pancreas by improving glucose homeostasis, oxidative stress, inflammation and apoptosis in T2DM-induced rats. *Heliyon.* 2021 Mar 12;7(3):e06474. doi:10.1016/j.heliyon.2021.e06474.
 59. Awni N, Ahmed TS, Sarhat ER, Ali NH, Abass KS. Altered serum levels of melatonin, antioxidant enzymes and oxidative stress in individuals with diabetes mellitus type 2. *Rev Latinoam Hipertens.* 2022 Apr 25;17(2):138-41. doi:10.5281/zenodo.6672848.
 60. Raygan F, Ostadmohammadi V, Bahmani F, Reiter RJ, Asemi Z. Melatonin administration lowers biomarkers of oxidative stress and cardio-metabolic risk in type 2 diabetic patients with coronary heart disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr.* 2019 Feb;38(1):191-6. doi:10.1016/j.clnu.2017.12.004.
 61. Delpino FM, Figueiredo LM, Nunes BP. Effects of melatonin supplementation on diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Clin Nutr.* 2021 Jul;40(7):4595-605. doi:10.1016/j.clnu.2021.06.007.
 62. Mousavi R, Alizadeh M, Asghari Jafarabadi M, Heidari L, Nikbakht R, Babaahmadi Rezaei H, et al. Effects of melatonin and/or magnesium supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Biol Trace Elem Res.* 2022 Mar;200(3):1010-9. doi:10.1007/s12011-021-02725-y.
 63. Martín Giménez VM, de Las Heras N, Lahera V, Tresguerras JAF, Reiter RJ, Manucha W. Melatonin as an anti-aging therapy for age-related cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Front Aging Neurosci.* 2022 Jun 3;14:888292. doi:10.3389/fnagi.2022.888292.

Список скорочень

ГПО – глутатіонпероксидаза
ІЛ – інтерлейкін
ІР – інсулінова резистентність
КАТ – каталаза
МДА – малоновий діальдегід
МЕЛ – мелатонін
МС – метаболічний синдром
Мт – мітохондрія
ОС – оксидантний стрес
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
РКД – рандомізоване клінічне дослідження
РФА – реактивні форми азоту
РФК – реактивні форми кисню
СОД – супероксиддисмутаза
СХПМД – стеатотичне захворювання печінки, пов'язане з метаболічною дисфункцією
ФНП-α – фактор некрозу пухлини-α
ХЗНІ – хронічне запалення низької інтенсивності
ЦД2 – цукровий діабет 2-го типу
Bcl-2 – apoptosis regulator
GSH – glutathione

Effect of melatonin on the state of oxidative stress in metabolic syndrome

V.A. Serhiyenko, V.B. Sehin, L.M. Serhiyenko, A.A. Serhiyenko

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Abstract. The metabolic syndrome (MetS) is a combination of several interrelated cardiometabolic risk factors, such as abdominal obesity, impaired glucose tolerance/hyperglycemia, dyslipoproteinemia, and prothrombotic and proinflammatory conditions. Oxidative stress (OS), which occurs as a result of excessive intracellular accumulation of reactive oxygen and nitrogen species and other free radicals, contributes to the development of obesity, MetS, metabolic dysfunction-related steatotic liver disease, metabolic cardiomyopathy, and type 2 diabetes mellitus. Enhanced OS leads to accelerated formation of protein glycation end products, which initiates a cascade of pathophysiological signaling pathways with the formation of proinflammatory cytokines and thus further activates the OS. In order to optimize the negative effects of free radicals, antioxidants are widely used, a special place among which is occupied by the pineal hormone melatonin (MEL). The neurohormone has direct, indirect and receptor-mediated effects. In particular, MEL and its metabolites are direct scavengers of most free radicals in cells, with a certain specific affinity for substrates. MEL is more effective in scavenging hydroxyl radicals and reduces lipid peroxidation during oxidative challenges, probably by delaying its initiation rather than directly scavenging peroxide radicals. MEL restores redox balance by activating antioxidant enzymes and inhibiting prooxidant enzymes, lipoxygenases and probably quinone reductase 2, activating mRNA of antioxidant enzymes and increasing intracellular glutathione. However, the peculiarities of the effect of MEL on the course of MetS and comorbidities remain unclear. The purpose of this review is to elucidate the

peculiarities of the mechanisms of antioxidant effect of MEL in MetS, as well as to analyze the data from experimental studies and clinical trials.

Keywords: melatonin, oxidative stress, metabolic syndrome, obesity, metabolic associated steatotic liver disease, metabolic cardiomyopathy, diabetes mellitus.

Для цитування: Сергієнко ВО, Сегін ВБ, Сергієнко ЛМ, Сергієнко ОО. Вплив мелатоніну на стан оксидантного стресу при метаболічному синдромі. *Ендокринологія*. 2024;29(2):162-171. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.162.

Адрес для листування: Сергієнко Вікторія Олександрівна, serhiyenko@gmail.com; Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна.

Відомості про авторів: Сергієнко Вікторія Олександрівна, д-рка мед. наук, професорка кафедри ендокринології, проректорка Університету з наукової роботи, ORCID: 0000-0002-6414-0956; Сегін Володимир Богданович, аспірант кафедри ендокринології, ORCID: 0000-0002-8046-8011; Сергієнко Людмила Михайлівна, канд. біол. наук, доцентка кафедри медичної біології та генетики, ORCID: 0000-0001-9873-9847; Сергієнко Олександр Олексійович, д-р мед. наук, професор кафедри ендокринології, ORCID: 0000-0001-7519-2279.

Особистий внесок: Сергієнко В.О. – вивчення літератури по темі, аналіз літературних джерел і написання тексту; Сегін В.Б. – вивчення літератури по темі, аналіз літературних джерел і написання тексту; Сергієнко Л.М. – аналіз літературних джерел і написання тексту; Сергієнко О.О. – аналіз літературних джерел, написання та редагування тексту.

Фінансування: стаття підготовлена в рамках бюджетного фінансування МОН України за планом науково-дослідної роботи «Особливості патогенезу, діагностики та лікування захворювань серцево-судинної, травної, ендокринної та дихальної систем у клініці та експерименті» кафедри ендокринології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (№ держреєстрації 0120U002142).

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 20.02.2024 р.; перероблена 17.04.2024 р.; прийнята до друку 24.06.2024 р.; надрукована 30.06.2024 р.

For citation: Serhiyenko VA, Sehin VB, Serhiyenko LM, Serhiyenko AA. Effect of melatonin on the state of oxidative stress in metabolic syndrome. *Endokrynologia*. 2024;29(2):162-171. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.162.

Correspondence address: Serhiyenko Victoria Alexandrivna, serhiyenko@gmail.com; Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Pekarka Str., 69, Lviv 79010, Ukraine.

Information about the authors: Serhiyenko Victoria Alexandrivna, Dr. Sci. (Medicine), Professor of the Department of Endocrinology, Vice-rector of University for Scientific Research, ORCID: 0000-0002-6414-0956; Sehin Volodymyr Bogdanovich, PhD-student at the Department of Endocrinology, ORCID: 0000-0002-8046-8011; Serhiyenko Ludmila Mykhaylivna, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor of the Department of Medical Biology and Genetics, ORCID: 0000-0001-9873-9847; Serhiyenko Alexandr Alexeevich, Dr. Sci. (Medicine), Professor of the Department of Endocrinology, ORCID: 0000-0001-7519-2279.

Personal contribution: Serhiyenko V.A. – study of literature on the topic, analysis of literary sources and writing a text; Sehin V.B. – study of literature on the topic, analysis of literary sources and writing a text; Serhiyenko L.M. – analysis of literary sources and writing a text; Serhiyenko A.A. – analysis of literature sources and text editing.

Funding: the article was prepared within the budgetary funding of the Ministry of Education and Science of Ukraine under the plan of research work «Features of pathogenesis, diagnosis and treatment of cardiovascular, digestive, endocrine and respiratory system diseases in clinic and experiment» of the Department of Endocrinology of Danylo Halytsky Lviv National Medical University (state registration number 0120U002142).

Declaration of ethics: the authors declare no conflict of interest or financial obligations.

Article: received February 20, 2024; revised April 17, 2024; accepted June 24, 2024; published June 30, 2024.

Використання інгібіторів дипептидилпептидази 4 для лікування атеросклерозу

Л.К. Соколова,
В.М. Пушкаръов,
О.І. Ковзун,
В.В. Пушкаръов,
А.М. Соколова,
М.Д. Тронько

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Запальні процеси відіграють ключову роль в атерогенезі. Рушійними силами запалення є ендотеліальна дисфункція (ЕД), цукровий діабет, змінений метаболізм ліпопротеїнів, вільні радикали, гемодинамічний стрес зсуву, гіпертонія та інші фактори. Інгібітори DPP-4 (iDPP-4), на додаток до гіпоглікемічних властивостей (підвищення рівня інкретинів та посилення експресії їх рецепторів), контролюють фактори атерогенезу шляхом регуляції рівня ліпідів крові, кров'яного тиску, послаблення ЕД та окислювального стресу (ОС), гальмування запальних процесів (блокування шляху ядерний фактор каппаВ (nuclear factor kappaB, NF-κB), сигналізу TLR4, активації nucleotide-binding and oligomerization domain-like receptor family pyrin domain-containing 3 (NLRP3)-інфламмасом і секреції інтерлейкіну(IL)-1β макрофагами (МФ)), стимулювання активності ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) і утворення NO, пригнічення експресії ендотеліну-1, молекул міжклітинної адгезії-1, молекул судинної адгезії-1, Е-селектину в ендотеліальних клітинах (ЕК). IDPP4 знижують експресію субодиниць НАДФН-оксидази Nox2 і p47^{phox} в аорті, зменшуючи ОС судин, сприяють зниженню вмісту ліпідів та трансформації МФ у тип M2 в атеросклеротичних бляшках (АБ). M2-поляризація під час опосередкованої iDPP4 блокади раннього атеросклерозу (Ас) залежить від сигналізу фактора стромальних клітин 1α (stromal cell-derived factor 1α, SDF-1α/CXCR4, відповідальним за посилену мобілізацію в кровообіг та хемотаксичну активність ендотеліальних клітин-попередників (ЕКП), які беруть участь у відновленні ендотелію. IDPP4 гальмують прогресування Ас шляхом зниження рівнів моноцитарного хемоаттрактантного білка-1 (MCP-1) і ліганд хемокіну з C-C мотивом-22 у сироватці крові пацієнтів. Крім того, iDPP4 зменшують кількість моноцитів, пригнічують фактор некрозу пухлини-α (tumor necrosis factor, TNF-α)-індуковану міграцію моноцитів та інфільтрацію МФ. Також iDPP4 пригнічують утворення пінистих клітин, ймовірно, шляхом інгібування Akt/AMF-активована протеїнкіназа (AMPK) шляхів NF-κB та JNK; знижують експресію LOX-1 і CD36 шляхом пригнічення активності протеїнкінази C, яка бере участь у формуванні пінистих клітин; демонструють значне пригнічення міграції та проліферації клітин гладкої мускулатури, що призводить до зменшення товщини інтими, відіграють захисну роль у рестенозі; підвищують рівень циркулюючого протизапального фактора IL-10, знижують відсоток МФ і Т-лімфоцитів в АБ.

Ключові слова: інгібітори дипептидилпептидази-4, серцево-судинна система, атеросклероз, цукровий діабет.

Запалення відіграє ключову роль в атерогенезі й бере участь на кожному етапі патогенезу [1-3]. Рушійними силами запалення є цукровий діабет (ЦД), змінений метаболізм ліпопротеїнів, вільні радикали, гемодинамічний стрес зсуву, гіпертонія, генетичні зміни, підвищений

рівень гомоцистеїну, інфекційні мікроорганізми та віруси, внаслідок чого виникає ЕД. У стінках кровоносних судин запалення супроводжується вивільненням прозапальних цитокінів і хемокінів, біоактивних ліпопротеїнів, молекул адгезії, активацією інфламмасом NLRP3, залученням специфічних сигнальних шляхів та інфільтрацією лейкоцитів у стінки судин [4-7].

Структура та функції дипептидилпептидази 4

Дипептидилпептидаза 4 (DPP-4, CD26) є поширеним ферментом у людини, який експресується в різноманітних тканинах. Це серинова екзопептидаза, трансмембранний глікопротеїн [8, 9], що може бути у вигляді мономера, гомодимера (основна каталітично активна форма) або гомотетрамера. Гомодимер DPP-4 зустрічається у двох формах: трансмембранний білок II типу і розчинний білок (sDPP-4) [10, 11]. Її базова структура включає: внутрішньоклітинний, трансмембранний і позаклітинний регіони. Позаклітинна частина складається зі стрижня, ділянки, багатой глікозильними групами (сайт зв'язування з антитілами до CD26, кавеоліном-1 і аденозиндезаміназою), ділянки, багатой цистеїном (сайт зв'язування з колагеном і фібронектином) і каталітичної області, що складається з тріади Ser630, Asp708 і His740 [8, 12]. DPP-4 містить дев'ять потенційних сайтів глікозилювання, які значною мірою пов'язані зі згортанням і стабільністю DPP-4, тоді як N-кінцеве сіалювання більше пов'язане з регулюванням патофізіологічних процесів [13, 14]. Функціональні домени DPP-4 розташовані в позаклітинній частині, а внутрішньоклітинний домен бере участь у клітинному сигналіngu [15].

Основна дія DPP-4 полягає в розщепленні та деактивації білків. Два гормони, які розщеплюються DPP-4 – глюкагоноподібний пептид-1 (GLP-1) і глюкозозалежний інсулінотропний поліпептид, беруть участь у регуляції метаболізму глюкози [15]. Крім GLP-1, важливими для роботи CCC субстратами DPP-4 є натрійуретичні пептиди (ANP/BNP), SDF-1 α і субстанція Р. Фізіологічні рівні NP низькі, але підвищуються при серцевій недостатності та гіперглікемії [16]. SDF-1 α є хемокіном, що сприяє серцевому хомінгу ЕКП. SDF-1 α є субстратом DPP-4, і пригнічення останньої, наприклад, вілдагліптином зберігає дію SDF-1 α та сприяє відновленню серця після гострого інфаркту міокарда або інсульту. Речовина Р бере участь у регуляції частоти серцевих скорочень і артеріального тиску і продемонструвала захисну дію на тваринних моделях, пригнічуючи апоптоз та зменшуючи фіброз і пошкодження клітин міокарда [17, 18]. В останній час виявлено багато нових функцій DPP-4, таких як сприяння фіброзу та опосередкування проникнення вірусів, у тому числі й SARS-CoV-2 [19].

Розчинна форма DPP-4 (sDPP-4) також міститься в рідинах організму. Вона бере безпосередню участь у регуляції ЕД і може стати біомаркером для деяких захворювань у майбутньому [8].

Експресія DPP-4 зростає при ожирінні/АС та позитивно корелює з останнім. Пацієнти з ожирінням мали вищий рівень експресії DPP-4 в моноцитах, паралельно з вищими рівнями HOMA-IR, глюкози крові, тригліцеридів і холестерину не-HDL (ліпопротеїни високої густини). Окиснені ліпопротеїни низької густини (oxLDL) посилюють експресію DPP-4 у МФ. Підвищення рівня DPP-4 у відповідь на oxLDL може бути механізмом, що зв'язує метаболізм глюкози з АС, спричиненим аномаліями ліпопротеїнів [20].

Механізми дії інгібіторів DPP-4 (iDPP-4) щодо захворювань CCC

IDDP-4 є новими гіпоглікемічними препаратами для лікування ЦД 2 типу, які демонструють позитивний терапевтичний ефект щодо захворювань CCC. У сайті зв'язування DPP-4 є дві кишені – S1 і S2, а також одна підкишеня, Sub S1 або S3, які можуть займати інгібітори фермента. Більш поширеними є субстрат-подібні iDPP-4 – міметики проліну, які займають S1- або S2-кишеню. Ціанопіролідини характеризуються двома ключовими взаємодіями: перша – із нітрильною групою, яка утворює ковалентні зв'язки з гідроксильною групою серину (Ser630), а друга – із протонованою аміногрупою, яка утворює мережу водневих зв'язків із негативно зарядженою областю поверхні білка. Вілдагліптин, саксагліптин і денагліптин є препаратами, які мають ціанопіролідинове кільце. Не-субстрат-подібні iDPP-4 є нековалентними інгібіторами і зазвичай мають ароматичне кільце, яке займає S1-кишеню. Ситагліптин містить піперазин і тριαзоліпіперазин, лінагліптин є сполукою на основі ксантину, алогліптин створений на основі піримідиндіону [21].

