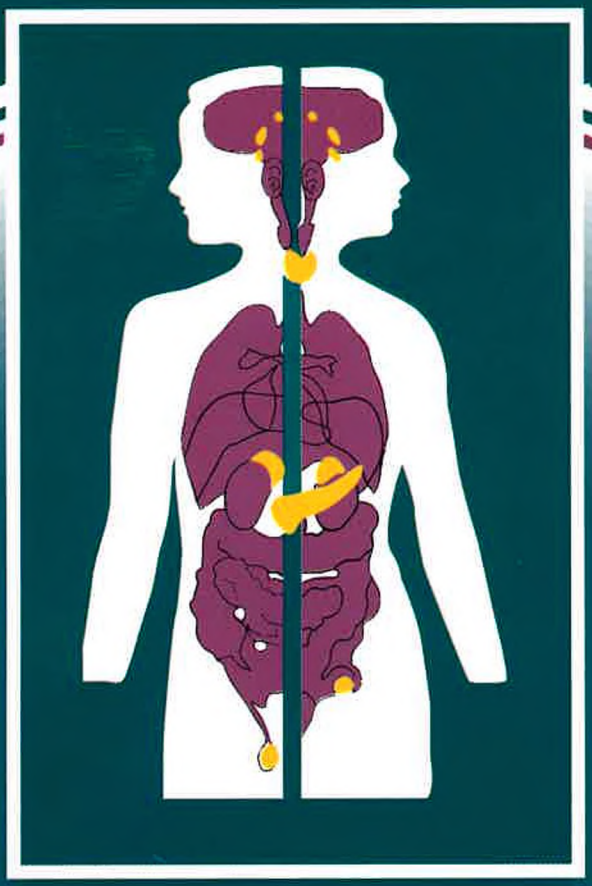
ISSN 0375-9660



ПРОБЛЕМЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

5. 2006
Том 52

Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации ГУ Эндокринологический научный центр РАМН

Журнал "Проблемы эндокринологии" основан в 1955 г.

Журнал включен в следующие информационные издания: ***Biological Abstracts; Biotechnology Research Abstracts; Chemical Abstracts; Excerpta Medica; Index Medicus; International Aerospace Abstracts; Nutrition Abstracts and Reviews; Ulrich's International Periodical Directory***

С 1995 г. журнал является членом Европейской ассоциации научных редакторов (EASE)

АДРЕС ДЛЯ НАПРАВЛЕНИЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ

119992 Москва, Б. Пироговская ул., 2, строение 5

АДРЕС РЕДАКЦИИ

Москва, Б. Пироговская ул., 2/6, строение 18

Тел. (495) 248-72-46

E-mail: meditsina@mtu-net.ru
WWW страница: www.medlit.ru

Зав. редакцией *Т. А. Кравченко*
Научные редакторы *Е. И. Адамская, М. Б. Анциферов, В. В. Фадеев*

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ

Тел./факс (495) 248-33-24

Ответственность за достоверность информации, содержащейся в рекламных материалах, несут рекламодатели

Редактор *Л. Ф. Егорова*
Переводчик *Т. А. Чечеткина*
Художественный редактор *М. Б. Белякова*
Корректор *Т. И. Луковская*

Сдано в набор 05.06.2006.
Подписано в печать 14.07.2006.
Формат 60 × 88 1/8
Печать офсетная
Печ. л. 7,00 + 1,00 цв. вкл.
Усл. печ. л. 7,84.
Усл. кр.-отт. 12,74.
Уч.-изд. л. 9,94.
Заказ 1267.

Отпечатано в Подольской типографии ЧПК 142110, г. Подольск, ул. Кирова, 25.

ЛР N 010215 от 29.04.97

Все права защищены. Ни одна часть этого издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

Индекс 71462
для индивидуальных подписчиков
Индекс 71463
для предприятий и организаций

ISSN 0375-9660. Пробл. эндокринологии. Т. 52. 2006. № 5. 1—56.

МОСКВА «ИЗДАТЕЛЬСТВО "МЕДИЦИНА"», 2006

ПРОБЛЕМЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ

Том 52 **сентябрь—октябрь** **5 • 2006**

ДВУХМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

ФЕДОТОВ В. П. (главный редактор)
АКМАЕВ И. Г.
АНЦИФЕРОВ М. Б.
БАБИЧЕВ В. Н.
БОНДАРЬ И. А.
ВЕРБОВАЯ Н. И.
ВЕТШЕВ П. С.
ГЕРАСИМОВ Г. А.
ГРИНЕВА Е. Н.
ДЕДОВ И. И.
ДОГАДИН С. А.
ДРЕВАЛЬ А. В.
КАНДРОР В. И. (ответственный секретарь)
КАСАТКИНА Э. П.
МЕЛЬНИЧЕНКО Г. А.
МКРТУМЯН А. М.
ПАНКОВ Ю. А.
ПЕТЕРКОВА В. А. (зам. главного редактора)
ПЕТУНИНА Н. А.
ПОТЕМКИН В. В.
РЕБРОВА О. Ю.
СТАРКОВА Н. Т.
СУПЛОТОВА Л. А.
ТРОШИНА Е. А.
ФАДЕЕВ В. В.
ШЕСТАКОВА М. В.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

АБУСУЕВ С. А. (Махачкала)
ВАНУШКО В. Э. (Москва)
ВОРОХОБИНА Н. В. (Санкт-Петербург)
ГАЛСТЯН Г. Р. (Москва)
ДУБИНИНА И. И. (Рязань)
КАЛИНИН А. П. (Москва)
КРАВЕЦ Е. Б. (Томск)
ПОТИН В. В. (Санкт-Петербург)
СТАРОСЕЛЬЦЕВА Л. К. (Москва)
СТРОНГИН Л. Г. (Нижний Новгород)
ТАЛАНТОВ В. В. (Казань)
ТРУСОВ В. В. (Ижевск)
УГРЮМОВ М. В. (Москва)
ХОЛОДОВА Е. А. (Минск)

СОДЕРЖАНИЕ

Клиническая эндокринология

Малиевский О. А., Мурзабаева С. Ш., Климентьева М. М. Экономические аспекты неонатального скрининга на гипотиреоз. 3

Мычка В. Б., Масенко В. П., Чазова И. Е. Особенности терапевтического подхода к лечению артериальной гипертонии у пациентов с инсулинорезистентностью 5

Бровкина А. Ф., Стоюхина А. С. Классификация эндокринной офтальмопатии 11

Насирова У. Ф. Влияние дефицита йода на состояние щитовидной железы и нервно-психическое развитие детей с неонатальным транзиторным гипотиреозом 15

Вербовой А. Ф., Абдалкина Е. Н. Влияние нарушенного углеводного обмена на течение ишемической болезни сердца 17

Тюльпаков А. Н., Калинченко Н. Ю., Карева М. А., Петеркова В. А., Семичева Т. В., Свердлова П. С., Рубцов П. М. Липоидная гиперплазия надпочечников, обусловленная ранее неизвестными мутациями гена STAR 21

Панфилова Е. В., Карева М. А., Колесникова Г. С., Яровая И. С., Иванова О. Н., Атаманова Т. М., Прокофьев С. А., Семичева Т. В., Рубцов П. М., Петеркова В. А. Неклассическая форма врожденной дисфункции коры надпочечников у девочек-подростков 26

Ширшев С. В., Заморина С. А. Влияние хорионического гонадотропина на активность моноцитов в зависимости от фаз менструального цикла 31

Заметки из практики

Древаль А. В., Камынина Т. С., Нечаева О. А., Тишенина Р. С., Орлова Е. М. Полигландулярный аутоиммунный синдром I типа. 35

Экспериментальная эндокринология

Шестакова С. А., Степанов Р. П., Григоренко Г. А., Федорова Н. В., Тишковская Ю. Н. Антиоксидантная защита и структурные изменения в головном мозге у крыс при экспериментальном сахарном диабете. 37

Телушкин П. К., Ноздрачев А. Д., Потапов П. П., Медведева Н. Б. Показатели метаболизма у крыс при многократной инсулиновой гипогликемии 44

Обзор

Рожинская Л. Я., Белая Ж. Е., Беляева А. В., Мельниченко Г. А. Новые возможности лечения постменопаузального остеопороза: стронция ранелат ("Бивалос") 47

CONTENTS

Clinical Endocrinology

Maliyevsky O. A., Murzabayeva S. Sh., Klimentyeva M. M. Neonatal screening for hypothyroidism: economic aspects 3

Mychka V. B., Masenko V. P., Chazova I. Ye. A therapeutic approach to treating arterial hypertension in patients with insulin resistance 5

Brovkina A. F., Stoyukhina A. S. Classification of endocrine ophthalmopathy 11

Nasirova U. F. Impact of iodine deficiency on the thyroid and neuromental development in children with neonatal transient hypothyroidism 15

Verbovoy A. F., Abdalkina Ye. N. Impact of impaired carbohydrate metabolism on the course of coronary heart disease 17

Tyulpakov A. N., Kalinchenko N. Yu., Kareva M. A., Peterkova V. A., Semicheva T. V., Sverdlova P. S., Rubtsov P. M. Lipoid adrenal hyperplasia caused by earlier unknown STAR gene mutations 21

Panfilova Ye. V., Kareva M. A., Kolesnikova G. S., Yarovaya I. S., Ivanova O. N., Atamanova T. M., Prokofyev S. A., Semicheva T. V., Rubtsov P. M., Peterkova V. A. The nonclassical form of congenital adrenal cortical dysfunction in adolescent girls 26

Shirshev S. V., Zamorina S. A. Effect of chorionic gonadotropin on the activity of monocytes in relation to the phases of a menstrual cycle 31

Clinical Notes

Dreval A. Z., Kamynina T. S., Nechayeva O. A., Tishenina R. S., Orlova Ye. M. Type 1 polyglandular autoimmune syndrome 35

Experimental Endocrinology

Shestakova S. A., Stepanov R. P., Grigorenko G. A., Fedorova N. V., Tishkovskaya Yu. N. Antioxidative defense and structural changes in the brain of rats with experimental diabetes mellitus 37

Telushkin P. K., Nozdrachev A. D., Potapov P. P., Medvedeva N. B. Rat metabolic parameters in multiple insulin hypoglycemia 44

Review

Rozhinskaya L. Ya., Belaya Zh. Ye., Belayeva A. V., Melnichenko G. A. New potentialities of treatment for postmenopausal osteoporosis: strontium ranelate (Bivalos) 47

© ОАО «ИЗДАТЕЛЬСТВО "МЕДИЦИНА"», 2006

♦ КЛИНИЧЕСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2006

УДК 614.2:616.441-008.64-053.31-07]:33

О. А. Малиевский[1], С. Ш. Мурзабаева[2], М. М. Климентьева[3]

ЭКОНОМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НЕОНАТАЛЬНОГО СКРИНИНГА НА ГИПОТИРЕОЗ[1]

[1]Кафедра госпитальной педиатрии (зав. — проф. Э. Н. Ахмадеева) Башкирского государственного медицинского университета; [2]Министерство здравоохранения Республики Башкортостан; [3]Республиканская детская клиническая больница, Уфа

Проведена оценка экономической эффективности неонатального скрининга на врожденный гипотиреоз. Стоимость выполнения одного исследования составила 99,37 руб., а затраты на выявление 1 больного с врожденным гипотиреозом — 430582,67 руб. Указано, что потери государства вследствие инвалидизации больных, включающие выплату социальных пособий и непроизведенный внутренний валовый продукт, составили 5687356,0 руб. на 1 инвалида. Экономическая эффективность неонатального скрининга определяется отсутствием необходимости социальных выплат и суммой внутреннего валового продукта, которые производят эти больные вследствие сохранной трудоспособности, и составила 5,35 руб. на каждый вложенный в программу скрининга рубль.

Ключевые слова: *врожденный гипотиреоз, скрининг, дети, экономика, инвалиды.*

The cost efficiency of neonatal screening for congenital hypothyroidism has been estimated. The cost of one newborn screening is 99.37 rubles and that of detection of a patient with congenital hypothyroidism are 430,582.67 rubles. The state's negative profits due to patients' disability, which includes social security benefits and undone gross domestic product, have been stated to be 5,687,356.0 rubles per disabled person. The cost efficiency of neonatal screening is determined by the absence of a need for social payments and by the amount of gross domestic product, which are made by these patients due to their preserved working ability and it is 5.35 rubles per ruble invested in a screening program.

Key words: *congenital hypothyroidism, screening, children, economy, the disabled.*

Врожденный гипотиреоз (ВГ) — одно из наиболее тяжелых заболеваний щитовидной железы в детском возрасте, распространенность которого достигает 1 случая на 2000—5940 новорожденных [1, 5, 6]. Поздняя диагностика ВГ приводит к необратимой задержке нервно-психического и физического развития ребенка, полной утрате трудоспособности, социальной дезадаптации и как следствие — к значительным затратам общества на содержание больных. Скрининг новорожденных позволяет диагностировать гипотиреоз и начать лечение в первые недели жизни, что значительно улучшает прогноз заболевания и снижает количество инвалидов с детства [3]. В настоящее время в ходе разработки экономических проблем здравоохранения большое внимание уделяется оценке не только медицинских и социальных аспектов, но и экономической эффективности различных программ [2].

Материалы и методы

В работе проведен анализ экономической эффективности неонатального скрининга на гипотиреоз в Республике Башкортостан за период 1994—2004 гг.

Стоимость затрат на проведение неонатального скрининга оценивалась в соответствии с "Инструкцией по расчету стоимости медицинских услуг", утвержденной Министерством здравоохранения Российской Федерации 10.11.99 (№ 01-23/4-10) и Российской академией медицинских наук 10.11.99 (№ 01-02/41) на основе фактических расходов Республиканского перинатального центра [4]. Расчет прямых и косвенных расходов производили независимо от источника финансирования, при этом учитывали расходы и лаборатории неонатального скрининга, и вспомогательных общеучрежденческих служб. При расчете затрат использованы цены 2004 г. Экономические потери общества от инвалидности оценивали по формуле

$$У = (Д + П + Л) \cdot t \cdot И,$$

где Д — потери национального дохода за 1 год в результате 1 случая инвалидности (в руб.); П — сумма пенсии, выплаченной за 1 год 1 инвалиду (в руб.); Л — дополнительные затраты на медицинское обслуживание 1 инвалида за 1 год (в руб.); t — число рабочих лет, потерянных в результате 1 случая инвалидности; И — число инвалидов [2].

Результаты

В течение 1994—2004 гг. обследовано 450 667 новорожденных. ВГ выявлен у 104 детей, из которых в настоящее время инвалидами признано 27 (26,0%) детей. Распространенность ВГ составила 1 случай на 4333 новорожденных.

Стоимость расходов на проведение неонатального скрининга на гипотиреоз за 1994—2004 гг. составила 44585433,43 руб. (табл. 1). Доля прямых расходов составила 99,55%, из них наибольший удельный вес (94,85%) приходился на материаль-

[1]Доложено на Всероссийской конференции по детской эндокринологии "Достижения науки в практику детской эндокринологии".

Таблица 1

Расходы на проведение неонатального скрининга на гипотиреоз

Статья расходов	Расходы, руб.	
	за 2004 г.	за 1994—2004 гг.
Прямые расходы	4053222,13	44585443,43
оплата труда основного персонала	101761,79	1119379,69
начисления на оплату труда основного персонала	26661,59	293277,49
материальные затраты	3861602,95	42477632,45
в процессе скрининга, в том числе на реактивы для гормональных исследований	2911110,00	32022210,00
износ мягкого инвентаря в лаборатории скрининга	31057,90	341636,90
износ оборудования, используемого непосредственно при проведении скрининга	26035,50	286390,50
коммунальные услуги	6102,40	67126,40
Косвенные расходы:	17741,29	195154,19
Всего...	4070963,42	44780597,62
Стоимость 1 анализа (обследовано 450 667 новорожденных)		99,37
Стоимость выявления 1 больного (выявлено 104 больных)		430582,67

ные затраты, потребляемые в процессе скрининга, в том числе на реактивы для определения уровня тиреоидных гормонов — 32022210,00 руб. (75,5%). Доля косвенных расходов составила всего 0,67%. Это обусловлено тем, что лаборатория неонатального скрининга функционирует в составе Республиканского перинатального центра, имеющего в своем составе большое количество подразделений, что позволяет снизить сумму общеучрежденческих расходов на одно подразделение.

Расходы на обследование 1 новорожденного составили 99,37 руб. По данным зарубежных авторов, стоимость 1 исследования по программе неонатального скрининга составляет 1 доллар США. Столь существенную разницу в затратах на скрининг мы объясняем тем, что в развитых странах скринируется значительно большее количество заболеваний. Кроме того, оптимальной считается нагрузка на лабораторию скрининга, составляющая не менее 100 000 анализов в 1 год. Оба этих фактора существенно снижают себестоимость неонатального скрининга.

С учетом количества выявленных больных (104 ребенка с ВГ) затраты на выявление 1 случая заболевания составили 430582,67 руб.

Нами проведена оценка затрат общества на содержание 27 больных, имеющих статус ребенка-инвалида, родившихся за период 1994—2004 гг. Ежемесячные выплаты (в ценах 2004 г.) на 1 ребенка составили 1518,0 руб., а при перерасчете на 16 лет — 291456,0 руб.

По достижение возраста 16 лет больные с данными заболеваниями, имевшие ранее статус ребенка-инвалида, признаются инвалидами II группы. Ежемесячные выплаты в данной группе в 2004 г. также составляли 1518,0 руб., что при перерасчете на 40 лет социально значимой жизни составило 728640,0 руб.

Однако экономические потери общества определяются не только размерами социальных выплат, но и стоимостью непроизведенного внутреннего валового продукта (ВВП), который эти больные могли бы производить в случае ранней диагностики заболевания, своевременного лечения и соответственно сохранения работоспособности. По данным Министерства экономического развития Российской Федерации, по итогам 2004 г. ВВП на 1 человека составил 116681,5 руб. Таким образом, сумма ВВП, не произведенного 1 больным-инвалидом за 40 лет социально значимой жизни, составила 4667260,0 руб. Общие потери государства, включающие выплату социальной пенсии и непроизведенный ВВП, составили 5687356,0 руб. на 1 инвалида. Расчеты потерь на 27 инвалидов представлены в табл. 2.

Экономическая эффективность скрининга определяется не только отсутствием необходимости социальных выплат, но и суммой ВВП, который производят эти больные вследствие сохраненной трудоспособности. Предотвращенные затраты на социальные выплаты 77 больным, не являющимся инвалидами, составили 78546,93 тыс. руб., в том числе 22441,65 тыс. руб. на детей-инвалидов, 56105,28 тыс. руб. на инвалидов с детства. Расчетная стоимость ВВП, произведенного сохраненными для общества больными в течение 40 лет социально значимой жизни, составила 359379,02 тыс. руб. (см. табл. 2). Таким образом, на каждый рубль, вложенный в программу неонатального скрининга, предотвращается потеря 5,35 руб.

Таблица 2

Экономическая эффективность скрининга на гипотиреоз

Показатель	Данные скрининга за 1994—2004 гг.
Затраты на проведение скрининга, тыс. руб.	44780,60
Количество больных	104
не инвалидов	77 (74,0%)
инвалидов	27 (26,0%)
Затраты на социальные выплаты детям-инвалидам в течение 16 лет, тыс. руб.	7869,31
Затраты на социальные выплаты инвалидам в течение 40 лет социально значимой жизни, тыс. руб.	19673,28
Стоимость непроизведенного ВВП из-за неспособности инвалидов к производительному труду, тыс. руб.	126016,02
Общие потери, связанные с больными-инвалидами, тыс. руб.	153558,61
Стоимость ВВП, произведенного больными, не являющимися инвалидами, за 40 лет социально значимой жизни, тыс. руб.	359379,02
Предотвращенные экономические потери в виде отсутствия выплат социальной пенсии детям, не имеющим статус ребенка-инвалида, в течение 16 лет	22441,11
Предотвращенные экономические потери в виде отсутствия необходимости выплаты социальной пенсии больным, не имеющим статус инвалида, в течение 40 лет социально значимой жизни	56105,28
Экономическая эффективность на каждый рубль, вложенный в скрининг, руб.	5,35

Обсуждение

Результаты исследования свидетельствуют о высокой экономической эффективности неонатального скрининга гипотиреоза. Осуществление программы скрининга не только полностью окупается за счет предотвращения значительных затрат на социальные выплаты, но и вносит существенный вклад в формирование ВВП. В то же время необходимо более четкое выполнение всех этапов неонатального скрининга, направленное на раннюю диагностику скринируемой патологии и соответственно более раннее начало заместительной гормональной терапии. Кроме того, целесообразна разработка новых подходов к реабилитации детей с гипотиреозом, направленных на снижение уровня инвалидизации больных и улучшение их адаптации в обществе.

Выводы

1. Распространенность ВГ в Республике Башкортостан составляет 1 случай на 4333 новорожденных.

2. Стоимость обследования 1 новорожденного по программе неонатального скрининга на гипотиреоз составила 99,37 руб., а затраты на выявление 1 случая заболевания — 430582,67 руб.

3. Экономическая эффективность неонатального скрининга на гипотиреоз составляет 5,35 руб. на каждый вложенный в программу скрининга рубль.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бережанская С. Б., Кравченко Л. В., Попова В. А.* и др. // Актуальные вопросы детской эндокринологии: Материалы Респ. совещания-семинара. — Саратов, 1997. — С. 6—7.
2. *Вялков А. И.* // Главврач. — 2005. — № 3. — С. 25—33.
3. *Дедов И. И., Петеркова В. А., Безлепкина О. Б.* Врожденный гипотиреоз у детей: Метод. рекомендации. — М., 1999.
4. Инструкция по расчету стоимости медицинских услуг (временная) // Экономика здравоохр. — 2001. — № 1. — С. 47—58.
5. *Сотникова Н. Я.* Врожденный гипотиреоз у детей и совершенствование лечебно-профилактической помощи: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Пермь, 1998.
6. *Bamforth V.* // Clin. Biochem. — 1994. — Vol. 27. — P. 333—342.

Поступила 20.09.05

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2006

УДК 616.12-008.331.1-06:616-008.9]-085

В. Б. Мычка, В. П. Масенко, И. Е. Чазова

ОСОБЕННОСТИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПОДХОДА К ЛЕЧЕНИЮ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИИ У ПАЦИЕНТОВ С ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

Институт клинической кардиологии им. А. Л. Мясникова Российского кардиологического научно-производственного комплекса Минздравсоцразвития РФ (дир. — акад. РАН Е. И. Чазов), Москва

Цель работы — оценить влияние терапии моксонидином на суточный профиль АД, чувствительность к инсулину, толерантность к глюкозе, показатели углеводного, липидного обмена и функцию эндотелия сосудов у больных с метаболическим синдромом (МС) и артериальной гипертонией (АГ) I стадии.

В исследование вошло 20 пациентов (8 мужчин и 12 женщин) в возрасте 44,85 ± 5,87 года с МС и АГ I стадии. Все больные принимали моксонидин в дозе 0,2 мг 2 раза в сутки. Исходно и через 12 нед терапии проводили измерение массы тела, окружности талии и бедер, биохимическое исследование крови (липидный профиль, глюкоза, мочевая кислота, печеночные тесты), пероральный тест на толерантность к глюкозе с определением эндогенного инсулина и С-пептида, определение лептина, вазоактивных гормонов крови, а также офисное измерение и суточное мониторирование АД.

У 90% больных удалось достичь целевого уровня АД. В результате терапии отмечалось достоверное снижение массы тела, улучшение суточного профиля АД, повышение гликемического индекса и улучшение липидного профиля. Кроме того, терапия моксонидином сопровождалась достоверным снижением вазоконстрикторных гормонов и лептина и повышением уровня оксида азота. У пациентов с МС и АГ наряду с гипотензивной активностью моксонидин оказывает позитивное влияние на чувствительность к инсулину, липидный обмен и функцию эндотелия.

Ключевые слова: *метаболический синдром, артериальная гипертония, чувствительность к инсулину, моксонидин.*

The purpose of the study was to evaluate moxonidine therapy on the daily profile of blood pressure (BP), insulin sensitivity, glucose tolerance, carbohydrate and lipid metabolic parameters, and vascular endothelial function in patients with metabolic syndrome (MS) and grade 1 arterial hypertension (AH).

The study included 20 patients (8 males and 12 females) aged 44.85±5.87 years, who had MS and grade 1 AH. All the patients took moxonidine in a dose of 0.2 mg twice daily. Body weight and waist and hip circumferences were measured, a biochemical blood study (lipid profile, glucose, uric acid, liver tests) and oral glucose tolerance test determining endogenous insulin and C-peptide were performed, leptin and blood vasoactive hormones were estimated, and office BP measurement and 24-hour BP monitoring were made at baseline and after 12-week therapy.

Target BP could be achieved in 90% of the patients. After therapy, there were significant body weight losses, improved daily BP profile, increased glycemic index, and better lipid profile. In addition, moxonidine therapy caused significant decreases in vasoconstrictive hormones and leptin and an elevation in nitric oxide levels.

Along with antihypertensive activity, moxonidine exerts a positive effect on insulin sensitivity, lipid metabolism, and endothelial function in patients with MS and AH.

Key words: *metabolic syndrome, arterial hypertension, insulin sensitivity, moxonidine.*

Ключевым механизмом в патогенезе метаболического синдрома (МС) является инсулинорезистентность (ИР), которая запускает развитие как метаболических, так и сердечно-сосудистых нарушений. Между ИР и артериальной гипертонией (АГ) существует тесная патогенетическая взаимосвязь. ИР и компенсаторная гиперинсулинемия (ГИ) вызывают дисфункцию эндотелия сосудов,

повышение активности симпатической нервной системы (СНС), нарушения в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и повышение реабсорбции натрия в почечных канальцах, что приводит к повышению общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС), активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и таким образом к развитию АГ [11]. В то же время АГ может быть причиной развития МС или его прогрессирования. На ранних стадиях развития АГ повышенная активность СНС вторично может индуцировать ИР [18]. При длительном течении АГ приводит к хроническому снижению периферического кровотока вследствие повышенного ОПСС. Это также может снижать утилизацию глюкозы тканями, что повлечет за собой компенсаторную ГИ, а затем и ИР.

Лечение АГ относится к патогенетической терапии МС, поскольку, как уже говорилось ранее, она может вносить определенный вклад в формирование и прогрессирование данного синдрома. Одним из важных условий антигипертензивной терапии является достижение целевых уровней АД — менее 140/90 мм рт. ст. (для больных сахарным диабетом — менее 130/80 мм рт. ст.), так как именно при условии достижения этих уровней наблюдается наименьшее число сердечно-сосудистых осложнений. При этом необходимо учитывать влияние того или иного антигипертензивного препарата на чувствительность к инсулину, углеводный и липидный обмен. Недопустимо применение препаратов с заведомо известным негативным влиянием на ИР и метаболические процессы. Преимуществом должны пользоваться лекарственные средства, по крайней мере нейтрально действующие на обменные процессы; еще лучше, если они будут обладать свойствами снижать ИР и улучшать показатели углеводного и липидного обмена.

Единственным антигипертензивным препаратом, в инструкции по применению которого указано на его способность повышать чувствительность к инсулину, является агонист имидазолиновых рецепторов моксонидин (физиотенз).

Имидазолиновые рецепторы первого типа были идентифицированы в вентролатеральной зоне продолговатого мозга, которая является ключевым центром регуляции потока симпатических импульсов из ЦНС и как следствие центром поддержания АД [6]. Избирательность моксонидина по отношению к имидазолиновым рецепторам примерно в 70 раз превосходит его избирательность по отношению к α_2-адренорецепторам, в то время как релменидин менее избирателен [22]. Точно установлено, что именно взаимодействие с α_2-адренорецепторами в зонах ствола мозга, расположенных вне вентролатеральной зоны продолговатого мозга, а также в слюнных железах, обусловливает такие побочные эффекты, как сухость во рту, седативные реакции, характерные для симпатолитиков 1-го и 2-го поколений (резерпин, метилдопа, клонидин). В связи с этим у агонистов имидазолиновых рецепторов, особенно у моксонидина, они выражены минимально [14].

Кроме того, как было сказано выше, в патогенезе АГ у больных с МС важную роль играет повышение активности СНС, а моксонидин, стимулируя имидазолиновые рецепторы, способствует снижению повышенной активации СНС, что в свою очередь приводит к уменьшению секреции норадреналина и таким образом к вазодилатации [6].

Это, с одной стороны, может вызывать снижение АД, а с другой — повышение утилизации глюкозы и триглицеридов (ТГ) периферическими тканями. Кроме того, уменьшение активации СНС может способствовать восстановлению секреции инсулина [16]. Сведения о таких сосудистых и метаболических эффектах моксонидина послужили основанием для проведения исследования, цель которого заключалась в оценке влияния терапии моксонидином на суточный профиль АД, чувствительность к инсулину, толерантность к глюкозе, показатели углеводного, липидного обмена и функцию эндотелия сосудов у больных с МС и АГ I стадии.