Основні механізми дії iDPP-4 пов'язані з підвищенням концентрації GLP-1 і глюкозозалежного інсулінотропного поліпептиду, шляхом пригнічення її активності. Це гормони кишківника, які сприяють секреції інсуліну і пригнічують секрецію глюкагону клітинами підшлункової залози, знижуючи рівень глюкози в крові. IDDP-4 також збільшують вміст субстрату

Огляди

SDF-1 α , який доповнює ефекти GLP-1. До того ж iDDP-4 зменшують вміст sDDP-4 і послаблюють її шкідливий вплив. Зараз успішно застосовуються багато видів iDDP-4: алогліптин, відагліптин, гемігліптин, лінагліптин, саксагліптин, ситагліптин і тенелігліптин, які відкривають нові перспективи для пацієнтів із ЦД2 [21].

Загальновідомо, що виникнення ССЗ тісно пов'язане з численними факторами ризику, такими як ЦД, вік, надмірна вага та ожиріння, які допомагають контролювати iDDP-4 [22]. Важливо, що iDDP-4 контролюють рівень глюкози в крові без збільшення ваги пацієнтів. Дисліпідемія є стимулюючим фактором для розвитку різних ССЗ, таких як коронарний АС і кальцифікація аортального клапана. Показано, що iDDP-4 здатні регулювати ліпідний обмін і знижувати рівень тригліцеридів, та вільних жирних кислот (ВЖК) [8]. Одночасно iDDP-4 підвищують рівень норадреналіну в плазмі, що прискорює мобілізацію та окислення ліпідів [23].

Рекомендації щодо профілактики ССЗ вказують, що стрес є фактором ризику для пацієнтів [24], спричиняючи дисбаланс симпатичної та парасимпатичної нервової системи, аномальну активацію осі гіпоталамус-гіпофіз-наднирники, запальну реакцію, дисфункцію коагуляції, електричну нестабільність серця, ішемію міокарда, руйнування бляшок і тромбоз. Хронічний стрес підвищує активність DDP-4 у плазмі та тканинах тварин. Старіння судин і ССЗ під час стресу ефективно послаблюються iDDP-4, що пояснюється зменшенням запалення бляшок, зниженням ОС та протеолізу, пов'язаного з GLP-1-опосередкованою продукцією адипонектину [8].

Розрив або ерозія бляшки внаслідок тромбозу є серйозним патологічним процесом пов'язаних з АС гострих серцево-судинних і цереброваскулярних подій. Інгібітор активатора плазміногену-1 є ключовим регулятором емболізації й одним із біомаркерів захворювань, пов'язаних із тромбозом. IDDP-4, такі як відагліптин, знижують рівень інгібітора активатора плазміногену 1 у сироватці крові хворих на ЦД і експериментальних тварин головним чином через гальмування синтезу цього інгібітора в ЕК [25, 26]. Матриксні металопротеїнази MMP2 та MMP9 синтезуються в АБ моноцитами/МФ та ЕК. Вони зменшують вміст колагену в бляшках, що зменшує їх стабільність і сприяє розриву. IDDP-4 знижують концентрацію в крові MMP2

і MMP9 і збільшують вміст колагену в АБ, підвищуючи їх стабільність [25, 26].

Вважається, що реакції, опосередковані медіаторами запалення, беруть участь у всіх стадіях розвитку АС. DDP-4 бере участь у низькорівневому запаленні організму, особливо у хворих на ЦД, а інсулінорезистентність та діабет сприяють експресії DDP-4. IDDP-4 пригнічують експресію прозапальних медіаторів в аорті, таких як IL-6 і TNF- α , і знижують рівні СРБ, MCP-1, молекул міжклітинної адгезії-1, Е-селектину і металопротеїназ у крові [26]. Крім того, терапія підвищує рівень протизапального IL-10 в циркуляції, а також знижує вміст МФ і Т-лімфоцитів в АБ [25, 27]. Залучення моноцитів до ендотелію за допомогою MCP-1 і ліганд хемокіну з С-С мотивом-22, є ключовим кроком у розвитку АС. IDDP-4 знижують рівні хемоаттрактантів у крові пацієнтів [28] і пригнічують TNF- α -індуковану міграцію моноцитів [29].

ОС тісно пов'язаний із запаленням і АС. Гіперглікемія сприяє продукції активних форм кисню (reactive oxygen species, ROS) і послаблює антиоксидантну систему, що призводить до посилення стресу, окислення ліпопротеїнів і фосфоліпідів. А окиснений тетрагідробіоптерин може спричинити роз'єднання eNOS, додатково посилюючи ОС і зменшуючи продукцію NO. На моделі лінії ЕК показано, що iDDP-4 зменшують утворення ROS, викликане кінцевими продуктами глікації. На тваринних моделях інгібітори знижували експресію в аорті субодинаць НАДФН-оксидаз Nox2 і p47phox, зменшуючи ОС в судинах [25].

IDDP-4 контролюють фактори ризику АС шляхом регуляції рівнів ліпідів крові та зниження артеріального тиску. Дисліпідемія є критичним фактором ризику захворювань, пов'язаних з АС [25]. IDDP-4 суттєво знижують рівні холестерин ліпопротеїнів низької густини, тригліцеридів і ВЖК, а також підвищують рівні HDL-С у пацієнтів із ЦД2 [30]. Вплив iDDP-4 на вміст ліпідів у крові пов'язаний із підвищенням рівня GLP-1. IDDP-4 змінюють експресію ферментів печінки, відповідальних за окислення ліпідів і біосинтез ліпідів, і знижують секрецію кишкових ліпопротеїнів, багатих на тригліцериди, а також пригнічують всмоктування ліпідів через сигнальний шлях за участі рецептора GLP-1R. Крім того, iDDP-4 прискорюють метаболізм ліпідів шляхом активації симпатичної нервової

системи. Так, вілдагліптин підвищує рівень нор-адреналіну в плазмі крові, що впливає на окислення ліпідів у хворих на ЦД2 [25, 30].

Відтік холестерину є основною атеропротекторною функцією HDL, які видаляють холестерин із пінистих клітин бляшок насичених при ЦД2 ліпідами. IDDP-4 підвищують концентрацію GLP-1 у плазмі крові, що регулює секрецію та експресію інсуліну через рецептор GLP-1R, який експресується в острівцях підшлункової залози, а також у моноцитах людини та клітинах THP-1. Показана безпосередня участь у функціонуванні HDL IDDP-4 разом із GLP-1, які суттєво підвищували опосередкований аполіпопротеїном A1 відтік холестерину, чого не відбувалося за відсутності GLP-1. Крім того, підвищений відтік за участю GLP-1 значно зменшувався в присутності антагоніста GLP-1R [31].

АТФ-зв'язуючий касетний транспортер A1 (ABCA1) локалізується на плазматичній мембрані, забезпечуючи гомеостаз холестерину і відіграє певну роль у продукції HDL і витоку клітинного холестерину. Показано, що GLP-1 посилює експресію ABCA1 у МФ та клітинах THP-1 і регулює гомеостаз холестерину [32]. Ситагліптин у присутності GLP-1 значно підвищував експресію білка ABCA1 у мембранній фракції [31]. Отже, вперше було показано, що IDDP-4 підвищують витік холестерину з МФ і можуть проявляти антиатеросклеротичну дію, посилюючи функцію HDL та індукуючи їх синтез.

Артеріальна гіпертензія є суттєвим фактором ризику розвитку АС. Підтверджено, що різні IDDP-4 можуть знижувати рівні систолічного та діастолічного артеріального тиску. Підвищення рівня GLP-1 після пригнічення активності IDDP-4 може відігравати важливу роль у цих ефектах. 1. Аналоги GLP-1 інгібують реабсорбцію Na^+ у проксимальних ниркових каналцях і зменшують затримку натрію, що зумовлює гіпотензивний ефект. 2. IDDP-4 посилюють активність eNOS і утворення NO, що викликає розширення судин. 3. Розслаблення судин, викликане ацетилхоліном, потенціюється зниженням експресії ангіотензинперетворюючих ферментів. 4. IDDP-4 пригнічують експресію в аорті ендотеліну-1, послаблюючи гіпертензію в діабетичних щурів. 5. Ефект IDDP-4 може бути пов'язаний із впливом на медулярні катехоламінові нейрони в постстремній ділянці та вазодилатацією, викликану інсуліном [25].

NO є найважливішим релаксовим фактором ендотелію, що синтезується під час перетворення L-аргініну, яке каталізується eNOS [33, 34]. NO відіграє важливу роль у підтримці тонусу судин, а також має антиатерогенний ефект, регулюючи проліферацію та апоптоз ЕК, пригнічуючи адгезію та агрегацію тромбоцитів, а також запобігаючи адгезії та інфільтрації лейкоцитів [25]. IDDP-4 (вілдагліптин, ситагліптин) виявляють захисну дію щодо функції ендотелію у тварин із діабетом шляхом активації eNOS. Ендотелін – вазоконстриктор, що виділяється ЕК, сприяє розвитку АС посилюючи прозапальні й мітогенні ефекти [35, 36]. IDDP-4 пригнічують експресію ендотеліну-1 в ендотелії аорти та покращують функцію ендотелію діабетичних щурів, ймовірно, шляхом активації AMPK та інгібування сигнального шляху NF- κ B [37].

Вілдагліптин, широко використовуваний протидіабетичний препарат, сприятливо впливає на ендотелій судин при діабеті. Визначали вплив IDDP-4 на мітохондріальну дисфункцію в діабетичних мишей та ЕК пупкової вени людини, культивованих в умовах гіперглікемії, і досліджували механізм протидіабетичної активності. Аналізували утворення мітохондріальних ROS (mtROS), пошкодження мітохондріальної ДНК, синтез АТФ та рівні експресії пов'язаних із динаміном білків (Drp1 і Fis1). Виявили, що вілдагліптин зменшує продукцію mtROS і пошкодження мітохондріальної ДНК і посилює синтез АТФ в ендотелії за умов діабету. Крім того, інгібітор знижував експресію Drp1 і Fis1, блокував транслокацію Drp1 у мітохондрії та пригнічував фрагментацію мітохондрій. У результаті послаблювалась мітохондріальна дисфункція і відновлювалась морфологія органел. Вілдагліптин сприяв фосфорилуванню AMPK та її мішені – ацетил-КоА-карбоксилази в умовах гіперглікемії. Активація AMPK призводила до зниження експресії Drp1. Отже, IDDP-4 пом'якшує ендотеліальну мітохондріальну дисфункцію при діабеті через пригнічення AMPK опосередкованого Drp1 мітохондріального поділу [38].

ЕКП відіграють захисну роль при пошкодженні судин. Вони беруть участь у відновленні ендотелію судин і ангіогенезі шляхом диференціації в зрілі ЕК, які виділяють регуляторні медіатори. Вважається, що рівні та функції циркулюючих ЕКП значною мірою впливають на

Огляди

ССЗ і тому зниження їх кількості розглядається як маркер патогенезу судин. При АС ЕКП захищають судини, зменшуючи пошкодження ендотелію та пригнічуючи ріст бляшок. Рівень ЕКП у хворих на ЦД нижчий, ніж у здорових людей, і функція ендотелію пацієнтів, особливо з судинними ускладненнями, асоціюється з їх кількістю. Показано, що протидіабетичні ефекти iDDP-4 пов'язані зі збільшенням кількості ЕКП. Це пояснюється тим, що активність iDDP-4 призводить до накопичення SDF-1 α , який зв'язується зі своїм рецептором CXCR4, відповідальним за посилену мобілізацію в кровообіг із кісткового мозку та хемотаксис ЕКП [28]. Порушення функцій ЕКП при ЦД призводить до змін у регуляції судинного гомеостазу та ЕД. Покращення функціонування ЕКП розглядається як перспективна стратегія для лікування судинних ускладнень. Механізми дії iDDP-4 на ЕКП залишаються неясними. Здатність ліраглутиду сприяти перфузії крові та ангиогенезу при діабеті оцінювали на моделі діабетичних мишей. iDDP-4 посилював кровопостачання та ангиогенез в ішемічних кінцівках мишей *db/db* та з діабетом 1-го типу. Крім того, інгібітор покращував міграцію клітин і продукцію NO в ЕКП у середовищі з високим вмістом глюкози. Вивчення сигнальних шляхів визначило мережу генів, що залучені до антиоксидантної сфери. Дослідження механізмів показало, що iDDP-4 знижує рівень ROS та підвищує активність nuclear factor erythroid 2-like factor 2 через шлях Akt/GSK3- β /Fyn, а пригнічення цього шляху скасовує активацію цього фактора і покращення функції ЕКП. Загалом, ці результати свідчать про терапевтичний потенціал iDDP-4 щодо стимулювання функції ЕКП та покращення ішемічного ангиогенезу при ЦД [39].

У досліджах на мишах *db/db* із діабетом і ожирінням тваринам вводили iDDP-4 протягом 12 тижнів. Інгібітор знижував рівень глюкози та HbA1c у крові й покращував чутливість до інсуліну, але не впливав на масу тіла чи ліпідний профіль крові. У групі лікування спостерігались позитивні зміни щодо систолічної/діастолічної функції серця, гіпертрофії та фіброзу. iDDP-4 запобігав серцевій ліпотоксичності шляхом зменшення накопичення ліпідів у міокарді через пригнічення CD36, ACSL1, FABP3, PPAR γ , DGAT1 і посилення інгібування FOXO1. Опосередковане iDDP-4 покращення мітохондріальної

функції та зменшення пошкоджень досягались шляхом активації сигнального шляху PGC1 α /Nrf1/TFAM, який активує мітохондріальний біогенез. Секвенування РНК серця підтвердило, що лікування викликало зміни експресії генів, пов'язаних із метаболізмом ліпідів. Отже, iDDP-4 покращують серцеву функцію шляхом зменшення ліпотоксичності та пошкодження мітохондрій і забезпечують терапевтичний ефект щодо діабетичної кардіоміопатії [40].

Автофагія – це процес, у якому дефектні клітинні компоненти поглинаються спеціальними структурами. АФ необхідна для підтримки належної клітинної рівноваги та відіграє життєво важливу гомеостатичну роль, вивільняючи поживні речовини з макромолекул і видаляючи небажані клітинні структури. Порушення регуляції АФ асоційоване з кількома захворюваннями, включаючи АС, що пов'язане з підвищеним ОС і некрозом АБ на пізній стадії [41, 42]. Захищаючи клітини та зменшуючи вивільнення запальних чинників АФ сприяє стабільності АБ, а також обмежує апоптоз, пригнічуючи активацію інфламмасом. АФ у МФ грає важливу роль в утворенні пінистих клітин, зменшуючи поглинання МФ oxLDL, збільшуючи еферозитоз МФ і сприяючи експорту холестерину. Це позитивно впливає на розвиток АС через зменшення запалення бляшок [43]. Регуляція АФ є складним процесом, що включає кілька сигнальних шляхів. Деякі з цих шляхів контролюються mammalian target of rapamycin (mTOR), а також AMPK – сенсорами клітинної енергії та поживних речовин. За достатності ресурсів для підтримки росту, mTORC1 може пригнічувати АФ шляхом інтеграції висхідних сигналів з Akt [44]. Експресія mTORC1 значно підвищена у тварин на атерогенній дієті. Гістопатологічний аналіз підтвердив наявність атеросклеротичних уражень у тварин на такій дієті. iDDP-4 суттєво коригували ліпідний профіль (рівні холестерину, тригліцеридів і LDL) та експресію mTORC1. Лікування iDDP-4 знижувало рівень білка p62 аорти, що свідчить про відновлення АФ [44]. Таким чином, iDDP-4 сповільнював розвиток АС через посилення АФ шляхом пригнічення сигналіну mTORC1.

Кілька досліджень на тваринах показали, що миші з нокаутом аполіпопротеїну Е та миші з нокаутом LDLR, незалежно від наявності чи відсутності діабету, після лікування iDDP-4 мають

зменшену площу АБ порівняно з нелікованими групами [27, 29, 45]. У мишей, які отримували iDDP-4, утворювалося менше АБ, ніж у контрольній групі, особливо в дузі аорти та в черевній аорті. Крім того, iDDP-4 значно знижував експресію MCP-1 та IL-6 в аорті, а також сироваткові рівні VCAM і Р-селектину, індукував фосфорилювання AMPK і Akt, водночас пригнічуючи фосфорилювання p38MAPK і позаклітинної сигнал-регульованої кінази в аортах. Отже, iDDP-4 зменшують площу атеросклеротичного ураження шляхом регулювання шляхів AMPK і MAPK, гальмування реакцій запалення та взаємодії лейкоцитів з ЕК. Ці дії не залежать від ефекту втрати ваги та зниження рівня глюкози [46].

Відомо, що поглинання МФ позаклітинних ох-LDL, з утворенням пінистих клітин, є ознакою ранньої стадії АС. У мишей із нокаутом аполіпопротеїну Е iDDP-4 проявляють антиатерогенну дію шляхом зменшення кількості моноцитів та інгібування інфільтрації МФ [42]. iDDP-4 пригнічують утворення пінистих клітин, ймовірно, шляхом пригнічення кіназами Akt/AMPK шляхів NF- κ B та JNK. Крім того, для утворення пінистих клітин необхідні скавенджер-рецептори на МФ SRA, CD36 і LOX-1 [47]. iDDP-4 знижують експресію LOX-1 і CD36, пригнічуючи активність протеїнкінази С [25].