Материалы и методы

Обязательным условием включения пациентов в исследование по изучению эффективности моксонидина являлось наличие нарушенной толерантности к глюкозе, ожирения, признаков нарушения липидного обмена и АГ I стадии. В исследовании приняли участие 20 пациентов (8 мужчин и 12 женщин), средний возраст больных составил 44,85 ± 5,87 года, длительность АГ — в среднем 2,8 ± 3,3 года. Клиническое систолическое и диастолическое АД (САД и ДАД) исходно составило по группе 158,3 ± 1,2 и 96,3 ± 1,7 мм рт. ст. соответственно. Уровень глюкозы натощак составлял в среднем по группе 6,41 ± 0,98 ммоль/л, гликированного гемоглобина ($Hb\ A_{1c}$) — 6,29 ± 0,59%. Все пациенты имели признаки абдоминального ожирения: средние показатели массы тела составили 102,98 ± 18,98 кг, индекса массы тела (ИМТ) — 37,13 ± 3,83 кг/м^2, окружности талии (ОТ) — 114,7 ± 2,1 см, отношения ОТ к окружности бедер (ОБ) (ОТ/ОБ) — 0,98 ± 0,03. Все больные принимали моксонидин в дозе 0,4 мг в сутки.

До начала исследования и через 12 нед у пациентов собирали полный анамнез, проводили физикальный осмотр и антропометрическое обследование: измерение роста, массы тела, ОТ и ОБ. Характер распределения жировой ткани оценивали по отношению ОТ/ОБ. ИМТ рассчитывали по формуле Кетле. ИМТ < 25 кг/м^2 считали показателем нормальной массы тела, а ИМТ > 30 кг/м^2 — критерием диагностики ожирения, промежуточные значения рассматривались как показатель избыточной массы тела. Исследовали содержание в крови общего холестерина (ХС), ХС липопротеидов низкой и высокой плотности (ХС ЛПНП и ХС ЛПВП), ТГ, глюкозы, мочевой кислоты, АСТ, АЛТ, общего билирубина, креатинина и общего белка, проводили пероральный тест на толерантность к глюкозе с определением уровней глюкозы,

Таблица 1

Динамика показателей СМАД на фоне терапии моксонидином (дневные часы)

Показатель	До лечения	После лечения	Δ	*p*
$САД_{макс}$, мм рт. ст.	185,8 ± 25,6	163 ± 14,0	-22,3 ± 12,1	нд
$САД_{ср}$, мм рт. ст.	148,6 ± 12,1	140,2 ± 9,8	-8,4 ± 2,8	нд
$САД_{мин}$, мм рт. ст.	124,6 ± 11,5	115,2 ± 5,8	-9,3 ± 6,2	нд
ИВ САД, %	61,3 ± 28,4	46 ± 28,9	-15,3 ± 0,5	нд
ИП САД, мм рт. ст.	294,4 ± 188,9	148,6 ± 158,4	-146,3 ± 30,5	нд
$ДАД_{макс}$, мм рт. ст.	107,7 ± 18,8	98,6 ± 11,2	-9,2 ± 7,4	нд
$ДАД_{ср}$, мм рт. ст.	83,9 ± 9,2	83,8 ± 5,8	-0,1 ± 3,3	нд
$ДАД_{мин}$, мм рт. ст.	64,8 ± 10,4	60,8 ± 7,0	-1,3 ± 2,8	нд
ИВ ДАД, %	30,7 ± 28,8	24 ± 21,3	-6,4 ± 7,3	0,05
ИП ДАД, мм рт. ст.	79,1 ± 100,9	50,4 ± 1,5	-29,8 ± 95,2	0,05
$СрАД_{макс}$, мм рт. ст.	131,6 ± 20,3	116,4 ± 10,6	-15,2 ± 10,2	нд
$СрАД_{ср}$, мм рт. ст.	107 ± 7,7	102,6 ± 6,4	-5,4 ± 1,3	0,05
$СрАД_{мин}$, мм рт. ст.	86,7 ± 9,9	80 ± 6,4	-6,9 ± 3,2	нд
ИВ срАД, %	41,4 ± 28,3	30,6 ± 29,6	-11,4 ± 1,3	нд
ИП срАД, мм рт. ст.	121,8 ± 133,2	68 ± 93,5	-53 ± 30,4	нд
STD САД, мм рт. ст.	15,3 ± 4,1	13,4 ± 4,3	-2,1 ± 0,3	нд
STD ДАД, мм рт. ст.	10,9 ± 3,6	10,2 ± 4,3	-0,7 ± 1,3	нд
STD срАД, мм рт. ст.	11,3 ± 3,9	10,2 ± 4,1	-1,2 ± 0,2	нд

Примечание. нд — недостоверно. Здесь и в табл. 2: STD — выборочное стандартное отклонение, ИВ — индекс времени; ИП — индекс площади.

эндогенного инсулина и С-пептида. Измеряли АД клиническим методом Короткова, выполняли суточное мониторирование АД (СМАД) с помощью неинвазивного портативного монитора АВРМ ("Meditech", Венгрия), который автоматически измерял и сохранял в памяти величины АД на протяжении 24—26 ч с интервалами 15 мин днем (с 7 до 23 ч) и 30 мин ночью (с 23 до 7 ч).

Содержание общего ХС и ТГ (в сыворотке крови), ХС ЛПВП определяли ферментативным колориметрическим методом с помощью наборов фирмы "Diasys" (Германия). Содержание ХС ЛПНП вычисляли по формуле Фридвальда и соавт.

$$ХС\ ЛПНП = общий\ ХС - (ТГ/2{,}2 + ХС\ ЛПВП),$$

где ТГ/2,2 = ХС липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП).

Уровень Hb A_{1c} определяли с использованием наборов "Glycated Hemoglobin" ("Abbott", США).

Уровни инсулина и С-пептида определяли иммунорадиометрическим методом с использованием наборов "Insulin irma" и "C-peptide ria" ("Labodia", Швейцария). Содержание глюкозы в плазме крови определяли глюкозооксидазным методом с использованием набора "Glucose GOD-PAP" ("Roche", Швейцария). Для оценки действия инсулина рассчитывали гликемический индекс по отношению концентрации глюкозы в крови натощак к уровню иммунореактивного инсулина (ИРИ) натощак. Значение индекса менее 0,33 рассматривали как косвенный признак наличия ИР.

Рис. 1. Динамика массы тела на фоне терапии моксонидином.

По оси ординат — масса тела (в кг). Здесь и на рис. 2—6: *1* — исходный показатель, *2* — после 16 нед терапии моксонидином.

Определение уровней эндотелина и тромбоксана B_2 проводили радиоиммунологическим методом с использованием наборов фирмы "Amersharm" (Англия).

Определение нитритов (NO_2) и нитратов (NO_3) как продуктов метаболизма оксида азота (NO) проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе "Shimadzu" (Япония).

Результаты исследования обработаны с помощью пакета прикладных программ Statistica 5. Данные представлены в виде средних арифметических значений и стандартных отклонений. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Вилкоксона. Различия считали достоверными при значениях $p < 0{,}05$.

Таблица 2

Динамика показателей СМАД на фоне терапии моксонидином (ночные часы)

Показатель	До лечения	После лечения	Δ
$САД_{макс}$, мм рт. ст.	154,3 ± 18,3	154,8 ± 22,6	-0,5 ± 5,3
$САД_{ср}$, мм рт. ст.	130,2 ± 11,1	131,3 ± 17,9	-1,1 ± 6,7
$САД_{мин}$, мм рт. ст.	112 ± 10,4	110 ± 15,5	2,1 ± 4,7
ИВ САД, %	70,2 ± 26,8	71,5 ± 33,3	-1,5 ± 7,3
ИП САД, мм рт. ст.	293,4 ± 209,7	354,8 ± 329	-61 ± 120,4
$ДАД_{макс}$, мм рт. ст.	99,8 ± 10,3	90,8 ± 18	-8,9 ± 7,8
$ДАД_{ср}$, мм рт. ст.	73 ± 7,3	73 ± 11,9	-0,1 ± 4,6
$ДАД_{мин}$, мм рт. ст.	56 ± 8,7	57,5 ± 10,9	-1,5 ± 2,7
ИВ ДАД, %	24,4 ± 21,9	24,5 ± 32,5	-1,2 ± 11,4
ИП ДАД, мм рт. ст.	50 ± 46,1	76,7 ± 108,1	-26,3 ± 62,2
$СрАД_{макс}$, мм рт. ст.	116,4 ± 12,5	111,4 ± 19,5	-5,1 ± 2,8
$СрАД_{ср}$, мм рт. ст.	92 ± 8,6	92,4 ± 13,5	-0,6 ± 5,3
$СрАД_{мин}$, мм рт. ст.	76 ± 10,6	76 ± 11,9	-0,1 ± 1,2
ИВ срАД, %	47,4 ± 33,8	57,3 ± 43,1	-10,3 ± 10,4
ИП срАД, мм рт. ст.	98,2 ± 92,1	142,3 ± 184,8	-44,1 ± 92,3
STD САД, мм рт. ст.	14 ± 3,2	11,9 ± 2,7	3,1 ± 1,5
STD ДАД, мм рт. ст.	11,4 ± 1,3	10,1 ± 2,3	1,3 ± 1,3
STD СрАД, мм рт. ст.	10,6 ± 3,1	10,2 ± 2,9	0,4 ± 0,2
СИ САД, %	8,2 ± 5,5	11,7 ± 7,7	-3,7 ± 2,3
СИ ДАД, %	12,4 ± 7,5	13,1 ± 8,5	-1,1 ± 1
СИ СрАД, %	10,2 ± 7,1	12,4 ± 8,1	-2,1 ± 1,8

Примечание. СИ — суточный индекс.

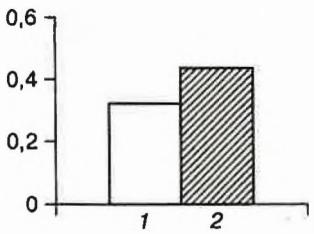


Рис. 2.

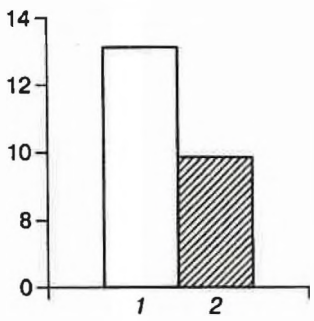


Рис. 4.

Рис. 2. Динамика гликемического индекса на фоне терапии моксонидином.

По оси ординат — гликемический индекс Si [в $мин^{-1}$ ($мкЕд/мл^{-1}$)].

Рис. 4. Динамика метаболита эндотелина-1 на фоне терапии моксонидином.

По оси ординат — эндотелин-1 (в фмоль/л).

Результаты

По данным офисного измерения, целевого уровня АД (< 140/80 мм рт. ст.) удалось достичь у 90% больных.

По результатам СМАД выявлено достоверное снижение средних и максимальных показателей САД и ДАД в дневное время (табл. 1). В ночное время суток не получено достоверной динамики показателей СМАД. Однако выявлено повышение суточного индекса САД, что говорит об улучшении суточного профиля САД на фоне приема моксонидина (табл. 2). Частота сердечных сокращений до начала терапии и после нее достоверно не менялась.

Через 12 нед от начала лечения отмечалось достоверное снижение массы тела (с 102,98 ± 18,98 до 99,1 ± 14,68 кг; $p < 0,05$) и ИМТ (с 37,13 ± 3,84 до 35,83 ± 3,24 $кг/м^2$, $p < 0,05$; рис. 1).

Уровень глюкозы натощак и через 2 ч после нагрузки глюкозой существенно не изменился, составив 6,41 ± 0,98 и 6,58 ± 1,33 ммоль/л и 10,65 ± 2,07 и 10,3 ± 4,1 ммоль/л соответственно. Не изменился и уровень инсулина, как натощак, так и постпрандиальный (21,72 ± 16,71 и 22,89 ± 21,53 мкМЕ/мл и 87,86 ± 56,68 и 63,89 ± 32,03 мкМЕ/мл соответственно). На фоне терапии моксонидином уровень Hb A_{1c} также значимо не изменился (6,29 ± 0,59 и 6,23 ± 0,36% соответственно). Однако гликемический индекс, характеризующий косвенно чувствительность тканей к инсулину, повысился с 0,32 ± 0,02 до 0,44 ± 0,08 ($p < 0,05$; рис. 2).

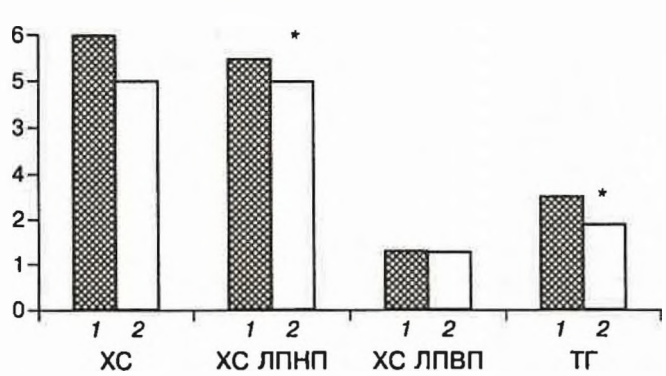


Рис. 3. Динамика показателей липидного обмена на фоне терапии моксонидином.

По оси ординат — уровень липидов (в ммоль/л).

Наряду с повышением показателя чувствительности к инсулину было выявлено достоверное улучшение показателей липидного обмена. Содержание общего ХС уменьшилось с 6,27 ± 1,24 до 5,8 ± 1,18 ммоль/л ($p < 0,05$), ХС ЛПНП — с 5,56 ± 1,08 до 5,03 ± 1,44 ммоль/л, ТГ — с 2,5 ± 1,58 до 1,92 ± 0,83 ммоль/л ($p < 0,05$). Уровень ХС ЛПВП на фоне терапии моксонидином не претерпел изменений (1,29 ± 0,33 и 1,27 ± 0,32 ммоль/л; рис. 3).

До лечения у всех больных уровни эндотелиальных вазоконстрикторов — эндотелина и тромбоксана B_2 были повышены по сравнению с нормой, а уровень вазодилататора NO_3 снижен.

Монотерапия моксонидином в течение 16 нед привела к достоверному снижению уровня эндотелина с 13,1 ± 1,7 до 9,9 ± 1,6 фмоль/мл ($p < 0,05$; рис. 4), тромбоксана с 356,7 ± 12,9 до 157,3 ± 13,2 пг/мл ($p < 0,05$; рис. 5) и повышению NO с 21,6 ± 1,7 до 32,0 ± 2,0 мкМ/л ($p < 0,05$; рис. 6).

Исходно у 11 больных зафиксировано повышение уровня лептина по сравнению с контрольной группой. Терапия моксонидином в течение 16 нед привела к снижению уровня лептина у 9 пациентов (до лечения 25,9 ± 1,7 нг/мл; $p < 0,05$; рис. 7) до 21,9 ± 1,5 нг/мл.

На протяжении всего исследования ни у одного пациента не отмечалось побочных реакций и нежелательных явлений. Переносимость моксонидина в дозе 0,4 мг в сутки была хорошей.

Обсуждение

Результаты исследования продемонстрировали достаточный гипотензивный эффект моксонидина и улучшение суточного профиля АД у больных с мягкой АГ, ожирением и нарушенной толерантно-

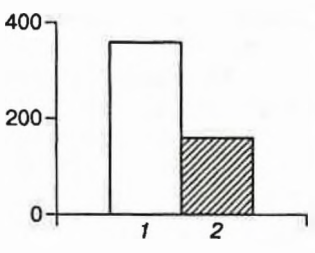


Рис. 5.

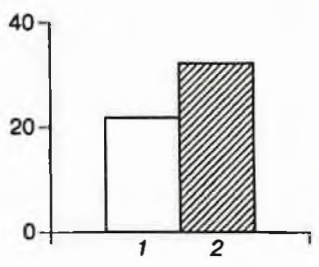


Рис. 6.

Рис. 5. Динамика метаболита тромбоксана B_2 на фоне терапии моксонидином.

По оси ординат — уровень тромбоксана B_2 (в пг/мл).

Рис. 6. Динамика метаболита NO на фоне терапии моксонидином.

По оси ординат — уровень NO (в мкМ/л).

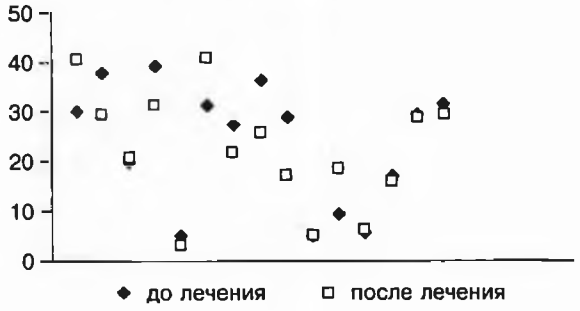


Рис. 7. Динамика уровня лептина на фоне монотерапии моксонидином ($p < 0,05$).

По оси ординат — уровень лептина (в нг/мл).

стью к углеводам. У 90% пациентов удалось достичь целевого уровня АД.

Клиническая эффективность моксонидина была доказана в ряде работ. Авторы одной из них сравнивали эффективность и переносимость данного препарата с гидрохлортиазидом; показано, что оба препарата одинаково эффективны в плане снижения АД [8]. При сравнении моксонидина с β-блокатором атенололом отмечено, что оба препарата эффективно снижали АД. Синдрома отмены не наблюдалось [17]. Сравнительное исследование моксонидина и каптоприла показало идентичную антигипертензивную активность исследуемых препаратов [12]. В другом рандомизированном двойном слепом исследовании моксонидин сравнивался с еще одним ингибитором АПФ — эналаприлом; оба препарата в равной степени эффективно снижали уровень клинического АД, а также среднесуточную величину АД, определяемую СМАД [13]. Проводили также сравнение моксонидина и антагониста кальция нифедипина в рандомизированном двойном слепом исследовании. Выявлено, что препараты схожи по антигипертензивной эффективности и числу ответивших на проводимое лечение [25]. Эффективность моксонидина была подтверждена также в долгосрочных исследованиях. В исследовании TOPIC показана высокая клиническая эффективность моксонидина, вызывавшего выраженное снижение АД более чем у половины пациентов при монотерапии [23].

В нашей работе не получено существенного изменения показателей углеводного обмена на фоне применения моксонидина, что, вероятно, связано с непродолжительным сроком лечения. В то же время значимо повысился индекс, характеризующий чувствительность тканей к инсулину, что вполне согласуется с имеющимися в литературе данными [15, 19]. Кроме того, выявлено достоверное улучшение показателей липидного обмена (снижение уровня общего ХС на 8%, ХС ЛПНП на 9% и ТГ на 24%), что может свидетельствовать о повышении чувствительности к инсулину. Данные литературы подтверждают аналогичное влияние моксонидина на липидный обмен [5].

Снижение ИР является важной особенностью действия моксонидина, помимо его основного — антигипертензивного эффекта. Данный препарат уменьшает симпатическую активность, что ведет к снижению гидролиза жиров, содержания жирных кислот, сокращению доли инсулинорезистентных (тип II B) волокон в скелетных мышцах, усилению переноса и метаболизма глюкозы [7]. Все это приводит к повышению чувствительности к инсулину и улучшению липидного профиля. Отсутствие значимой динамики глюкозы в крови на фоне терапии моксонидином у больных с МС в нашем исследовании при улучшении показателей чувствительности к инсулину и липидного обмена позволяет предположить, что липидный обмен гораздо быстрее реагирует на изменение чувствительности к инсулину, чем углеводный. Это предположение подтверждается нашими исследованиями, опубликованными ранее [3].

Способность моксонидина повышать чувствительность к инсулину была показана как в экспериментальных работах [9], так и в ряде клинических исследований [10]. Повышение чувствительности к инсулину на фоне лечения моксонидином было также продемонстрировано в работе В. А. Алмазова и соавт. [1, 2]. В многоцентровом исследовании "Алмаз" сравнивали эффективность моксонидина и метформина [4]; показано, что антигипертензивный препарат моксонидин повышал чувствительность к инсулину так же эффективно, как сахароснижающий метформин, чье действие непосредственно связано с воздействием на этот параметр (рис. 8).

Улучшение эндотелиальной функции, которое мы отметили у больных с МС, принимавших моксонидин, очевидно, обусловлено повышением чувствительности к инсулину. Известно, что эндотелий сосудов является главным органом-мишенью в условиях ИР. При этом уменьшается выработка эндотелием вазодилататора NO и повышается секреция вазоконстрикторов эндотелина и тромбоксана. В нашей работе на фоне применения моксонидина существенно снизился уровень вазоконстрикторов — метаболитов эндотелина и тромбоксана и повысился уровень метаболитов мощного вазодилататора — NO.

Повышением чувствительности к инсулину, вероятно, можно также объяснить достоверное снижение массы тела (в среднем на 2 кг), которое было отмечено как в нашей работе, так и в исследовании

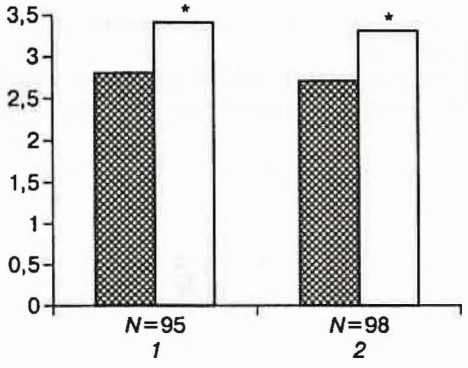


Рис. 8. Динамика индекса чувствительности к инсулину на фоне терапии моксонидином и метформином.

По оси ординат — индекс чувствительности к инсулину Si [в мин$^{-1}$ (мкЕд/мл)$^{-1}$]. *1* — метформин, *2* — моксонидин. Штрихованные столбики — до лечения, светлые — после лечения.

"Алмаз". Интересной находкой нашего исследования является то, что на фоне терапии моксонидином снижался уровень лептина — гормона, секретируемого адипоцитами висцеральной жировой ткани. Как известно, его уровень обычно повышается у больных с ожирением. Лептин, подобно инсулину влияя на центральные механизмы, приводит к повышению активности СНС. В многоцентровом исследовании CA-MUS, которое проводилось в Германии с участием более 4000 пациентов с МС и АГ, как и в нашем исследовании, наряду с повышением чувствительности к инсулину, улучшением показателей углеводного и липидного обмена отмечено снижение массы тела и уровня лептина [20, 21].

Данные исследования свидетельствуют о том, что терапия моксонидином у больных с ожирением, нарушенной толерантностью к глюкозе, дислипидемией и АГ, т. е. с МС, привела к достоверному повышению чувствительности к инсулину, улучшению большинства показателей липидного обмена, функции эндотелия сосудов, снижению массы тела и уровня лептина в крови наряду с хорошим гипотензивным эффектом. Другими словами, моксонидин оказал позитивное влияние практически на все проявления МС. Не случайно в рекомендациях Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике, профилактике и лечению АГ показанием к назначению моксонидина для терапии АГ является наличие у больных МС и сахарного диабета.

Выводы

1. Терапия моксонидином у больных с МС и АГ I стадии привела к улучшению суточного профиля и достижению целевого уровня АД (менее 140/90 мм рт. ст.) в 90% случаев.

2. На фоне терапии моксонидином значимо снизилась масса тела (в среднем на 2 кг за 16 нед) у больных.

3. Моксонидин вызвал повышение чувствительности периферических тканей к инсулину у пациентов с МС и АГ.

4. Лечение моксонидином сопровождалось у больных снижением уровня общего ХС на 8%, ХС ЛПНП на 9% и ТГ на 24%.

5. Применение моксонидина у данных больных привело к существенному улучшению функции эндотелия сосудов.

6. На фоне лечения моксонидином у больных с МС и АГ значимо снизился уровень лептина в крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Алмазов В. А., Благосклонная Я. В., Шляхто Е. В.* и др. // Тер. арх. — 1999. — № 10. — С. 20—24.
2. *Соколова Л. А., Русанов О. А., Винник Т. А.* и др. // Артериальная гипертензия. — 2000. — Т. 6, № 1. — С. 59—62.
3. *Чазова И. Е., Мычка В. Б.* Метаболический синдром. — М., 2004.
4. *Betteridge D. J.* Risk Management with Moxonidine: Focus on ALMAZ and other Trials in Insulin Resistance. — ESC 2004.
5. *Celermajer D. S., Sorensen K. E., Gooch V. M.* et al. // Lancet. — 1992. — Vol. 340. — P. 1111—1115.
6. *Ernsberger P., Damon T. H., Graff L. M.* et al. // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1993. — Vol. 624. — P. 172—192.
7. *Ernsberger P., Ishizuka T., Liu S.* et al. // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1999. — Vol. 288. — P. 139—147.
8. *Frei M., Kuster L., Gardosh von Krosigh P.-P., Koch H. F.* // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 1994. — Vol. 24. — Suppl. 1. — P. S25—S28.
9. *Freidman J. E., Ishizuka T., Liu S.* // Blood Pressure. — 1998. — Vol. 7. — Suppl. 3. — P. 32—39.
10. *Haenni A., Lithell H.* // J. Hypertens. — 1999. — Vol. 17. — Suppl. 3. — P. S29—S39.
11. *Julius S., Gudbrandsson T., Jamerson K.* et al. // J. Hypertens. — 1991. — Vol. 9. — P. 983—986.
12. *Kraft K., Vetter H.* // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 1994. — Vol. 24. — Suppl. 1. — P. S29—S33.
13. *Kuppers H. E.* et al. // J. Hypertens. — 1997. — Vol. 15. — P. 93—97.
14. *Likungu J., Molderings G. L., Gothert M.* // Nauyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. — 1996. — Vol. 354. — P. 689—692.
15. *Lithell H.* // Report from Satellite // Symposium of XIX Congress of European Society of Cardiology. — Stockholm, 1997. — P. 1—8.
16. *Mitrovic V.* et al. // Cardiovasc. Drug Ther. — 1991. — Vol. 5. — P. 967—972.
17. *Prichard B. N. C., Simmons R., Rooks M.* et al. // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 1992. — Vol. 24. — Suppl. 4. — P. S45—S49.
18. *Reaven G. M., Lithel H., Landsberg L.* // N. Engl. J. Med. — 1996. — Vol. 334. — P. 374—381.
19. *Rosen P., Ohly P., Gleichman H.* // J. Hypertens. — 1997. — Vol. 15. — Suppl. — P. S31—S38.
20. *Sanjuliani A. F., Genelhu de Abreu V., Ueleres Braga J.* et al. // J. Clin. Basic Cardiol. — 2004. — Vol. 7, N 1—4. — P. 19—25.
21. *Sharma A. M., Wagner T., Marsalek P.* // J. Hum. Hypertens. — 2004. — Vol. 18, N 9. — P. 669—675.
22. *Van Zwieten P. A.* // J. Hypertens. — 1997. — Vol. 15. — P. 117—125.
23. *Waters J., Ashford J., Jager B.* et al. // J. Clin. Basic Cardiol. — 1999. — Vol. 2. — P. 219—224.
24. *Wimann H.-J., Rudolph M.* // J. Cardiovacs. Pharmacol. — 1992. — Vol. 20. — P. S37—S41.
25. *Wolf R.* // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 1992. — Vol. 20. — Suppl. 4. — P. S42—S44.

Поступила 30.03.06

© А. Ф. БРОВКИНА, А. С. СТОЮХИНА, 2006

УДК 617.7-02:616.441-008.1]:006.72

А. Ф. Бровкина, А. С. Стоюхина

КЛАССИФИКАЦИЯ ЭНДОКРИННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИИ

Российская медицинская академия последипломного образования, Москва

На основании анализа описанных в литературе классификаций эндокринной офтальмопатии (ЭОП), собственного многолетнего наблюдения за такими больными авторы предлагают свою классификацию.
ЭОП подразделяется на 3 формы, 2 из которых могут быть охарактеризованы по степени компенсации патологического процесса и стадиям его развития (от активной клеточной инфильтрации до конечной стадии фиброза). Первая из форм (тиреотоксический экзофтальм) чаще регрессирует на фоне лечения эндокринологами. Отечный экзофтальм и эндокринная миопатия могут осложняться безвозвратной утратой зрительных функций и трудоспособности. Лечение таких больных должно осуществляться офтальмологами с обязательным учетом степени компенсации патологического процесса и стадии его развития.

Ключевые слова: *болезнь Грейвса, эндокринная офтальмопатия, гипертиреоз.*

Based on the analysis of the classifications of endocrine ophthalmopathy (EOP), described in the literature and their many years' own observations of patients with this condition, the authors propose their classification.
EOP is divided into 3 forms, 2 of which may be characterized by the compensation of a pathological process and by the stages of its development (from active cellular infiltration to end-stage fibrosis). The former of the forms (exophthalmic thyrotoxicosis) frequently regresses during endocrinological therapy. Edematous exophthalmos and endocrine myopathy may be complicated by an irreparable loss of visual functions and working capacity. These patients should be treated by ophthalmologists, by obligatorily keeping in mind the compensation of a pathological process and the stage of its development.

Key words: *Graves' disease, endocrine ophthalmopathy, hyperthyroidism.*

Частота ежегодного выявления нарушенной функции щитовидной железы (ЩЖ) у женщин составляет 16 случаев на 100 000 человек, среди мужчин этот показатель составляет 2,9 случая на 100 000. По данным C. Henzen [12], заболевание ЩЖ ежегодно диагностируют у 2% населения мира и в подавляющем большинстве случаев имеет место ее гипофункция.

Глазные симптомы при базедовой болезни впервые описал и предложил термин "эндокринная офтальмопатия" R. Graves в 1853 г. [11]. Развивается эндокринная офтальмопатия (ЭОП), как правило, у больных с гипертиреозом, но может иметь место при гипотиреозе, а также на фоне эутиреоидного состояния ЩЖ. Чаще всего заболевают в возрасте 35—59 лет.

В настоящее время болезнь Грейвса (диффузный токсический зоб) следует рассматривать как мультисистемное заболевание, представленное тремя группами изменений: нарушением функции ЩЖ, изменениями в мягких тканях орбиты и локальным претибиальным отеком.

Причина возникновения ЭОП остается до конца не известной, но большинство авторов расценивают ее как результат нарушения баланса сложных иммуногенетических механизмов. Доказан антигенспецифический механизм заболевания с инфильтрацией мягких тканей орбиты иммунокомпетентными клетками, преимущественно Т-лимфоцитами и в меньшей степени В-лимфоцитами [13]. Подтверждена возможность существования общего антигена для ЩЖ и орбитальных тканей, дающего перекрестные реакции. Существенную роль отводят также влиянию внешней среды, в частности таким факторам, как табачный дым [8]. Отягощенный семейный анамнез по аутоиммунной патологии ЩЖ удается отметить в 33% случаев [16]. При патогистологических исследованиях в орбитальной клетчатке и экстраокулярных мышцах, помимо отека, обнаруживают лимфоцитарную, макрофагальную, нейтрофильную инфильтрацию, присутствие плазматических, тучных и гистиоцитарных клеток. Эти изменения становятся причиной резкого увеличения мышечной и жировой массы в орбите.

Картина ЭОП представлена большим разнообразием комбинаций клинических симптомов, что затрудняет как диагностику самого патологическо-

Рис. 1. Классификация ЭОП.

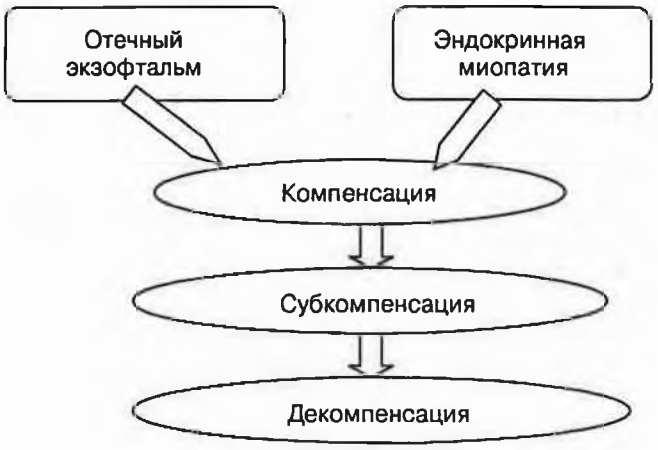


Рис. 2. Степени компенсации ЭОП.

го состояния, так и определение степени поражения мягких тканей орбиты, а следовательно, и определение стратегии лечения.

С целью разрешения указанных трудностей спустя 114 лет с момента описания клинической картины S. Werner разработал первую классификацию ЭОП. Автор предложил разделить все встречающиеся при ЭОП симптомы на 7 классов, начиная с 0-го класса, в котором отсутствуют признаки ЭОП, до 7-го класса, для которого характерна потеря зрительных функций. С учетом выраженности клинических симптомов выделены 4 степени тяжести патологического процесса. Классификация оказалась весьма громоздкой и не отвечала на все поставленные вопросы. Именно поэтому спустя несколько лет S. Werner [17] предложил новую классификацию (NOSPECS) (от 0-го до 6-го класса) с использованием буквенных символов для каждого класса, где:

N обозначает отсутствие жалоб;
O свидетельствует об их наличии;
S указывает на отек периорбитальных тканей;
P обозначает наличие экзофтальма;
E подтверждает вовлечение в патологический процесс экстраокулярных мышц;
C указывает на поражение роговицы;
S свидетельствует о снижении зрительных функций.

В каждом классе предусмотрены 3 степени выраженности симптомов.

Но и классификация NOSPECS подверглась критике. К примеру, при анализе 3-го класса предлагается считать отсутствием признака экзофтальма выстояние глаза на 20 мм или менее. Но у ряда лиц, даже в одной этнической группе, нормальным может быть выстояние глаза по экзофтальмометру Гертеля от 15 мм [1]. В таких случаях выстояние на 20 мм следует расценивать как экзофтальм. В 6-м классе минимальным поражением считается снижение зрения при деколорации или отеке диска зрительного нерва. Это неверно, так как оптическая нейропатия при отечном экзофтальме может сопровождаться нарушением зрительных функций уже на стадии расширения ретинальных вен [5].

В 1991 г. K. Boergen и C. Pickardt [9] предложили классифицировать ЭОП по буквенным символам (LEMO), используя первую букву обозначения зоны поражения: изменения век — L, наличие экзофтальма — E, поражение экстраокулярных мышц — M, изменения зрительного нерва — O. Однако и эта классификация не получила распространения. Несколько позднее Немецкая ассоциация эндокринологов-тиреоидологов предложила классифицировать ЭОП по наличию инфильтративных и неинфильтративных симптомов.

Комитет Американской, Европейской, Азиатской и Латино-американской ассоциаций эндокринологов-тиреоидологов предложил новую классификацию, в которой все признаки также систематизированы по классам с буквенной символикой. Структура предложенной классификации представлена следующим образом:

A — Веки
1. Максимальное расширение глазной щели.
2. Изменение дистанции верхнее веко—лимб.
3. Изменение дистанции нижнее веко—лимб.

B — Роговица
1. Кератит, выявляемый при окрашивании роговицы.

C — Мышцы глаза
1. Бинокулярное зрение в пределах 30°.
2. Признаки, выявляемые при исследовании по Меддоксу или альтернирующим способом.
3. Изменение внутриглазного давления при взгляде книзу.
4. Результаты КТ- и МРТ-исследований.

D — Экзофтальм
1. Спонтанные измерения экзофтальмометром Гертеля, с помощью МРТ-, КТ-исследований.

E — Изменения зрительного нерва
1. Нарушение центрального зрения.
2. Изменения поля зрения.
3. Изменение цветного зрения.

Рис. 3. Стадии ЭОП.

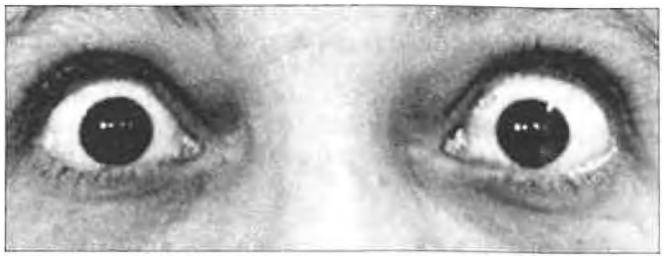


Рис. 4. Больная с тиреотоксическим экзофтальмом.

F — Активность процесса (учет каждого из следующих симптомов)
1. Спонтанные ретробульбарные боли.
2. Боли при движении глаз.
3. Гиперемия век.
4. Отек век.
5. Гиперемия конъюнктивы.
6. Хемоз.
7. Отек слезного мясца.

G — Оценка состояния самим пациентом
1. Время появления симптомов.
2. Состояние остроты зрения.
3. Наличие глазного дискомфорта.
4. Появление диплопии.

Трудно судить, насколько эти классификации облегчают работу эндокринолога, но с позиций офтальмолога они не выдерживают никакой критики. В целом в этих классификациях перечислены все те симптомы, которые могут встречаться при ЭОП, однако они громоздки, трудно запоминаемы и не дают возможность представить себе целостную картину заболевания и его особенности у конкретного больного, степень выраженности отдельных клинических симптомов и, наконец, стадию развития патологического процесса.

В 1983 г. [2] мы впервые высказали предположение о том, что ЭОП — диагноз собирательный, включающий 3 формы заболевания: тиреотоксический экзофтальм; отечный экзофтальм и эндокринную миопатию.

Эти формы в своем развитии динамичны. Как показывают многолетние наблюдения, ЭОП развивается в одном направлении: процесс начинается с тиреотоксического экзофтальма, который может перейти в отечный, и иногда завершается картиной эндокринной миопатии. Предлагаемая классификация представлена на рис. 1—3.

Тиреотоксический экзофтальм по сути — клинический синдром, развивающийся всегда на фоне тиреотоксикоза и включающий признаки повышенной сократительной способности мышцы Мюллера (ретракция верхнего века, расширение глазной щели, симптом Грефе, тремор закрытых век, редкое мигание, что создает иллюзию пристального взгляда). Положение глаза в орбите при тиреотоксическом экзофтальме всегда правильное, а экзофтальм имеет ложный характер (рис. 4). Отсутствуют органические изменения в мягких тканях орбиты, в том числе и в экстраокулярных мышцах. Тиреотоксический экзофтальм никогда не является причиной нарушения зрительных функций. Весь набор глазных симптомов чаще всего исчезает при нормализации функции ЩЖ. При этой форме ЭОП за счет редкого мигания у больных появляются жалобы, присущие начинающемуся синдрому сухого глаза, и в этот период пациенты нуждаются в симптоматической терапии (назначение слезозамещающих препаратов для увлажнения роговицы). У ряда больных тиреотоксический экзофтальм переходит в отечный.

Отечный экзофтальм развивается при появлении патологических изменений в мягких тканях орбиты (отек, клеточная инфильтрация) и представлен орбитальным симптомокомплексом. В зависимости от локализации первичного патологического очага отечный экзофтальм может иметь вариант миогенный (когда преимущественно страдают экстраокулярные мышцы), липогенный (когда в первую очередь страдает орбитальная клетчатка) и смешанный вариант, когда патологическим процессом охвачены и экстраокулярные мышцы глаза, и орбитальная клетчатка (рис. 5). Наиболее тяжелый прогноз имеют миогенная и смешанная формы отечного экзофтальма. Именно при отечном экзофтальме создаются условия для развития оптической нейропатии и (или) кератопатии, что сопровождается резким, порой необратимым снижением зрения. Стадия активной клеточной инфильтрации при отечном экзофтальме достаточно продолжительна (16—18 мес).

С учетом количества клинических симптомов, степени их выраженности целесообразно выделять степени компенсации (компенсированная, субкомпенсированная и декомпенсированная). В зарубежной литературе выделяют 3 степени активности процесса: легкая, умеренная и тяжелая [18]. С этим нельзя согласиться, так как и легкая степень активности (компенсированная), и тяжелая (декомпенсированная) могут быть обратимы при активном лечении, особенно у больных с недлительным анамнезом заболевания. Для каждой из предлагаемых нами степеней компенсации характерен набор клинических симптомов. Наиболее опасен для глаза субкомпенсированный и декомпенсированный отечный экзофтальм, который наблюдается в 6—10% случаев [6, 8]. Характер и интенсивность консервативной терапии определяются степенью компенсации и длительностью заболевания. В процессе лечения клинические симптомы отечного экзофтальма купируются у 60—75% больных. При отсутствии позитивного ответа на проводимое лечение, особенно если оно начато несвоевременно, отечный экзофтальм переходит в более спокойную форму — эндокринную миопатию.

Рис. 5. Больная с отечным экзофтальмом в стадии декомпенсации.

Рис. 6. Больной с эндокринной миопатией в стадии фиброза.

Эндокринная миопатия может развиваться как самостоятельная форма заболевания или быть исходом отечного экзофтальма. Как и при последнем, в основе появления клинических симптомов лежит клеточная инфильтрация экстраокулярных мышц, однако активная стадия более кратковременна и фиброз, приводящий к нарушению функции мышц, развивается спустя 3—4 мес от начала заболевания [3]. Первоначально страдает преимущественно нижняя прямая мышца. Резкого отека орбитальной клетчатки в активном периоде при эндокринной миопатии не наблюдается (рис. 6). В клинической картине на фоне экзофтальма преобладают ограничение подвижности глаза, его резкое отклонение в сторону наиболее пораженной мышцы, что сопровождается мучительным двоением. У таких больных зрительные оси обоих глаз находятся в разных плоскостях, они не в состоянии фиксировать взгляд на одном объекте, так как косоглазие сочетается с резким ограничением подвижности глаза.

В последние годы для оценки стадии патологического процесса предложено выделять активную (инфильтративную) и неактивную (неинфильтративную) формы офтальмопатии, относя к неинфильтративной форме и тиреотоксический экзофтальм [7, 10, 14]. Степень активности процесса предложено определять по балльной оценке (CAS — Clinical Activity Score), при этом учитываются: 1) спонтанная боль за глазом; 2) боли при взгляде вверх; 3) гиперемия конъюнктивы; 4) гиперемия век; 5) хемоз; 6) отек слезного мясца; 7) отек век [15]. По мнению W. Wiersinga и соавт. [18], при подсчете количества баллов отсутствует согласие в оценке различных симптомов и активности заболевания. Кроме того, балльная оценка позволяет лишь определить степень выраженности клинических симптомов (степень компенсации), на что мы указывали ранее [4].

Наличие клеточной инфильтрации проявляется активизацией клинических симптомов, обусловленных увеличением в объеме экстраокулярных мышц и орбитальной клетчатки. По мере увеличения длительности патологического процесса клеточная инфильтрация мягких тканей орбиты замещается фиброзной тканью. Это дало нам основание выделять стадию клеточной инфильтрации (активная стадия), стадию перехода в фиброз (промежуточная стадия) и стадию фиброза. Понятно, что характер лечения, ожидаемый терапевтический эффект зависят от морфологических изменений в мягких тканях орбиты. В период клеточной инфильтрации и перехода в фиброз (когда могут сохраняться очаги клеточной инфильтрации) можно прогнозировать положительный эффект от проводимой терапии. В стадии фиброза, характеризующегося грубыми фиброзными изменениями в экстраокулярных мышцах, ожидать уменьшения экзофтальма или улучшения функций экстраокулярных мышц на фоне только консервативной терапии не приходится.

Предлагаемая классификация (см. рис. 1—3) позволяет в каждом конкретном случае оценить состояние больного, определить стадию развития патологического процесса, планировать индивидуальное адекватное лечение и прогнозировать его исход. Прошедшие годы использования предлагаемой классификации при обследовании и лечении более 1200 больных с различными формами заболевания подтвердили справедливость такого деления ЭОП.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бровкина А. Ф.* Новообразования орбиты. — М., 1974.
2. *Бровкина А. Ф., Юровская Н. Н., Тютюнникова А. М.* // Вестн. офтальмол. — 1983. — № 1. — С. 40—43.
3. *Бровкина А. Ф., Наумова Т. П., Сорокина М. Н.* // Вестн. офтальмол. — 1985. — № 2. — С. 45—48.
4. *Бровкина А. Ф., Тютюнникова А. М.* // Вестн. офтальмол. — 1990. — № 2. — С. 16—19.
5. *Бровкина А. Ф., Вальский В. В., Пантелеева О. Г.* // Современные аспекты нейроофтальмологии. — М., 2000. — С. 9—15.
6. *Бровкина А. Ф.* Эндокринная офтальмология. — М., 2004.
7. *Меркулов И. И.* Клиническая офтальмология. — Харьков, 1971.
8. *Bartalena L., Pinchera A., Marcocci C.* // Endocrinol. Rev. — 2000. — Vol. 21, N 2. — P. 168—199.
9. *Boergen K., Pickardt C.* // Med. Welt. — 1991. — Bd 42. — S. 72—76.
10. *Dickinson J., Perros P.* // Clin. Endocrinol. — 2001. — Vol. 55. — P. 283—303.
11. *Graves R.* // London Med. Surg. J. — 1853. — Vol. 7. — P. 516.
12. *Henzen C.* // Schweiz. Runsch. Med. Prac. — 2003. — Bd 92, N 1—2. — S. 18—24.
13. *Heufielder A.* // Acta Med. Austriaca. — 2001. — Vol. 28, N 4. — P. 89—92.
14. *Mourits M., Koornneef L., Wiersinga W.* // Br. J. Ophthalmol. — 1989. — Vol. 73. — P. 639—644.
15. *Prummel M., Wiersinga W., Mourits M.* // Recent Developments in Greves Ophthalmopathy. — Boston, 2000. — P. 59—80.
16. *Prummel M., Bakker A., Wiersinga W.* et al. // Eur. J. Endocrinol. — 2003. — Vol. 148. — P. 491—495.
17. *Werner S.* // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1977. — Vol. 44. — P. 203—204.
18. *Wiersinga W., Prummel M.* // Endocrinol. Metab. Clin. N. Am. — 2000. — Vol. 29. — P. 297—319.

Поступила 26.12.05

© У. Ф. НАСИРОВА, 2006

УДК 616.441-008.64-053.31-07:616.441-008.1+616.89

У. Ф. Насирова

ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА ЙОДА НА СОСТОЯНИЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И НЕРВНО-ПСИХИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ ДЕТЕЙ С НЕОНАТАЛЬНЫМ ТРАНЗИТОРНЫМ ГИПОТИРЕОЗОМ

Ташкентский педиатрический медицинский институт Минздрава Республики Узбекистан

Обследовано 95 детей дошкольного возраста, проживающих в условиях дефицита йода. По результатам неонатального скрининга на врожденный гипотиреоз 79 детей имели показатели ТТГ 20—50 мкМЕ/мл и 16 детей — 51—100 мкМЕ/мл, которые нормализовались в течение первого полугодия жизни. Контрольную группу составили 35 детей аналогичного возраста, имевших показатели ТТГ до 20 мкМЕ/мл. Исследование функционального состояния щитовидной железы выявило в 16,8% случаев субклинический гипотиреоз, в 42,1% случаев имело место изолированное повышение свободной фракции трийодтиронина на фоне нормальных показателей ТТГ и свободного T_4. По результатам волюмометрии у 36,8% детей обнаружена гипоплазия щитовидной железы. По данным исследования, в основной группе у 38 (40,0%) детей коэффициент нервно-психического развития составил 90—110 баллов, у 24 (25,3%) — 80—89 баллов и у 33 (34,7%) — ниже 80 баллов. Выявленные изменения гипофизарно-тиреоидной системы у детей основной группы обусловливают риск развития тиреоидной патологии и нарушений в становлении интеллекта, что требует диспансерного наблюдения за такими детьми и медикаментозной коррекции функции щитовидной железы.

Ключевые слова: *щитовидная железа, неонатальный скрининг, транзиторный гипотиреоз, нервно-психическое развитие.*

Ninety-five preschool age children living in an iodine deficiency area were examined. Neonatal screening for congenital hypothyroidism showed that 79 and 16 children had a thyroid-stimulating hormone (TSH) level of 20-50 and 51-100 μIU/ml, respectively, which became normal in the first 6 months of life. A control group comprised 35 children of the same age who had a TSH level of as high as 20 μIU/ml. A study of thyroid function revealed subclinical hypothyroidism in 16.8% of cases and an isolated increase in free triiodothyronine with the normal levels of TSH and free T_4. Volumetry indicated detected thyroid hypoplasia in 36.8% of the children. In the study group, the neuropsychological development index was 90-110 scores in 38 (40.0%) children, 80-89 scores in 24 (25.3%), and less than 80 scores in 33 (34.7%). The found changes in the pituitary-thyroid system in the study group determine a risk for thyroid disease and cognitive defects, which requires a follow-up of such children and drug correction of thyroid function.

Key words: *thyroid, neonatal screening, transient hypothyroidism, neuropsychological development.*

Дефицит тиреоидных гормонов у плода и в раннем детском возрасте может привести к необратимому нарушению умственного, физического и полового развития. Данные литературы свидетельствуют о том, что на каждый случай клинически выраженного кретинизма в популяции имеется гораздо большее число людей, страдающих от субклинических эффектов йодного дефицита. Это обусловливает снижение интеллектуального потенциала всего населения, проживающего в зоне йодной недостаточности [9].

В условиях йодного дефицита существенно увеличивается число детей с риском развития болезней щитовидной железы в последующие годы. В настоящее время активно обсуждается вопрос о значимости неонатального транзиторного гипотиреоза (проявляющегося тиреоидной недостаточностью и компенсаторной гипертиреотропинемией [2, 5, 6]) для процессов адаптации новорожденных [1, 5] и детей первого года жизни [8] к окружающей среде.

В связи с этим возникает проблема гормональной коррекции транзиторной гипофункции щитовидной железы у новорожденных [1, 4, 5, 8].

В немногочисленных публикациях показано, что тиреоидный статус у детей, перенесших транзиторный гипотиреоз, характеризуется тенденцией к повышению уровня тиреотропного гормона (ТТГ). У детей, имевших в неонатальном периоде транзиторную гипертиреотропинемию, находят субклинический гипотиреоз [4, 9]. Особый интерес представляет изучение функционального состояния щитовидной железы и нервно-психического развития детей, перенесших в неонатальном периоде транзиторный гипотиреоз и проживающих в регионе со среднетяжелым йодным дефицитом.

Материалы и методы

В Республике Узбекистан в рамках реализации Государственной программы за 2000—2001 гг. в Ташкенте обследовано 168 000 новорожденных. Уровни ТТГ более 20 мкМЕ/мл были выявлены у 1761 ребенка.

Основную группу составили 95 детей 3—4-летнего возраста, у 79 (83,1%) из которых по результатам неонатального скрининга уровень ТТГ находился в пределах 20—50 мкМЕ/мл и у 16 (16,9%) — 51—100 мкМЕ/мл. У всех детей этой группы уровень ТТГ спонтанно нормализовался в течение 6 мес после рождения. Контрольную группу составили 35 детей аналогичного возраста, у которых уровень ТТГ в неонатальном периоде не достигал 20 мкМЕ/мл. На момент обследования дети обеих групп йодсодержащих препаратов не получали.

Определение ТТГ у новорожденных проводили иммунофлюоресцентным методом на аппарате "Делфия/Виктор" с использованием реагентов "Delfia Neonatal hTSH" фирмы "Wallak" (Финляндия) в Республиканском скрининг-центре Ташкента. В дальнейшем определяли уровни ТТГ (референтные значения 0,4—5,0 мкМЕ/мл), свободного тироксина — fT_4 (референтные значения 12—22 пмоль/л) и трийодтиронина — fT_3 (референтные

Таблица 1

Функциональное состояние гипофизарно-тиреоидной системы у детей ($M \pm m$)

Группа обследованных	ТТГ, мкМЕ/мл	fT_4, пмоль/л	fT_3, пмоль/л	ИК	ТИ
Контрольная ($n = 35$)	3,13 ± 0,12	19,22 ± 0,51	6,68 ± 0,26	3,01 ± 0,13	14,70 ± 0,65
Основная ($n = 95$)	3,26 ± 0,14	21,71 ± 1,65	8,29 ± 0,11*	2,71 ± 0,22	16,24 ± 0,75

Примечание. * — $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

значения 2,8—7,1 пмоль/л) с последующим вычислением интегральных показателей — тиреоидного индекса — ТИ (7,04—27,2) и индекса компенсации — ИК (1,37—4,43). Все определения проводили с использованием реактивов Wallak на аппарате "Делфия/Виктор".

Помимо клинического обследования, проводили УЗИ щитовидной железы по общепринятой методике на аппарате "Echo Blaster 128" с высокочастотным линейным датчиком (7,5 МГц). Для расчета тиреоидного объема — ТО (в мл, $см^3$) измеряли длину (l), ширину (w) и толщину (t) каждой доли (в см), полученные значения подставляли в формулу Брунна:

$$ТО = ([l \cdot w \cdot t] \text{ левой доли} + [l \cdot w \cdot t] \text{ правой доли}) \cdot 0,47.$$

С помощью измерительной ленты у обследуемого ребенка измеряли окружность грудной клетки на выдохе (в см). Нормативы объема щитовидной железы оценивали в соответствии с данными М. И. Пыкова и К. В. Ватолигиной [7].

Для определения коэффициента нервно-психического развития (КПР) детей использовался тест "Гном", разработанный в Научном центре психического здоровья РАМН, состоящий из 5 субтестов, отражающих основные нервно-психические функции: сенсорную, моторную, эмоциональную, познавательную и поведенческую. Полученные результаты оценивали в баллах. За норму принимали КПР в пределах 90—110 баллов; дети с КПР 80—89 баллов были отнесены в группу риска. Ребенок с показателем КПР ниже 80 баллов нуждался в консультации специалиста (невропатолога, логопеда).

Результаты обрабатывали с помощью пакета прикладных программ Statgraphics. Данные представлены в виде средних величин и ошибки средних ($M \pm m$). Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Средние значения ТТГ в сыворотке крови у детей обеих групп не различались ($p > 0,05$). Не выявлено различий между группами и по ТИ и ИК ($p > 0,05$) (табл. 1).

У 79 (83,2%) детей основной группы определялось эутиреоидное состояние (ТТГ 0,4—5,0 мкМЕ/мл). Повышение ТТГ (от 5,0 до 10,0 мкМЕ/мл) отмечалось у 16 (16,8%) детей. Уровень fT_4 колебался в пределах 21,71 ± 1,65 пмоль/л в основной и 19,22 ± 0,51 пмоль/л в контрольной группе. Изолированное повышение fT_3 выявлено у 40 (42,1%) детей основной и у 8 (22,8%) детей контрольной группы ($p < 0,001$) на фоне нормальных значений ТТГ.

У каждого 6-го ребенка, перенесшего неонатальный транзиторный гипотиреоз, был выявлен субклинический гипотиреоз. Изолированное повышение fT_3 на фоне нормальных значений ТТГ и fT_4 у каждого 2-го ребенка основной группы можно расценивать как компенсаторную реакцию на недостаток йода в окружающей среде, что согласуется с данными литературы [3, 10].

По данным УЗИ, ТО в контрольной группе находился в пределах 1,09 ± 0,03 мл. Средние значения ТО у детей основной группы (0,87 ± 0,04 мл) были существенно меньше ($p < 0,05$). Гипоплазия одной из долей щитовидной железы была обнаружена у 6 детей основной группы.

У каждого 3-го ребенка основной группы значение ТО не достигало нижней границы этого показателя в контрольной группе.

Анализ нервно-психического развития детей, перенесших транзиторный гипотиреоз (табл. 2), выявил статистически значимую разницу как по сумме баллов, так и по отдельным субтестам: познанию, поведению, сенсорике, эмоциональному восприятию ($p < 0,001$).

На выполнение задания по складыванию разрезанных картинок (познание), концентрации внимания (поведение) дети, перенесшие транзиторный гипотиреоз, тратили больше времени и набирали меньше баллов, чем здоровые. Кроме того, дети из основной группы быстрее утомлялись и отвлекались, а также чаще совершали ошибки. Сочетание нарушенного внимания и повышенной истощаемости свидетельствовало об инертности психической деятельности детей, перенесших транзиторный гипотиреоз. В основной группе детей отмечались речевые нарушения, проявляющиеся у 7 (7,3%) дислалией и у 3 (3,1%) дизартрией, а также меньшим словарным запасом. У 38 (40,0%) детей основной группы КПР колебался в пределах 90—110 баллов, у 24 (25,3%) — 80—89 и у 33 (34,7%) был ниже 80 баллов.

В условиях сохраняющегося йоддефицита проблема транзиторного неонатального гипотиреоза

Таблица 2

Нервно-психическое развитие детей (в баллах; $M \pm m$)

Показатель	Группа		p
	контрольная ($n = 35$)	основная ($n = 95$)	
КПР	94,26 ± 0,62	80,13 ± 1,91	< 0,001
Сенсорика	18,71 ± 0,36	15,17 ± 0,52	< 0,001
Моторика	18,00 ± 0,47	16,78 ± 0,59	> 0,05
Эмоциональное восприятие	19,51 ± 0,24	15,84 ± 0,49	< 0,001
Познание	18,37 ± 0,28	15,45 ± 0,54	< 0,001
Поведение	19,66 ± 0,17	16,92 ± 0,48	< 0,001

приобретает особую социальную значимость, так как способствует ухудшению соматического здоровья и снижению интеллектуальных возможностей детского организма [2]. Компенсаторная реакция щитовидной железы характеризуется повышением уровня fT_3, что обусловливает нормальный уровень ТТГ, однако подобное состояние позволяет отнести этих детей к группе высокого риска по развитию тиреоидной патологии.