Дослідження на людях також виявили, що в пацієнтів із ЦД та ішемічною хворобою серця iDDP-4 уповільнюють прогресування товщини комплексу інтима-медіа сонної артерії – важливого показника АС. За умов патології підвищена експресія молекул адгезії на поверхні ЕК, таких як ICAM, селектини та VCAM, разом із хемокінами, такими як MCP-1, сприяє адгезії моноцитів до ендотелію та стимулювання їх подальшої трансендотеліальної міграції з трансформацією в МФ. Дослідження виявили, що iDDP-4 пригнічують експресію молекул судинної адгезії-1, Е-селектину та молекул міжклітинної адгезії-1 в ЕК і виявляють потужну антиатеросклеротичну дію шляхом інгібування шляху NF- κ B [25].

МФ дуже пластичні щодо фенотипу і функцій [1, 7, 45]. Відомо, що різні типи МФ мають різні імунні функції: клітини М1 активуються за класичним сценарієм і беруть участь у запальних процесах, тоді як клітини М2 активуються альтернативно і відіграють роль регулятора. На ранніх стадіях прогресуючого АС МФ М2 виконують захисну функцію через зворотний тран-

спорт холестерину та протизапальну регуляцію. Показано, що iDDP-4 здійснюють антиатеросклеротичну дію, сприяючи трансформації МФ у тип М2 у районі бляшок і зниження в них вмісту ліпідів. Ця М2-поляризація під час опосередкованої iDDP-4 блокади раннього АС залежить від сигналіngu SDF-1 α /CXCR4 [45]. Однак, у прогресуючих АБ МФ М2 можуть виявляти протилежний ефект, сприяючи неоваскуляризації, що призводить до накопичення прозапальних факторів і посилення міграції лейкоцитів. Конкретні ролі інгібіторів DDP-4 у поляризації та активації МФ потребують вивчення.

Було продемонстровано імуносупресивну дію iDDP-4 на диференціацію лімфоцитів Th1, Th17 і Th2, що призводить до генерації регуляторних клітин, які секретують трансформуючий фактор росту бета-1, із низькою експресією гена CD26, що може позитивно впливати на стан β -клітин підшлункової залози в пацієнтів із ЦД1. Крім того, значно знижувався відсоток Т-клітин: CD4+ IL-17+, CD4+ IFN γ + і CD4+ IL-4+. Лікування iDDP-4 пригнічує проліферацію мононуклеарів периферичної крові людини, стимульованих фітогемаглютиніном, і знижує експресію CD26, що свідчить про їх вплив на експресію, димеризацію і сигналінг DDP-4. Лікування не тільки пригнічувало утворення цитокінів IL-10 та IFN- γ , але й повністю припиняло експресію IL-6 у мононуклеарах на тлі секреції IL-4 [48].

На ранніх стадіях утворення бляшок гладком'язові клітини (ГМК) мігрують до судинної інтими, де їх проліферація прискорює гіперплазію інтими та подальший розвиток АС. iDDP-4 демонструють суттєве пригнічення міграції ГМК, і ця негативна регуляція може бути пов'язана з гальмуванням експресії хемокінів MCP-1 і молекул судинної адгезії-1. Крім того, інгібітори DDP-4 можуть активувати шлях Nrf-2, що призводить до пригнічення проліферації цих клітин і зменшення товщини інтими [29]. Судинний рестеноз є актуальною проблемою, яку необхідно вирішувати в пацієнтів із коронарною реваскуляризацією, а проліферація ГМК є ключовим фактором виникнення стенозу. Показано, що iDDP-4 пригнічують проліферацію ГМК після пошкодження ендотелію і відіграють захисну роль при рестенозі, яка може бути пов'язана з посиленням опосередкованого каспазою-3 апоптозу ГМК [26].

Огляди

Підвищений рівень ВЖК є фактором ризику ЦД2. Пацієнти з діабетом, пов'язаним з ожирінням, часто мають підвищені рівні ВЖК у плазмі або тому, що велика кількість ВЖК вивільняється з надлишкової жирової тканини, або через порушення механізмів кліренсу ВЖК [49]. Гіперінсулінемія, пов'язана з аномальним метаболізмом ВЖК, є прямим фактором ризику розвитку АС, а також інших ССЗ. Підвищені рівні ВЖК у плазмі спричиняють високий ступінь запалення, що також сприяє розвитку ССЗ. ЕД, викликана високими рівнями ВЖК, є одним із механізмів, пов'язаних із прогресуванням ЦД. Дослідження молекулярних механізмів дії вілдагліптину щодо послаблення ЕД, спричиненої ВЖК, показало, що обробка ЕК інгібітором пригнічує вивільнення клітинами лактатдегідрогенази та генерацію ROS, індуковані ВЖК. Підвищення активності лактатдегідрогенази є важливим наслідком запалення через активацію інфламмасом NLRP3/ASC, піроптозу, продукції IL-1 β та IL-18 [49]. Вілдагліптин також усуває індуковане ВЖК зниження рівня GSH і підвищену експресію асоційованої з ВЖК Nox-4, яка опосередковує утворення ROS у мітохондріях. Крім того, вілдагліптин гальмує зниження мітохондріального потенціалу, спричинене ВЖК. Підвищена експресія Nox-4 пов'язана з активацією в ЕК NLRP3-інфламмасом і процесингом IL-1 β [50], які беруть участь в утворенні піністих клітин. NLRP3-залежний піроптоз і процесинг прозапальних цитокінів, таких як IL-1 β та IL-18, індуковані ROS, пов'язані з прогресуванням ССЗ [5, 51]. IDDP-4 блокують сигнал TLR4, активацію інфламмасом NLRP3 і вивільнення IL-1 β в МФ людини шляхом пригнічення активності РКС, демонструючи сприятливий вплив на АС [52]. Так, вілдагліптин пригнічує індуковану ВЖК експресію білків інфламмасомного комплексу NLRP3, включаючи NLRP3, ASC, p20 та HMGB-1, і пом'якшує спричинену ВЖК інактивацію шляху AMPK. Отже, інгібітор пригнічує продукцію двох цитокінів – IL-1 β та IL-18, яка є наслідком NLRP3-залежного механізму запалення. Вілдагліптин також підвищує рівень eNOS, який знижується за дії ВЖК, що вказує на його захисну роль проти ЕД. Отже, протектний ефект вілдагліптину в ЕК опосередкований через пригнічення NLRP3-інфламмасом/HMGB-1. Ці дані свідчать про те, що вілдагліптин може мати подвійне терапевтичне застосування – для зни-

ження рівня глюкози та покращення функції судин [49].

Щодо впливу іншого інгібітора iDDP-4 анагліптину на ЕД, спричинену високим вмістом глюкози, даних недостатньо. Нещодавні дослідження виявили, що лікування iDDP-4 запобігає індукованому глюкозою зниженню життєздатності клітин і посиленню вивільнення лактатдегідрогенази в ЕК пупкової вени людини. Анагліптин гальмує індуковане високим рівнем глюкози посилення експресії ROS і Nox-4 та TXNIP (thioredoxin-interacting protein). Лікування iDDP-4 знижувало індуковану високою глюкозою активацію залежного від NLRP3-інфламмасом запалення, про що свідчить зниження експресії NLRP3, ASC і розщепленої каспази-1. Крім того, одержані результати демонструють, що iDDP-4 припиняв швидкий процесинг IL-1 β та IL-18, індукований глюкозою. Встановлено, що лікування анагліптином відновлює індуковане високою глюкозою зниження експресії гістон-деацетилази SIRT1. Відомо, що SIRT1 відіграє негативну роль щодо активації запалення через NLRP3-інфламмасами. Сайленсинг SIRT1 шляхом трансфекції siRNA скасовував гальмівні ефекти анагліптину щодо запалення через активацію інфламмасом. Блокування активації NLRP3 стало важливою терапевтичною стратегією для лікування ЕД при ССЗ, спричинених високим вмістом глюкози. Ці результати показують, що анагліптин може забезпечувати захист від пошкодження ендотелію, спричиненого високим рівнем глюкози, через SIRT1-залежне інгібування активації NLRP3-інфламмасом [53].

Старіння (сенесценція) ГМК судин відіграє важливу роль у патогенезі АС. Останні дані вказують на те, що iDPP-4 демонструють широкий спектр позитивних ефектів щодо ССС. Вивчали ефект анагліптину щодо індукованого IL-1 β клітинного старіння в клітинах ГМК, щоб визначити терапевтичні можливості цього препарату при АС. Виявили, що лікування iDDP-4 знижувало секрецію TNF- α , IL-6 і MCP-1. Крім того, одержані дані вказують на те, що IL-1 β знижує активність теломерази, яка зростала при лікуванні iDDP-4. Довжина теломер негативно пов'язана з ризиком ССЗ. Порівняно з нормальними клітинами судинної стінки та циркулюючими ЕКП, більш вкорочені теломери спостерігаються в бляшках у ГМК і ЕК [54]. Стимуляція

IL-1 β посилювала забарвлення β -галактозидази, пов'язане з сенесценцією, більш ніж у 3 рази порівняно з контрольною групою, але воно знижувалося при лікуванні iDDP-4. Анагліптин також суттєво знижував регуляцію p16, p21 і підвищував рівень SIRT1 у клітинах ГМК, інкубованих з IL-1 β . Його захисний ефект щодо сенесценції в клітинах ГМК був скасований сайленсингом SIRT1. Таким чином, iDDP-4 захищають клітини ГМК і ЕК від індукованого цитокінами старіння і цей ефект опосередковується SIRT1 [54].

Клінічні дослідження продемонстрували, що застосування iDDP-4 значно знижує загальний холестерин і холестерин ліпопротеїнів низької густини [55]. Повідомлялося також, що введення анагліптину запобігає гіперплазії інтими шляхом стимулювання міграції ЕК через активацію сигналіну SOD-1/RhoA/JNK [56]. Попередня інкубація з iDDP-4 посилювала захисну здатність ендотелію проти ОС та апоптозу, спричиненого H₂O₂, шляхом інгібування Вах, утворення ROS, розщеплення каспази-3 та надмірної експресії цитохрому C в ЕК пупкової вени людини [57]. Експеримент *in vivo* продемонстрував, що введення iDDP-4 запобігає патологічному прогресуванню АС на моделі мишей із дефіцитом ApoE шляхом інгібування проліферації клітин ГМК та запальної реакції [29].

Кілька досліджень продемонстрували пригнічення АС аорти iDDP-4 у мишей із гіперхолестеринемією. Однак залишалося невизначеним, чи справляють iDDP-4 також антиатерогенну дію на коронарні артерії. Тому вивчали вплив iDDP-4 на розвиток АС в аорті та коронарних артеріях у кроликів, які перебували на дієті з високим вмістом холестерину. Споживання холестерину з їжею підвищувало рівень холестерину в сироватці крові та в ліпопротеїнах дуже низької густини (VLDL-C). iDDP-4, дещо знижували, хоча й невірогідно, загальний холестерин і VLDL-C, а також маркери абсорбції холестерину ситостерол і кампестерол. Активність DPP-4 у сироватці крові була пригнічена на 82%, а рівні активного GLP-1 і глюкозозалежного інсуліно-тропного поліпептиду під час лікування підвищилися у 2-3 рази. Важка гіперхолестеринемія призводила до розвитку АС аорти, а співвідношення атеросклеротичних уражень до загальної площі поверхні аорти становило 22 $\pm$ 2%. iDDP-4 пригнічували коефіцієнт ураження майже у 2,5 раза [58]. На коронарних артеріях чітко спосте-

рігались атеросклеротичні ураження зі збільшеною площею інтима-медіа і прогресуючим формуванням інтими. Лікування iDDP-4 призводило до зменшення зони інтима-медіа та площі інтими. Альфа-гладком'язові актин-позитивні та МФ-позитивні ділянки в коронарних артеріях після лікування зменшувались. Експресія TNF- α та IL-6 у сонних артеріях була помітно знижена, а судинна активність DPP-4 після лікування була знижена на 66% [58].

Отже, iDPP-4 можуть суттєво пригнічувати утворення бляшок у коронарних артеріях із помітним зменшенням накопичення МФ, ймовірно, через їх протизапальні властивості.

Порівняння терапевтичних ефектів гліптинів щодо лікування діабетичних ССЗ та аутоімунного діабету показало, що найширшим спектром терапевтичних ефектів характеризується вілдагліптин [59].

Список використаної літератури

1. Tronko ND, Pushkarev VM, Sokolova LK, Pushkarev VV, Kovzun EI. Molecular mechanisms of the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. K.: Medknyga publishing house, 2018. 264 p.
2. Sokolova LK, Pushkarev VM, Pushkarev VV, Kovzun OI, Tronko MD. Diabetes mellitus and atherosclerosis. The role of inflammatory processes in pathogenesis (literature review). International Journal of Endocrinology (Ukraine). 2017;13(7):486-98. doi: 10.22141/2224-0721.13.7.2017.115747.
3. Соколова ЛК, Пушкарьов ВМ, Пушкарьов ВВ, Тронько МД. Механізми патогенезу атеросклерозу у хворих на діабет. Роль NF- κ B (огляд літератури). Проблеми ендокринної патології. 2017;(2):64-76 (Sokolova LK, Pushkarev VM, Pushkarev VV, Tronko MD. Mechanisms of the pathogenesis of atherosclerosis in patients with diabetes. The role of NF- κ B (the literature review). Problemy endokrynnoi patologiyi. 2017;(2):64-76. Ukrainian). doi: 10.21856/j-PEP.2017.2.10.
4. Lusta KA, Poznyak AV, Sukhorukov VN, Eremin II, Nadelyaeva II, Orekhov AN. Hypotheses on atherogenesis triggering: does the infectious nature of atherosclerosis development have a substruction? Cells. 2023 Feb 23;12(5):707. doi: 10.3390/cells12050707.
5. Pushkarev VV, Sokolova LK, Kovzun OI, Pushkarev VM, Tronko MD. The role of endoplasmic reticulum stress and NLRP3 inflammasomes in the development of atherosclerosis. Cytol Genet. 2021;55(4):331-9. doi: 10.3103/S0095452721040113.
6. Tanase DM, Valasciuc E, Gosav EM, Ouatu A, Buliga-Finis ON, Floria M, et al. Portrayal of NLRP3 inflammasome in atherosclerosis: current knowledge and therapeutic targets. Int J Mol Sci. 2023 May 3;24(9):8162. doi: 10.3390/ijms24098162.
7. Sokolova LK, Pushkarev VM, Pushkarev VV, Tronko ND. Diabetes and atherosclerosis. Cellular mechanisms of pathogenesis. Endokrynologia. 2017;22(2):127-38.
8. Chen SY, Kong XQ, Zhang KF, Luo S, Wang F, Zhang JJ. DPP4 as a potential candidate in cardiovascular disease. J Inflamm Res. 2022 Sep 16;15:5457-69. doi: 10.2147/JIR.S380285.
9. Huang J, Liu X, Wei Y, Li X, Gao S, Dong L, et al. Emerging role of dipeptidyl peptidase-4 in autoimmune disease. Front Immunol. 2022;13:830863. doi: 10.3389/fimmu.2022.830863.
10. Razavi M, Wei YY, Rao XQ, Zhong JX. DPP-4 inhibitors and GLP-1RAs: cardiovascular safety and benefits. Mil Med Res. 2022 Aug 20;9(1):45. doi: 10.1186/s40779-022-00410-2.