Разработка мер профилактики и коррекции интеллектуальных нарушений у детей дошкольного возраста, перенесших транзиторный неонатальный гипотиреоз, требует знания структуры и характера дефицита познавательных функций. Объективная количественная оценка нервно-психического развития детей позволяет прогнозировать интеллектуальное развитие ребенка, а также дифференцировать вклад различных факторов риска в развитие нарушений интеллекта у детей, испытывающих длительное воздействие йодного дефицита.

Диспансерное наблюдение за детьми, перенесшими неонатальный транзиторный гипотиреоз, с коррекцией йодной недостаточности и использованием препаратов, влияющих на метаболические и когнитивные функции центральной нервной системы, должно снизить риск развития тиреоидной патологии и улучшить интеллектуальные возможности ребенка.

Выводы

1. У 16,8% детей, перенесших неонатальный транзиторный гипотиреоз, выявлены изменения функционального состояния щитовидной железы.

2. Повышение значения fT_3 у 42,1% детей свидетельствует о компенсаторной реакции щитовидной железы на скрытый йоддефицит.

3. Показатели нервно-психического развития у 60% детей, перенесших неонатальный транзиторный гипотиреоз, имели более низкие значения по сравнению с таковыми у здоровых сверстников.

4. У детей, перенесших неонатальный гипотиреоз, обнаружен парциальный дефицит когнитивных функций, проявляющийся более низкими показателями по отдельным субтестам: познанию, поведению, сенсорике и эмоциональному восприятию.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ашурова Л. З., Убайдуллаева Н. Б., Шарипова Ф. К., Зуфарова Д. С.* // Врач общей практики. — 2002. — № 3. — С. 40—42.
2. *Герасимов Г. А., Фадеев В. В., Свириденко Н. Ю.* и др. // Простое решение сложной проблемы. — М., 2002.
3. *Долгов В. В., Шабалова И. П., Гигель Е. П., Шилин Д. Е.* // Лабораторная диагностика заболеваний щитовидной железы. — М., 2002. — С. 98.
4. *Кисилева Е. В., Самсонова Л. Н., Ибрагимова Г. В.* и др. // Пробл. эндокринол. — 2003. — № 5. — С. 30—32.
5. *Коваленко Г. В., Петрова И. Н.* // Педиатрия. — 2001. — № 3. — С. 25—28.
6. Профилактика и лечение йододефицитных заболеваний в группах повышенного риска. Пособие для врачей / Дедов И. И., Мельниченко Г. А., Трошина Е. А. и др. — 2004.
7. *Пыков М. И., Ватолигина К. В.* // Детская ультразвуковая диагностика. — М., 2001. — С. 556—591.
8. *Щеплягина Л. А.* // Рос. педиатр. журн. — 1999. — № 4. — С. 11.
9. *Glinoer D., Delange F.* // Thyroid. — 2000. — Vol. 10. — P. 871—887.
10. Normal Reference Laboratory Values // N. Engl. J. Med. — 1998. — Vol. 339. — P. 1063—1072.

Поступила 17.02.06

© А. Ф. ВЕРБОВОЙ, Е. Н. АБДАЛКИНА, 2006

УДК 616.127-005.4-06:616.153.455-008.61]-07

А. Ф. Вербовой, Е. Н. Абдалкина

ВЛИЯНИЕ НАРУШЕННОГО УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА НА ТЕЧЕНИЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Кафедра эндокринологии (зав. — проф. Н. И. Вербовая) Самарского государственного медицинского университета

У больных ИБС с периодически регистрируемой нарушенной гликемией натощак частота развития нарушенной толерантности к глюкозе составила 41,6%, сахарного диабета 2-го типа — 17,8%. У больных ИБС с предшествующим нарушением углеводного обмена отмечена гиперинсулинемия натощак и через 2 ч после нагрузки глюкозой. Выявлена неоднозначность изменений С-пептида у этих больных через 2 ч после нагрузки глюкозой, установлены изменения липидного спектра.

Ключевые слова: *нарушенная толерантность к глюкозе, сахарный диабет 2-го типа, ожирение, ИМТ, сердечно-сосудистые заболевания, инсулин, С-пептид, липидный спектр.*

In patients with coronary heart disease (CHD) and periodically recorded impaired fasting glycemia, the incidence of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes mellitus was 61.6 and 17.8%, respectively. CHD patients with a history of carbohydrate metabolic disturbance were observed to have hyperinsulinemia on fasting and 2 hours after glucose load. In these patients, ambiguous changes were found in C-peptide 2 hours following glucose load. Changes were ascertained in the lipid spectrum.

Key words: *impaired glucose tolerance, type 2 diabetes mellitus, obesity, body mass index, cardiovascular diseases, insulin, C-peptide, lipid spectrum.*

Проблема ранней диагностики, лечения и профилактики сахарного диабета вышла по значимости на одно из первых мест в мире. Это связано с широкой распространенностью сахарного диабета, тяжестью его осложнений, часто приводящих к инвалидизации и высокой смертности больных [1, 6, 9]. При этом практически отсутствуют данные об особенностях течения ишемической болезни серд-

ца (ИБС) у больных с предшествующим нарушением углеводного обмена различной степени.

Цель исследования — изучить влияние предшествующего нарушения углеводного обмена разной степени на течение ИБС, разработать алгоритм ведения таких больных.

Материалы и методы

Отобрано 167 историй болезни больных ИБС, которые в 1996 г. находились на лечении в Областном кардиологическом диспансере (ОКД). У всех пациентов за время лечения неоднократно регистрировали уровень сахара в крови натощак в пределах 5,7—6,7 ммоль/л, при этом ни одному из больных не был поставлен диагноз сахарного диабета 2-го типа (СД2).

Установлено, что смертность среди этих больных за прошедшие 6 лет составила 13,2% (в 18 случаях — от острого инфаркта миокарда — ИМ, в 4 — от острого нарушения мозгового кровообращения). В 2002 г. 101 человек из этой группы был обследован повторно. Средний возраст обследуемых составил 60,7 ± 2,45 года. Среди больных было 56 мужчин и 45 женщин.

Группу контроля составили 30 пациентов с ИБС (средний возраст 55,7 ± 2,68 года), находящихся на лечении в ОКД в 1996 г., у которых за время пребывания в стационаре не наблюдалось случаев повышения глюкозы крови натощак. В 2002 г. установить связь удалось только с 22 больными, судьба 8 человек неизвестна (выяснить уровень смертности среди больных контрольной группы не удалось). Укороченный тест толерантности к глюкозе (ТТГ) не выявил нарушений углеводного обмена среди пациентов группы контроля. Лица контрольной и основной групп были сопоставимы по возрасту.

У больных обеих групп исследовали уровень гликированного гемоглобина (Hb A_{1c}), проводили ТТГ, в ходе которого натощак и через 2 ч после нагрузки глюкозой определяли уровни иммунореактивного инсулина (ИРИ) и С-пептида, коэффициенты отношения глюкоза/ИРИ и С-пептид/ИРИ, исследовали натощак липидный спектр: общий холестерин (ХС), триглицериды (ТГ), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) и липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП), коэффициент атерогенности. Всем пациентам проводили электрокардиографическое исследование.

По результатам ТТГ выделено 3 группы больных: 1-я группа — 41 пациент с нормальной толерантностью к глюкозе, 2-я группа — 42 пациента с нарушенной толерантностью к глюкозе, 3-я группа — 18 больных СД2.

Результаты исследования статистически обработаны. Определяли: среднюю арифметическую (M) и среднюю ошибку средней (m). Достоверность различий средних величин оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа с применением метода Шеффе для множественных сравнений. Оценку достоверности качественных показателей в сравниваемых группах проводили по критерию χ^2. Для оценки корреляционных взаимоотношений использовали линейный корреляционный анализ с расчетом коэффициента корреляции Пирсона (r). Значимость корреляционной связи определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Различия между выборками принимались как достоверные при $p < 0,05$. Математическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistica, версия 5,0.

Результаты и их обсуждение

Выявлено, что по сравнению с группой контроля и 1-й у больных 2-й группы отмечены достоверно более высокие уровни сахара в крови как натощак, так и через 2 ч после нагрузки глюкозой, одновременно с этим значимо увеличивается и Hb A_{1c} (табл. 1). У больных СД2 (3-я группа) показатели глюкозы крови натощак и через 2 ч после нагрузки глюкозой, а также Hb A_{1c} значимо превышали не только данные контрольной и 1-й групп, но и показатели больных 2-й группы ($p < 0,05$).

У пациентов 1, 2 и 3-й групп наблюдалось достоверно более высокое содержание ИРИ натощак и

Таблица 1

Показатели углеводного обмена у больных ИБС

Показатель	Контрольная группа (n = 22)	1-я группа (n = 41)	2-я группа (n = 42)	3-я группа (n = 18)
Hb A_{1c}, %	6,10 ± 0,13	6,22 ± 0,1	7,43 ± 0,15*, **	9,03 ± 0,74*, **, ^
Гликемия натощак, ммоль/л	4,45 ± 0,11	4,41 ± 0,07	5,84 ± 0,10*, **	7,17 ± 0,51*, **, ^
Гликемия через 2 ч после нагрузки, ммоль/л	6,31 ± 0,28	5,23 ± 0,17	8,83 ± 0,26*, **	12,25 ± 0,43*, **, ^
ИРИ натощак, мМЕ/мл	8,55 ± 0,78	11,34 ± 0,38*	31,1 ± 2,06*, **	12,8 ± 0,97*, ^
ИРИ через 2 ч, мМЕ/мл	19,1 ± 2,42	39,9 ± 2,51*	61,3 ± 5,2*, **	41,27 ± 6,6*, ^
С-пептид натощак, нмоль/мл	1,43 ± 0,09	1,13 ± 0,15	1,29 ± 0,15	1,10 ± 0,16
С-пептид через 2 ч, нмоль/мл	2,94 ± 0,23	3,05 ± 0,41	4,44 ± 0,28*, **	1,85 ± 0,14*, **, ^
Глюкоза/ИРИ натощак	0,54 ± 0,07	0,37 ± 0,03*	0,21 ± 0,05*, **	0,53 ± 0,06*, **, ^
Глюкоза/ИРИ через 2 ч	0,34 ± 0,05	0,13 ± 0,04*	0,13 ± 0,02*	0,27 ± 0,03*, **, ^
С-пептид/ИРИ натощак	0,17 ± 0,006	0,10 ± 0,008*	0,04 ± 0,007*, **	0,08 ± 0,011*, **, ^
С-пептид/ИРИ через 2 ч	0,15 ± 0,006	0,08 ± 0,007*	0,07 ± 0,004*, **	0,05 ± 0,005*, **, ^

Примечание. Здесь и в табл. 2 $p < 0,05$: * — по сравнению с группой контроля; ** — по сравнению с 1-й группой; ^ — по сравнению со 2-й группой.

Таблица 2

Показатели липидного обмена у больных ИБС

Показатель	Контрольная группа (n = 22)	1-я группа (n = 41)	2-я группа (n = 42)	3-я группа (n = 18)
Общий ХС, мг%	305,5 ± 5,04	357,8 ± 6,2*	365,5 ± 7,2*	401,1 ± 11,43*, **, ^
ЛПВП, мг%	44,5 ± 1,8	40,9 ± 1,6	40,7 ± 1,54	37,4 ± 1,62*
ЛПНП, мг%	239,8 ± 5,04	278,1 ± 6,2*	280,0 ± 7,2*	313,1 ± 11,3*, **, ^
ЛПОНП, мг%	23,2 ± 2,34	37,2 ± 1,97*	42,4 ± 2,1*, **	51,7 ± 1,9*, **, ^
ТГ, мг%	119,2 ± 12,26	188,3 ± 11,5*	210,1 ± 11,4*	256,3 ± 10,2*, **, ^
Коэффициент атерогенности	6,08 ± 0,31	7,95 ± 0,45*	8,32 ± 0,48*	10,1 ± 0,86*, **, ^

через 2 ч после нагрузки глюкозой, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Во 2-й группе повышение содержания ИРИ натощак и через 2 ч было более значительным и по сравнению с 1-й группой ($p < 0,05$). В 3-й группе концентрация ИРИ находилась на уровне показателей больных 1-й группы и была достоверно ниже, чем у пациентов 2-й группы ($p < 0,05$).

Оценивая изменения уровня С-пептида при проведении ТТГ, необходимо отметить, что данный показатель натощак не имел достоверных отличий от контроля ни в одной из групп. Во 2-й группе содержание С-пептида через 2 ч достоверно увеличивалось по сравнению с контрольной и 1-й группами ($p < 0,05$), а в 3-й — значимо снижалось по отношению ко всем группам ($p < 0,05$). Во 2-й группе достоверное увеличение уровней ИРИ и С-пептида свидетельствует о сохраненной способности β-клеток более или менее адекватно отвечать на стимул глюкозой, что сохраняет углеводный обмен на стадии нарушенной толерантности, но по мере усугубления нарушений углеводного обмена содержание ИРИ и С-пептида снижается и становится недостаточным для того, чтобы поддерживать нормальный углеводный обмен, что и проявляется развитием СД2 в 3-й группе больных. Гиперинсулинемия, не соответствующая содержанию С-пептида, может быть объяснена тем фактом, что иммунореактивным методом мы определяем не только активный инсулин, но и его предшественников (проинсулин), его неактивные (аномальные) формы.

Оценка показателя С-пептид/ИРИ при проведении ТТГ выявила уменьшение данного коэффициента в 1-й группе по сравнению с контрольной ($p < 0,05$), а во 2-й и 3-й группах это снижение было достоверным и по отношению к 1-й группе ($p < 0,05$). Полученные результаты, по-видимому, свидетельствовали о нарастании тканевой инсулинорезистентности по мере усугубления нарушений углеводного обмена.

Для диагностики скрытой инсулинорезистентности у пациентов с ИБС, артериальной гипертензией (АГ), абдоминальным ожирением, не страдающих СД2, используется коэффициент глюкоза (в ммоль/л)/ИРИ (в мМЕ/мл) натощак и через 2 ч после нагрузки глюкозой. Снижение этого показателя ниже 0,33 является достаточно достоверным критерием инсулинорезистентности [3, 7]. У больных 1-й и 2-й групп показатель глюкоза/ИРИ был значительно ниже, чем в контрольной, причем у больных 2-й группы он достоверно снижался натощак и по сравнению с больными 1-й группы. Анализируя полученные данные, необходимо отметить, что у пациентов этих двух групп показатель глюкоза/ИРИ становится ниже контрольных значений, что обусловлено, по-видимому, прогрессирующим снижением чувствительности тканей к инсулину. У больных СД2 использование данного коэффициента нецелесообразно из-за характерных для пациентов этой группы гипергликемии и пониженного содержания инсулина. Таким образом, необходимо констатировать, что у больных ИБС со скрытыми нарушениями углеводного обмена для выявления инсулинорезистентности можно рассчитывать коэффициент глюкоза/ИРИ.

Анализируя показатели обмена (табл. 2) в группах обследованных больных, мы отметили четкую тенденцию к нарастанию дислипидемии по мере ухудшения углеводного обмена. В 1-й и 2-й группах нарушение липидного обмена сопровождалось достоверным увеличением всех показателей, кроме ЛПВП, уровень которых имел лишь тенденцию к снижению. У пациентов 3-й группы наблюдалось увеличение всех показателей липидного обмена по сравнению не только с контрольной, но и с 1-й и 2-й группами, а ЛПВП достоверно снижались только относительно контрольной. Кроме того, у больных с нарушенным углеводным обменом (2-я и 3-я группы) увеличение ЛПОНП было значимым и по сравнению с 1-й группой. Выявленные нами изменения липидов у больных всех групп, особенно у пациентов 3-й группы, свидетельствуют о выраженных атерогенных свойствах сыворотки. В литературе имеются указания на то, что гиперинсулинемия ответственна за нарушения в системе липопротеидов и в первую очередь ТГ [4]. Снижение уровня глюкозы при уменьшении массы тела и увеличении физической нагрузки сопровождается нормализацией липидного спектра. Анализируя в целом течение ИБС за период 1996—2002 гг., необходимо отметить, что количество больных, перенесших ИМ к 2002 г., было достоверно выше во 2-й и 3-й группах по сравнению с контрольной. Количество перенесенных ИМ на 1 больного в контрольной группе составило 0,77, в 1-й — 0,83, во 2-й — 1,26, а в 3-й — 1,4. При этом в 1996 г. различий между группами в числе пациентов, имеющих ИМ в анамнезе, не было.

Кроме того, во 2-й и 3-й группах ишемический инсульт перенесли 9,5 и 22,2% больных соответственно. Таким образом, число перенесенных ИМ было значительно больше в группах с нарушенным углеводным обменом и выраженной гиперинсули-

немией. Наши данные подтверждают мнение исследователей, считающих, что уровень инсулина в плазме крови независимо от других факторов риска связан с перенесенным ИМ в прошлом [8].

АГ выявлялась значительно чаще у больных 2-й и 3-й групп, чем у больных контрольной. Следует отметить, что в контрольной и 1-й группах преобладали лица с пограничной и мягкой формами АГ, а во 2-й и 3-й — с умеренной и тяжелой гипертензией. Проведенные в последнее 10-летие исследования свидетельствуют о том, что у лиц с нарушенным углеводным обменом АГ диагностируется значительно чаще, чем у пациентов с нормальными показателями глюкозы в крови [2, 5]. Анализируя развитие АГ в течение 6 лет, мы установили, что в контрольной группе количество случаев АГ увеличилось на 4,6%, в 1-й — на 5%, во 2-й — на 28,6% ($p < 0,05$), в 3-й — на 33,2% ($p < 0,05$).

В развитии сердечно-сосудистых осложнений при нарушении углеводного обмена существенное значение придается ожирению, особенно абдоминальному. В контрольной группе избыточная масса тела и ожирение выявлены у 40,9% больных, в 1-й — у 41,5%, во 2-й — у 66,7% ($p < 0,05$), в 3-й — у 77,8% пациентов ($p < 0,05$). Показатели окружности талии (ОТ) и бедер (ОБ), отношения ОТ/ОБ были достоверно выше во 2-й и 3-й группах по сравнению с контрольной.

Для получения более полной информации об особенностях связи между изучаемыми показателями нами проведен корреляционный анализ, в ходе которого в 1-й группе обнаружена прямая корреляция уровня ИРИ натощак с индексом массы тела (ИМТ) ($r = 0,47$; $p < 0,002$) и отношением ОТ/ОБ ($r = 0,38$; $p < 0,02$), концентрации С-пептида натощак и через 2 ч с ИМТ ($r = 0,43$, $p < 0,01$; $r = 0,43$, $p < 0,01$). Отношение ОТ/ОБ находилось в обратной зависимости от уровня ЛПВП ($r = -0,34$; $p < 0,05$). Во 2-й группе гликемия через 2 ч после нагрузки коррелировала с ИМТ ($r = 0,52$; $p < 0,001$) и содержанием С-пептида натощак ($r = 0,45$; $p < 0,01$). Уровень ЛПВП находился в обратной зависимости от коэффициента атерогенности ($r = -0,59$; $p < 0,001$) и содержания С-пептида как натощак, так и через 2 ч после нагрузки ($r = -0,45$, $p < 0,01$; $r = -0,59$, $p < 0,001$). В 3-й группе уровень С-пептида через 2 ч и содержание Hb A_{1c} коррелировали с ИМТ ($r = 0,79$, $p < 0,001$; $r = -0,58$, $p < 0,02$). Отношение ОТ/ОБ находилось в прямой зависимости от концентрации ИРИ через 2 ч ($r = 0,78$; $p < 0,001$) и ЛПВП ($r = -0,61$; $p < 0,02$).

Полученные данные свидетельствуют, что эпизоды нарушенной гликемии натощак у больных ИБС можно рассматривать как маркеры не только высокого риска развития СД2 в дальнейшем, но и отягощенного течения ИБС, АГ, острых сосудистых катастроф. Данные пациенты подлежат обязательному диспансерному наблюдению у эндокринологов и кардиологов как группа повышенного риска развития СД2 и более тяжелого течения ИБС и АГ, частого развития ИМ и ишемического инсульта. В обследование таких пациентов целесообразно включить проведение ТТГ дважды в год, регулярное исследование липидного спектра (1 раз в год), а также проведение эхокардиографического исследования. В комплексном лечении этих пациентов необходимо широко использовать немедикаментозные подходы, такие как изменение образа жизни, диетические рекомендации, направленные на нормализацию массы тела, липидного и углеводного обмена на фоне адекватных физических нагрузок.

Выводы

1. У больных ИБС с периодически регистрируемой нарушенной гликемией натощак через 6 лет в 41,6% случаев развилась нарушенная толерантность к глюкозе и в 17,8% — СД2.

2. Для больных ИБС с предшествующим нарушением углеводного обмена по сравнению с пациентами с нормальным углеводным обменом характерна гиперинсулинемия натощак и через 2 ч после нагрузки глюкозой. Наиболее значительное повышение содержания ИРИ натощак и через 2 ч после нагрузки было выявлено у лиц с нарушенной толерантностью к глюкозе.

3. Уровень С-пептида у больных ИБС с нарушенным углеводным обменом не изменялся натощак и различался через 2 ч после нагрузки глюкозой: в группе больных ИБС с нарушенной толерантностью к глюкозе он достигал максимальных значений, тогда как у пациентов с ИБС и СД2 достоверно снижался.

4. Для больных ИБС с нарушенным углеводным обменом характерно более значительное повышение уровней общего ХС, ЛПНП, ЛПОНП, ТГ в сыворотке крови, коэффициента атерогенности по сравнению с больными ИБС с нормальным углеводным обменом. Данные изменения нарастают пропорционально степени нарушения углеводного обмена.

5. Особенностями течения ИБС у больных с нарушенным углеводным обменом является сочетание ее с АГ, абдоминальным ожирением, частым развитием острого ИМ и ишемического инсульта по сравнению с пациентами с ИБС и нормальным углеводным обменом. Распространенность и тяжесть АГ, частота развития ИМ и инсульта увеличиваются по мере усугубления нарушений углеводного обмена.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Дедов И. И., Фадеев В. В.* Введение в эндокринологию. — М., 1998.
2. *Дедов И. И., Шестакова М. В.* Диабетическая нефропатия. — М., 2000.
3. *Перова Н. В., Метельская В. А., Оганов Р. Г.* // Кардиология. — 2001. — № 3. — С. 3—9.
4. *Соколов Е. Н.* Сахарный диабет и атеросклероз. — М., 1994.
5. *Сунцов Ю. И., Жуковский Г. С., Мазовецкий А. Г.* и др. // Кардиология. — 1984. — № 11. — С. 36—39.
6. *Чазова Т. Е., Мычка В. Б.* // Артериальная гипертензия. — 2002. — Т. 8, № 1. — С. 68—73.
7. *Caro F.* // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1991. — Vol. 73. — P. 691—695.
8. *Solymoss B. Ch., Marcil M., Chaour M.* et al. // Am. J. Cardiol. — 1995. — Vol. 76. — P. 1152—1156.
9. *Zimmet P.* // Diabetologia. — 1999. — Vol. 42. — P. 499—518.

Поступила 01.11.05

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2006

УДК 616.453-007.61-092:612.05

А. Н. Тюльпаков[1], Н. Ю. Калинченко[1], М. А. Карева[1], В. А. Петеркова[1], Т. В. Семичева[1], П. С. Свердлова[2], П. М. Рубцов[2]

ЛИПОИДНАЯ ГИПЕРПЛАЗИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ, ОБУСЛОВЛЕННАЯ РАНЕЕ НЕИЗВЕСТНЫМИ МУТАЦИЯМИ ГЕНА STAR

[1]Институт детской эндокринологии ГУ Эндокринологический научный центр РАМН,
[2]Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

Липоидная гиперплазия надпочечников (ЛГН) является наиболее тяжелым вариантом врожденной дисфункции коры надпочечников (ВДКН). При данном типе ВДКН имеется дефект на уровне превращения холестерина в прегненолон, вследствие чего нарушено образование всех стероидных гормонов как в надпочечниках, так и гонадах. В основе большинства случаев заболевания лежат дефекты гена STAR, кодирующего стероидогенный острый регуляторный белок (StAR). В отечественной литературе описания случаев ЛГН до настоящего времени отсутствовали. Диагноз ЛГН был нами установлен у трех генетических девочек в возрасте 2,3 года, 6 мес и 7 мес, у которых было правильное строение наружных гениталий и заболевание манифестировало проявлениями первичного гипокортицизма в возрасте 21, 2 и 10 дней соответственно. При гормональном обследовании было констатировано отсутствие повышения уровней кортизола и 17-гидроксипрогестерона в ответ на стимуляцию АКТГ. При молекулярно-генетическом обследовании были выявлены следующие дефекты гена STAR: P129ΔC/W250X, IVS5 — 1G > C и W147X соответственно. Мутации P129ΔC, IVS5 — 1G > C и W147X ранее описаны не были. Данные наблюдения подчеркивают необходимость включения ЛГН в алгоритм дифференциальной диагностики ВДКН у детей с нормальным женским строением наружных гениталий. С учетом отсутствия гормональных маркеров заболевания ведущее место в диагностике ЛГН должен занимать молекулярно-генетический анализ.

Ключевые слова: *врожденная дисфункция коры надпочечников, липоидная гиперплазия надпочечников, синдром Прадера.*

Lipoid adrenal hyperplasia (LAH) is a most severe type of congenital adrenal cortical dysfunction (CACD). In this type of CACD, there is defect in the conversion of cholesterol to pregnenolone, as a consequence the production of all steroid hormones was impaired in both the adrenals and gonads. Defects of the STAR gene encoding for a steroidogenic acute regulatory (StAR) protein underlie the disease in most cases. Until the present time, there have been no reports on cases of LAH in the Russian literature. The diagnosis of LAH was established by the authors in three genetic girls aged 2.3 years, 6 and 7 months who had a normal structure of the external genitalia and in whom the disease was marked by manifestations of primary hypoadrenocorticism at the age of 21, 2, and 10 days, respectively. A hormonal study failed to show elevated levels of cortisol and 17-hydroxyprogesterone in response to adrenocorticotropic hormone stimulation. A molecular genetic study revealed the following STAR gene defects: P129ΔC/W250X, IVS5-1G, and W147X, respectively. P129ΔC, IVS5, and W147X mutations have not been earlier described. The data of the observation emphasizes the need of including LAH into the algorithm of differential diagnosis of CACD in children with the normal female structure of the external genitalia. The molecular genetic analysis should be prominent in diagnosing LAH, by taking into account the lack of hormonal markers of the disease.

Key words: *congenital adrenal cortical dysfunction, lipoid adrenal hyperlasia, Prader's syndrome.*

Врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН) — это группа заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования, в основе которых лежит нарушение одного из этапов биосинтеза кортизола в коре надпочечников. Общим в патогенезе данных состояний является снижение секреции кортизола, ведущее к гиперпродукции АКТГ и, как следствие, развитию гиперплазии коры надпочечников и накоплению метаболитов, предшествующих дефектному этапу стероидогенеза. Наиболее частым и хорошо известным клиницистам вариантом ВДКН является дефицит 21-гидроксилазы, в то время как другие формы встречаются значительно реже и потому менее изучены.

При наличии ферментативного блока на начальном этапе биосинтеза стероидов, превращении холестерина в прегненолон, развивается наиболее тяжелый по клиническому течению вариант ВДКН — липоидная гиперплазия надпочечников (ЛГН), или синдром Прадера. При данном дефекте нарушается биосинтез всех стероидных гормонов как в коре надпочечников, так и в гонадах. Заболевание проявляется тяжелой надпочечниковой недостаточностью, как правило, манифестирующей в течение первых дней жизни. Кроме того, вследствие нарушения продукции половых стероидов в гонадах во внутриутробном периоде при генетически детерминированном мужском поле не происходит маскулинизации наружных гениталий, что приводит к развитию ложного мужского гермафродитизма. У девочек наружные гениталии не изменены, однако в пубертате отмечаются проявления первичного гипогонадизма.

До настоящего времени описания пациентов с ЛГН в отечественной литературе отсутствовали. В данной статье мы впервые представляем результаты обследования и лечения троих детей с данным заболеванием. Диагноз во всех трех случаях был верифицирован по результатам молекулярно-генетического обследования — выявления мутаций в гене STAR, кодирующем острый стероидогенный регулятор (белок StAR).

Материалы и методы

Гормональные исследования. Определение 17-ОН-прогестерона (17-ОН-П), альдостерона и дегидроэпиандростеронсульфата (ДГЭА-С) в сыворотке крови проводили с использованием радиоиммунного анализа, как описано ранее [1]. АКТГ и активность ренина в плазме (АРП) определяли с помощью РИА с использованием коммерческих

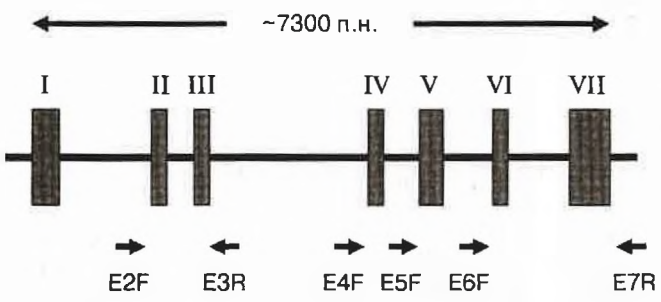


Рис. 1. Схема гена STAR с обозначением олигонуклеотидов, использованных при ПЦР и секвенировании. Экзоны пронумерованы римскими цифрами.

наборов. Определение кортизола в сыворотке проводили на хемилюминесцентном анализаторе "Vitros ECi" ("Ortho-Clinical Diagnostics").

Молекулярно-генетические исследования. Геномную ДНК выделяли из периферических лейкоцитов с использованием стандартных методов. С помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) амплифицировали 2 фрагмента геномной ДНК, охватывающие основную часть кодирующей последовательности гена STAR: фрагмент E2-3 (803 п. н., экзоны 2—3) и фрагмент E4-7 (2310 п. н., экзоны 4—7; рис. 1). После электрофореза в 1% агарозном геле продукты ПЦР выделяли и очищали с использованием набора "MinElute PCR Purification Kit", а затем секвенировали на автоматическом секвенаторе "ABI PRISM Model 3100" ("Applied Biosystems", США). Секвенирование ДНК проводили в Межинститутском Центре коллективного пользования "ГЕНОМ" Института молекулярной биологии РАН (http://www.genome-centre.narod.ru/), организованном при поддержке РФФИ (грант № 00-04-55000).

При проведении ПЦР и последующем секвенировании соответствующих экзонов и окружающих участков интронов использовали следующие олигонуклеотиды (см. рис. 1):

E2F, 5'-GTCCCTGCTAGAATCCTGTGTG-3';
E3R, 5'-GACTGCTGCATGAGACAGGA-3';
E4F, 5'-TGCTGGGATTATAGGCGTGAAC-3';
E5F, 5'-GTGAGCAAAGTCCAGGTGCG-3';
E6F, 5'-GCCAGTGCAAGAGAGAACTCG-3';
E7R, 5'-ATGAGCGTGTGTACCAGTGCAG-3'.

Клиническое описание случаев. Пациент Л., 2,3 года. Ребенок от 3-й беременности, протекавшей с токсикозом первой половины. Роды 2-е, срочные (от 1-й беременности здоровый мальчик, 5 лет). Родители здоровы, брак неродственный. При рождении: масса тела 4100 г, длина — 52 см, зарегистрирована в женском поле. Закричала сразу, из роддома выписана на 4-е сутки. В возрасте 3 нед отмечены обильные срыгивания, рвота фонтаном. При госпитализации по месту жительства отмечены симптомы обезвоживания, гиперпигментация, нормальное женское строение наружных гениталий, гипонатриемия (124 ммоль/л) и гиперкалиемия (7,8 ммоль/л). Диагностирована надпочечниковая недостаточность, и назначена заместительная терапия глюкокортикоидами (кортеф 1,25 мг/сут) и минералокортикоидами (кортинефф 0,35 мг/сут), при которой отмечен положительный эффект. На фоне указанной терапии при обследовании в Эндокринологическом научном центре (ЭНЦ) РАМН в возрасте 5 мес выявлены нормальные уровни электролитов крови (калий — 4,3 ммоль/л, натрий — 140 ммоль/л), низкий уровень кортизола (< 36 нмоль/л, норма 28—670 нмоль/л), нормальный уровень 17-ОН-П (0,8 нмоль/л, норма 0,8—6,2 нмоль/л) и повышенный уровень АКТГ (114,6 пг/мл, норма 10—60 пг/мл).

Повторно обследована в ЭНЦ РАМН в возрасте 1 года. При ультразвуковом исследовании (УЗИ) малого таза выявлена матка; при УЗИ надпочечников: правый 1,4 × 0,8 см, левый 1,4 × 1,0 см. После 2-дневного перерыва в лечении кортефом была проведена проба с аналогом АКТГ пролонгированного действия синактеном-депо (0,5 мл внутримышечно) и получены следующие результаты: кортизол (базальный, через 12 и 24 ч) — ниже границы чувствительности метода во всех точках (норма для базального уровня 30—670 нмоль/л); ДГЭАС (базальный, через 12 и 24 ч) — 260, 272 и 71 нмоль/л соответственно (норма для базального уровня 227—5100 нмоль/л); 17-ОН-П (базальный, через 12 и 24 ч) — 0,07; 0,1 и 0,08 нмоль/л соответственно (норма для базального уровня 3,2—9,0 нмоль/л). Таким образом, результаты пробы с синактеном-депо убедительно свидетельствовали о наличии первичной надпочечниковой недостаточности. Ребенку была рекомендована заместительная терапия кортефом (2,4 мг/сут) и кортинеффом (0,12 мг/сут). На такой терапии ребенок поступил для контрольного обследования в возрасте 2,3 года. Учитывая наличие врожденной первичной надпочечниковой недостаточности у девочки с нормальным строением наружных гениталий, дифференциальный диагноз проводили между ЛГН и аутосомно-рецессивным вариантом врожденной гипоплазии надпочечников.

При секвенировании гена STAR выявлены 2 гетерозиготных мутации. В экзоне 4 обнаружена делеция одного из нуклеотидов в кодоне CCC, кодирующем пролин (P) в положении 129 (рис. 2), приводящая к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона в позиции 185. Вторая мутация представляет собой замену G на A в кодоне триптофана (TGG) в положении 250 (рис. 3), в результате которой образуется стоп-кодон TAG (W250; см. таблицу).

Пациент Ф., 8 мес. Ребенок от 2-й беременности. Роды 2-е, на 38-й неделе. При рождении: масса тела — 3500 г, длина — 53 см, зарегистрирована в женском поле. Родители здоровы, брак близкородственный (родители — двоюродные брат и сестра). От 1-й беременности родился ребенок с женским строением наружных гениталий и кариотипом 46XY, у которого с первых дней жизни отмечался синдром потери соли и был достигнут положительный эффект на лечении глюко- и минералокортикоидами. Ребенок погиб в возрасте 6 мес на фоне криза надпочечниковой недостаточности, возникшего в результате погреш-

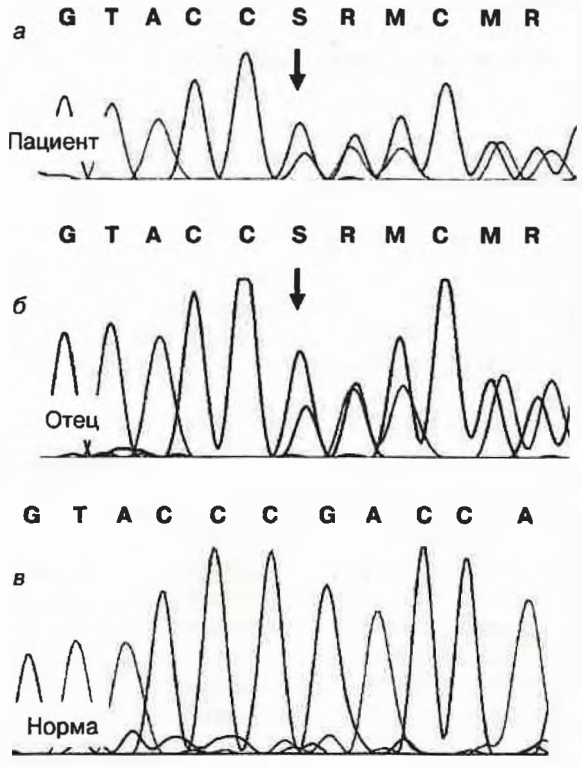


Рис. 2. Фрагменты последовательности экзона 4 гена STAR.

а — гетерозиготная делеция одного из нуклеотидов С в кодоне P129 у пациента Л.; *б* — аналогичная мутация в данном положении у отца пациента; *в* — нормальная последовательность. Стрелка указывает позицию мутации. Обозначения нуклеотидов: S—C или G; R—A или G; M—C или A.

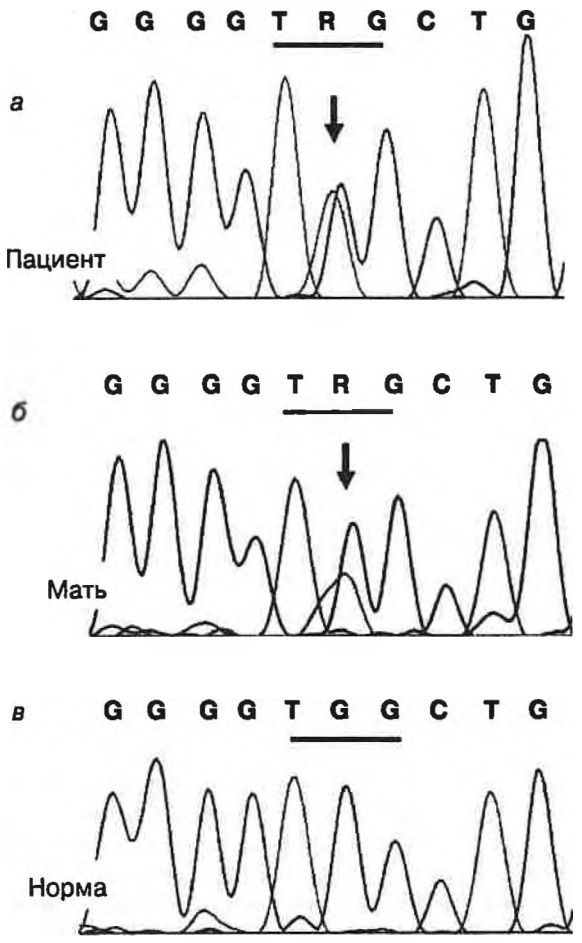


Рис. 3. Фрагменты последовательности экзона 7 гена STAR.

а — гетерозиготная замена G > A в кодоне триптофана (TGG) в положении 250 с образованием стоп-кодона (W250X) у пациента Л.; *б* — аналогичная мутация в данном положении у матери пациента; *в* — нормальная последовательность. Стрелка указывает позицию мутации. Обозначения нуклеотидов: R—A или G.

ности в заместительной гормональной терапии. У настоящего пациента в 1-е сутки жизни развились судороги, а спустя день появились обильные срыгивания, рвота, потеря массы тела. При обследовании по месту жительства: кариотип 46XX, гиперкалиемия и нормонатриемия (в выписке показатели не указаны), повышение уровня АКТГ в плазме (98,2 при норме 0—46 пг/мл) и низкие уровни кортизола, тестостерона и 17-ОН-П, гиперплазия надпочечников по данным УЗИ. С 3 нед жизни назначена заместительная терапия таблетированным гидрокортизоном 15 мг/сут и кортинеффом 0,05 мг/сут, на фоне которой отмечен положительный эффект в виде урежения срыгиваний и прибавки в массе.

При поступлении в ЭНЦ РАМН в возрасте 8 мес: рост — 66 см (SDS — 1,1), масса тела 8 кг, симптомы передозировки глюкокортикоидов (матронизм, гипертрихоз), гиперпигментации нет, по внутренним органам без патологии, частота сердечных сокращений 100—120 в 1 мин, артериальное давление 80/40 мм рт. ст., щитовидная железа не увеличена, наружные половые органы по женскому типу, половое развитие Таннер 1 (допубертатное). При обследовании: калий — 5,3 ммоль/л, натрий — 140 ммоль/л, АКТГ — 9,3 пг/мл (норма 10—60 пг/мл), АРП — 6,0 нг/мл/ч (норма 0,5—1,9 нг/мл/ч), ДГЭАС — 118 нмоль/л (норма 227—5100 нмоль/л).

Учитывая семейный анамнез (сибс с ложным мужским гермафродитизмом и надпочечниковой недостаточностью) и наличие врожденного первичного гипокортицизма у девочки с нормальным строением наружных гениталий была заподозрена ЛГН.

При молекулярно-генетическом исследовании у пациента выявлена гомозиготная мутация в гене STAR — замена нуклеотида G на C в последнем положении акцепторного сайта сплайсинга в интроне 5 (IVS5 — 1G > C). Данная мутация приводит к изменению последовательности интрон-экзонного стыка cctggtag/G на cctggtac/G (консенсусная последовательность: Y_nNYAG/G, где Y—C или T, N — любое основание) и, вероятно, к исключению экзона 6 в процессе сплайсинга (рис. 4, см. также таблицу). Мать и отец являются гетерозиготными носителями данной мутации.

Пациент Т., 7 мес. Фенотипическая девочка, кариотип 46 XX, направлена в ЭНЦ РАМН в возрасте 4 мес. Из анамнеза: девочка родилась смуглая, с 10-х суток появились обильные срыгивания, перестала прибавлять в массе. При обследовании выявлено: гиперкалиемия, гипонатриемия и низкий уровень кортизола, в связи с чем назначена заместительная терапия глюко- и минералокортикоидами. Близкородственный брак родители отрицают. В отделении ЭНЦ РАМН на фоне уменьшения доз глюко- и минералокортикоидов у девочки появились вялость, срыгивания, гиперкалиемия и гипонатриемия. При этом отмечалось снижение уровня 17-ОНР, значительное повыше-

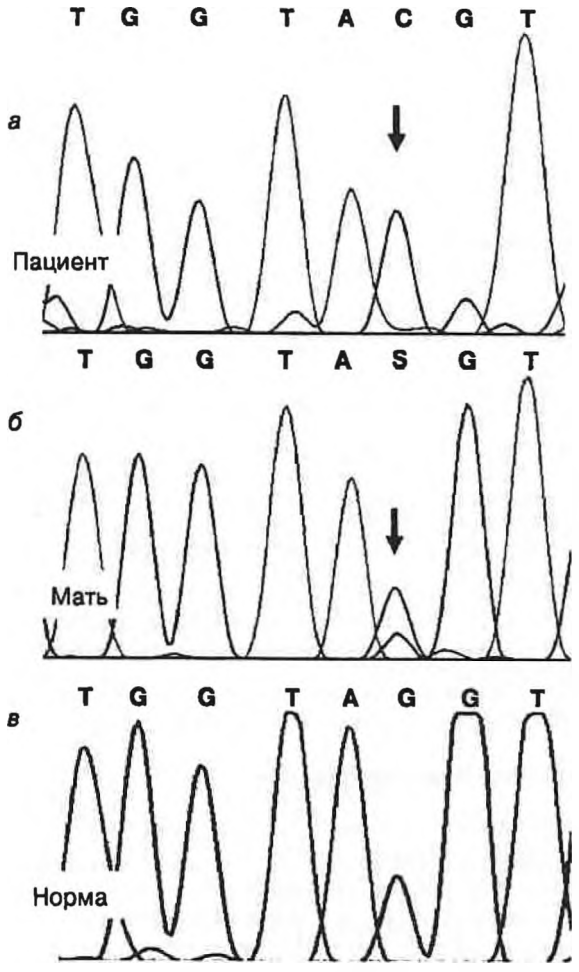


Рис. 4. Мутация в гене STAR — замена нуклеотида G на C. Фрагменты последовательности интрона 5 и экзона 6 гена STAR: *а* — гомозиготная замена G > C в последнем положении акцепторного сайта сплайсинга в интроне 5 (IVS5 — 1G > C) у пациента Ф.; *б* — гетерозиготная мутация в данном положении у матери пациента; *в* — нормальная последовательность. Стрелка указывает позицию мутации. Обозначения нуклеотидов: S—C или G.

Характеристика пациентов с ЛГН

Пациент	Кариотип	Этническая принадлежность семьи	Возраст клинической манифестации	Дефекты гена STAR
Л.	46XX	Русские	3 нед	P129ΔC/W250X
Ф.	46XX	Азербайджанцы	1-е сутки	IVS5 — 1G > C
Т.	46XX	Армяне	10-е сутки	W147X

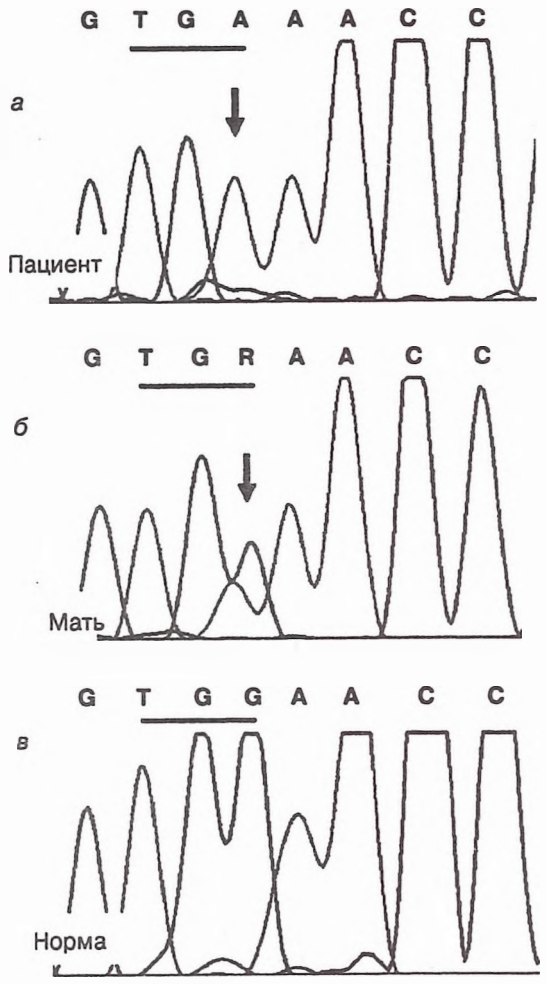


Рис. 5. Фрагменты последовательности экзона 4 гена STAR.

а — гомозиготная нонсенс-мутация — замена G > A в кодоне триптофана в положении 147 с образованием стоп-кодона (W147X) у пациента Т.; *б* — гетерозиготная мутация в данном положении у матери пациента; *в* — нормальная последовательность. Стрелка указывает позицию мутации. Обозначения нуклеотидов: R—A или G.

ние АКТГ (более 3000 пг/мл) и АРП (17 нг/мл/ч). При УЗИ малого таза выявлены матка и яичники, при УЗИ надпочечников никаких видимых изменений обнаружено не было. На фоне назначения глюко- и минералокортикоидной терапии нормализовались показатели электролитов, уровень АКТГ снизился до 1000 пг/мл, АРП — до 10 нг/мл/ч.

При молекулярно-генетическом исследовании гена STAR у девочки была выявлена гомозиготная нонсенс-мутация — замена нуклеотидного основания G на A в кодоне триптофана в положении 147, что приводит к образованию стоп-кодона TGA (W147X). Мать и отец оказались гетерозиготными носителями данной мутации (рис. 5, см. также таблицу).

Результаты и их обсуждение

Термин "липоидная гиперплазия надпочечников" был предложен в 1920 г. P. Brutschy [4], описавшим результаты аутопсии ребенка в возрасте 2 нед с ложным мужским гермафродитизмом. Однако еще в 1913 г. A. Tilp опубликовал протокол вскрытия новорожденного, где упоминается "выраженное накопление жира в надпочечниках". Позже сходные описания по данным аутопсии были опубликованы в 1948 г. J. Zahn [31] и в 1955 г. A. Sandison [27]. Между тем именно в работах A. Prader и H. Gurtner [24], а также A. Prader и R. Siebenmann [25] было высказано предположение о причинах данного заболевания и указано на его отличия от других форм ВДКН. Первоначально A. Prader и R. Siebenmann [25] предположили, что в основе ЛГН лежит нарушение одного из ранних этапов стероидогенеза: превращения холестерина в прегненолон или прегненолона в прогестерон. Когда 5 лет спустя, в 1962 г. A. Bongiovanni [2] описал первые три случая дефицита 3b-HSD, при котором нарушено превращение прегненолона в прогестерон, стало очевидно, что эти 2 формы ВДКН отличаются друг от друга. В 1962 г. A. Prader and G. Anders [26] в статье, посвященной генетике ЛГН, предположили, что заболевание связано с нарушением отщепления боковой цепи холестерина. В последующем было получено экспериментальное подтверждение наличия дефекта именно на этом начальном этапе стероидогенеза [10, 16].

Первый этап биосинтеза стероидных гормонов, превращение холестерина в прегненолон, катализируется ферментом P450scc (фермент отщепления боковой цепи холестерина, 20,22-десмолаза), кодируемым геном CYP11A1 [8, 22]. Между тем исследование гена CYP11A у группы пациентов с липоидной гиперплазией коры надпочечников не выявило в нем никаких изменений, что указывало на иной механизм развития синдрома Прадера [18]. В 1994 г. B. Clark и соавт. [9] клонировали из клеток Лейдига мыши кДНК белка StAR (Steroidogenic Acute Regulatory Protein — стероидогенный острый регуляторный белок), который отвечает за лимитирующую стадию стероидогенеза, регулируя транспорт холестерина с наружной на внутреннюю мембрану митохондрии, где и происходит первый этап биосинтеза стероидов. Физическое разъединение субстрата (холестерина) и фермента (P450ssc) ограничивает синтез стероидов в отсутствии стресса, тогда как стимуляцию надпочечников АКТГ ведет в первую очередь к быстрому увеличению уровня матричной РНК StAR [5, 11]. Вновь синтезированный предшественник белка StAR, имеющий мол. массу 37 кД, сразу же связывается с митохондриями и встраивается в мембрану. Соединяя наружную и внутреннюю мембраны митохондрии, белок StAR образует канал, по которому холестерин транспортируется в митохондрии [11].

В 1995 г. T. Sugawara и соавт. [28] клонировали ген *STAR* человека и картировали его на коротком плече хромосомы 8 (8p11.2). Они показали, что ген общей длиной 8 т. п. н. состоит из 7 экзонов и на 80—90% гомологичен генам STAR других млекопитающих (овца, свинья, корова, мышь, крыса). Этой же группой было установлено, что ген *STAR* экспрессируется в таких стероидогенных тканях, как надпочечники и гонады [28]. В 1995 г. D. Lin и соавт. [19] впервые описали мутации в гене *STAR*, приводящие к образованию стоп-кодонов у трех пациентов с ЛГН. В 1997 г. была создана мышь с нокаутированным геном *STAR* [6]. При рождении животные оказались абсолютно здоровыми, за исключением того, что все они были фенотипически женского пола, что указывало на нарушение внутриутробного синтеза тестостерона. Вскоре после рождения StAR-дефицитные мышата погибали от дистресс-синдрома или гиповолемии, предположительно, вследствие надпочечниковой недоста-

точности. При вскрытии в надпочечниках и яичках было обнаружено накопление липидов, тогда как яичники оставались интактными, что объясняется отсутствием в них активного стероидогенеза в период внутриутробной жизни [6].

К настоящему времени известно более 30 различных мутаций, приводящих к нарушению функции белка StAR и развитию ЛГН [3, 22]. Всего в литературе имеются описания свыше 70 случаев ЛГН [7], более половины из которых диагностированы в Японии и Корее. В этих двух странах частота носительства мутации Q258X в гене *STAR* составляет 1:200 и ЛГН является второй по частоте распространенности после дефицита 21-гидроксилазы формой ВДКН [23]. До недавнего времени все случаи ЛГН были ассоциированы именно с мутациями в гене *STAR*, тогда как дефектов в гене CYP11A1, первоначальном гене-кандидате при ЛГН, обнаружено не было. W. Miller [20] даже высказал предположение, что дефекты CYP11A1 несовместимы с вынашиванием беременности, так как P450scc необходим для синтеза прогестерона плацентой, тогда как ген белка StAR не экспрессируется в этом стероидогенном органе. Между тем в течение последних нескольких лет были опубликованы данные о нескольких случаях ЛГН, обусловленных дефектами гена CYP11A1 [14, 15, 29].

Дефект белка StAR приводит к тотальному нарушению синтеза всех классов стероидов как в надпочечниках, так и в гонадах [3]. В развитии патологического процесса имеют значение два фактора: дефицит субстрата, необходимого для начала синтеза стероидов, и повреждение функционально активной стероидогенной ткани за счет стимуляции тропными гормонами с постепенным накоплением внутри клетки сложных эфиров холестерина [3]. Отсутствие синтеза минерало- и глюкокортикоидов манифестирует симптомами надпочечниковой недостаточности уже в течение первых двух недель жизни, а иногда (как у одного из наших пациентов) и в течение первых нескольких суток после рождения. Отмечаются срыгивание, рвота, анорексия, потеря массы тела, пигментация кожи. Возможны также проявления синдрома дыхательных расстройств, что, по-видимому, можно отнести к неспецифичным проявлениям гипогликемии вследствие тяжелого дефицита глюкокортикоидов. При биохимическом анализе крови определяются гиперкалиемия, гипонатриемия, гипохлоремия, метаболический ацидоз, гипогликемия и повышение уровня мочевины. Повышена экскреция натрия с мочой. Вследствие нарушения синтеза тестостерона в яичках уже на ранних этапах эмбриогенеза у генетических мальчиков не происходит маскулинизации наружных гениталий, но при этом, однако, происходит регресс дериватов женских внутренних гениталий (ложный мужской гермафродитизм). У девочек формирование наружных и внутренних гениталий не нарушено. Гипофункция яичников может проявиться лишь на фоне стимуляции тропными гормонами в пубертатном периоде [12, 30].

Диагноз липоидной гиперплазии коры надпочечников ставится на основании сочетания клиники надпочечниковой недостаточности, ложного мужского гермафродитизма (у генетических мальчиков) и выраженного снижения секреции всех стероидных гормонов. Уровни глюкокортикоидов, минералокортикоидов и андрогенов в крови и моче (как базальные, так и после стимуляции АКТГ), как правило, не поддаются детекции. Ряд авторов, однако, отмечают, что в течение первых месяцев жизни иногда может сохраняться остаточная секреция кортизола и альдостерона [21]. С возрастом, по мере накопления холестерина, кора надпочечников полностью утрачивает функциональную активность. Так как специфические гормональные маркеры при данном варианте ВДКН отсутствуют, решающим в постановке диагноза является молекулярно-генетическое исследование. У обследованных нами пациентов было выявлено 4 различных мутации в гене STAR, характер каждой из которых (мутация сплайсинга, нонсенс-мутации, делеция одного нуклеотида) позволяет прогнозировать полное выпадение функции кодируемого белка. Одна из четырех мутаций (W250X), выявленная нами в русском семье, была описана ранее также у пациента славянского происхождения, у которого симптомы надпочечниковой недостаточности манифестировали к концу 1-й недели жизни [17]. Три другие мутации (P129ΔC, IVS5 — 1G > C и W147X) выявлены нами впервые.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Тюльпаков А. Н., Калинченко Н. Ю., Калинченко С. Ю.* и др. // Пробл. эндокринол. — 2001. — № 1. — С. 20—26.
2. *Bongiovanni A. M.* // J. Clin. Invest. — 1962. — Vol. 41. — P. 2086—2092.
3. *Bose H. S., Sugawara T., Strauss J. F. III, Miller W. L.* // N. Engl. J. Med. — 1996. — Vol. 335, N 25. — P. 1870—1878.
4. *Brutschy P.* // Frankfurt. Z. Pathol. — 1920. — Bd 24. — S. 203—240.
5. *Caron K. M., Ikeda Y., Soo S. C.* et al. // Mol. Endocrinol. — 1997. — Vol. 11, N 2. — P. 138—147.
6. *Caron K. M., Soo S. C., Wetsel W. C.* et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1997. — Vol. 94, N 21. — P. 11540—11545.
7. *Chen X., Baker B. Y., Abduljabbar M. A., Miller W. L.* // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2005. — Vol. 90, N 2. — P. 835—840.
8. *Chung B. C., Matteson K. J., Voutilainen R.* et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1986. — Vol. 83, N 23. — P. 8962—8966.
9. *Clark B. J., Wells J., King S. R., Stocco D. M.* // J. Biol. Chem. — 1994. — Vol. 269, N 45. — P. 28314—28322.
10. *Degenhart H. J., Visser H. K., Boon H., O'Doherty N. J.* // Acta Endocrinol. — 1972. — Vol. 71, N 3. — P. 512—518.
11. *Epstein L. F., Orme-Johnson N. R.* // J. Biol. Chem. — 1991. — Vol. 266, N 29. — P. 19739—19745.
12. *Fujieda K., Tajima T., Nakae J.* et al. // J. Clin. Invest. — 1997. — Vol. 99, N 6. — P. 1265—1271.
13. *Gonzalez A. A., Reyes M. L., Carvajal C. A.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2004. — Vol. 89, N 2. — P. 946—951.
14. *Hiort O., Holterhus P. M., Werner R.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2005. — Vol. 90, N 1. — P. 538—541.
15. *Katsumata N., Ohtake M., Hojo T.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2002. — Vol. 87, N 8. — P. 3808—3813.
16. *Koizumi S., Kyoya S., Miyawaki T. M.* et al. // Clin. Chim. Acta. — 1977. — Vol. 77, N 3. — P. 301—306.
17. *Korsch E., Peter M., Hiort O.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1999. — Vol. 84, N 5. — P. 1628—1632.
18. *Lin D., Gitelman S. E., Saenger P., Miller W. L.* // J. Clin. Invest. — 1991. — Vol. 88, N 6. — P. 1955—1962.
19. *Lin D., Sugawara T., Strauss J. F.* III et al. // Science. — 1995. — Vol. 267, N 5205. — P. 1828—1831.
20. *Miller W. L.* // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1998. — Vol. 83, N 4. — P. 1399—1400.
21. *Miller W. L., Strauss J. F.* III. // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. — 1999. — Vol. 69, N 1—6. — P. 131—141.