Огляди

11. Webb DL, Abrahamsson N, Sundbom M, Hellstrom PM. Bariatric surgery – time to replace with GLP-1? *Scand J Gastroenterol.* 2017;52(6-7):635-40. doi: 10.1080/00365521.2017.1293154.
12. Love KM, Liu Z. DPP4 Activity, Hyperinsulinemia, and atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021 May 13;106(6):1553-65. doi: 10.1210/clinem/dgab078.
13. Govender Y, Shalekoff S, Ebrahim O, Waja Z, Chaisson RE, Martinson N, et al. Systemic DPP4/CD26 is associated with natural HIV-1 control: implications for COVID-19 susceptibility. *Clin Immunol.* 2021;230:108824. doi: 10.1016/j.clim.2021.108824.
14. Zhang T, Tong X, Zhang S, Wang D, Wang L, Wang Q, et al. The roles of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) and DPP4 inhibitors in different lung diseases: new evidence. *Front Pharmacol.* 2021;12:731453. doi: 10.3389/fphar.2021.731453.
15. Gong Q, Rajagopalan S, Zhong J. Dpp4 inhibition as a therapeutic strategy in cardiometabolic disease: Incretin-dependent and -independent function. *Int J Cardiol.* 2015 Oct 15;197:170-9. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.06.076.
16. Zakaria EM, Tawfeek WM, Hassanin MH, Hassaballah MY. Cardiovascular protection by DPP-4 inhibitors in preclinical studies: an updated review of molecular mechanisms. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2022 Nov;395(11):1357-72. doi: 10.1007/s00210-022-02279-3.
17. Chen FX, Wan Q, Li QL, Fang J, Peng L, Hu J. Substance P prevents doxorubicin-induced cardiomyocyte injury by regulating apoptosis and autophagy: *in vitro* and *in vivo* evidence. *Mol Med Rep.* 2022 Feb;25(2):50. doi: 10.3892/mmr.2021.12566.
18. Widiapradja A, Kasparian AO, McCaffrey SL, Kolb LL, Imig JD, Lacey JL, et al. Replacement of lost substance P reduces fibrosis in the diabetic heart by preventing adverse fibroblast and macrophage phenotype changes. *Cells.* 2021 Oct 5;10(10):2659. doi: 10.3390/cells10102659.
19. Rao X, Razavi M, Mihai G, Wei Y, Braunstein Z, Frieman MB, et al. Dipeptidyl peptidase 4/midline-1 axis promotes T lymphocyte motility in atherosclerosis. *Adv Sci (Weinh).* 2023 Mar;10(9):e2204194. doi: 10.1002/advs.202204194.
20. Rao X, Zhao S, Braunstein Z, Mao H, Razavi M, Duan L, et al. Oxidized LDL upregulates macrophage DPP4 expression via TLR4/TRIF/CD36 pathways. *EBioMedicine.* 2019 Mar;41:50-61. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.01.065.
21. Kumar S, Mittal A, Mittal A. A review upon medicinal perspective and designing rationale of DPP-4 inhibitors. *Bioorg Med Chem.* 2021 Sep 15;46:116354. doi: 10.1016/j.bmc.2021.116354.
22. Deacon CF. Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 2020;16(11):642-53. doi: 10.1038/s41574-020-0399-8.
23. Tsimihodimos V, Elisaf M. Incretins and lipid metabolism. *Curr Med Chem.* 2018;25(18):2133-9. doi: 10.2174/0929867324666170414164244.
24. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Böck M, et al. 2021 ESC guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J.* 2021 Sep 7;42(34):3227-337. doi: 10.1093/eurheartj/ehab484.
25. Liu H, Guo L, Xing J, Li P, Sang H, Hu X, et al. The protective role of DPP4 inhibitors in atherosclerosis. *Eur J Pharmacol.* 2020 May 15;875:173037. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173037.
26. Lim S, Choi SH, Shin H, Cho BJ, Park HS, Ahn BY, et al. Effect of a dipeptidyl peptidase-IV inhibitor, des-fluoro-sitagliptin, on neointimal formation after balloon injury in rats. *PLoS One.* 2012;7(4):e35007. doi: 10.1371/journal.pone.0035007.
27. Hirano T, Mori Y. Anti-atherogenic and anti-inflammatory properties of glucagon-like peptide-1, glucose-dependent insulinotropic polypeptide, and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in experimental animals. *J Diabetes Investig.* 2016 Apr;7 Suppl 1(Suppl 1):80-6. doi: 10.1111/jdi.12446.
28. Fadini GP, Bonora BM, Cappellari R, Menegazzo L, Vedovato M, Iori E, et al. Acute effects of linagliptin on progenitor cells, monocyte phenotypes, and soluble mediators in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016 Feb;101(2):748-56. doi: 10.1210/jc.2015-3716.
29. Ervinna N, Mita T, Yasunari E, Azuma K, Tanaka R, Fujimura S, et al. Anagliptin, a DPP-4 inhibitor, suppresses proliferation of vascular smooth muscles and monocyte inflammatory reaction and attenuates atherosclerosis in male apo E-deficient mice. *Endocrinology.* 2013;154(3):1260-70. doi: 10.1210/en.2012-1855.
30. Cha SA, Park YM, Yun JS, Lim TS, Song KH, Yoo KD, et al. A comparison of effects of DPP-4 inhibitor and SGLT2 inhibitor on lipid profile in patients with type 2 diabetes. *Lipids Health Dis.* 2017 Apr 13;16(1):58. doi: 10.1186/s12944-017-0443-4.
31. Komatsu T, Abe S, Nakashima S, Sasaki K, Higaki Y, Saku K, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin phosphate accelerates cellular cholesterol efflux in THP-1 cells. *Biomolecules.* 2023 Jan 24;13(2):228. doi: 10.3390/biom13020228.
32. Yao Y, Li Q, Gao P, Wang W, Chen L, Zhang J, et al. Glucagon-like peptide-1 contributes to increases ABCA1 expression by downregulating miR-758 to regulate cholesterol homeostasis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Mar 4;497(2):652-658. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.126.
33. Сокколова ЛК, Пушкарёв ВМ, Тронько МД. Аргінін в нормі та патології. *Ендокринологія.* 2019;24(4):373-85 (Sokolova LK, Pushkarev VM, Tronko MD. Arginine in normal and pathological conditions. *Endokrynologia.* 2019;24(4):373-85). doi: 10.31793/1680-1466.2019.24-4.373. Ukrainian.
34. Eriksson L, Nyström T. Antidiabetic agents and endothelial dysfunction - beyond glucose control. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2015 Jul;117(1):15-25. doi: 10.1111/bcpt.12402.
35. Sokolova LK, Belchina YuB, Pushkarev VV, Cherviakova SA, Vatsaba TS, Kovzun OI, et al. The level of endothelin-1 in the blood of patients with diabetes, depending on the characteristics of the disease. *Mіžnarodnij endokrinologіčnij žurnal.* 2020b;16(3):204-8. doi: 10.22141/2224-0721.16.3.2020.205267.
36. Davenport AP, Hyndman KA, Dhaun N, Southan C, Kohan DE, Pollock JS, et al. Endothelin. *Pharmacol Rev.* 2016 Apr;68(2):357-418. doi: 10.1124/pr.115.011833.
37. Tang ST, Su H, Zhang Q, Tang HQ, Wang CJ, Zhou Q, et al. Sitagliptin inhibits endothelin-1 expression in the aortic endothelium of rats with streptozotocin-induced diabetes by suppressing the nuclear factor- κ B/I κ Ba system through the activation of AMP-activated protein kinase. *Int J Mol Med.* 2016 Jun;37(6):1558-66. doi: 10.3892/ijmm.2016.2578.
38. Liu H, Xiang H, Zhao S, Sang H, Lv F, Chen R, et al. Vildagliptin improves high glucose-induced endothelial mitochondrial dysfunction via inhibiting mitochondrial fission. *J Cell Mol Med.* 2019 Feb;23(2):798-810. doi: 10.1111/jcmm.13975.
39. Yan X, Su Y, Fan X, Chen H, Lu Z, Liu Z, et al. Liraglutide improves the angiogenic capability of EPC and promotes ischemic angiogenesis in mice under diabetic conditions through an Nrf2-dependent mechanism. *Cells.* 2022 Nov 29;11(23):3821. doi: 10.3390/cells11233821.
40. Pham TK, Nguyen THT, Yi JM, Kim GS, Yun HR, Kim HK, et al. Evogliptin, a DPP-4 inhibitor, prevents diabetic cardiomyopathy by alleviating cardiac lipotoxicity in db/db mice. *Exp Mol Med.* 2023 Apr;55(4):767-78. doi: 10.1038/s12276-023-00958-6.
41. Salemkour Y, Lenoir O. Endothelial autophagy dysregulation in diabetes. *Cells.* 2023 Mar 21;12(6):947. doi: 10.3390/cells12060947.
42. Partida RA, Libby P, Crea F, Jang IK. Plaque erosion: a new in vivo diagnosis and a potential major shift in the management of patients with acute coronary syndromes. *Eur Heart J.* 2018 Jun 7;39(22):2070-6. doi: 10.1093/eurheartj/ehx786.
43. Owadh HKH, Mohammad BI, Al-Muhana SJ, Obied HN, Ghaleb RA, Hadi NR. The Synergistic effect of resveratrol and hydroxychloroquine on osteosarcoma cell line (MG-63) by autophagy modulation. *Lat Am J Pharm.* 2020;39(8):1671-6.
44. Sahib HH, Mohammad B, Hadi NR. Evaluation of anti-atherosclerotic effects of Sitagliptin via modulation of the mTOR pathway in male rabbits. *J Med Life.* 2023 Mar;16(3):451-7. doi: 10.25122/jml-2022-0298.
45. Brenner C, Franz WM, Kuhlenthal S, Kuschnerus K, Remm F, Gross L, et al. DPP-4 inhibition ameliorates atherosclerosis by priming monocytes into M2 macrophages. *Int J Cardiol.* 2015 Nov 15;199:163-9. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.07.044.
46. Zeng Y, Li C, Guan M, Zheng Z, Li J, Xu W, et al. The DPP-4 inhibitor sitagliptin attenuates the progress of atherosclerosis in apolipoprotein-E-knockout mice via AMPK- and MAPK-

- dependent mechanisms. *Cardiovasc Diabetol*. 2014 Feb 4;13:32. doi: 10.1186/1475-2840-13-32.
47. Salim HM, Fukuda D, Higashikuni Y, Tanaka K, Hirata Y, Yagi S, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, linagliptin, ameliorates endothelial dysfunction and atherogenesis in normoglycemic apolipoprotein-E deficient mice. *Vasc Pharmacol*. 2016 Apr;79:16-23. doi: 10.1016/j.vph.2015.08.011.
 48. Pinheiro MM, Stoppa CL, Valduga CJ, Okuyama CE, Gorjão R, Pereira RM, et al. Sitagliptin inhibit human lymphocytes proliferation and Th1/Th17 differentiation in vitro. *Eur J Pharm Sci*. 2017 Mar 30;100:17-24. doi: 10.1016/j.ejps.2016.12.040.
 49. Qi Y, Du X, Yao X, Zhao Y. Vildagliptin inhibits high free fatty acid (FFA)-induced NLRP3 inflammasome activation in endothelial cells. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2019 Dec;47(1):1067-74. doi: 10.1080/21691401.2019.1578783.
 50. Qi J, Yu XJ, Shi XL, Gao HL, Yi QY, Tan H, et al. NF-κB Blockade in hypothalamic paraventricular nucleus inhibits high-salt-induced hypertension through NLRP3 and caspase-1. *Cardiovasc Toxicol*. 2016 Oct;16(4):345-54. doi: 10.1007/s12012-015-9344-9.
 51. Liu D, Zeng X, Li X, Mehta JL, Wang X. Role of NLRP3 inflammasome in the pathogenesis of cardiovascular diseases. *Basic Res Cardiol*. 2017 Dec 9;113(1):5. doi: 10.1007/s00395-017-0663-9.
 52. Dai Y, Dai D, Wang X, Ding Z, Mehta JL. DPP-4 inhibitors repress NLRP3 inflammasome and interleukin-1β via GLP-1 receptor in macrophages through protein kinase C pathway. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2014 Oct;28(5):425-32. doi: 10.1007/s10557-014-6539-4.
 53. Jiang T, Jiang D, Zhang L, Ding M, Zhou H. Anagliptin ameliorates high glucose-induced endothelial dysfunction via suppression of NLRP3 inflammasome activation mediated by SIRT1. *Mol Immunol*. 2019 Mar;107:54-60. doi: 10.1016/j.molimm.2019.01.006.
 54. Zhao J, He X, Zuo M, Li X, Sun Z. Anagliptin prevented interleukin 1β (IL-1β)-induced cellular senescence in vascular smooth muscle cells through increasing the expression of sirtuin1 (SIRT1). *Bioengineered*. 2021 Dec;12(1):3968-77. doi: 10.1080/21655979.2021.1948289.
 55. Chiba Y, Yamakawa T, Tsuchiya H, Oba M, Suzuki D, Danno H, et al. Effect of anagliptin on glycemic and lipid profile in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Med Res*. 2018 Aug;10(8):648-56. doi: 10.14740/jocmr3464w.
 56. Li Q, Zhang M, Xuan L, Liu Y, Chen C. Anagliptin inhibits neointimal hyperplasia after balloon injury via endothelial cell-specific modulation of SOD-1/RhoA/JNK signaling in the arterial wall. *Free Radic Biol Med*. 2018 Jun;121:105-116. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.580.
 57. Li Q, Li J, Liu Y, Zhang M, Chen C. Anagliptin prevents apoptosis of human umbilical vein endothelial cells by modulating NOX-4 signaling pathways. *Biomed Pharmacother*. 2018 Jul;103:1623-31. doi: 10.1016/j.biopha.2018.04.187.
 58. Hirano T, Yamashita S, Takahashi M, Hashimoto H, Mori Y, Goto M. Anagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, decreases macrophage infiltration and suppresses atherosclerosis in aortic and coronary arteries in cholesterol-fed rabbits. *Metabolism*. 2016b Jun;65(6):893-903. doi: 10.1016/j.metabol.2016.03.010.
 59. Hu X, Wang X, Xue X. Therapeutic perspectives of CD26 inhibitors in immune-mediated diseases. *Molecules*. 2022 Jul 14;27(14):4498. doi: 10.3390/molecules27144498.

Список скорочень:

АС – атеросклероз
ГМК – гладком'язові клітини
ЕД – ендотеліальна дисфункція
ЕК – ендотеліальні клітини
ЕКП – ендотеліальні клітини-попередники
МФ – макрофаги
АМРК – АМФ-активована протеїнкіназа

eNOS – ендотеліальна синтаза оксиду азоту
GLP-1 – глюкагоноподібний пептид-1
IL – інтерлейкін (interleukin)
LDL – ліпопротеїни низької густини окислені (oxLDL)
MCP-1 – моноцитарний хемоаттрактантний білок-1
mTOR – mammalian target of rapamycin
NF-κB – ядерний фактор каппаВ (nuclear factor kappaB)
NLRP – nucleotide-binding and oligomerization domain-like receptor family pyrin domain-containing 3
NO – оксид азоту (nitric oxide)
ROS – активні форми кисню (reactive oxygen species)
SDF-1α – фактор стромальних клітин 1α (stromal cell-derived factor 1α)
TNF-α – фактор некрозу пухлини-α (tumor necrosis factor)

The use of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors for the treatment of atherosclerosis

L.K. Sokolova, V.M. Pushkarev, O.I. Kovzun, V.V. Pushkarev, A.M. Sokolova, M.D. Tronko

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine»

Abstract. Inflammatory processes play a key role in atherogenesis. The drivers of inflammation are endothelial dysfunction, diabetes mellitus, altered lipoprotein metabolism, free radicals, hemodynamic shear stress, hypertension, and other factors. Dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) inhibitors (iDPP-4), in addition to hypoglycemic properties (increase in incretin level and enhancing the expression of their receptors), control the atherogenic factors by regulating the level of blood lipids, blood pressure, attenuation of endothelial dysfunction and oxidative stress, inhibiting inflammatory processes (blocking NF-κB pathway, TLR4 signaling, NLRP3 inflammasome activation and IL-1β secretion by macrophages), stimulation of eNOS activity and NO production, inhibition of endothelin-1, ICAM-1, VCAM-1, E-selectin expression in endothelial cells. IDPP4 reduce the expression of NADPH oxidase subunits Nox2 and p47^{phox} in the aorta, reducing vascular oxidative stress, contributing to the reduction of lipid content and the transformation of macrophages into M2 type in atherosclerotic plaques. M2 polarization during iDPP4-mediated blockade of early atherosclerosis depends on SDF-1α/CXCR4 signaling, which is responsible for increased mobilization into the circulation and chemotactic activity of endothelial progenitor cells involved in endothelial repair. IDPP4 inhibit the progression of atherosclerosis by reducing the levels of MCP-1 and ліганд хемокіну 3 C-C мотивом-22 in the serum of patients. In addition, iDPP4 reduce the number of monocytes, inhibit TNF-α-induced monocyte migration and macrophage infiltration. Also, iDPP4 suppress the formation of foam cells, probably by inhibiting the Akt/AMPK pathways of NF-κB and JNK; reduce the expression of LOX-1 and CD36 by inhibiting the activity of protein kinase C, which is involved in the formation of foam cells; demonstrate a significant suppression of migration and proliferation of smooth muscle cells, which leads to a decrease in the intima thickness, play a protective role in restenosis; increase the level of circulating anti-inflammatory factor IL-10, reduce the percentage of macrophages and T-lymphocytes in atherosclerotic plaques.

Огляди

Keywords: dipeptidyl peptidase-4 inhibitors, cardiovascular system, atherosclerosis, diabetes mellitus.

Для цитування: Соколова ЛК, Пушкар'єв ВМ, Ковзун ОІ, Пушкар'єв ВВ, Соколова АМ, Тронько МД. Використання інгібіторів дипептидилпептидази 4 для лікування атеросклерозу. *Ендокринологія*. 2024;29(2):172-182. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.172.