22. *Morohashi K., Fujii-Kuriyama Y., Okada Y.* et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1984. — Vol. 81, N 15. — P. 4647—4651.
23. *Nakae J., Tajima T., Sugawara T.* et al. // Hum. Mol. Genet. — 1997. — Vol. 6, N 4. — P. 571—576.
24. *Prader A., Gurtner H. P.* // Helv. Paediatr. Acta. — 1955. — Vol. 10. — P. 397—412.
25. *Prader A., Siebenmann R. E.* // Helv. Paediatr. Acta. — 1957. — Vol. 12. — P. 569—595.
26. *Prader A., Anders G. J. P. A.* // Helv. Paediatr. Acta. — 1962. — Vol. 17. — P. 285—289.
27. *Sandison A. T.* // Arch. Dis. Childh. — 1955. — Vol. 30. — P. 538—541.
28. *Sugawara T., Holt J. A., Driscoll D.* et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1995. — Vol. 92, N 11. — P. 4778—4782.
29. *Tajima T., Fujieda K., Kouda N.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2001. — Vol. 86, N 8. — P. 3820—3825.
30. *Tanae A., Katsumata N., Sato N.* et al. // Endocr. J. — 2000. — Vol. 47, N 5. — P. 629—634.
31. *Zahn J.* // Schweiz. Med. Wschr. — 1948. — Bd 78. — S. 480—486.

Поступила 20.01.06

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2006

УДК 616.453-008.6-055.25-053.1

Е. В. Панфилова[1], М. А. Карева[1], Г. С. Колесникова[1], И. С. Яровая[1], О. Н. Иванова[1], Т. М. Атаманова[1], С. А. Прокофьев[1], Т. В. Семичева[1], П. М. Рубцов[2], В. А. Петеркова[1]

НЕКЛАССИЧЕСКАЯ ФОРМА ВРОЖДЕННОЙ ДИСФУНКЦИИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ[1]

[1]Институт детской эндокринологии (дир. — проф. В. А. Петеркова) Эндокринологического научного центра РАМН (дир. — акад. РАН и РАМН проф. И. И. Дедов); [2]Лаборатория гормонов и рецепторов Института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

Цель исследования — определение частоты неклассической формы 21-гидроксилазной недостаточности (НК21-ОН), подтвержденной наличием мутаций в гене CYP21, у девочек с пубертатной гиперандрогенией; оценка значимости клинических и гормональных маркеров неклассической формы 21-гидроксилазной недостаточности. Обследовано 85 девочек в возрасте 5—17 лет с гиперандрогенией (преждевременное пубархе, гирсутизм, acne vulgaris). Всем обследованным проведена проба с АКТГ (синактен-депо). При выявлении гормональных маркеров неклассической формы 21-гидроксилазной недостаточности (базальный уровень 17-ОН-П выше 9 нмоль/л и (или) после стимуляции АКТГ выше 45 нмоль/л) проводили анализ наиболее частых мутаций гена CYP21. Частота неклассической формы 21-гидроксилазной недостаточности, подтвержденной наличием мутаций в гене CYP21, среди девочек с гиперандрогенией составила 8,3%. Не выявлено клинических отличий между неклассической формой 21-гидроксилазной недостаточности и другими формами гиперандрогении. Основной гормональный маркер неклассической формы 21-гидроксилазной недостаточности — высокий базальный уровень 17-ОН-П (выше 20 нмоль/л). При данном заболевании глюкокортикоидная терапия показана больным с существенным ускорением роста и костного созревания, а также с нарушениями менструального цикла по типу олиго- или аменореи.

Ключевые слова: *неклассическая форма врожденной дисфункции коры надпочечников, 21-гидроксилазная недостаточность, гиперандрогения, преждевременное адренархе.*

The study was undertaken to define the frequency of nonclassical 21-hydroxylase deficiency confirmed by CYP21 gene mutations in girls with pubertal hyperandrogenism, to estimate the value of clinical and hormonal markers of nonclassical 21-hydroxylase deficiency. Eighty-five girls aged 5-17 years who had hyperandrogenism (pubertas precox, hirsutism, acne vulgaris). All the examinees underwent adrenocorticotropic hormone (ACTH) (Synacthen-depot) test. After detecting the hormonal markers of nonclassical 21-hydroxylase deficiency (the baseline level of 17-OHP being was above 9 nmol/l and/or above 45 nmol/l after ACTH stimulation), the authors analyzed the most common CYP21 gene mutations. The frequency of nonclassical 21-hydroxylase deficiency supported by CYP21 mutations in the girls with hyperadrogenism was 8.3%. There were no clinical differences between the nonclassical form of 21-hydroxylase deficiency and other forms of hyperandrogenism. The high baseline 17-OHP (> 20 nmol/l) is the most specific hormonal marker of nonclassical 21-hydroxylase deficiency. Glucocorticoid therapy is indicated for patients with substantially accelerated growth and bone maturation and in those with menstrual irregularities as oligomenorrhea or amenorrhea.

Key words: *nonclassical form of congenital adrenal cortical dysfunction, 21-hydroxylase deficiency, hyperadrogenism, pubertas precox.*

Врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН) — группа наследственных заболеваний, обусловленных дефектом биосинтеза кортизола. Самая частая форма ВДКН — дефицит 21-гидроксилазы, фермента, необходимого для превращения 17α-гидроксипрогестерона (17-ОН-П) в 11-дезоксикортизол. В основе заболевания лежит мутация в гене CYP21, кодирующем 21-гидроксилазу. В зависимости от клинических проявлений выделяют три формы этого заболевания. Сольтеряющая и простая вирильная формы объединяются в группу классических форм дефицита 21-гидроксилазы. Для них характерна практически полная потеря ферментативной активности, пренатальная и быстро прогрессирующая постнатальная вирилизация. Неклассическая форма 21-гидроксилазного дефицита (НК21-ОН) обусловлена частичной потерей ферментативной активности (от 20 до 60% от нормы) [14]. Найденные и изученные мутации гена CYP21 классифицируются по степени потери активности 21-гидроксилазы, генотип обычно коррелирует с фенотипом [2, 3]. При НК21-ОН обнаружены точечные мутации в гене CYP21, которые приводят к замене одной аминокислоты: V281L, P30L, P453S [19]. С наибольшей частотой, дости-

[1]Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант № 02-04-49096). Автоматическое секвенирование ДНК проводили в Межинститутском центре коллективного пользования "ГЕНОМ" ИМБ РАН (http://www.genome-centre.narod.ru/), организованном при поддержке РФФИ (грант № 00-04-55000).

гающей 3,7%, НК21-ОН встречается у евреев Ашкенази, у которых преобладает мутация гена V281L [15]. В японской популяции основной является мутация гена P30L [16].

НК21-ОН наследуется по аутосомно-рецессивному типу, поэтому для появления заболевания мутация должна присутствовать в обоих аллелях. Поэтому нередко встречается ситуация, когда мутация носит не гомозиготный, а сложный гетерозиготный характер, т. е. разные аллели несут разные мутации, один более "легкую", другой более "тяжелую". При этом фенотип определяется менее поврежденным аллелем [11]. Имеются сообщения о более выраженных симптомах вирилизации у пациенток, имевших компаундную мутацию, содержащую в одном аллеле "тяжелую" мутацию. Возможно, что именно с этим связана вариабельность клинических проявлений при НК21-ОН [6, 18]. Клинические проявления НК21-ОН выражаются в постнатальной андрогенизации различной степени, развивающейся, как правило, в пре- и пубертатный период. Наиболее частый манифестный симптом НК21-ОН у детей — это раннее лобковое и аксиллярное оволосение (адренархе). У девочек-подростков и взрослых женщин НК21-ОН проявляется гирсутизмом. Возможно нарушение менструальной функции и формирование поликистоза яичников, что может приводить к бесплодию. Однако у 50% женщин с НК21-ОН репродуктивная функция не нарушена [7].

Гормональным маркером НК21-ОН служит повышенный уровень 17-ОН-П — как базальный, так и стимулированный введением АКТГ. Однако в настоящее время отсутствуют четкие диагностические гормональные критерии диагноза НК21-ОН, что приводит к гипердиагностике этой формы заболевания у девочек-подростков и женщин с гиперандрогенией и неоправданному назначению им глюкокортикоидной терапии.

Цель исследования состояла в определении частоты НК21-ОН, подтвержденной наличием мутаций в гене CYP21, среди девочек с пубертатной гиперандрогенией и оценке значимости клинических и гормональных маркеров НК21-ОН.

Материалы и методы

В Институте детской эндокринологии Эндокринологического научного центра РАМН обследовано 85 девочек в возрасте 5—17 лет, обратившихся с жалобами на преждевременное пубархе (ПП) — появление лобкового оволосения в возрасте до 8 лет, гирсутизм, acne vulgaris. Для оценки функции надпочечников определяли концентрации 17-ОН-П, дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭАС), тестостерона, кортизола сыворотки крови, как базальные, так и после стимуляции АКТГ (синактен-депо) через 10 и 24 ч после введения. Гормональные исследования проводили в лаборатории гормонального анализа (зав. — проф. Н. П. Гончаров). Уровень 17-ОН-П и ДГЭАС определяли с использованием коммерческих наборов "DRG" (США). Уровень тестостерона и кортизола определяли с помощью автоматизированной системы "Vitros Eci" ("Ortho-Clinical Diagnostics Inc", Великобритания). С началом менархе определение уровня гормонов проводили на 5—7-й день менструального цикла. НК21-ОН диагностировали, если базальный уровень 17-ОН-П был выше 9 нмоль/л и (или) если на фоне стимуляции АКТГ он превышал 45 нмоль/л. Данные стандарты предложены M. New и соавт. [13] и определены как 2SD от нормативных значений [1]. Анализ мутаций в гене CYP21 проводили в отделе иммуногенетики Эндокринологического научного центра РАМН (руководитель — канд. мед. наук С. А. Прокофьев) девочкам с предполагаемым диагнозом НК21-ОН. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови пациенток по модифицированной методике N. Gemmel и S. Akiyama [8] (высаливание хлористым литием). Выявление делеций/крупных перестроек и точечных мутаций в гене CYP21 проводили по методике A. Wedell и H. Luthman с модификациями [17]. Селективно амплифицировали фрагменты гена CYP21, используя праймеры, комплементарные участку экзона 3, в котором в псевдогене 21-гидроксилазы находится делеция 8 п. н. Полученные в результате амплификации фрагменты ДНК использовали для генотипирования 10 точечных мутаций (V281L, P30L, Q318X, P453S, I2 spl, R356W, I172N, L306inT, V237E, G291S) методом аллельспецифической полимеразной цепной реакции. В тех случаях, когда были выявлены гормональные маркеры НК21-ОН, а аллельспецифическая амплификация не выявила мутаций, проводили прямое секвенирование гена CYP21 с помощью набора "Cycle Reader DNA Sequencing Kit" ("MBI Fermentas", Литва) ручным методом или с помощью набора реактивов "ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1" с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ДНК "ABI PRISM 3100-Avant".

Математическую обработку результатов проводили с помощью пакета статистических программ Statistica 6,0 ("StatSoft Inc.", США). Результаты представлены как среднее значение ± стандартное отклонение. Различия показателей между группами оценивали с использованием критерия Стьюдента (*T*-тест).

Результаты и их обсуждение

Результаты молекулярно-генетического анализа. Гормональные маркеры НК21-ОН обнаружены у 21 пациентки, что составило 24,7% от общего числа обследованных с клиническими симптомами гиперандрогении. Молекулярно-генетически НК21-ОН подтверждена лишь у 7 пациенток. Выявлены следующие мутации гена CYP21: V281L/V281L (у 3 больных), V281L/I172N, V281L/R356W, P30L/Q318X, P30L/I2splice. Таким образом, частота НК21-ОН, подтвержденной наличием мутаций в гене CYP21, среди девочек с гиперандрогенией составила 8,3%. Эти данные согласуются с результатами многих других исследований. Отсутствие четких представлений о клинических и гормональных критериях НК21-ОН приводит к значительным колебаниям данных о частоте заболевания в группе девочек с гиперандрогенией. При использовании

Таблица 1

Клинические и гормональные показатели у девочек с выявленными мутациями гена CYP21

Средний возраст, годы	Клинические проявления	Гипертрофия клитора	SDS роста по ХВ	КВ/ХВ	17-ОН-П (базальный/стимулированный АКТГ, нмоль/л)	Мутации гена CYP21
6,8	Преждевременное адренархе с 4,5 лет	Нет	0,9	1,6	24,5 / 139	V281L/V281L
7,3	Преждевременное адренархе с 5 лет	Нет	1,97	1,6	58,2 / 81,3	V281L/V281L
6,4	Преждевременное адренархе с 5,5 лет	Есть	1,96	1,8	150 / 213	P30L/I2splice
6,1	Преждевременное адренархе с 5,5 лет	Есть	1,86	1,4	38,7 / 84,3	P30L/Q318X
15,3	Гирсутизм, acne vulgaris	Есть	-0,28	—	25,9 / 75,7	V281L/I172N
15,4	Аменорея 2, гирсутизм	Есть	0,75	—	33,7 / 258	V281L/R357W
15,1	Олигоменорея, гирсутизм	Есть	0,02	—	43,8 / 75,3	V281L/V281L

Примечание. Здесь и в табл. 3 в числителе — базальный уровень гормона, в знаменателе — стимулированный АКТГ.

лишь гормональных критериев частота НК21-ОН варьировала от 0 до 54% в различных по клиническим проявлениям группах [9, 12]. Частота НК21-ОН, подтвержденной наличием мутаций в гене CYP21, составила 4—8% [5, 20].

В 4 случаях нами обнаружены сочетанные (компаундные) мутации (один аллель со "слабой", а второй с "тяжелой" мутацией гена CYP21). У 3 больных выявлена типичная для НК21-ОН гомозиготная мутация V281L. Преобладание компаундных мутаций у пациенток с НК21-ОН отмечено и другими авторами [6, 18]. У наших больных выявлены 2 слабых мутации, определяющие фенотип НК21-ОН: V281L и P30L. Эти мутации в разной степени снижают ферментативную активность. Мутация P30L приводит к более выраженному ферментативному нарушению — остаточная активность составляет 30%, тогда как при мутации V281L остаточная активность составляет 50—60%. Поэтому логично предположить, что клинические проявления заболевания у носителей этих двух мутаций будут различными. Нами не выявлено различий в клинических симптомах заболевания и уровне 17-ОН-П у девочек, имевших мутации V281L и P30L. Возможно, это объясняется малым количеством наблюдений. В табл. 1 приведены клинические и гормональные показатели девочек, имеющих мутации в гене CYP21.

Клинические сопоставления. После получения результатов молекулярно-генетического обследования мы сопоставили клинические и гормональные параметры у пациенток с мутациями (1-я груп-

Таблица 2

Клинические характеристики девочек с гиперандрогенией (n = 85)

Клинический показатель	1-я группа (n = 7)		2-я группа (n = 14)		3-я группа (n = 64)	
	ПП (n = 4)	ПГА (n = 3)	ПП (n = 10)	ПГА (n = 4)	ПП (n = 34)	ПГА (n = 30)
Средний возраст на момент обследования, годы	6,3 ± 0,7	15,3 ± 0,07	7,3 ± 1,9	14,9 ± 1,8	7,9 ± 1,6	15,6 ± 1,4
Возраст появления вторичных половых признаков:						
телархе	—	н/д	—	9,8 ± 1,0	—	9,6 ± 1,3
пубархе	5,3 ± 0,4**	н/д	6,5 ± 0,9	8,8 ± 1,1	6,2 ± 1,4	8,2 ± 1,9
менархе	—	12,5 ± 0,8	—	12,7 ± 0,3	—	11,8 ± 1,2
SDS роста по ХВ	1,9 ± 0,06*	0,2 ± 0,5	0,9 ± 0,9	0,21 ± 0,7	1,4 ± 0,8	0,7 ± 0,7
КВ/ХВ	1,6 ± 0,1*	—	1,2 ± 0,1	—	1,1 ± 0,2	—
SDS ИМТ	0,2 ± 0,02	0,6 ± 0,1	0,2 ± 0,6	0,2 ± 1,1	0,8 ± 0,07	0,8 ± 0,05
Симптомы гиперандрогении (число пациенток):						
ПП	4	н/д	10	3	35	15
гирсутизм	—	2	—	4	—	29
Acne vulgaris	2	2	2	4	—	21
олигоменорея	—	1	—	3	—	14
аменорея	—	1	—	—	—	3
гипертрофия клитора	1	2	—	—	—	2
Признаки поликистоза яичников по данным УЗИ (число пациенток):						
увеличение объема яичников	—	—	—	4	—	19
мелкокистозные изменения яичников	—	3	—	4	—	30

Примечание. * — $p < 0,05$ между 1-й, 2-й и 3-й группой, ** — $p < 0,01$ между 1-й, 2-й и 3-й группой; н/д — значения недостоверны.

па) и без мутаций в гене CYP21, но с гормональными маркерами НК21-ОН (2-я группа, табл. 2).

В группу сравнения также вошли пациентки с гиперандрогенией, не имевшие гормональных маркеров НК21-ОН (3-я группа). Группы были рандомизированы по возрасту и соответственно клиническим проявлениям заболевания. Девочки допубертатного возраста имели ПП, девочки пубертатного возраста имели кожные проявления гиперандрогении (ПГА). Естественно, что значительные различия по численному составу групп не дают возможности выявить статистически значимых закономерностей по многим показателям, имеющим перекрестные значения.

В 1-ю группу было включено 7 пациенток с НК21-ОН, подтвержденной молекулярно-генетическим анализом: 4 из них в возрасте 6,3 ± 0,7 года были обследованы в связи с ПП, 3 пациентки обследованы в возрасте 15,3 ± 0,07 года. В первом случае поводом для обращения было увеличение клитора и acne vulgaris (менструальная функция не была нарушена), во втором — гирсутизм и олигоменорея, в третьем — гирсутизм и вторичная аменорея. Во 2-ю группу было включено 14 пациенток (с ПП — 10 больных, с ПГА — 4), у которых выявлены гормональные маркеры НК21-ОН, но отсутствовали мутации в гене CYP21. В 3-ю группу вошли 64 человека (с ПП — 34, с ПГА — 30), у которых отмечены нормальные показатели 17-ОН-П до и после стимуляции АКТГ.

Показатели SDS индекса массы тела не отличались в исследуемых группах. Все пациентки имели нормальные показатели массы тела.

При оценке ростовых показателей обнаружено, что у пациенток с открытыми зонами роста (ПП) в 1-й группе скорость роста и костного созревания выше, чем во 2-й и 3-й группах (SDS роста 1,9 ± 0,06; 0,9 ± 0,9 и 1,4 ± 0,8 — $p < 0,05$; КВ/ХВ 1,6 ± 0,1; 1,2 ± 0,1 и 1,1 ± 0,1 — $p < 0,05$). У пациенток старшего возраста с закрытыми зонами роста (ПГА) показатели роста практически не отличались (SDS роста 0,2 ± 0,5; 0,21 ± 0,7 и 0,7 ± 0,7). Таким образом, пре- и пубертатная гиперандрогения любой этиологии не оказывала негативного влияния на конечный рост пациенток. В 1-й группе среди девочек допубертатного возраста отмечено более раннее появление лобкового оволосения (в среднем 5,3 ± 0,4) по сравнению со 2-й и 3-й группами (6,5 ± 0,9 и 6,2 ± 1,4 — $p < 0,01$).

В 1-й группе с более высокой частотой выявлялась андрогенизация наружных гениталий: у 5 из 7 пациенток отмечалась умеренная гипертрофия клитора (Prader 2). Во 2-й группе гипертрофии клитора не выявлено. В 3-й группе у 2 пациенток с ПГА отмечена легкая гипертрофия клитора.

Таким образом, в 1-й группе нами отмечены достоверно значимые клинические симптомы гиперандрогении: ускорение роста и костного возраста, раннее развитие полового оволосения, вирилизация наружных гениталий, однако самостоятельного диагностического значения эти признаки не имеют из-за их высокой распространенности в других исследуемых группах. Вероятно, не существует четких клинических критериев, позволяющих предположить НК21-ОН у девочек с пре- и пубертатной гиперандрогенией. К подобному выводу приходят и авторы других исследований [4, 10].

Гормональные сопоставления. Анализ содержания стероидов показал, что во всех исследуемых группах уровни ДГЭАС, тестостерона, кортизола — как базальные, так и после стимуляции — достоверно отличались (табл. 3). Достоверно группы различались только по уровню 17-ОН-П. Особый интерес вызывает различие этих показателей в 1-й и 2-й группах, которые при первичном обследовании были определены как НК21-ОН, однако лишь в 1-й группе были найдены мутации в гене CYP21.

Показатели базального 17-ОН-П в 1-й группе были значительно выше, чем во 2-й (больные с ПП — 67,9 ± 43,5 и 7,3 ± 3,0 нмоль/л соответственно; $p < 0,05$; больные с ПГА — 34,4 ± 8,9 и 12,1 ± 5,1 нмоль/л соответственно; $p < 0,05$). Различия в показателях стимулированного уровня 17-ОН-П (девочки с ПП — 160,1 ± 91,7 и 64,9 ± 15,6 нмоль/л соответственно; $p < 0,001$; девочки с ПГА — 166,9 ± 72,1 и 49,9 ± 9,8 нмоль/л соответственно; $p < 0,05$) также достоверны, но имелся индивидуальный перекрест показателей (см. рисунок). Таким образом, у больных 1-й группы, имеющих мутации в гене CYP21, характерные для НК21-ОН, показатели как базального, так и стимулированного 17-ОН-П значительно повышены. У части пациенток 2-й группы с базальными показателями в пределах нормы уровень 17-ОН-П при стимуляции

Таблица 3

Содержание стероидных гормонов (в нмоль/л) у девочек с гиперандрогенией ($n = 85$)

Показатель	1-я группа ($n = 7$)		2-я группа ($n = 14$)		3-я группа ($n = 64$)	
	ПП ($n = 4$)	ПГА ($n = 3$)	ПП ($n = 10$)	ПГА ($n = 4$)	ПП ($n = 34$)	ПГА ($n = 30$)
17-ОН-П	67,9 ± 43,4*	34,4 ± 8,9*	7,3 ± 3,0	12,1 ± 5,1	2,8 ± 1,8	3,9 ± 1,6
	160,1 ± 91,7**	166,9 ± 72,1*	64,9 ± 15,6	49,9 ± 9,8	18,5 ± 8,0	20,3 ± 5,5
ДГЭАС	1 629 ± 199	1 055 ± 189	1 417 ± 257	3 325 ± 709	1 494 ± 569	3 397 ± 1 165
	—	6 399 ± 240	2 610 ± 583	5 637 ± 141	2 476 ± 63	5 950 ± 1 914
Тестостерон	2,2 ± 0,1*	2,5 ± 0,8	1,1 ± 0,5	2,0 ± 0,6	0,8 ± 0,3	2,0 ± 0,6
	—	4,6 ± 0,9*	1,5 ± 0,3	2,2 ± 0,4	1,7 ± 0,4	2,7 ± 0,6
Кортизол	377 ± 102	361 ± 111	380 ± 107	403 ± 190	286 ± 144	392,1 ± 180
	—	1 250 ± 184	1 545 ± 437	1 252 ± 345	1 298 ± 234	1 509 ± 411

Примечание. * — $p < 0,05$ различия между 1-й, 2-й и 3-й группой; ** — $p < 0,001$ различия между 1-й, 2-й и 3-й группой.

Сопоставление уровня 17-ОН-П (в ммоль/л) в исследуемых группах до и после стимуляции АКТГ (синактен-депо).

▲ — 1-я группа (НК21-ОН), подтвержденная наличием мутаций в гене CYP21); Δ — 2-я группа (гормональные маркеры НК21-ОН); О — 3-я группа (пубертатная гиперандрогения).

значительно повышался. Тем не менее, мутации в гене CYP21 у них не найдены.

Данные динамического контроля. Остается неясным механизм гормональной дисрегуляции у девочек 2-й группы. Прямое секвенирование кодирующих областей (экзонов) гена CYP21 у двух пациенток 2-й группы с наиболее высокими показателями 17-ОН-П не выявило мутаций. Возможно, существуют другие, не найденные нами и не описанные ранее мутации в некодирующих регуляторных областях гена CYP21. Представляют также интерес данные динамического наблюдения. 6 пациенток 1-й группы получали лечение глюкокортикоидами (4 больные — преднизолон, 2 — гидрокортизон) в суточной дозе 15,9 ± 2,6 мг/м² в пересчете на гидрокортизон. Период наблюдения составил от 6 мес до 13 лет. Уровень 17-ОН-П на фоне терапии сохранялся умеренно повышенным, несмотря на адекватную дозу глюкокортикостероидов, и составил в среднем 14,2 ± 5,4 нмоль/л. На фоне терапии у девочек с ПП отмечено уменьшение скорости роста (SDS скорости роста 2,07 ± 0,8). У девочек с ПГА у одной пациентки с олигоменореей через 8 мес после начала терапии восстановился регулярный менструальный цикл. У пациентки с вторичной аменореей менструации возобновились через 2 мес после начала терапии глюкокортикоидами, однако регулярный менструальный цикл установился лишь через 1,5 года. Согласно опубликованным данным, более одной трети пациенток с НК21-ОН репродуктивного возраста имеют нарушение менструального цикла по типу олигоменореи [4]. Это объясняется ароматизацией в периферических тканях андрогенов, секретирующихся в избыточном количестве, что приводит к гипоталамо-гипофизарной дисфункции. Избыток эстрадиола и эстрона по принципу обратной связи снижает секрецию ФСГ и увеличивает продукцию ЛГ. Это приводит к нарушению созревания фолликула и, следовательно, ановуляторным менструальным циклам и бесплодию. Терапия глюкокортикоидами восстанавливает овуляторные циклы у большинства больных [7]. Однако, по данным тех же исследователей, у половины пациенток репродуктивного возраста беременность наступала спонтанно, без терапии глюкокортикоидами. Тем не менее, не у всех пациенток с НК21-ОН выявляется дисфункция яичников и, как следствие, репродуктивные нарушения.

Во 2-й группе 4 пациентки (3 с ПП и 1 с ПГА) получали глюкокортикоиды (1 больная — дексаметазон, 3 — преднизолон) в течение 2—7 лет. Суточная доза в пересчете на гидрокортизон составила 6,9 ± 2,5 мг/м². Несмотря на небольшую дозу глюкокортикоидов, уровень 17-ОН-П на фоне терапии был значительно ниже верхних нормативных значений — 2,4 ± 0,6 нмоль/л.

Одна пациентка прекратила прием глюкокортикоидов самостоятельно, у 4 терапия глюкокортикоидами была отменена в связи с низкими показателями 17-ОН-П на фоне лечения. После отмены лечения уровень 17-ОН-П оставался в пределах нормы и сохранялся таким в течение всего дальнейшего периода наблюдения, составившего 4—6 лет. При проведении повторной пробы с синактеном-депо не получено значений 17-ОН-П, характерных для НК21-ОН: стимулированный уровень 17-ОН-П колебался от 12 до 28 нмоль/л. У этих пациенток сохранялись проявления кожного вирилизма: гирсутизм, acne vulgaris. Менструальная функция во всех случаях не была нарушена. Одна пациентка в возрасте 19 лет имела беременность, протекавшую без осложнений и завершившуюся родами здорового мальчика. Одна девушка в настоящее время беременна на сроке 25 нед, беременность протекает без осложнений. Глюкокортикоиды во время беременности пациентки не получали.

Таким образом, гиперандрогения и подъем уровня 17-ОН-П у пациенток 2-й группы, по-видимому, имеют функциональный характер и обусловлены внутриадреналовыми, независимыми от ферментативных блоков изменениями, которые проявляются в период адренархе. Необходимо проведение дальнейших исследований, направленных как на изучение патогенетических механизмов данного феномена, так и на выбор врачебной тактики. Предварительные данные позволяют высказать предположение о необоснованности назначений глюкокортикоидов девочкам с умеренным повышением стимулированных уровней 17-ОН-П.

Выводы

1. Частота НК21-ОН, подтвержденной наличием мутаций в гене CYP21, в группе девочек с преждевременным адренархе и пубертатной гиперандрогенией составила 8,3%.

2. Клинические симптомы НК21-ОН (ПП, гирсутизм, acne vulgaris) не являются специфичными для данного заболевания и не имеют дифференциально-диагностического значения, однако слабая андрогенизация гениталий в виде гипертрофии клитора, особенно у девочек с преждевременным адренархе — признак, настораживающий в отношении НК21-ОН.

3. У пациенток с НК21-ОН, подтвержденной наличием мутаций в гене CYP21, значительно повышен базальный и стимулированный уровень

U 0943 CIS

17-ОН-П. Наиболее достоверным гормональным критерием НК21-ОН следует считать базальный уровень 17-ОН-П, превышающий 20 нмоль/л.

4. Среди девочек с НК21-ОН с преждевременным адренархе глюкокортикоидной терапии требуют больные с прогрессирующей андрогенизацией, существенным ускорением темпов физического развития, а среди девочек с пубертатной гиперандрогенией показанием к началу терапии глюкокортикоидами являются нарушения менструального цикла по типу олиго- или аменореи.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Дедов И. И., Семичева Т. В., Петеркова В. А.* Половое развитие детей: норма и патология. — М., 2002.
2. *Дедов И. И., Калинченко Н. Ю., Семичева Т. В.* и др. // Пробл. эндокринол. — 2004. — № 4. — С. 3—6.
3. *Карева М. А., Дедов И. И., Орловский И. В.* и др. // Молекул. мед. — 2004. — № 2. — С. 60—65.
4. *Azziz R., Dewailly D., Owerbach D.* // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1994. — Vol. 78, N 4. — P. 810—815.
5. *Dacou-Voutetakis C., Dracopoulou M.* // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1999. — Vol. 84, N 5. — P. 1570—1574.
6. *Deneux C., Tardy V., Dib A.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2001. — Vol. 86, N 1. — P. 207—213.
7. *Feldman S., Billaud L., Tharlabard J.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1992. — Vol. 74, N 3. — P. 635—639.
8. *Gemmel N. J., Akiyama S.* // Trends Genet. — 1996. — Vol. 12, N 9. — P. 338—339.
9. *Hawkins L., Chasalow F., Blethen S.* // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1992. — Vol. 74, N 2. — P. 248—253.
10. *Moran C., Azziz R.* // Semin. Reprod. Med. — 2003. — Vol. 21, N 3. — P. 295—300.
11. *Morel Y., Miller W.* // Adv. Hum. Genet. — 1991. — Vol. 20. — P. 1—68.
12. *Morris A., Reiter O., Geffner M.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1989. — Vol. 69, N 4. — P. 709—715.
13. *New M., Lorenzen F., Lerner A.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1983. — Vol. 57, N 2. — P. 320—326.
14. *Sherman S., Aston S., Morton N.* et al. // Am. J. Hum. Genet. — 1988. — Vol. 42, N 2. — P. 830—838.
15. *Speiser P., Dupont B., Rubinstein P.* et al. // Am. J. Hum. Genet. — 1985. — Vol. 37, N 4. — P. 650—657.
16. *Tajima T., Fujieda K., Nakae J.* et al. // Endocr. J. — 1998. — Vol. 45, N 4. — P. 493—497.
17. *Wedell A., Luthman H.* // Hum. Mol. Genet. — 1993. — Vol. 2, N 5. — P. 499—504.
18. *Weintrob N., Brautbar C., Pertzelan A.* et al. // Eur. J. Endocrinol. — 2000. — Vol. 143, N 1. — P. 397—403.
19. *White P., Speiser P.* // Endocr. Rev. — 2000. — Vol. 21, N 3. — P. 245—291.
20. *Yarman S., Dursun A., Oguz F., Alagol F.* // Endocr. J. — 2004. — Vol. 51, N 1. — P. 31—36.

Поступила 18.07.05

© С. В. ШИРШЕВ, С. А. ЗАМОРИНА, 2006

УДК 612.018.2:577.175.327].06:612.014.1-055.2].08

С. В. Варшев, С. А. Заморина

ВЛИЯНИЕ ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА НА АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФАЗ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛА[1]

Лаборатория экологической генетики микроорганизмов (зав. — проф. С. В. Варшев) Института экологии и генетики микроорганизмов (дир. — проф. В. А. Демаков) УрО РАН, Пермь

Изучено влияние физиологических доз хорионического гонадотропина (ХГ) на окислительную и фагоцитарную активность моноцитов женщин, находящихся в разных фазах менструального цикла. Установлено, что ХГ (100 МЕ/мл) угнетает базальный уровень продукции активных форм кислорода моноцитами и снижает (10 и 100 МЕ/мл) продукцию миелопероксидазы независимо от фазы цикла. Показано, что в фолликулярную фазу цикла ХГ (10 и 100 МЕ/мл) угнетает фагоцитарную активность моноцитов, но одновременно в дозе 100 МЕ/мл повышает латексиндуцированную продукцию активных форм кислорода. В лютеиновую фазу цикла ХГ оказывает оппозитные эффекты: угнетает показатели латексиндуцированной люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) и стимулирует фагоцитарную активность моноцитов, причем между этими показателями выявлена достоверная обратная корреляционная зависимость. Таким образом, роль ХГ в регуляции окислительной и фагоцитарной функций моноцитов периферической крови фертильных женщин зависит от фазы менструального цикла и степени активации моноцитов.

Ключевые слова: *хорионический гонадотропин, моноциты, фазы менструального цикла.*

The effect of physiological doses of chorionic gonadotropin (CG) on monocytic oxidative and phagocytic activities was studied in females having different phases of a menstrual cycle. CG (100 IU/ml) was found to suppress the baseline monocytic production of active oxygen forms and to lower (10 and 100 IU/ml) the generation of myeloperoxidase irrespective the phase of the cycle. In the follicular phase of the cycle, CG (10 and 100 IU/ml) was shown to inhibit monocytic phagocytic activity, but when given in a dose of 100 IU/ml, it concurrently enhanced the latex-induced production of active oxygen forms. In the lutein phase of the cycle, CG exerted opposite effects: it suppressed the parameters of latex-induced luminescence-dependent chemiluminescence and stimulated monocytic phagocytic activity, moreover, a significant inverse correlation between these parameters. Thus, the role of CG in the regulation of oxidative and phagocytic functions of peripheral monocytes in fertile women depends on the phase of a menstrual cycle and the degree of monocytic activation.

Key words: *chorionic gonadotropin, monocytes, menstrual cycle phases.*

Известно, что оплодотворенная яйцеклетка уже на уровне бластоцисты начинает продуцировать хорионический гонадотропин (ХГ), который модулирует иммунные реакции матери, поддерживая жизнеспособность полуаллогенного эмбриона [2, 9]. Концентрация ХГ достигает максимума к 9—11-й неделе беременности, затем снижается и держится на одном уровне вплоть до родов [13]. Гормон выполняет лютеотропную функцию в ранние сроки беременности, поддерживая желтое тело, и участвует в регуляции стероидогенеза у плода [6].

[1]Работа поддержана грантом РФФИ-Урал 04-04-96063.

ХГ и лютеинизирующий гормон (ЛГ), в силу структурного сходства, реализуют свои множественные эффекты через один рецептор (ЛГ/ХГ-Р) [14], уровень экспрессии которого меняется в динамике менструального цикла, существенно повышаясь в фолликулярную фазу под действием эстрадиола и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) [8]. В различные фазы менструального цикла не только изменяются уровень и соотношение прогестинов, экстрогенов и гонадотропинов гипофиза [11], но и модулируются иммунные реакции на системном уровне [1, 3], что создает оптимальные условия для оплодотворения и имплантации.

Клетки моноцитарно-макрофагального ряда играют важную роль на всех этапах гестации, накапливаясь в децидуальной оболочке благодаря специфическому стероидному фону, и активно принимают участие в имплантации и плацентации [7]. Более того, в период гестации моноциты и их потомки — дендритные клетки [5] — определяют вид иммунного реагирования, усиливая при определенных условиях активность Т-лимфоцитов-хелперов 2-го типа [10], определяющих трофическую функцию иммунной системы матери в отношении зародыша [12]. Кроме того, моноциты/макрофаги осуществляют функцию клиренса, фагоцитируя патогены, клеточный детрит и апоптотические тельца [4], находясь под постоянным контролем ХГ.

Целью данного исследования явилось изучение влияния ХГ на окислительную и фагоцитарную активность моноцитов женщин в разные фазы менструального цикла.

Материалы и методы

ХГ ("Profasi", Италия) использовали в дозах 10 и 100 МЕ/мл, соответствующих его физиологическим концентрациям в разные триместры беременности [13]. Гормон разводили ex temporе раствором Хэнкса (НПО "Биолот", Россия). В работе использовали мононуклеарные клетки периферической крови женщин репродуктивного возраста в фолликулярной или лютеиновой фазах менструального цикла. Клетки фракционировали из гепаринизированной венозной крови центрифугированием в градиенте плотности фиколла-верографина 1,077 г/см^3 ("Pharmacia", Швеция; "Spofa", Чехия), после чего дважды отмывали раствором Хэнкса. В работе использовали краткосрочную культуру клеток: суспензию полученных мононуклеаров ($1 \cdot 10^6$/мл) инкубировали в течение 1 ч в присутствии ХГ, после чего оценивали их фагоцитарную и окислительную активность.

Окислительную активность моноцитов оценивали по интенсивности люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) при помощи биолюминометра БЛМ-8703М ("Наука", Россия). В пластиковую кювету прибора вносили 800 мкл рабочего раствора, состоящего из 110 мМ NaCl; 10 мМ трис-HCl; 2,5 мМ $MgCl_2$; 5 мМ глюкозы и $1 \cdot 10^{-4}$ М люминола (pH 7,4). После инкубации в течение 3—5 мин при 37°С и замера фонового свечения добавляли 100 мкл клеточной суспензии ($1 \cdot 10^6$/мл) и при непрерывном перемешивании измеряли интенсивность спонтанной ЛЗХЛ. Затем в кювету вносили 100 мкл раствора, содержащего частицы латекса в концентрации $1 \cdot 10^7$/мл (1,5 мкм; "ДиаМ", Россия), и фиксировали интенсивность стимулированной ЛЗХЛ в динамике на 5, 10, 15 и 20 мин. Результаты выражали в имп в 1 с на 1 моноцит.

Активность миелопероксидазы (МПО) в клеточных супернатантах тестировали спектрофотометрическим методом: 0,05 мл клеточного супернатанта помещали в лунки плоскодонных планшет, затем вносили 0,10 мл субстратной смеси, состоящей из 0,04% ортофенилендиамина и 0,014% H_2O_2 на фосфат-цитратном буфере (pH 5,0). По истечении 10-минутного периода инкубации при 25°С реакцию останавливали внесением 0,10 мл 10% H_2SO_4. Интенсивность оптической плотности фиксировали с помощью многоканального спектрофотометра "Anthos HMTL III" ("Labtec Instruments", Австрия) при длине волны 492 нм, результаты выражали в единицах оптической плотности (Е).

Фагоцитарную активность оценивали по поглощению частиц полистирольного латекса. Для этого

Таблица 1

Влияние ХГ на показатели ЛЗХЛ моноцитов (в имп/с на 1 моноцит) периферической крови женщин ($M \pm m$)

Группа	Экспериментальное воздействие	Фолликулярная фаза ($n = 7$)	Лютеиновая фаза ($n = 7$)
Спонтанный вариант:			
1	контроль гормона	4,09 ± 0,32	4,07 ± 0,50
2	ХГ (10 МЕ/мл)	4,88 ± 0,59	2,78 ± 0,39
	$p^b_{(2-1)}$		< 0,05
3	ХГ (100 МЕ/мл) $p^{ab}_{(3-1)}$	2,74 ± 0,30	2,91 ± 0,33
	$p^b_{(3-1)}$	< 0,05	< 0,05
Стимулированный вариант, 5 мин инкубации			
4	контроль гормона	7,48 ± 0,54	6,52 ± 0,98
5	ХГ (10 МЕ/мл) $p_{ub(5-4)}$	8,41 ± 0,66	4,06 ± 0,47
			< 0,05
6	ХГ (100 МЕ/мл)	11,05 ± 1,40	4,71 ± 0,61
	$p^{ab}_{(6-4)}$	< 0,05	
	$p^b_{(6-4)}$		< 0,05
10 мин инкубации			
7	контроль гормона	6,94 ± 0,56	6,03 ± 0,81
8	ХГ (10 МЕ/мл)	8,38 ± 0,93	3,84 ± 0,49
	$p^{ab}_{(8-7)}$		< 0,05
9	ХГ (100 МЕ/мл)	10,00 ± 1,11	5,13 ± 0,80
	$p^{ab}_{(9-7)}$	< 0,05	
15 мин инкубации			
10	контроль гормона	6,19 ± 0,51	5,97 ± 1,03
11	ХГ (10 МЕ/мл)	6,70 ± 1,02	3,56 ± 0,49
	$p^{ab}_{(11-10)}$		< 0,05
12	ХГ (100 МЕ/мл)	9,35 ± 1,22	5,00 ± 1,03
	$p^{ab}_{(12-10)}$	< 0,05	
20 мин инкубации			
13	контроль гормона	4,49 ± 0,48	4,90 ± 0,69
14	ХГ (10 МЕ/мл)	5,35 ± 0,71	2,90 ± 0,32
	$p^{ab}_{(14-13)}$		< 0,05
15	ХГ (100 МЕ/мл)	7,99 ± 0,83	4,26 ± 0,87
	$p^{ab}_{(13-15)}$	< 0,05	

Примечание. Здесь и далее — p^a парный, p^b непарный t-критерий Стьюдента, значения p представлены только для достоверных (< 0,05) результатов.

U 0943 CIS

Таблица 2

Влияние ХГ на уровень МПО (в Е) в супернатантах кратковременных культур моноцитов женщин ($M \pm m$)

Группа	Экспериментальное воздействие	Фолликулярная фаза ($n = 7$)	Лютеиновая фаза ($n = 7$)
1	Контроль гормона	0,319 ± 0,030	0,353 ± 0,022
2	ХГ (10 МЕ/мл)	0,248 ± 0,020	0,261 ± 0,016
	$p^{a}_{(2-1)}$	< 0,05	
	$p^{ab}_{(2-1)}$		< 0,05
3	ХГ (100 МЕ/мл)	0,283 ± 0,021	0,244 ± 0,013
	$p^{a}_{(3-1)}$	< 0,05	
	$p^{ab}_{(3-1)}$		< 0,05

к 0,1 мл фракционированных мононуклеаров ($1 \cdot 10^6$/мл) добавляли 0,1 мл отмытой латексной суспензии в концентрации $1 \cdot 10^7$/мл. Пробы инкубировали при 37°С в течение 20 мин, после чего содержимое пробирок перемешивали и готовили мазок, который фиксировали метанолом и окрашивали по Романовскому—Гимзе. Рассчитывали процент фагоцитоза — количество фагоцитов, захвативших объекты фагоцитоза на 100 подсчитанных моноцитов, и фагоцитарный индекс — количество объектов фагоцитоза, которое в среднем приходится на одну фагоцитирующую клетку.

Статистическую обработку данных проводили с помощью парного (p^a) и непарного (p^b) t-критерия Стьюдента. В ряде случаев рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона (r).

Результаты и их обсуждение

Учитывая, что биоцидное действие моноцитов, направленное на внеклеточную деструкцию патогенов, осуществляется за счет выброса активных форм кислорода (АФК) с последующей их трансформацией МПО в перекись водорода и галогеноиды, мы оценивали экстрацеллюлярную окислительную активность моноцитов как по продукции АФК, так и по активности секретируемой МПО.

Установлено, что по отношению к моноцитам фолликулярной фазы ХГ оказывал депрессивные эффекты на продукцию АФК, фиксируемую в спонтанном варианте ЛЗХЛ (100 МЕ/мл), и на активность МПО в клеточных супернатантах (10 и 100 МЕ/мл) (табл. 1, 2), несмотря на отсутствие достоверных корреляционных связей. В то же время в латексиндуцированном варианте ЛЗХЛ гормон (100 МЕ/мл) оказывал выраженное стимулирующее действие на окислительную активность моноцитов, которое сохранялось в динамике всего эксперимента (5—20 мин).

Эффекты, оказываемые ХГ на спонтанную окислительную активность моноцитов, полученных от женщин в лютеиновой фазе, были во многом аналогичны. Так, гормон (10 и 100 МЕ/мл) угнетал как ЛЗХЛ, так и активность МПО (см. табл. 1, 2), однако корреляционный анализ показал, что под действием гормона, в отличие от фолликулярной фазы, возникает достоверная обратная корреляционная зависимость между активностью МПО и спонтанной ЛЗХЛ: для ХГ в дозе 10 МЕ/мл $r = -0,7$; для ХГ в дозе 100 МЕ/мл $r = -0,8$. По-видимому, это связано с реципрокными механизмами регулирования НАДФ-оксидазного комплекса и МПО в условиях ХГ-зависимой депрессии окислительного потенциала моноцитов лютеиновой (прогестерондоминантной) фазы цикла. В отношении индуцированного варианта ЛЗХЛ показано, что ХГ в дозе 100 МЕ/мл снижал окислительную активность латексстимулированных моноцитов только в ранний период инкубации (5 мин), в то время как ХГ в дозе 10 МЕ/мл давал аналогичный эффект на протяжении всего периода наблюдения (см. табл. 1).

При изучении фагоцитарной активности установлено, что внесение высокой дозы ХГ (100 МЕ/мл) в культуры фракционированных моноцитов, полученных от женщин, находящихся в фолликулярной фазе цикла, приводило к угнетению количества фагоцитирующих клеток и их поглотительной способности. Низкая доза гормона (10 МЕ/мл) также оказывала депрессивное действие, но только в отношении поглотительной активности моноцитов (табл. 3).

В отношении моноцитов, полученных от женщин, находящихся в лютеиновой фазе менструального цикла, ХГ оказывал оппозитные эффекты. Так, гормон в дозе 100 МЕ/мл достоверно увеличивал долю фагоцитирующих моноцитов и их поглотительную активность. ХГ в низкой дозе (10 МЕ/мл) оказывал менее выраженный стимулированный эффект, затрагивая только процент фагоцитоза (см. табл. 3).

Таблица 3

Влияние ХГ на фагоцитарную активность моноцитов женщин ($M \pm m$)

Группа	Экспериментальное воздействие	Фолликулярная фаза ($n = 7$)		Лютеиновая фаза ($n = 7$)	
		процент фагоцитоза	фагоцитарный индекс	процент фагоцитоза	фагоцитарный индекс
1	Контроль гормона	53,62 ± 2,65	3,36 ± 0,12	45,37 ± 2,56	2,43 ± 0,06
2	ХГ (10 МЕ/мл)	52,46 ± 1,70	2,88 ± 0,14	52,33 ± 2,89	2,73 ± 0,17
	$p^{ab}_{(2-1)}$		< 0,05		
	$p^{a}_{(2-1)}$			< 0,05	
3	ХГ (100 МЕ/мл)	44,51 ± 2,19	2,99 ± 0,06	55,60 ± 3,13	2,74 ± 0,11
	$p^{b}_{(3-1)}$	< 0,05			
	$p^{ab}_{(3-1)}$		< 0,05		
	$p^{b}_{(3-1)}$			< 0,05	
	$p^{b}_{(3-1)}$				< 0,05

Корреляционный анализ показал, что в прогестерондоминантную фазу цикла под влиянием ХГ (10 МЕ/мл) возникает достоверная обратная корреляционная зависимость (r = -0,6) между поглотительной активностью моноцитов и показателями стимулированной ЛЗХЛ (20 мин), а под влиянием высокой дозы (100 МЕ/мл) — между процентом фагоцитирующих клеток и стимулированной ЛЗХЛ (r = -0,6). Возможно, эта зависимость носит компенсаторный характер: под действием ХГ в прогестерондоминантную фазу продукция АФК во внеклеточную среду снижается, что связано с предупреждением антизиготных реакций и защитой собственных тканей от повреждения, но в то же время фагоцитарная активность моноцитов существенно возрастает. Окислительные процессы в это время, по-видимому, направлены на внутриклеточную деструкцию объектов фагоцитоза. Стимуляция фагоцитарной активности моноцитов в лютеиновую фазу цикла может служить одним из необходимых факторов сохранения беременности, так как при помощи фагоцитоза утилизируются не только патогенные агенты, но и апоптотические клетки, избыточное накопление которых в фетоплацентарной зоне может иметь фатальные последствия для плода [4]. В то же время в фолликулярную фазу цикла наблюдаемое нами снижение окислительного потенциала необходимо, по-видимому, для предупреждения антизиготных реакций и защиты собственных тканей от повреждения активными кислородными метаболитами. Возможно, регулируя окислительный потенциал моноцитов, ХГ обеспечивает тонкий баланс между позитивным и негативным эффектом кислородных метаболитов.

Таким образом, ХГ разнонаправленно модулирует экстрацеллюлярную продукцию АФК и фагоцитарную активность моноцитов женщин в зависимости от того, в какую фазу цикла были получены клетки. По-видимому, в разные фазы менструального цикла соотношение половых стероидных гормонов и (или) уровень гипофизарных гормонов (ЛГ, ФСГ, пролактин) за счет пермиссивных эффектов формируют разную чувствительность моноцитов к ХГ и определяют направленность его действия, приводящую к успешной имплантации и последующей плацентации оплодотворенной яйцеклетки.

Выводы

1. ХГ угнетает продукцию АФК интактными моноцитами женщин (100 МЕ/мл) и снижает активность секреторной МПО (10 и 100 МЕ/мл) независимо от того, в какую фазу менструального цикла получены клетки.

2. В моноцитах, полученных от женщин в фолликулярной фазе цикла, ХГ (10 и 100 МЕ/мл) угнетает процессы фагоцитоза, но повышает продукцию АФК в индуцированном варианте ЛЗХЛ (ХГ 100 МЕ/мл).

3. В моноцитах лютеиновой фазы ХГ (10 и 100 МЕ/мл) оказывает стимулирующее действие на фагоцитарную активность, но существенно снижает индуцированную экстрацеллюлярную продукцию активных кислородных метаболитов (10 МЕ/мл).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Кеворков Н. Н., Шилов Ю. И., Ширшев С. В., Черешнев В. А.* Гормоны репродукции в регуляции процессов иммунитета. — Екатеринбург, 1993.
2. *Ширшев С. В.* // Успехи соврем. биол. — 1998. — Т. 118, № 1. — С. 69—85.
3. *Ширшев С. В.* Механизмы иммуноэндокринного контроля процессов репродукции. — Екатеринбург, 2002. — Т. 2.
4. *Abrahams V. M., Kim Y. M., Straszewski S. L.* et al. // Am. J. Reprod. Immunol. — 2004. — Vol. 51, N 4. — P. 275—282.
5. *Banchereau J., Steinman R. M.* // Nature. — 1998. — Vol. 392. — P. 245—252.
6. *Huhtaniemi I. T., Korenbrot C. C., Jaffe R. B.* // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1977. — Vol. 44. — P. 936—941.
7. *Hunt J. S., Robertson S. A.* // J. Reprod. Immunol. — 1996. — Vol. 32, N 1. — P. 1—25.
8. *Lu D. L., Peegel H., Moiser S. M., Menon K. M.* // Endocrinology. — 1993. — Vol. 132, N 1. — P. 235—240.
9. *Magnie M., Valtora A., Maretta A.* et al. // Medicina (Firenze). — 1990. — Vol. 10, N 2. — P. 148—149.
10. *Rissoan M. C., Soumelis V., Kadowski N.* et al. // Science. — 1999. — Vol. 283. — P. 1183—1185.
11. *Ross G. T., Cargille C. M., Lipsett M. B.* et al. // Recent Prog. Horm. Res. — 1970. — Vol. 26. — P. 1—14.
12. *Wegmann T. G.* // Am. J. Reprod. Immunol. — 1987. — Vol. 15, N 2. — P. 67—70.
13. *Wide L.* // Acta Endocrinol. — 1962. — Vol. 41. — Suppl. 70. — P. 1—100.
14. *Yano K., Kohn L. D., Saji M.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1997. — Vol. 82, N 8. — P. 2586—2591.

Поступила 14.05.05

♦ ЗАМЕТКИ ИЗ ПРАКТИКИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2006

УДК 616.43-092:612.017.1]-008.6-036.1

А. В. Древаль, Т. С. Камынина, О. А. Нечаева, Р. С. Тишенина, Е. М. Орлова

ПОЛИГЛАНДУЛЯРНЫЙ АУТОИММУННЫЙ СИНДРОМ I ТИПА

Отделение терапевтической эндокринологии (руководитель — проф. А. В. Древаль) Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М. В. Владимирского

Полигландулярные аутоиммунные синдромы (ПАС) характеризуются первичным, возникающим в различной последовательности поражением 2 периферических эндокринных желез или более, сопровождающимся их гипофункцией вследствие полной или частичной деструкции аутоиммунного генеза, что подтверждается обнаружением в них идентичных гистологических изменений (лимфоплазмоцитарной инфильтрации) [1—5].

Эндокринные аутоиммунные заболевания нередко сочетаются с неэндокринной патологией аутоиммунного генеза. Различают 3 типа ПАС, дифференцируемых на основании клинико-иммуногенетических критериев: 1) ПАС-I (Whitaker-синдром), главными компонентами которого являются хронический слизисто-кожный кандидоз (ХСКК), гипопаратиреоз (ГПТ), первичный гипокортицизм [1—4, 7]; 2) ПАС-II (синдром Schmidt), который характеризуется сочетанием первичного гипотиреоза, гипокортицизма с сахарным диабетом 1-го типа (СД1), аутоиммунным гипофизитом, гипогонадизмом [4, 6, 9]; 3) ПАС-III, который диагностируют при выявлении СД1 в комбинации с хроническим лимфоцитарным тиреоидитом, пернициозной анемией, витилиго, алопецией [9]. Аутоиммунные эндокринные компоненты ПАС являются генетически детерминированными заболеваниями. Об этом свидетельствуют результаты семейных генетических исследований. Вирусной инфекции уделяется роль одного из внешних факторов, инициирующих аутоиммунную атаку в отношении органов-мишеней у индивидуумов, генетически предрасположенных к полигландулярной направленности нарушения Т-клеточного иммунитета. Прогрессирование заболевания обусловлено вторичной продукцией антител, действие которых направлено против антигенов, высвобождаемых поврежденными тканями [9, 11].

Приводим клиническое наблюдение редко встречающегося в российской популяции ПАС-I.

Больная И., 1963 года рождения, проживающая в Московской области, находилась на лечении в отделении терапевтической эндокринологии МОНИКИ с 13.10.04 по 29.10.04. Диагноз при поступлении: хронический гипокортицизм аутоиммунного генеза средней тяжести в фазе декомпенсации. Первичный гипотиреоз в исходе аутоиммунного тиреоидита средней тяжести в фазе субкомпенсации. Тотальная алопеция. Хронический атрофический гастрит в стадии ремиссии.

Госпитализирована с целью обследования по поводу первичного гипокортицизма, гипотиреоза, подбора адекватной гормональной заместительной терапии, а также верификации клинически предполагаемого диагноза еще одного аутоиммунного эндокринного заболевания — хронического ГПТ. При поступлении предъявляла жалобы на прогрессирующее снижение массы тела (на 10 кг за 1 год), двоение в глазах, судорожные подергивания мышц голеней и кистей рук, чувство "кома в горле", потемнение кожных покровов, нарушение менструального цикла (по типу олигоопсоменореи).

В результате проведенного исследования был диагностирован ГПТ, что позволило верифицировать ПАС-I. Неэндокринный аутоиммунный компонент ПАС-I (тотальная алопеция) диагностирован в 17-летнем возрасте. С 35 лет наблюдается эндокринологом по поводу первичного гипотиреоза. С этого времени проводится заместительная терапия L-тироксином. Потемнение кожных покровов и гипотония наблюдаются в течение последних 3 лет. На основе жалоб и клинического симптомокомплекса районным эндокринологом 08.04.04 диагностирован первичный гипокортицизм, в связи с чем была назначена заместительная терапия преднизолоном. Судорожные подергивания мышц голеней и кистей рук впервые ощутила в 34-летнем возрасте. Прогрессирующее ухудшение состояния здоровья отмечает в течение 2 мес, предшествовавших госпитализации (усиление интенсивности общей мышечной слабости, гиперпигментации на фоне снижения показателей АД — 80/50 мм рт. ст., появление судорожного синдрома — ларингоспазма; парестезии губ, пальцев кистей рук, стоп; подергивание мышц лица, приступообразные эпизоды карпопедиального спазма). Содержание Ca^{2+}, P в крови никогда ранее не определялось, Ca-содержащие препараты и препараты витамина D не получала.