Адреса для листування: Соколова Любов Костянтинівна; liubov_sokolova@ukr.net; ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, Київ 04114, Україна.

Відомості про авторів: Соколова Любов Костянтинівна, д-рка мед. наук, старш. наук. співроб., завідувачка відділу діабетології ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0003-0011-0106; Пушкар'єв Володимир Михайлович, д-р біол. наук, старш. наук. співроб., головний науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0003-0347-7771; Ковзун Олена Ігорівна, д-рка біол. наук, проф., чл.-кор. НАМН України, заступниця директора з наукових питань ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0001-8164-7671; Пушкар'єв Віктор Володимирович, канд. біол. наук, старший науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0001-5940-5510; Соколова Анастасія Максимівна, старша лаборантка кафедри ендокринології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця; аспірантка кафедри ендокринології Національного університету охорони здоров'я України ім. П.Л. Шупика, ORCID: 0009-0006-5334-7333; Тронько Микола Дмитрович, д-р мед. наук, чл.-кор. НАН України, акад. НАМН України, завідувач відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології, директор ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», ORCID: 0000-0001-7421-0981.

Особистий внесок: Тронько М.Д. – ідея роботи й консультації під час редагування статті; Соколова Л.К., Пушкар'єв В.М., Ковзун О.І., Пушкар'єв В.В., Соколова А.М. – аналіз літературних джерел, написання тексту, підготовка до друку і переклад резюме.

Фінансування: стаття підготовлена в рамках бюджетного фінансування НАМН України за планом науково-дослідних робіт ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України».

Декларація з етики: автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 12.03.2024 р.; перероблена 23.04.2024 р.; прийнята до друку 24.06.2024 р.; надрукована 30.06.2024 р.

For citation: Sokolova LK, Pushkarev VM, Kovzun OI, Pushkarev VV, Sokolova AM, Tronko MD. The use of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors for the treatment of atherosclerosis. *Endokrynologia*. 2024;29(2):172-182. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.172.

Correspondence address: Sokolova Liubov Kostyantynivna, liubov_sokolova@ukr.net; State Institution «V.P. Komisarenko Institute of

Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», 69, Vyshgorodska Str., Kyiv 04114, Ukraine.

Information about the authors: Sokolova Lyubov Kostyantynivna, Dr. Sci. (Medicine), Senior Research Fellow, Head of the Diabetology Department, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0003-0011-0106; Pushkarev Volodymyr Mykhaylovych, Dr. Sci. (Biology), Senior Scientist, Chief Researcher of the Fundamental and Applied Problems of Endocrinology Department, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0003-0347-7771; Kovzun Olena Ihorivna, Dr. Sci. (Biology), Prof., Cor. Member of the NAMS of Ukraine, Deputy Director for Scientific Affairs, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0001-8164-7671; Pushkarev Viktor Volodymyrovych, Cand. Sci. (Biology), Senior Research Fellow of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0001-5940-5510; Sokolova Anastasiya Maksymivna, Senior Laboratory Assistant of the Endocrinology Department of the Bogomolets National Medical University; PhD student of the endocrinology department of the Shupyk National Healthcare University of Ukraine, ORCID: 0009-0006-5334-7333; Tronko Mykola Dmytrovych, Dr. Sci. (Medicine), Cor. Member of the NAS of Ukraine, Acad. of the NAMS of Ukraine, Head of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, Director of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», ORCID: 0000-0001-7421-0981.

Personal contribution: Tronko M.D. – idea of work and consultations when editing an article; Sokolova L.K., Pushkarev V.M., Kovzun O.I., Pushkarev V.V., Sokolova A.M. – analysis of literary sources and text writing, preparation for publishing and translation of resume.

Funding: The article was prepared within the framework of budgetary funding of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine according to the plan of research work of the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine».

Declaration of ethics: The authors have declared no conflicts of interest or financial obligations.

Article: received March 12, 2024; revised April 23, 2024; accepted June 24, 2024; published June 30, 2024.

Реклама

Постачальником і виробником лікарських препаратів Айгліп® (вілдагліптин) і комбінованого лікарського препарату Айглімет® (вілдагліптин + метформін) на українському ринку є фармацевтична компанія «Фармак».

Фармак — лідер* з виробництва лікарських засобів в Україні та провідний експортер національної продукції на ринки 60 країн світу, включаючи 15 країн ЄС (*за даними Proxima Research у грошовому вивізі, 2023 р.).

Висока якість, технологічність та постійні інновації дозволяють компанії тримати лідерство протягом 13 років, забезпечуючи пацієнтів сучасними та доступними лікарськими засобами.

Clinical trials in endocrine system diseases in Ukraine according to the ClinicalTrials.gov site database

I.P. Pasteur

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Abstract. Endocrine system diseases (ESD) occupy one of the leading places in the structure of the general morbidity of the population. Recent events have had a significant impact on the healthcare system in Ukraine, including the treatment of ESD and the conduct of clinical trials (CTs). **Aim.** Analysis of information about CTs of ESD in Ukraine. **Material and methods.** Descriptive analysis was conducted on the ClinicalTrials.gov website database using the keywords «Endocrine System Diseases» in the «Active, not recruiting» and «Recruiting» groups. **Results.** Information is presented on 17 CTs of ESD in Ukraine according to the ClinicalTrials.gov website database as of January 25, 2024, 13 of which had the current status of «Active, not recruiting» and 4 – «Recruiting». The average duration of these 17 CTs is 5 years and 6 months, with 2 of them running for more than 10 years. The total number of CT participants was 28 710 people (minimum – 48, maximum – 13 299, average – 1689). 14 CTs were interventional, 3 studies were observational prospective (2 case-control and 1 cohort). Allocation for 12 CTs was randomized. According to the type of intervention model, 12 CTs were assigned in parallel groups and 2 were assigned in single groups. No masking was used in 7 CTs, 2 CTs were double-blind, 1 CT was triple-blind and 4 CTs were quarter-blind. The main purpose of 14 CTs was treatment. Phase II of the study was indicated for 4 CTs, phase III – for 9 CTs. CTs were conducted in 58 countries, and the average number of medical facilities was 116. In Ukraine, 35 medical facilities were the bases for conducting CTs. The undisputed leader in terms of the number of CTs (10 out of 17 or 58.8%) is the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine». 4 CTs are held exclusively in Ukraine. CT was sponsored by 8 commercial and 2 state organizations. **Conclusions.** As of January 25, 2024, the website www.ClinicalTrials.gov published information about 17 CTs of ESD in Ukraine («Active, not recruiting» – 13 and «Recruiting» – 4). In recent years, a negative trend has been observed in conducting CTs in Ukraine. The stability of the system in most specialized institutions of Ukraine and the rapid restoration of the level of providing high-quality special care indicate good prospects for restoring the status quo.

Keywords: endocrine system diseases, clinical trials, Ukraine.

ESD is a class of diseases that occur when the function of the endocrine glands is impaired. Recent events have had a significant impact on the healthcare system in Ukraine, including the treatment of ESD and implementation of CTs.

CTs are of paramount importance for the promotion and development of new treatment methods [1]. The ultimate goal of such trials and studies is to provide the best quality patient care with the highest and most favourable outcome, while reducing cost and suffering for the recipient.

Актуальна інформація

The largest database of CTs and information about their results is the ClinicalTrials.gov web resource, developed under the auspices of the U.S. Department of Health and Human Services in conjunction with the National Institute of Health and Food and Drug Administration [2].

As of January 25, 2024, the official website www.ClinicalTrials.gov contained information on 478 855 CTs conducted in over 200 countries, of which 258 285 CTs (54% of the total) were outside the United States, 145 825 (30%) – in the United States, 23 217 (5%) combined in the United States and other countries, and for 51 528 (11%) studies, study location information was not provided by the sponsor [3].

The number of CTs (368 021 records or 77% of the total number of registered studies) significantly exceeded the number of clinical observations (109 030 or 23%) and included 188 656 records of studies of drugs or biological effects, 129 608 records of behavioral reactions, 38 202 records of surgical procedures, and 49 687 records – medical instruments and devices [3]. 924 records of registered CTs had expanded access.

For many years Ukraine has been one of the largest markets for international CTs [4]. Ukraine was a sought-after location for international CT with nearly 2500 public medical facilities and a competent healthcare system.

The COVID-19 pandemic has unconditionally affected clinical researches in most regions of the world [1]. The focus on developing a vaccine for SARS-CoV-2 and treating COVID-19 has actually derailed many ongoing CTs for other diseases around the world.

Also, the Russian-Ukrainian war undoubtedly influenced world science and healthcare in Ukraine [5]. CTs in Ukraine were seriously damaged by the Russian invasion [6].

The subject of this review is information on CTs of ESD in Ukraine according to the ClinicalTrials.gov website database.

Material and methods

A descriptive analysis of the CTs of ESD was carried out using the ClinicalTrials.gov website database using the keywords «Endocrine System Diseases» [7]. Further analysis was carried out in the «Active, not recruiting» groups (the trial is ongoing, participants are undergoing examination and/or treatment, potential participants are not

currently being recruited) and «Recruiting» (recruitment of trial participants are being continued) according to data: duration, number of participants, type, model and phase of the study, purpose and type of intervention, sampling method, masking, sponsors, countries and health care institutions, conducting CTs, etc. Statistical analysis was performed using standard methods. The results are presented as n , $M \pm m$ or Me (min-max).

Results

As of January 25, 2024, a search on the official website www.ClinicalTrials.gov found information about 2466 CTs in Ukraine, of which 210 (8.5% of the total) were found using the keywords «Endocrine System Diseases» (**Table 1**).

Table 1. CTs in Ukraine according to the database ClinicalTrials.gov

Status	All studies	ESD
Not yet recruiting	0	0
Recruiting	152	6
Enrolling by invitation	13	1
Active, not recruiting	272	19
Suspended	0	0
Terminated	288	24
Completed	1683	153
Withdrawn	8	2
Unknown status	50	5
Total	2466	210

Note: all data are given as of January 25, 2024.

6 CTs with the status «Active, not recruiting» and 2 CTs with the status «Recruiting» were excluded from the analysis, since their groups were formed by patients with neoplasms of the breast, ovaries, fallopian tube and peritoneum, as well as thrombocytopenia caused by chemotherapy.

In the future, the publications will consider 13 CTs with the status «Active, not recruiting» and 4 CTs with the status «Recruiting» as of January 25, 2024 (**Table 2**).

Analysis of CTs start dates (dates when the first participant was enrolled in CTs) showed that the

Table 2. Characteristics of the CTs «Endocrine system diseases» in Ukraine according to the database ClinicalTrials.gov

End the table 2

Status	Active, not recruiting	Recruiting
Total	13	4
Duration, month		
M±m	72.8±8.5	45.3±15.3
Me (min-max)	70 (24-130)	45 (10-81)
Intervention/treatment		
drugs	11	2
medical devices	0	1
procedures	0	0
dietary supplement	0	1
other products	2	0
Enrollment, participants		
M±m	2138.6±1195.4	227.0±145.4
Me (min-max)	200 (48-13299)	96 (56-660)
phase II	66 (48-80)	0
phase III	1882 (200-13299)	94 (56-132)
Study type		
interventional	11	3
observational	2	1
Allocation		
randomized	9	3
N/A	2	0
ND	2	1
Intervention model		
parallel assignment	9	3
single group assignment	2	0
ND	2	1
Masking		
none (open label)	6	1
double (participant, investigator)	2	0
triple (participant, investigator, outcomes assessor)	0	1
quadruple (participant, care provider, investigator, outcomes assessor)	3	1
ND	2	1
Primary purpose		
treatment	11	3
ND	2	1

Status	Active, not recruiting	Recruiting
Phase of study		
II	4	0
III	7	2
not applicable	0	1
ND	2	1
Sponsor		
commercial	13	2
non-commercial	0	2
Location in countries		
M±m	17.3±3.0	8.5±5.0
Me (min-max)	20 (1-34)	5.5 (1-22)
Location in facility		
M±m	141.1±46.1	33.0±20.1
Me (min-max)	81 (1-467)	22 (1-87)
Location in Ukrainian city		
Kyiv	6	5
Kharkiv	5	1
Dnipro	3	1
Lviv	2	1
Odesa	2	1
Poltava	2	0
Vinnytsia	2	0
Zaporizhzhya	2	0
Cherkasy	1	0
Chernivtsi	1	0
Donetsk	1	0
Ivano-Frankivsk	1	0
Uzhhorod	1	0
Zhytomyr	1	0

Note: ND – no data, N/A – not applicable. All data are given as of January 25, 2024.

overwhelming majority of CTs (10 out of 17) were registered in 2019 and 2020. The date of completion of the overwhelming majority of CTs (the date when the last CT participant was examined or underwent intervention (i.e., the last visit of the last participant)) (11 of 17) were 2024 and 2025. The average duration of these studies is already 5 years and 6 months (from 10 months to 10 years and 10 months).

Актуальна інформація

The total number of CT participants was 28 710 people (minimum – 48, maximum – 13 299, average – 1689).

The type of study in 14 cases was interventional (the researcher, according to the protocol, assigned subjects to diagnostic, therapeutic or other types of intervention with follow-up and evaluation of biomedical results and/or health consequences) and in 3 cases it was observational (participants are defined as belonging to study groups and assessed based on the results of biomedical and medical research; participants may receive diagnostic, therapeutic, and other types of prescriptions, but the researcher does not prescribe specific interventions and/or treatments to participants).

By type of intervention (process or action that is the focus of the CT), trials were divided into the following groups: «drugs» – 13 (76.4% of the total), «devices» – 1 (5.9%), «food supplements» – 1 (5.9%) and «others» – 2 (11.8%).

According to the sampling method, of the 14 intervention CTs, 12 were random (the sample includes random selection, allowing statistical conclusions to be made about the entire group), and 2 were – not applicable.

By type of intervention model, 12 CTs were parallel group assignments (participants in two or more groups receive a different intervention/treatment) and 2 were single-group assignments (all participants receive the same intervention/treatment).

In 7 clinical studies (50.0% of the number of interventional trials), masking was not used, that is, all study participants knew about the essence of the assigned intervention, 2 studies (14.2%) were double blind (the participant and the researcher did not know about the assignment of the intervention), 1 study (7.1%) was triple-blind (the participant, researcher, and outcome assessor were unaware of the intervention assignment) and 4 studies (28.7%) were quarter-blind (the participant, physician, researcher and outcome assessor were not aware of the intervention assignment).

The primary goal of interventional CTs was treatment (evaluation of one or more interventions to treat a disease, syndrome, or condition).

For interventional CTs, the following study phases were specified: phase II (a research stage to evaluate the effectiveness of the drug and short-term side effects in patients with a specific condition or disease) – for 4 studies (28.7%) and phase III (research phase for a more in-depth assessment

of the safety and effectiveness of a drug in different doses and combinations with other drugs in different groups with a large number of patients) – for 9 studies (64.2%); 1 study (7.1%) did not use phase definition.

According to the study design (model) (general scheme of the identification strategy and further work with participants during the study), the distribution among the 3 observational CTs was as follows: a case-control study (comparing a group of individuals with specific characteristics (for example, conditions or exposures compared with a group of individuals with different characteristics, but otherwise similar) – 2 CTs, cohort study (study of a group of individuals, initially identified and compiled, with common characteristics (for example, year of birth), which are considered or followed over a certain period of time) – 1 CT.

In terms of time perspective, all observational CTs were prospective (analysis of periodic observations obtained primarily after forming subject group).

The total number of countries in which CTs were conducted was 58 (median – 19, minimum – 1, maximum – 34, average – 15.2 ± 2.7). The largest number of CTs was recorded in the USA (13), Israel (11), India and Russia (10 each), Great Britain (9), Poland (8), Australia, Spain, Italy, Canada, South Korea, Turkey, France and Japan (7 each).

The average number of medical institutions in which CTs were carried out was 115.6 ± 44.2 (median – 58, minimum – 1, maximum – 467).

The sponsors of CTs (the organization or person initiating the study and having the authority to supervise it) were 8 commercial organization («Novo Nordisk A/S» – 6 CTs, «Ukraine Association of Biobank» and «OPKO Health, Inc.» – 2 CTs each, «Amgen», «Ascendis Pharma Endocrinology Division A/S», «AstraZeneca», «Eli Lilly and Company» and «Lumos Pharma» – 1 CT each) and 2 state (Bogomolets National Medical University and State Institution «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of National Academy of Medical Sciences of Ukraine» – 1 CT each).

The bases for conducting the CTs were 35 medical organizations and scientific institutions in Ukraine («Active, not recruiting»/«Recruiting»):

- Cherkasy (Communal Non-Profit Enterprise «Cherkasy Regional Hospital of Cherkasy Regional Council», 1/0);
- Chernivtsi (Communal Non-Commercial Enterprise «Chernivtsi Regional Endocrinology Center», 2/0);

- Dnipro (State Institution «Ukrainian State Scientific Research Institute of Medical and Social Problems of Disabilities of the Ministry of Health of Ukraine», 2/0; Communal Enterprise «I.I. Mechnykov Dnipropetrovsk Regional Clinical Hospital»; Communal Non-Profit Enterprise «Dnipropetrovsk Children's Municipal Clinical Hospital No. 5» of Dnipro City Council, 1/0; Communal Non-Profit Enterprise «City Clinical Hospital No. 9 of Dnipro City Council», 2/1);
 - Donetsk (Communal treatment and preventive institution «Regional Children's Clinical Hospital», 1/0);
 - Ivano-Frankivsk (Municipal Non-Profit Enterprise «Regional Clinical Hospital of Ivano-Frankivsk Regional Council», 3/0);
 - Kharkiv (State Institution «L.T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 2/0; Municipal Non-Profit Enterprise «City Clinical Hospital No. 8» of Kharkiv City Council, 1/0; Communal Non-Profit Institution «City Clinical Hospital No. 27» of Kharkiv City Council, 1/0; Communal Non-Profit Enterprise «Kharkiv Regional Children Clinical Hospital» of Kharkiv Regional Council, 2/1; Institute of Bio-Stem Cell Rehabilitation, 2/0);
 - Kyiv (State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 9/1; Ukrainian Scientific and Practical Center of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine, 3/0; Communal Non-Profit Enterprise «Kyiv City Clinical Endocrinology Center», 0/1; Bogomolets National Medical University, 0/1; State Scientific Institution «Center for Innovative Medical Technologies of the National Academy of Sciences of Ukraine», 1/1; National Children's Specialized Hospital «Ohmatdyt» of the Ministry of Health of Ukraine, 0/1; Kyiv Railway Clinical Hospital No. 2 of Branch «Health Center» of the Joint Stock Company «Ukrainian Railway», 1/0; Center for Medical Service and Rehabilitation «Artem» State Holding Company, 1/0; Medical Center «Ok!Clinic+», 1/0);
 - Lviv (Danylo Halytsky Lviv National Medical University, 0/1; Communal Non-Commercial Enterprise of Lviv Regional Council «Lviv Regional State Clinical Medical and Diagnostic Endocrinological Center», 2/0; Municipal Non-Profit Enterprise «Lviv City Clinical Hospital No. 4», 1/0);
 - Odesa (State Institution «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 0/1; Municipal Non-Profit Enterprise «Odesa Regional Clinical Hospital» of Odesa Regional Council, 2/0; Municipal Non-Profit Enterprise «Odesa Regional Clinical Children's Hospital» of Odesa Regional Council, 2/0);
 - Poltava (Communal Institution «M.V. Sklifosovskyi Poltava Oblast Clinical Hospital of Poltava Regional Council», 1/0; Communal Institution «1st City Clinical Hospital of Poltava City Council», 2/0);
 - Uzhhorod (Communal Non-Profit Enterprise «Andriy Novak Transcarpathian Regional Clinical Hospital» of Zakarpatska Regional Council, 1/0);
 - Vinnytsia (Vinnytsia National Pyrohov Memorial Medical University, 1/0; Communal Non-Profit Enterprise «Vinnytsia Regional Clinical Highly Specialized Endocrinology Center Vinnytsia Regional Council», 5/0);
 - Zaporizhzhya (Communal Non-Profit Institution «City Hospital No. 10» of Zaporizhzhya City Council, 1/0; Communal Non-Profit Institution «Zaporizhzhya Regional Clinical Child Hospital» of Zaporizhzhya Regional Council, 1/0);
 - Zhytomyr (Communal Non-Profit Enterprise «O.F. Gerbachevsky Regional Clinical Hospital» of the Zhytomyr Regional Council, 1/0).
- The undisputed leader in the number of CTs (10 out of 17 or 58.8%) is the State Institution «V.P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of National Academy of Medical Sciences of Ukraine» – a scientific, advisory and medical institution that provides assistance to adults and children with endocrine pathology [8]. The Institute is also Ukraine's leading research base for training graduate students, clinical residents, defending doctoral and candidate's theses in the specialty «endocrinology», training specialists in internship and information courses.
- 4 CTs are conducted exclusively in Ukraine, 2 of them – on the basis of LLC «Institute of Bio-Stem Cell Rehabilitation» in Kharkov with the support of the Ukrainian Association of Biobanks, 1 – based on Bogomolets National Medical University,

Актуальна інформація

Communal Non-Profit Enterprise «Kyiv City Clinical Endocrinology Center, State Scientific Institution «Center of Innovative Medical Technologies of the National Academy of Sciences of Ukraine» and Danylo Halytsky Lviv National Medical University and 1 – based on the State Institution «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of

Medical Sciences of Ukraine» and State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine». Scientific institutions from the United States of America are participating in 13 CTs.

More detailed information about CTs is presented in **Table 3** and **Table 4**.

Table 3. Characteristics of the clinical trials «Endocrine system diseases» with status «Active, not recruiting» in Ukraine according to the database ClinicalTrials.gov

NN	Characteristics
1	1. Safety and Dose Finding Study of Different MOD-4023 Dose Levels Compared to Daily R-human Growth Hormone (hGH) Therapy in Pre-pubertal Growth Hormone Deficient Children 2. NCT02500316 (CP-4-004-extension, EudraCT: 2011-004553-60) // 02.2013-12.2023 // 11.2023 3. OPKO Health, Inc. // 6 countries // Communal Treatment and Preventive Institution «Donetsk Regional Children Clinical Hospital» / State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» / Ukrainian Scientific and Practical Center of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine / Municipal Non-Profit Enterprise «Odesa Regional Clinical Children's Hospital» of Odesa Regional Council 4. Interventional, N/A, single group assignment, none (open label), treatment, phase 2 // Growth hormone deficiency // Drug: Once weekly injection of long acting R-human Growth Hormone (MOD-4023) (48 participants)
2	1. A Randomised, Multinational, Active-controlled, (Open-labelled), Dose Finding, (Double-blinded), Parallel Group Trial Investigating Efficacy and Safety of Once-weekly NNC0195-0092 Treatment Compared to Daily Growth Hormone Treatment (Norditropin® FlexPro®) in Growth Hormone Treatment naïve Pre-pubertal Children With Growth Hormone Deficiency 2. NCT02616562 (NN8640-4172, EudraCT: 2015-000531-32, WHO: U1111-1166-7062) // 03.2016-09.2024 // 12.2023 3. Novo Nordisk A/S // 13 countries // Municipal Non-Profit Enterprise «Regional Clinical Hospital of Ivano-Frankivsk Regional Council», State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» 4. Interventional, randomized, parallel assignment, quadruple (participant, care provider, investigator, outcomes assessor), treatment, phase 2 // Growth hormone disorder, growth hormone deficiency in children // Administered somapacitan (NNC0195-0092) subcutaneously once-weekly or administered Norditropin® subcutaneously once daily (74 participants)
3	1. A Phase 3, Open-label, Randomized, Multicenter, 12 Months, Efficacy and Safety Study of Weekly MOD-4023 Compared to Daily Genotropin - Therapy in Pre-pubertal Children With Growth Hormone Deficiency 2. NCT02968004 (CP-4-006) // 12.2016-12.2023 // 01.2023 3. OPKO Health, Inc. // 20 countries // Ukrainian Scientific and Practical Center of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine / State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» / Municipal Non-Profit Enterprise «Odesa Regional Clinical Children's Hospital» of Odesa Regional Council / Communal Non-Commercial Enterprise «Vinnytsia Regional Clinical Highly Specialized Endocrinology Center Vinnitsa Regional Council» / Communal Non-Profit Institution «Zaporizhzhya Regional Clinical Child Hospital» of Zaporizhzhya Regional Council 4. Interventional, randomized, parallel assignment, none (open label), treatment, phase 3 // Pediatric growth hormone deficiency // Drug: Once weekly subcutaneous injection of MOD-4023 (Somatogon) using pre-filled pen device or once daily subcutaneous injection of Somatropin (Genotropin) using pre-filled pen device (224 participants)
4	1. A 26 Week, Multicenter, Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Parallel Group, Phase 3 Trial With a 26 Week Safety Extension Period Evaluating the Safety and Efficacy of Dapagliflozin 5 and 10 mg, and Saxagliptin 2.5 and 5 mg in Pediatric Patients With Type 2 Diabetes Mellitus Who Are Between 10 and Below 18 Years of Age 2. NCT03199053 (D1680C00019, EudraCT: 2015-005042-66) // 10.2017-01.2024 // 11.2023 3. AstraZeneca // 23 countries // Research Site: Communal Non-Profit Enterprise «Dnipro City Clinical Hospital No. 9 of Dnipro City Council», Ukrainian Scientific and Practical Center of Endocrine Surgery, Transplantation of Endocrine Organs and Tissues of the Ministry of Health of Ukraine, Communal Non-Commercial Enterprise «Vinnytsia Regional Clinical Highly Specialized Endocrinology Center Vinnitsa Regional Council» 4. Interventional, randomized, parallel assignment, double (participant, investigator), treatment, phase 3 // Diabetes mellitus, type 2 // Drug: dapagliflozin or saxagliptin administered once daily (256 par

Continuation of Table 3

NN	Characteristics
5	1. A Trial Comparing the Effect and Safety of Once Weekly Dosing of Somapacitan With Daily Norditropin® in Children With Growth Hormone Deficiency 2. NCT03811535 (NN8640-4263, WHO: U1111-1207-9691, EudraCT: 2018-000231-27, JAPIC: JapicCTI-194773) // 05.2019-09.2025 // 12.2023 3. Novo Nordisk A/S // 23 countries // Communal Non-Profit Enterprise «Kharkiv Regional Children Clinical Hospital» of Kharkiv Regional Council, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Vinnytsia National Pyrohov Memorial Medical University, Communal Non-Commercial Enterprise «Vinnitsa Regional Clinical Highly Specialized Endocrinology Center Vinnitsa Regional Council» 4. Interventional, randomized, parallel assignment, none (open label), treatment, phase 3 // Growth hormone deficiency in children // Drug: receive either somapacitan once weekly or Norditropin® once daily for 52 weeks and next receive somapacitan weekly for 3 years (200 participants)
6	1. Effect of Semaglutide Versus Placebo on the Progression of Renal Impairment in Subjects With Type 2 Diabetes and Chronic Kidney Disease 2. NCT03819153 (NN9535-4321, WHO: U1111-1217-6259, EudraCT: 2018-002878-50, JAPIC: JapicCTI-194843) // 06.2019-08.2024 // 01.2024 3. Novo Nordisk A/S // 28 countries // State Institution «Ukrainian State Scientific Research Institute of Medical and Social Problems of Disabilities of the Ministry of Health of Ukraine», Municipal Non-Profit Enterprise «Regional Clinical Hospital of Ivano-Frankivsk Regional Council», State Institution «L.T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Communal Non-Profit Institution «City Clinical Hospital No. 27» of Kharkiv City Council, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Communal Institution «1st City Clinical Hospital of Poltava City Council», Communal Non-Profit Institution «City Hospital No. 10» of Zaporizhzhya City Council 4. Interventional, randomized, parallel assignment, quadruple (participant, care provider, investigator, outcomes assessor), treatment, phase 3 // Type 2 diabetes // Drug: use a pen to inject semaglutide 1 time a week under their skin (3508 participants)
7	1. A Dose-finding Trial Evaluating the Effect and Safety of Once-weekly Treatment of Somapacitan Compared to Daily Norditropin® in Children With Short Stature Born Small for Gestational Age With no Catch-up Growth by 2 Years of Age or Older 2. NCT03878446 (NN8640-4245, WHO: U1111-1207-9741, EudraCT: 2018-000232-10) // 07.2019-05.2025 // 01.2024 3. Novo Nordisk A/S // 19 countries // Communal Non-Profit Enterprise «Kharkiv Regional Children Clinical Hospital» of Kharkiv Regional Council, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» 4. Interventional, randomized, parallel assignment, none (open label), treatment, phase 2 // Short stature children born small for gestational age (SGA) // Drug: Somapacitan injected under the skin once a week or Norditropin® injected under the skin once a day for a total of 52 weeks (62 participants)
8	1. Semaglutide Cardiovascular Outcomes Trial in Patients With Type 2 Diabetes 2. NCT03914326 (EX9924-4473, EudraCT: 2018-003141-42, WHO: U1111-1218-5368) // 06.2019-07.2024 // 12.2023 3. Novo Nordisk A/S // 34 countries // Communal Non-Profit Enterprise «Cherkasy Regional Hospital of Cherkasy Regional Council», Communal Non-Commercial Enterprise «Chernivtsi Regional Endocrinology Center», Communal Enterprise «I.I. Mechnykov Dnipropetrovsk Regional Clinical Hospital», Kyiv Railway Clinical Hospital No. 2 of Branch «Health Center» of the Joint Stock Company «Ukrainian Railway», State Research Institution «Center of Innovative Medical Technologies of the National Academy of Sciences of Ukraine», Communal Non-Commercial Enterprise of Lviv Regional Council «Lviv Regional State Clinical Medical and Diagnostic Endocrinological Center», Municipal Non-Profit Enterprise «Odesa Regional Clinical Hospital» of Odesa Regional Council, Communal Institution «1st City Clinical Hospital of Poltava City Council», Communal Non-Profit Enterprise «Andrii Novak Transcarpathian Regional Clinical Hospital» of Transcarpathian Regional Council, Communal Non-Profit Enterprise «O.F. Gerbachevsky Regional Clinical Hospital» of the Zhytomyr Regional Council 4. Interventional, randomized, parallel assignment, quadruple (participant, care provider, investigator, outcomes assessor), treatment, phase 3 // Type 2 diabetes // Drug: one tablet daily for 3.5 to 5 years (9642 participants)
9	1. The Effect of Tirzepatide Versus Dulaglutide on Major Adverse Cardiovascular Events in Patients With Type 2 Diabetes (SURPASS-CVOT) 2. NCT04255433 (17073; Eli Lilly and Company: I8F-MC-GPGN; EudraCT: 2019-002735-28) // 05.2020-10.2024 // 10.2023 3. Eli Lilly and Company // 30 countries // Communal Non-Commercial Enterprise «Chernivtsi Regional Endocrinology Center»; Communal Non-Profit Enterprise «Dnipro City Clinical Hospital No. 9 of Dnipro City Council»; State Institution «L.T. Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; Municipal Non-Profit Enterprise «City Clinical Hospital No. 8» of Kharkiv City Council; Center for Medical Services and Rehabilitation «Artem»; State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»; Communal Non-Commercial Enterprise of Lviv Regional Council «Lviv Regional State Clinical Medical and Diagnostic Endocrinological Center»; Municipal Non-Profit Enterprise «Lviv City Clinical Hospital No. 4»; Municipal Non-Profit Enterprise «Odesa Regional Clinical Hospital» of Odesa Regional Council; Communal Institution «M.V. Sklifosovskiy Poltava Oblast Clinical Hospital of Poltava Regional Council»; Communal Non-Profit Enterprise «Vinnitsa Regional Clinical Highly Specialized Endocrinology Center Vinnitsa Regional Council»; State Institution «Ukrainian State Scientific Research Institute of Medical and Social Problems of Disabilities of the Ministry of Health of Ukraine»; Medical Center «Ok!Clinic+» 4. Interventional, randomized, parallel assignment, double (participant, investigator), treatment, phase 3 // Type 2 diabetes mellitus // Drug: Weekly subcutaneous injections of tirzepatide or dulaglutide (13 299 participants)

Актуальна інформація

End the table 3

NN	Characteristics
10	1. A Multicenter, 24-Month, Randomized, Open-Label, Active Control, Parallel Arm, Phase 2 Study of Daily Oral LUM-201 in Naïve-to-Treatment, Prepubertal Children With Idiopathic Growth Hormone Deficiency (GHD) 2. NCT04614337 (LUM-201-01) // 12.2020-04.2025 // 11.2023 3. Lumos Pharma // 6 countries // State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» 4. Interventional, randomized, parallel assignment, none (open label), treatment, phase 2 // Growth hormone deficiency // Drug: receive one of three oral daily doses of LUM-201 or daily injections of recombinant human growth hormone Norditropin® pen up to 24 months (80 participants)
11	1. Longterm Follow-up of Subjects With Diabetes 2 Type Treatment With ex Vivo Gene Therapy Using Autologous Mesenchymal Stem Cell 2. NCT04642911 (UAB00171120-1) // 10.2020-10.2030 // 10.2021 3. Ukraine Association of Biobank // 1 country // Institute of Bio-Stem Cell Rehabilitation 4. Observational, case-only, prospective // Diabete type 2 // Other: ex vivo gene therapy using autologous mesenchymal stem cell (91 participants)
12	1. Long Term Follow up Patients With Premature Ovarian Failure exVivo Gene Therapy Using Autologous Mesenchymal Stem Cell and Mesenchymal Stem Cell Lyophilisate 2. NCT04675970 (UAB1220-2) // 09.2020-09.2022 // 05.2022 3. Ukraine Association of Biobank // 1 country // Institute of Bio-Stem Cell Rehabilitation 4. Observational, case-only, prospective // Primary ovarian insufficiency, premature ovarian failure // Other: ex vivo gene therapy using autologous mesenchymal stem cell and mesenchymal stem cell lyophilisate (86 participants)
13	1. A Multicenter, Open-Label, Extension Trial to Investigate Long Term Efficacy and Safety of Lonapegsomatropin in Adults With Growth Hormone Deficiency 2. NCT05171855 (TCH-306EXT) // 12.2021-01.2025 // 01.2024 3. Ascendis Pharma Endocrinology Division A/S // 21 countries // Municipal Non-Profit Enterprise «Regional Clinical Hospital of Ivano-Frankivsk Regional Council», State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Communal Non-Profit Enterprise «Vinnitsa Regional Clinical Highly Specialized Endocrinology Center Vinnitsa Regional Council» 4. Interventional, N/A, single group assignment, none (open label), treatment, phase 3 // Adult growth hormone deficiency, endocrine system diseases, hormone deficiency // Drug: subcutaneous injection of Lonapegsomatropin once-weekly for 52 weeks (232 participants)

Note: 1 – Study official title; 2 – ClinicalTrials.gov Identifier (other study ID numbers) // actual study start date & estimated study completion date // last verified; 3 – Responsible Party // the number of countries where the research is carried out //research implementers in Ukraine (study status); 4 – Study type, allocation, intervention model, masking, primary purpose, phase // condition or disease // intervention/treatment (estimated enrollment). All data are given as of January 25, 2024.

Table 4. Characteristics of the clinical trials «Endocrine system diseases» with status «Recruiting» in Ukraine according to the database ClinicalTrials.gov

NN	Characteristics
1	1. Phase 3, Randomized, Open-label, Controlled, Multiple Dose, Efficacy, Safety, Pharmacokinetic, and Pharmacodynamic Study of Etelcalcetide in Pediatric Subjects 28 Days to < 18 Years of Age With Secondary Hyperparathyroidism and Chronic Kidney Disease Receiving Maintenance Hemodialysis 2. NCT03633708 (20140315, EudraCT: 2017-002411-34) // 04.2019-01.2026 // 12.2023 3. Amgen // 10 countries // National Children's Spezialized Hospital «Ohmatdyt» of the Ministry of Health of Ukraine 4. Interventional, randomized, parallel assignment, none (open label), treatment, phase 3 // Secondary hyperparathyroidism, chronic kidney disease // Receive etelcalcetide in addition to standard of care (56 participants)
2	1. Efficacy and Safety of Oral Semaglutide Versus Placebo Both in Combination With Metformin and/or Basal Insulin in Children and Adolescents With Type 2 Diabetes 2. NCT04596631 (NN9924-4437, WHO: U1111-1218-1527, EudraCT: 2018-002952-34) // 11.2020-08.2025 // 01.2024 3. Novo Nordisk A/S // 22 countries // Communal Non-Profit Enterprise «Dnipro City Clinical Hospital No. 9 of Dnipro City Council», Communal Non-Profit Enterprise «Kharkiv Regional Children Clinical Hospital» of Kharkiv Regional Council 4. Interventional, randomized, parallel assignment, quadruple (participant, care provider, investigator, outcomes assessor), treatment, phase 3 // Diabetes mellitus, type 2 // Drug: oral semaglutide treatment for 52 weeks (132 participants)

End the table 4

NN	Characteristics
3	1. Effect of Probiotic Lysate (Postbiotic and Metabiotic) Supplementation on Metabolic Parameters in Type 2 Diabetes Patients 2. NCT05770076 (DELI_Diab) // 02.2023-12.2023 // 03.2023 3. Nazarii Kobylak, Bogomolets National Medical University // 1 country // Bogomolets National Medical University / Communal Non-Profit Enterprise «Kyiv City Clinical Endocrinology Center» / State Scientific Institution «Center of Innovative Medical Technologies of the National Academy of Sciences of Ukraine» / Danylo Halytsky Lviv National Medical University 4. Interventional, randomized, parallel assignment, triple (participant, investigator, outcomes assessor), treatment, phase not applicable // Obesity; obesity, abdominal; insulin resistance; insulin sensitivity; type 2 diabetes; type 2 Diabetes mellitus in obese // Dietary Supplement: Probiotic lysate (postbiotic and metabiotic) daily for 3 month treatment (60 participants)
4	1. USING ARTIFICIAL INTELLIGENCE FOR MASS SCREENING OF THE DIABETIC RETINOPATHY 2. NCT06112691 (24.01.2022) // 02.2022-11.2024 // 06.2023 3. Andrii Korol, MD, PhD, MD, PhD, DMedSc, The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy // 1 country // State Institution «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» / State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» 4. Observation, Cohort, Prospective // Diabetic retinopathy // Device: using artificial intelligence to identify diabetic retinopathy in the early stages using fundus photography (660 participants)

Note: 1 – Study official title; 2 – ClinicalTrials.gov Identifier (other study ID numbers) // actual study start date & estimated study completion date // last verified; 3 – Responsible Party // the number of countries where the research is carried out // research implementers in Ukraine (study status); 4 – Study type, allocation, intervention model, masking, primary purpose, phase // condition or disease // intervention/treatment (estimated enrollment). All data are given as of January 25, 2024.

Discussion

As already mentioned above, Ukraine has been one of the largest markets for international CTs for many years, with almost 2500 public medical institutions and a competent healthcare system [4]. Several other factors contributed to Ukraine's success as a CT center:

- A large pool of potential study subjects (large treatment-naïve population);
- An experienced group of GCP-trained clinicians;
- High quality of obtained data;
- lower costs compared to other European countries.

Almost all Big-Pharma companies conduct trials in certain Ukrainian trial centers and patients receive treatment within these CTs [4].

COVID-19 pandemic has a potentially negative impact on the management of clinical trials, which may compromise the scientific integrity of data and may raise concerns for patient safety [1, 9-11]. To date, many institutions and organisations have already put their CTs on hold. There are several critical challenges in the current pandemic which include: (a) limited accessibility of clinics mainly for essential or critical visits, (b) there is difficulty in recruiting homebound patients, or others are also reluctant to visit clinics, (c) currently trial op-

erations may expose the staff or patients to the risk of acquiring the infection, (d) continuation of the trial may lead to a high drop-out rate, (e) inability to meet logistical trial obligations by sponsors as well as contractors (i.e., delivery of investigational products, PPE or site monitoring), and (f) deviation from the study timelines may affect data integrity due to delayed assessment and monitoring.

As circumstances change and the COVID-19 restrictions have largely been lifted, researchers and research institutions have actively responded to the challenges posed by the pandemic embraced some guidelines and adapted methods to ensure the continuity of CTs. Notably, the US Food and Drug Administration issued the Conduct of Clinical Trials of Medical Products during COVID-19 Public Health Emergency guidance, which provided valuable insights into this matter [12]. Over time, there was hope that CT activities may soon recover to at least pre-COVID-19 levels [9]. However, the beginning of the Russian-Ukrainian war on February 24, 2022, crossed out these hopes for domestic researchers.

Already on June 1, 2022, the State Enterprise «State Expert Center of the Ministry of Health of Ukraine» recommended to the sponsors of the CTs/

Актуальна інформація

representatives of sponsors, researchers, heads of enterprises, institutions and organizations involved in conducting the CTs [13]:

- assess the expediency of starting new CTs or including them in current CTs;
- in case of prevention of the continuation of the CTs at the approved test site, carry out the procedure for removing subjects from the CTs or, if possible, transferring such subjects to other test sites approved in Ukraine or another country, in accordance with the legislation of that country, if one is involved in this CT;
- in case of restrictions on the movement of patients, consider the possibility of: a) replacing physical visits by patients to the test site with telephone contacts or through video visits (use of telemedicine methods), postponing or canceling visits if necessary; b) if it is impossible to obtain updated written informed consent (hereinafter referred to as IC) of the CT participant due to restrictions on movement, the study participant can give verbal consent (using tele/video communication); c) take all possible measures to ensure the uninterrupted provision of medical treatment for patients at the trial sites; d) consider the possibility of using laboratories of healthcare institutions to examine research subjects if contracts have been concluded with the sponsor and the laboratories have the appropriate technical capabilities;
- report all cases of violation порушення of the terms of the CT protocol relating to patient safety and other aspects of CTs in accordance with the provisions of the Procedure for conducting CTs of medicinal products and examination of CT materials, approved by Order of the Ministry of Health of Ukraine dated September 23, 2009 No. 690 and, if necessary, submit an application for significant amendment.

In order to ensure the safety of research participants and the integrity of data obtained in CTs in Ukraine, in times of martial law, the sponsor can use the experience gained during the COVID-19 pandemic and introduce an approach and flexibility in accordance with the situation, in particular the possibility of using remote verification of primary data from using special technologies, when data from individual registration forms of study subjects are remotely verified with the corresponding primary medical documents [13].

Regarding other aspects of conducting clinical researches under martial law conditions, the State Enterprise «State Expert Center of the Ministry of Health» advises sponsors to use the additional recommendations of the European Medicines Agency regarding methodological aspects of data collection of CTs affected by the war in Ukraine [13, 14].

Most importantly, safety of study participants is the absolute priority and must be at the heart of every decision taken, regardless of any potential consequences for an ongoing trial (even if this may require disclosure of information at the individual patient level) and supported to continue the trial as long as there is no safety risk involved. Second, when possible and in the best interest of their continued treatment, patients should be encouraged to continue treatment (even if this may require disclosure of information at the individual patient level) and supported to continue the trial as long as there is no safety risk involved. Consequently, sponsors should give priority to the interests of patients already participating in the trial when considering the future conduct and continued appropriateness of the trial from an ethical, medical and methodological point of view [14]. Significant changes in trial design and conduct must be properly documented, comply with local regulations, and be approved by Ethics Committees and the appropriate competent authority as significant amendments under the Clinical Trials Directive.

Some authors suggest that [15]:

- stopping the recruitment of new patients in CTs under such extreme conditions is acceptable;
- research participants already receiving trial medication in such disruptive situations should be considered highly vulnerable due to their medical dependency on current treatment according to the approved CT protocol;
- based on the current experience in Ukraine and other countries, we conclude that completion of ongoing trial treatments in accordance with approved or modified protocols should be considered an ethical obligation of CT sponsors, regardless of whether trial failure is caused by war, economic sanctions, or natural disasters;
- it is important to pay more attention to the ethical challenges raised by such fundamentally disruptive situations for CTs generally in any region of the world.

CTs can be adapted for refugees [16]. Recommendations for facilitating Ukrainian refugees to continue CTs are proposed. This commentary outlines policy recommendations regarding participants' re-enrollment, the handover of participants and data to new principal investigators, and the consent process as well as the sponsor's obligations related to translation, data transfer, and support for Ukrainian investigators [17]. The safety of study participants should be the main priority and guide every decision, regardless of any potential consequences for an ongoing trial.

This case study investigates the strategy and best practices for ensuring business stability through contingency, resilience, and recovery actions analysis, and the SWOT analysis of the study findings [18]. In particular, the organisational continuity framework features financial policy, human resources management, organisational behaviour practices, internal communication, and diversification. The main areas that ensured the sustainability in the face of recurring crises were diversification, the use of tools for financial stability, clear management of human capital and operation design.

It should be noted that the system is stable in most specialized institutions in Ukraine, as well as quickly restore the level of provision of high-quality special assistance in the center and areas close to the combat zone [19].

At the same time, an assessment of the impact of the war in Ukraine on 10 key risk indicators commonly used as an important component of central monitoring in drug development, covering several study risk categories (compliance, timeliness of data reporting, registration and storage, and safety), showed that the overall the significant results rate for Ukraine increased from 1.2% in 2021 to 3.9% in 2022 and 5.7% in 2023, while the rate across all countries remained stable at around 2.8% over the same period of time [20].

The top five key risk indicators with the highest rate of significant p-values in Ukraine since 2022 (Ukraine vs. all countries): visit to electronic case report form entry cycle time (9.6% vs. 3.4%), query response cycle time (8.1% vs. 3.9%), missed assessment rate (7.6% vs. 2.8%), off-schedule visit rate (5.5% vs. 3.1%) and protocol deviation rate (4.2% vs. 2.5%) [20]. According to the authors, this is clear evidence of the significant disruption of CTs in Ukraine during the current crisis.

Results of this study suggest that war-related changes in trial conduct in Ukraine may not be completely visible in the largest public trial registry, which is expected to present accurate and timely information on CTs [6]. These conclusions raise questions about the updating practices for registration information, which should be mandatory, especially in times of crises, to ensure the safety and the rights of trial participants in a war zone.

Our study shows that there has been a significant number of publications on the Russia-Ukraine war and only a small portion of first authors, co-authors, and last authors of these publications are affiliated to an institution in Ukraine [5]. Therefore, despite the relatively high number of publications, most publications do not arise from the perspective of Ukrainian authors.

5 CTs have published results, although it has previously been shown that 25-50% of CTs have not published their results, and the average time to publication is approximately 2 years [21].

Conclusions

1. As of January 25, 2024, the website www.ClinicalTrials.gov posted information about 17 CTs of ESD in Ukraine («Active, not recruiting» – 13 and «Recruiting» – 4).
2. In recent years, there has been a negative trend in conducting CTs in Ukraine.
3. The stability of the system in most specialized institutions in Ukraine and the rapid restoration of the level of providing high-quality special assistance indicate good prospects for restoring the status quo.

References

1. Sathian B, Asim M, Banerjee I, Pizarro AB, Roy B, van Teijlingen ER, et al. Impact of COVID-19 on clinical trials and clinical research: A systematic review. *Nepal J Epidemiol.* 2020 Sep 30;10(3):878-87. doi: 10.3126/nje.v10i3.31622.
2. ClinicalTrials.gov: About ClinicalTrials.gov [cited 2024 Jan 25]. Available from: <https://www.classic.clinicaltrials.gov/about-site/about-ctg>.
3. ClinicalTrials.gov: Trends, charts, and maps [cited 2024 Jan 25]. Available from: <http://www.classic.clinicaltrials.gov/ct2/resources/trends>.
4. Denisova N, Frau S, Streharski J. International Clinical Trials: how the war in Ukraine affects the Clinical Trial market and patients and what kind of amendments to legislation might be needed in the future [cited 2024 Jan 20]. Available from: <https://m-phar.com/international-clinical-trials-how-the-war-in-Ukraine-affects-the-clinical-trial-market-and-patients-and-what-kind-of-amendments-to-legislation-might-be-needed-in-the-future/>

Актуальна інформація

5. Alagbo HO, Mitra S, Madueke K, Azuwiki UB, Dos Santos Rocha Ferreira S, Ademuyiwa AT, et al. Trend and disparities in authorship of healthcare-related publications on the ongoing Russia-Ukraine war. *Int J Equity Health*. 2023 Dec 12;22(1):258. doi: 10.1186/s12939-023-02070-7.
6. Gujinovic D, Vidak T, Melnikova M, de Sousa NJF, Marušić A. Changes in registration parameters for ongoing clinical trials in Ukraine after 2022 Russian invasion. *JAMA Netw Open*. 2023 Jun 1;6(6):e2320202. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2023.20202.
7. ClinicalTrials.gov [cited 2024 Jan 25]. Available from: <http://www.classic.clinicaltrials.gov>.
8. Tronko MD, Kovzun OI, Sologub NV, Honchar IV, Pasteur IP. The results of the work at the State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine» for 2022. *Endokrynologia*. 2023;28(2):194-202. doi: 10.31793/1680-1466.2023.28-2.194. Ukrainian.
9. Margas W, Wojciechowski P, Toumi M. Impact of the COVID-19 pandemic on the conduct of clinical trials: a quantitative analysis. *J Mark Access Health Policy*. 2022 Aug 9;10(1):2106627. doi: 10.1080/20016689.2022.2106627.
10. McDonald K, Seltzer E, Lu M, Gaisenband SD, Fletcher C, McLeroth P, et al. Quantifying the impact of the COVID-19 pandemic on clinical trial screening rates over time in 37 countries. *Trials*. 2023 Apr 4;24(1):254. doi: 10.1186/s13063-023-07277-1.
11. Shang W, Wei L, Liu Y, Pu H, Li X, Niu J, et al. Impact of the COVID-19 pandemic on the conduct of non-COVID-19 clinical trials: protocol for a scoping review. *BMJ Open*. 2023 Oct 10;13(10):e074128. doi: 10.1136/bmjopen-2023-074128.
12. US Food & Drug Administration: FDA guidance on conduct of clinical trials of medical products during COVID-19 pandemic: Guidance for industry, investigators, and institutional review boards [cited 2020 Dec 29]. Available from: <https://www.fda.gov/media/136238/download>.
13. The Ministry of Health of Ukraine State Expert Centre. To the attention of sponsors of clinical trials/representatives of sponsors, researchers, managers of enterprises, institutions and organisations involved in conducting clinical trials! [cited 2024 Jan 20]. Available from: <https://www.dec.gov.ua/announcement/do-uvagy-sponsoriv-kliničnih-vyprobuvan-predstavnykiv-sponsoriv-doslidnykiv-kerivnykiv-pidpryemstv-ustanov-ta-organizacij-zadiyanyh-u-provedenni-kliničnih-vyprobuvan/>.
14. European Medicines Agency. Impact of the war in Ukraine on methodological aspects of ongoing clinical trials – Scientific guideline [cited 2024 Jan 20]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/points-consider-impact-war-Ukraine-methodological-aspects-ongoing-clinical-trials_en.pdf.
15. Kerpel-Fronius S, Kurihara C, Crawley FP, Baroutsou V, Becker S, Franke-Bray B, et al. The ethical responsibility to continue investigational treatments of research participants in situation of armed conflicts, economic sanctions or natural catastrophes. *Front Med (Lausanne)*. 2022 Aug 9;9:950409. doi: 10.3389/fmed.2022.950409.
16. Hazra A, Bondarenko I. Clinical trials can adapt for refugees. *Science*. 2023 May 12;380(6645):592. doi: 10.1126/science.adh1190.
17. Boswick A, Mustra D, Harasymiv O, Dubov A. Facilitating Ukrainian refugees' continued participation in clinical trials. *Hastings Cent Rep*. 2022 May;52(3):6-8. doi: 10.1002/hast.1390.
18. Yashchenko M, Lebid Y, Zarembo A, Bolman S, Hoi I, Bystrov R. Continuity of operations over repeated crises. Case study of the biggest Ukrainian CRO. *Contemp Clin Trials Commun*. 2022 Dec 1;31:101047. doi: 10.1016/j.conctc.2022.101047.
19. Selmani E, Hoxha I, Tril O, Khan O, Hrynkiv A, Nogueira L, et al. Fighting cancer in Ukraine at times of war. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2024 Feb;38(1):77-85. doi: 10.1016/j.hoc.2023.06.001.
20. Applied Clinical Trials. Ukraine war's impact on clinical research: evidence from key risk indicators [cited 2024 Jan 20]. Available from: <https://www.appliedclinicaltrialsonline.com/view/Ukraine-war-s-impact-on-clinical-research-evidence-from-key-risk-indicators>.
21. Ross JS, Mocanu M, Lampropoulos JF, Tse T, Krumholz HM. Time to publication among completed clinical trials. *JAMA Intern Med*. 2013 May 13; 173(9):825-8.

Abbreviation:

ESD – endocrine system diseases

CT – clinical trials

Клінічні випробування при захворюваннях ендокринної системи в Україні згідно бази даних сайту ClinicalTrials.gov

І.П. Пастер

Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

Резюме. Захворювання ендокринної системи (ЗЕС) посідають одне з провідних місць у структурі загальної захворюваності населення. Події останнього часу суттєво вплинули на систему охорони здоров'я в Україні, включаючи лікування ЗЕС і проведення клінічних випробувань (КВ). **Мета.** Аналіз інформації про КВ ЗЕС в Україні. **Матеріал і методи.** Дескриптивний аналіз проведено по базі даних сайту ClinicalTrials.gov за ключовими словами «Endocrine System Diseases» в групах «Active, not recruiting» і «Recruiting». **Результати.** Представлена інформація про 17 КВ ЗЕС в Україні станом на 25 січня 2024 р., 13 з яких мали поточний статус «активний, без набору» і 4 – «набір». Середня тривалість КВ становить 5 років і 6 місяців, а 2 з них виконуються ≥ 10 років. Загальна кількість учасників КВ становила 28 710 осіб (мінімальна – 48, максимальна – 13 299, середня – 1689). 14 КВ були інтервенційними, 3 КВ – обсерваційними проспективними (2 – «випадок-контроль» і 1 – когортне). Розподіл для 12 КВ був рандомізованим. За типом інтервенційної моделі 12 КВ були призначеннями в паралельних групах і 2 – призначеннями в одинарних групах. У 7 КВ маскування не застосовувалося, 2 КВ були подвійними сліпими, 1 КВ – потрійним сліпим і 4 КВ – четвертним сліпим. Основною метою 14 КВ було лікування. Для 4 КВ була вказана II фаза дослідження, для 9 КВ – III фаза. КВ проводилися в 58 країнах, а середня кількість медичних закладів становила 116. В Україні базами проведення КВ були 35 медичних закладів. Беззаперечним лідером за кількістю КВ (10 із 17 або 58,8%) є Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України». 4 КВ проводяться виключно в Україні. Спонсорами КВ були 8 комерційних і 2 державні організації. **Висновки.** Станом на 25 січня 2024 р. на сайті www.ClinicalTrials.gov була розміщена інформація про 17 КВ ЗЕС в Україні («активні, без набору» – 13 і «набір» – 4). Протягом останніх років спостерігається негативна тенденція в проведенні КВ в Україні. Стійкість системи в більшості спеціалізованих закладів України та швидке відновлення рівня надання якісної спеціальної допомоги свідчать про хороші перспективи на відновлення status quo.

Ключові слова: захворювання ендокринної системи, клінічні випробування, Україна.

Для цитування: Пастер ІП. Клінічні випробування при захворюваннях ендокринної системи в Україні згідно бази даних сайту ClinicalTrials.gov. *Ендокринологія*. 2024;29(2):183-195. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.183.

Адреса для листування: Пастер Ігор Петрович, pasteur@ukr.net, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, Київ 04114, Україна.

Відомості про автора: Пастер Ігор Петрович, канд. мед. наук, старш. наук. співроб., головний науковий співробітник відділу фундаментальних і прикладних проблем ендокринології, ORCID: 0000-0002-8199-833X.

Особистий внесок: Пастер І.П. – повна підготовка статті.

Фінансування: стаття підготовлена за власні кошти автора.

Декларація з етики: автор задекларував відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Стаття: надійшла до редакції 07.03.2024 р.; перероблена 21.05.2024 р.; прийнята до друку 24.06.2024 р.; надрукована 30.06.2024 р.

For citation: Pasteur IP. Clinical trials in endocrine system diseases in Ukraine according to the ClinicalTrials.gov site database. Endokrynologia. 2024;29(2):183-195. DOI: 10.31793/1680-1466.2024.29-2.183.

Correspondence address: Pasteur Ihor Petrovych, pasteur@ukr.net, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Vyshgorodska Str., 69, Kyiv 04114, Ukraine.

Information about the authors: Pasteur Ihor Petrovych, Cand. Sci. (Medicine), Senior Scientist, Chief Research Fellow of the Department of Fundamental and Applied Problems of Endocrinology, ORCID: 0000-0002-8199-833X.

Personal contribution: Pasteur I.P. – full preparation of the article.

Funding: the article was prepared at the author's own expense.

Declaration of ethics: the author have declared no conflicts of interest or financial obligations.

Article: received March 07, 2024; revised May 21, 2024; accepted June 24, 2024; 2024; published June 30, 2024.



Українська
Асоціація
клінічних
ендокринологів

www.iem.net.ua
www.lavconsult.com.ua
www.facebook.com/EndoSchool
www.youtube.com/c/EndoTime

Науково-освітній Проєкт

Школа ендокринолога

Щорічний цикл регіональних заходів

НАУКОВІ ОРГАНІЗАТОРИ ПРОЄКТУ:

Українська Асоціація клінічних ендокринологів
ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка
НАМН України» (м. Київ)
НУОЗ імені П.Л. Шупика, кафедра ендокринології

НАУКОВИЙ КЕРІВНИК «ШКОЛИ ЕНДОКРИНОЛОГА»:

Директор ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка
НАМН України» (м. Київ),
Президент Української Асоціації клінічних ендокринологів,
д-р мед. наук, Віце-президент НАМН України, академік **М.Д. Тронько**

ТЕХНІЧНИЙ ОРГАНІЗАЦІЙНИЙ ПАРТНЕР: ТОВ «ЛАВ КОНСАЛТ»

ФОРМАТ:

інтерактивні лекції, майстер-класи,
розбір клінічних випадків, дискусії

ФАХ УЧАСНИКІВ:

ендокринологи, терапевти, хірурги,
лікарі загальної практики

Календар*

ШКОЛИ ЕНДОКРИНОЛОГА-2024:

- | | |
|----------------------------|---------------------|
| – 20-24 лютого | м. Київ |
| – 16-20 квітня | м. Ужгород |
| – 11-15 червня | локація уточнюється |
| – 03-07 вересня | м. Львів |
| – 29 жовтня – 02 листопада | м. Одеса |

*Дати/локації можуть бути змінені з урахуванням ситуації в країні

Заплановано також Школи ендокринології для сімейних лікарів

ДЕТАЛІ ЩОДО УЧАСТІ:

044 33 77 951
www.lavconsult.com.ua
www.fb.com/EndoSchool
www.endotime.com.ua
endoschool@ukr.net



Багатогранність ефектів профілактики та лікування ЦД 2 типу



Глюкофаж®
оригінальний метформін¹

Глюкофаж® XR
оригінальний метформін¹



ЦД 2 типу – цукровий діабет 2 типу
1. <https://rx.ua/info/glyukofazh>

UA-GLUC-IMI-122023-147
UA-GLUX-00004

Скорочена інструкція для медичного застосування препаратів Глюкофаж®, Глюкофаж® XR. Діюча речовина: metformin hydrochloride. Лікарська форма. Глюкофаж®: 1 таблетка, вкрита плівковою оболонкою, по 500 мг, 850 мг, 1000 мг. Глюкофаж® XR: 1 таблетка пролонгованої дії по 500 мг, 1000 мг. Фармакотерапевтична група. Пероральні гіпоглікемічні засоби, за виключенням інсулінів. Фармакологічні властивості. Метформін – бігуанід з антигіперлікемічним ефектом. Знижує рівень глюкози в плазмі крові як натще, так і після прийому їжі. Не стимулює секрецію інсуліну і не спричиняє гіпоглікемічного ефекту, опосередкованого цим механізмом. Показання. Глюкофаж®, Глюкофаж® XR: цукровий діабет 2-го типу при неефективності дієтотерапії та режиму фізичних навантажень, особливо у хворих із надлишковою масою тіла. Глюкофаж®: для зменшення ускладнень діабету в дорослих пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу і надмірною масою тіла як препарат першої лінії після неефективної дієтотерапії. Глюкофаж® XR: зниження ризику або затримка початку цукрового діабету 2-го типу в дорослих пацієнтів. Протипоказання. Підвищена чутливість до метформіну або до будь-якого іншого компонента препарату; будь-який тип гострого метаболічного окцидозу (наприклад лактоацидоз, діабетичний кетоацидоз); діабетична прекома; ниркова недостатність важкого ступеня (швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) < 30 мл/хв); гострі стани, перебіг яких супроводжується ризиком розвитку порушень функції нирок, таких як: зневоднення організму, тяжкі інфекційні захворювання, шок; захворювання, що можуть призводити до розвитку гіпоксії тканин (особливо гострі захворювання або загострення хронічної хвороби); декомпенсована серцева недостатність, дихальна недостатність, нещодавно перенесений інфаркт міокарда, шок; печінкова недостатність, гостре отруєння алкоголем, алкоголізм. Побічні реакції. Порушення смаку, розлади з боку травної системи, такі як нудота, блювання, діарея, біль у животі, відсутність апетиту (розділ оскорочено, для детальної інформації див. Інструкцію для медичного застосування). Категорія випуску: за рецептом, P.n. MO3 України. Глюкофаж®: № UA/3994/01/01, № UA/3994/01/02, № UA/3994/01/03. Глюкофаж® XR: № UA/3994/02/01, № UA/3994/02/02. Виробник: Глюкофаж®. Мерк Санте, Франція/Merck Sante, France або Мерк Хелска КГаА, Німеччина/Merck Healthcare KGaA, Germany. Найменування та місцезнаходження уповноваженого представника: ТОВ «АСІНО УКРАЇНА», Україна, 03124, м. Київ, бульвар В. Гавела, 8. Повна інформація міститься в інструкції для медичного застосування препарату. У разі виникнення побічних ефектів та запитань щодо безпеки застосування лікарського засобу просимо звертатися до відділу фармаконадзора ТОВ «АСІНО УКРАЇНА» за адресою: бульвар Вацлава Гавела, 8, м. Київ, 03124, тел./факс: +38 044 281 2333. Інформація для медичних та фармацевтичних працівників, для розміщення у спеціалізованих виданнях для медичних установ та лікарів, а також для поширення на семінарах, конференціях, симпозіумах з медичної тематики.

НІМЕЦЬКИЙ ВІТАМІН D
ДЛЯ ВСІЄЇ РОДИНИ

Декрістол®



НАЙБІЛЬШИЙ АСОРТИМЕНТ ДОЗ • ЩОДЕННИЙ / ЩОТИЖНЕВИЙ ПРИЙОМ

Certificate of Free Sale Dekristol® D3 – 1000 MO, 18 грудня 2017 р.; 2000 MO – 14 серпня 2017 р.; 4000 MO – 4 грудня 2017 р.; 5600 MO – 14 серпня 2017 р.
Інструкції для медичного застосування Декрістол® 500 MO. Круглі, білі, злегка опуклі таблетки білого або жовтуватого кольору. Будь ласка, зверніть увагу! Більш детальна інформація висловлена в інструкції для медичного застосування препарату, також її можна отримати у ТОВ «МБЕ Україна». Склад: 1 таблетка містить колекальциферолу (у вигляді концентрату (порошкова форма)) 12,5 мг; що відповідає 500 МО вітаміну D3. Показання. Профілактика рахіту та остеомаляції у дітей, підлітків та дорослих. Профілактика дефіциту вітаміну D у дітей, підлітків та дорослих із зменшенням рівня цього дефіциту. Як доповнення до спеціальної терапії остеопорозу у дорослих. Протипоказання. Гіперчутливість до активної речовини або до будь-яких допоміжних речовин, вказаних у розділі «Склад». Побічні реакції: зафіксовані на тлі прийому. Частота побічних реакцій невисока, оскільки масштаби клінічних досліджень, які дали 6 згоди оцінити частоту, не проводилися. Більш детальна інформація про можливі побічні реакції та протипоказання міститься в інструкції для медичного застосування препарату. Дата останнього перегляду інструкції – 23.09.2021. Категорія вітчизняного Без рецепта. Реєстраційне посвідчення № ЦА/18957/01/01, видав МОЗ України № 2034.



*Згідно даних Safe cut систем дослідження «Інтерсервіс» – бренд Декрістол® займає перше місце в провідних вітчизняних сегментах середньої цінової категорії АТС 5 рівня А11С С05 колекальциферол та вітамін D3 (включаючи та вітамін D3) речовини за періодом з 2022 року.
**Зображення упаковок Декрістол® у даному рекламному матеріалі відзнялися від оригінальних упаковок, що представлені в аптечних мережах України.
Виробник: miba GmbH Arzneimittel, Німеччина www.dekristol.com.ua
Представник в Україні: ТОВ «МБЕ Україна» 01021, м. Київ, Кловський узвіз, 13. Тел./факс: (044) 254-39-36

Декрістол® 20 000 MO. Круглі, прозорі білі капсули, по 20 капсул. Будь ласка, зверніть увагу! Більш детальна інформація висловлена в інструкції для медичного застосування препарату, також її можна отримати у ТОВ «МБЕ Україна». Склад: 1 капсула містить колекальциферолу 200 мг, що відповідає 65 мг або 20 000 МО вітаміну D3. Показання. Лікування клінічно підтвердженого дефіциту вітаміну D у дорослих, профілактика дефіциту вітаміну D у пацієнтів з високим ризиком, як доповнення до спеціальної терапії остеопорозу у пацієнтів із дефіцитом вітаміну D або з високим ризиком нестачі вітаміну D. Протипоказання. Підвищена чутливість до активної речовини, ароматизаторів або будь-яких інших допоміжних речовин, що містяться в лікарському засобі. Гіперкальціємія. Гіперкальціємія. Гіперкальціємія D. Печінково-холестатичний синдром. Ниркова недостатність. Серцево-судинна недостатність. Додатковий прийом вітаміну D. Побічні реакції: зафіксовані на тлі прийому. Нечасто (від 1/1000 до < 1/1000): гіперкальціємія та гіперкальціємія. Детальна інформація про можливі побічні реакції міститься в інструкції для медичного застосування препарату. Реєстраційне посвідчення № ЦА/17901/01/01. Дата останнього перегляду інструкції – 15.01.21 р. № 60. Категорія вітчизняного За рецептом.

Інформація надається для медичних та фармацевтичних працівників виключно з метою ознайомлення. Перед застосуванням ознайомтесь з повним текстом інструкції.