Перенесенные заболевания: частые заболевания ОРВИ, аппендэктомия (1974), сальпингопластика (1992), экстракорпоральное оплодотворение (1994) без эффекта; хронический атрофический гастрит (с 1984 г.). Менархе в 13 лет. Менструации регулярные до 1994 г. Беременностей не было. Последние 10 лет — дисменорея (с 2002 г. по типу олигоопсоменореи).

Данные обследования. Состояние средней тяжести. Телосложение нормостеническое (ИМТ 20 кг/м^2). Отсутствует рост волос на голове — alopecia totalis. Кожные покровы гиперпигментированы. Очаги наиболее интенсивной пигментации наблюдаются в области локтей, коленных суставов, ареол, каймы губ, ладонных линий, десен, в местах чрезмерного трения кожи одеждой. Мышечная ригидность. В легких везикулярное дыхание, хрипов нет. Границы сердца не расширены. Сердечные тоны приглушены. Пульс 78 в минуту, ритмичный. АД 90—110/50—80 мм рт. ст. Органы пищеварения, мочеотделения без патологии. Гиперрефлексия. Менингеальные симптомы не определяются. Щитовидная железа (ЩЖ) не увеличена, имеет эластичную консистенцию, легко смещается при пальпации. Положительные симптомы Труссо, Хвостека.

Клинический анализ крови: Hb 140 г/л, эр. $4{,}42 \cdot 10^{12}$/л, цв. пок. 0,95, л. $16{,}1 \cdot 10^9$/л, п. 1%, с. 53%, э. 1%, б. 1%, лимф. 34%, мон. 10%, пл. кл. 0; СОЭ 12 мм/ч. Анализ мочи без патологии. Биохимический анализ крови: билирубин прямой 15 мкмоль/л (норма 0—5 мкмоль/л), билирубин непрямой 15 мкмоль/л (норма 5—21 мкмоль/л), холестерин 6,9 ммоль/л (норма 1,3—5,2 ммоль/л), белок 80 г/л (норма 65—80 г/л), мочевина 7,5 ммоль/л (норма 1,7—8,3 ммоль/л), креатинин 77 мкмоль/л (норма 44—123 мкмоль/л), глюкоза 4,5 ммоль/л (норма 3,3—5,9 ммоль/л), K 5,1 ммоль/л (норма 4,0—5,2 ммоль/л), Na 136 ммоль/л (норма 131—152 ммоль/л), $Ca_{общ}$ 1,6 ммоль/л (норма 2,1—2,55 ммоль/л), Ca^{2+} 0,62 ммоль/л (норма 1,08—1,31 ммоль/л), $P_{неорг}$ 1,95 ммоль/л (норма 0,81—1,62 ммоль/л), хлориды 93 ммоль/л (норма 94,6—115,1 ммоль/л), АСТ 26 Ед/л (норма ≤ 40 Ед/л), АЛТ 21 Ед/л (норма ≤ 40 Ед/л), щелочная фосфатаза 64 Ед/л (норма 39—117 Ед/л). Гормональное исследование: ТТГ 7,37 мкЕД/мл (норма 0,2—4,0 мкЕД/мл), $свT_4$ 21,7 пмоль/л (норма 11,0—23,0 пмоль/л), $свT_3$ 3,8 пмоль/л (норма 1,0—2,8 пмоль/л), уровень антител к

ТПО 55,6 Ед/мл (норма 0—30 Ед/мл), АКТГ 16,2 пмоль/л (норма 2,2—13,4 пмоль/л), ЛГ 8,4 МЕ/л, ФСГ 9,2 МЕ/л (на фоне дисменореи). Концентрация паратгормона впервые была определена уже на фоне лечения гипокальциемии и соответствовала нижней границе нормы — 18 пг/мл (норма 11—62 пг/мл).

УЗИ ЩЖ: структура диффузно-неоднородная. Объем ЩЖ 5,9 $см^3$. УЗИ органов брюшной полости: верифицирован холелитиаз. Учитывая жалобы на двоение в глазах, проведено МРТ головного мозга, позволившая исключить поражение тканей орбит и церебральную патологию. ЭКГ: синдром ранней реполяризации желудочков, нормальное направление электрической оси сердца, признаки гипокальциемии.

В референс-лаборатории Российского НИИ геронтологии Минздрава России по качеству типирующих реагентов осуществлено исследование HLA-антигенов I и II класса. Распределение антигенов HLA I локусов A, B, C оценивалось в двухступенчатом микролимфоцитотоксическом тесте, идентификацию аллелей генов HLA II DRB1, DQA1 и DQB1 осуществляли методом полимеразной цепной реакции со смесью сиквенс-специфических праймеров (PCR-mSSP). В результате исследования выявлен HLA-фенотип (A, B, C-локусы) A2A10, B17B18, Cw2, Bw4,6; HLA-генотип (DR, DQ-локусы): DRB1'01,11; DQA1'0501,0501; DQB1'0301, 0602-8. Обнаружена ассоциативная связь с генетическим аллелем HLA-DRB1'11.

В Медико-генетическом научном центре (лаборатория наследственных болезней обмена веществ) методом ДНК-диагностики верифицирована находящаяся в гомозиготном состоянии частная мутация R257X AIRE-гена, характерная для ПАС-I.

Гастроэнтерологом диагностированы хронический атрофический гастрит (ремиссия), желчно-каменная болезнь (ЖКБ); гинекологом — дисменорея, хронический сальпингоофорит вне обострения. Результаты клинико-гормонального исследования свидетельствовали о декомпенсации хронического первичного гипокортицизма, ГПТ, гипотиреоза.

Диагноз и дифференциальный диагноз. ПАС-I диагностирован на основании сочетания нескольких эндокринных аутоиммунных заболеваний (ГПТ, гипокортицизм, первичный гипотиреоз) с неэндокринными аутоиммунными заболеваниями (алопеция, хронический атрофический гастрит). ГПТ и гипокортицизм — 2 из 3 главных составляющих ПАС-I (клиника ХСКК отсутствовала). Это имело важное значение при проведении клинической дифференциальной диагностики, предусматривающей исключение ПАС-II и ПАС-III. Обнаруженная в данном наблюдении HLA-ассоциативная связь с генетическим аллелем DRB1'11 (сопоставимым с HLA-DR5) обозначена как характерная для ПАС-I в клинико-иммуногенетическом исследовании C. Betterle и соавт. [4].

Лечение. Терапия тахистином (по 10 капель утром) и препаратом "Са-D_3-Никомед" (по 1 таблетке 2 раза в день) использована для коррекции гипокальциемии. Компенсация гипокортицизма была достигнута на фоне назначения преднизолона (2 таблетки — в 7.00, 1 таблетка — в 13.00). С учетом показателя ТТГ (7,37 мкЕД/мл) доза L-тироксина постепенно была увеличена до 100 мкг. Назначенная терапия способствовала существенному улучшению состояния: мышечная слабость возникала лишь при психоэмоциональном напряжении, стабилизировалось АД (105—110/70 мм рт. ст.), восстановился менструальный цикл. Выписана на амбулаторное лечение с рекомендацией продолжить динамическое обследование в эндокринологическом кабинете НКО МОНИКИ.

1-й амбулаторный визит (15.11.04). Состояние удовлетворительное. АД 110/70 мм рт. ст. Сохраняется ощущение подергивания мышц голеней, симптом Хвостека слабо положительный. Удерживается гипокальциемия: Ca^{2+} 0,8 ммоль/л (норма 1,08—1,31 ммоль/л), $P_{неорг}$ 1,9 ммоль/л (норма 0,81—1,62 ммоль/л). Доза тахистина увеличена до 16 капель в день.

2-й амбулаторный визит (03.02.05): АД 130/80 мм рт. ст. Симптом Хвостека отрицательный. Менструации регулярные (через 28 дней). Появился рост пушковых волос на голове. $Ca_{общ}$ 2,0 ммоль/л (норма 2,1—2,55 ммоль/л), Ca^{2+} 1,02 ммоль/л, $P_{неорг}$ 1,6 ммоль/л, ТТГ 6,24 мкЕД/мл, $свТ_4$ 21,9 пмоль/л, $свТ_3$ 1,5 пмоль/л, АКТГ 6,0 пмоль/л. С целью достижения компенсации гипокортицизма пациентка была переведена на терапию таблетированным гидрокортизоном ("Кортеф").

ПАС-I — редкое моногенное аутоиммунное заболевание со спорадическим аутосомно-рецессивным менделевским типом наследования. Нарушение иммунитета при нем обусловлено мутацией единственного регулирующего иммунитет гена AIRE-1, расположенного на хромосоме 21q22.3. Сообщается о наибольшей заболеваемости в Финляндии, Сардинии и в популяции иранских евреев [8].

Время дебюта ПАС-I варьирует от детского возраста до 44 лет [5]. Пик манифестации приходится на 12—15 лет. Соотношение мужчины/женщины соответствует 0,8—1,5:1. ПАС-I слабо ассоциирован с HLA класса I (A3, A28) и класса II (DR-генами). Сообщается о некоторой ассоциации с гаплотипами DR3 (относительный риск 1,89) и DR5 (относительный риск 2,85) [4]. Обнаружение в нашем наблюдении аллеля HLA-DRB1'11 (сопоставимого с DR5) подтверждает данную закономерность. Сообщается также о снижении риска развития у больных ПАС-I СД1 при гаплотипе DQ6 [9].

Главными диагностическими критериями ПАС-I, составляющими классическую триаду, являются ГПТ, ХСКК, первичный гипокортицизм. Диагноз ПАС-I устанавливается при наличии комбинации любых 2 из 3 указанных аутоиммунных компонентов. В качестве дополнительных компонентов рассматриваются первичный гипотиреоз, первичный гипогонадизм, СД1, алопеция, синдром мальабсорбции, хронический атрофический гастрит, гипоплазия эмали (нередко предшествующая развитию ГПТ).

Последовательность развития ГПТ, ХСКК, гипокортицизма может быть различной. Распространенность ГПТ составляет 60—89%, ХСКК — 80%, гипокортицизма — 60%, недостаточности гонад — 40—45%, гипотиреоза — 12%, алопеции — 29—32%, СД1 — 1—4% [4, 9, 10]. С повышенной частотой среди больных ПАС-I диагностируется ЖКБ. ГПТ дебютирует в возрасте от 3 мес до 44 лет, гипокортицизм — от 6 мес до 41 года, ХСКК — от 1 года до 36 лет [4].

Диагноз ГПТ подтверждается характерной клинической симптоматикой (парестезии губ, пальцев, кистей рук, стоп, карпопедиальный спазм, ларингоспазм, приступы судорог, возможно развитие катаракты, отека диска зрительного нерва) в сочетании с гипокальциемией, гиперфосфатемией, пониженной концентрацией паратгормона в крови. У 49—56% больных ГПТ обнаруживают антитела к Са-чувствительным рецепторам клеток паращитовидных желез [10]. Диагноз гипокортицизма не вызывает затруднений при наличии классического симптомокомплекса (слабость, быстрая утомляемость, генерализованная гиперпигментация кожи и слизистых, гипотония, гастроинтестинальные синдромы). Диагноз подтверждается при обнаружении снижения концентрации кортизола в крови, свободного кортизола в моче и при повышенном уровне АКТГ. При подозрении на ХСКК осуществляется дерматологическое обследование.

У каждого пациента при выявлении гипофункции 2 эндокринных желез и более необходим скрининг на органоспецифические антитела к тканям других эндокринных органов (с целью возможной верификации полиэндокринного

U 0943 CIS

ПАС). В крупных биотехнологических центрах, оснащенных соответствующими иммунологическими и иммуногенетическими лабораториями, возможно проведение тестирования на наличие антител к 21-гидроксилазе, 17-гидроксилазе, P450c17, P450scc, ТПО, глутаматдекарбоксилазе и клеткам поджелудочной железы, ткани надпочечников, яичников, поверхностным клеткам желудка. Однако следует помнить, что отсутствие этих антител не исключает наличие патологии [3, 9, 11].

Лечение. Терапией первого выбора ПАС-I является заместительная гормональная терапия и коррекция электролитных нарушений. Для коррекции гипокальциемии при ГПТ применяют препараты кальция и витамина D. Компенсация гипокортицизма осуществляется с помощью подбора адекватных доз препаратов кортикостероидов. Для заместительной терапии гипотиреоза проводится терапия L-тироксином. Для лечения грибковой инфекции используется флюконазол и кетоконазол.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Айзенбарт Д.* // Эндокринология / Под ред. Н. Лавина. Пер. с англ. — М., 1999. — С. 946—954.
2. *Фадеев В. В., Мельниченко Г. А.* // Рус. мед. журн. — 2001. — Т. 9, № 24. — С. 1088—1094.
3. *Baker J. R.* // J. A. M. A. — 1997. — Vol. 278, N 22. — P. 1931—1937.
4. *Betterle C., Greggio N. A., Volpato M.* // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1998. — Vol. 83, N 4. — P. 1049—1055.
5. *Betterle C., Dal Pra Ch., Mantero F., Zanchetta R.* // Endocr. Rev. — 2002. — Vol. 23, N 3. — P. 327—364.
6. *Chen Q., Kukreja A., Maclaren N. K.* // Endocrinology / Eds L. J. de Groot, J. L. Jameson. — 4-th Ed. — Philadelphia, 2001. — Vol. 1. — P. 587—599.
7. *Davidson A., Diamond B.* // N. Engl. J. Med. — 2001. — Vol. 345, N 5. — P. 340—350.
8. *Eisenbarth G., Verge C.* // Williams Textbook of Endocrinology. — 9-th Ed. — 1998. — P. 1651—1659.
9. *Eisenbarth G. S., Gottlieb P. A.* // N. Engl. J. Med. — 2004. — Vol. 350, N 20. — P. 2068—2079.
10. *Schott M., Scherbaum W. A.* // N. Engl. J. Med. — 2004. — Vol. 351, N 10. — P. 1032—1033.
11. *Soderbergh A., Myhre A. G., Ekwall O.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2004. — Vol. 89, N 2. — P. 557—562.

Поступила 01.12.05

♦ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2006

УДК 616.379-008.64-07:616.831-018-076.4

С. А. Шестакова[1], Р. П. Степанов[2], Г. А. Григоренко[1], Н. В. Федорова[1], Ю. Н. Тишковская[1]

АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА И СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ У КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

[1]Кафедра патофизиологии (зав. — проф. Н. Н. Петрищев) и кафедра неврологии (зав. — акад. РАМН А. А. Скоромец) Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова, [2]Отдел морфологии (зав. — член-корр. РАМН В. А. Отеллин) ГУ НИИЭМ РАМН, Санкт-Петербург

У крыс с сахарным диабетом (СД) исследовали состояние ферментативных и неферментативных компонентов системы антиоксидантной защиты (САЗ) и процессов липопероксидации в гомогенатах ткани головного мозга через 30, 60 и 90 сут после введения аллоксана. Обнаружено снижение буферной емкости САЗ: уменьшение активности супероксиддисмутазы (60-е и 90-е сутки СД), глутатионпероксидазы и антирадикальной активности (90-е сутки) и глутатионредуктазы (во все сроки СД). Это сопровождалось прогрессирующим усилением процессов липопероксидации (по уровню малонового диальдегида), достигшим максимальной выраженности на 90-е сутки течения СД. Проведенный одновременно ультраструктурный анализ ткани головного мозга выявил слабовыраженные окислительные повреждения всех клеточных элементов, которые усиливались к 90-м суткам СД. Наиболее выраженные изменения обнаружены в нейроглиальных клетках, особенно в астроцитах, по сравнению с нейронами и эндотелиоцитами микрососудов мозга.

Введение крысам с СД препарата альфа-липоевой кислоты эспа-липона оказало выраженное положительное влияние на состояние компонентов САЗ, способствовало исчезновению активных проявлений патологических процессов в нейроглиальных клетках и нейронах и развитию в сохранившихся клетках компенсаторно-восстановительных процессов.

Ключевые слова: *сахарный диабет, головной мозг, антиоксиданты, липопероксидация, цитопатология, альфа-липоевая кислота.*

The state of enzymatic and non-enzymatic components of the antioxidative defense system (ADS) and lipid peroxidation was studied in the homogenates of the brain of rats with diabetes mellitus (DM) on days 30, 60, and 90 after administration of alloxan. There was a decrease in the buffer capacity of ADS: reductions in the activities of superoxide dismutase (on DM days 60 and 90), glutathione peroxidase and antiradical activity (on day 90) and glutathione reductase (in all periods of DM). This was followed by the progressive enhancement of lipid peroxidation processes, achieving the maximum magnitude on day 90 of DM (as estimated by the level of malonic dialdehyde). Concurrent brain tissue ultrastructural analysis revealed slightly pronounced oxidative lesions of all cell elements, which enhanced by day 90 of DM. The most marked changes were found in the neuroglial cells, in astrocytes in particular, as compared with cerebral microvascular neurons and endotheliocytes.

Administration of the α-lipoic acid agent espa-lipon to rats with DM produced a significant positive effect on the state of the ADS components, promoted the elimination of active manifestations of abnormal processes in the neuroglial cells and neurons and the development of compensatory and reducing processes.

Key words: *diabetes mellitus, brain, antioxidants, lipid peroxidation, cytopathology, α-lipoic acid.*

Окислительный стресс является одним из ключевых звеньев в патогенезе осложнений сахарного диабета (СД) [1, 9, 17]. В ткани головного мозга крыс с СД 1-го типа выявлено увеличение содержания продуктов липопероксидации (ЛП) и снижение активности некоторых ферментов системы антиоксидантной защиты (САЗ) [2, 13, 16], что предполагает нарушение прооксидантно-антиоксидантного баланса. Однако остаются неясными роль отдельных компонентов САЗ на этапах становления и прогрессирования неврологических осложнений СД, динамика и последовательность их изменений и связь со степенью выраженности и последовательностью развития окислительных повреждений в различных клеточных элементах ткани головного мозга. Решению этих вопросов могло бы способствовать использование корригирующего воздействия на САЗ альфа-липоевой кислотой (АЛК), успешно применяемой в лечении диабетической невропатии [1, 6, 17].

Задачами нашего исследования были: 1) изучение состояния ЛП, ферментативных компонентов САЗ — супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР) и неферментативного ее звена, определяемого по уровню антирадикальной активности (АРА) в ткани головного мозга крыс в сопоставлении с ультраструктурными изменениями в основных клеточных элементах и микрососудах ткани мозга в динамике течения СД; 2) определение влияния АЛК на состояние компонентов САЗ и структурные изменения в ткани головного мозга крыс с хроническим СД.

Материалы и методы

Опыты выполнены на 70 нелинейных белых крысах-самцах массой 180—240 г, содержавшихся в стандартных условиях вивария. СД 1-го типа моделировали путем введения 5% раствора аллоксана в дозе 170 мг/кг подкожно. Тяжесть СД оценивали по уровню гликемии натощак с помощью глюкометра ("Глюкотренд", "Рош Диагностика", Швейцария), уровню глюкозурии (тест-полоски, "Lachema", Чехия) и по изменению массы тела животного. В опыт брали крыс с выраженными признаками СД через 30, 60 и 90 сут после введения аллоксана. Группе крыс с СД сроком 60 сут вводили раствор этилендиаминовой соли АЛК эспа-липон ("Эспарма", Германия) в дозе 100 мг/кг внутрибрюшинно ежедневно в течение 1 мес. Группу сравнения составили животные с СД сроком 90 сут, не получавшие эспа-липона. Крыс декапитировали под легким эфирным наркозом, на холоде извлекали кусочки ткани из фронтопариетальных отделов мозга, из которых готовили 10% гомогенат на фосфатном буфере pH 7,8.

В полученных гомогенатах измеряли содержание малонового диальдегида (МДА) по методу [4] и выражали в наномолях МДА на 1 мг липидов. Общие липиды определяли фосфорно-ванилиновым методом (наборы "Bio-latest", "Chemapol", Чехия). Активность ферментов в гомогенатах определяли спектрофотометрически: СОД — как описано в работе [5] и выражали в условных единицах на 1 мг белка; ГП — с использованием ГР по убыли NADPH в ходе реакции разложения перекиси водорода при $\lambda = 340$ нм; ГР — по убыли NADPH в реакции восстановления окисленного глутатиона [8] и выражали в микромолях NADPH за 1 мин на 1 мг белка. Белок определяли по методу Лоури. АРА в гомогенатах определяли методом [11].

Для электронно-микроскопического анализа кусочки ткани фиксировали в смеси Карновского и ультратонкие срезы просматривали с помощью электронного микроскопа JEM-100B. Статистическую обработку результатов осуществляли на компьютере IBC PC с использованием пакета прикладных программ Windows XP.

Результаты и их обсуждение

На 30-е сутки развития СД содержание МДА в гомогенатах мозга крыс было на 27% выше, чем у контрольных животных (в контроле — $0,89 \pm 0,050$; $p = 0,008$). В дальнейшем отмечался прогрессирующий рост уровня МДА, достигавший максимума на 90-е сутки СД, когда он в 1,9 раза превысил уровень МДА в контрольной группе ($p = 0,001$; рис. 1).

Активность СОД в гомогенатах мозга на 30-е сутки развития СД повысилась незначительно. Однако уже на 60-е сутки она снизилась по сравнению с таковой в контроле ($11,6 \pm 0,67$, в контроле — $12,1 \pm 0,81$; $p = 0,008$), а на 90-е сутки была в 1,8 раза ниже, чем в контрольной группе ($p = 0,001$; см. рис. 1). Активность ГП в ранние сроки СД не отличалась от контрольных значений. Снижение

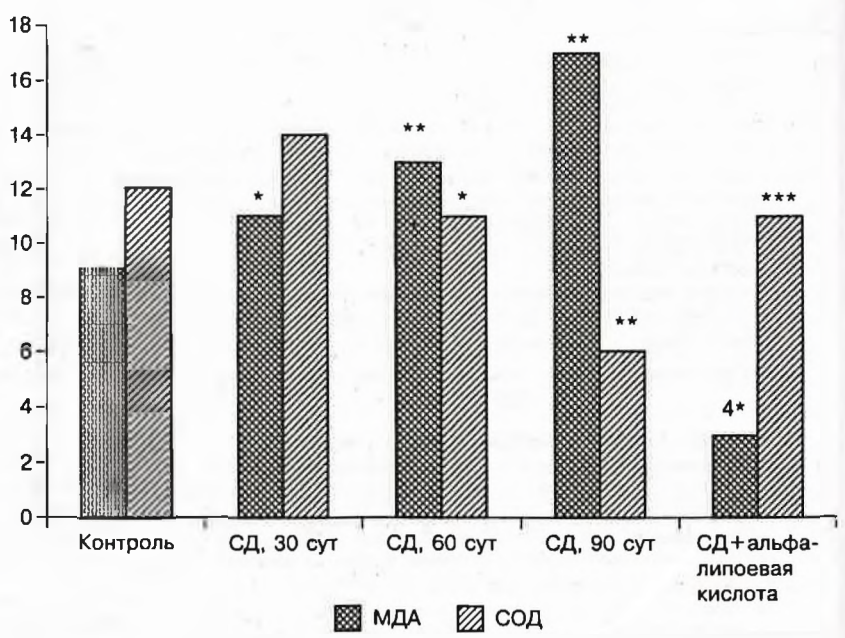


Рис. 1. Уровень МДА (в нмоль на 1 мг липидов · 10^{-1}) и активность СОД в динамике течения СД.

Одна звездочка — $p \leq 0,01$, две — $p \leq 0,001$ по сравнению с контролем; три — $p \leq 0,01$, четыре — $p \leq 0,001$ по сравнению с группой животных с СД на 90-е сутки.

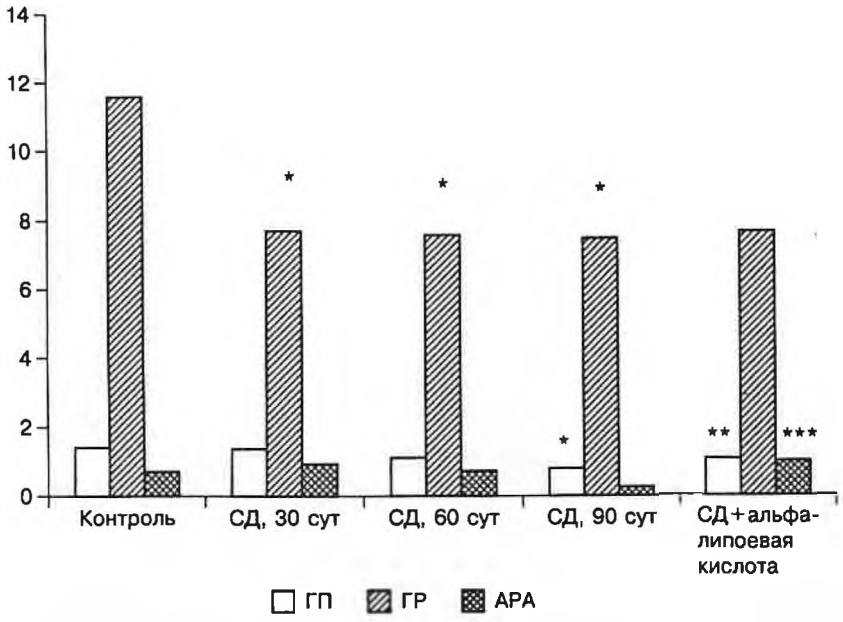


Рис. 2. Активность ГП, ГР и АРА в гомогенатах мозга крыс в динамике течения СД.

Одна звездочка — $p \leq 0{,}05$ по сравнению с контролем; две — $p \leq 0{,}05$; три — $p \leq 0{,}01$ по сравнению с группами животных с СД на 90-е сутки.

активности ГП отмечено только на 90-е сутки заболевания (0,83 ± 0,07, в контроле — 1,41 ± 0,18; $p = 0{,}035$; рис. 2). Активность ГР в ткани мозга была на 34% ниже, чем в контроле, уже на 30-е сутки СД (в контроле — 11,6 ± 1,13; $p = 0{,}031$), и это снижение сохранялось во все последующие сроки СД (см. рис. 2).

Состояние неферментативного звена (САЗ), определяемое по уровню общей АРА, в ткани мозга крыс на 30-е сутки СД характеризовалось некоторым повышением. На 60-е сутки СД величина АРА не отличалась от контрольных значений, а на 90-е сутки она снизилась в 2,6 раза по сравнению с контролем (в контроле — 0,74 ± 0,22; $p = 0{,}005$; см. рис. 2).

Введение крысам с СД сроком 60 сут эспа-липона оказало положительное воздействие на состояние САЗ в ткани мозга: активность СОД повысилась в 1,8 раза ($p = 0{,}006$), ГП — на 32% ($p = 0{,}024$), АРА — в 3,6 раза ($p = 0{,}008$) по сравнению с показателями у крыс, не получавших эспалипона (см. рис. 1 и 2). Одновременно уровень МДА снизился в 2,7 раза по сравнению с контролем ($p = 0{,}001$; см. рис. 1).

Прогрессирующие по мере развития СД нарушения в САЗ коррелировали с параллельно нарастающими в ткани мозга структурными изменениями. Самые ранние и наиболее распространенные нарушения обнаружены в астроцитах в виде гипергидратации клеток и их отростков (рис. 3, *б*, *в*). Они затрагивали небольшую часть клеток и были выражены в разной степени — от преимущественно умеренного снижения оптической плотности цитоплазматического матрикса до отечного набухания астроцитов с дисперсией, дегенерацией и элиминацией части цитоструктур (в том числе митохондрий), появлением в цитоплазме вакуолей, глыбчатых включений и миелиновых фигур. Гибнущие астроциты встречались редко и в основном в более отдаленные сроки СД, подавляющая же часть клеток была не изменена. Астроциты и их отростки с признаками отека встречались в основном в периваскулярной зоне небольшой части капилляров в виде отдельных измененных локусов или сплошных циркулярных муфт. Их появление не коррелировало со структурными изменениями капилляров и эндотелия. В более удаленных от капилляров зонах ткани подобные изменения встречались реже и были выражены в меньшей степени.

Эндотелий микрососудов мозга не имел заметных повреждений, хотя изредка и преимущественно в отдаленные сроки СД встречались клетки с признаками отека или апоптоза. В этих условиях в их цитоплазме появлялись вакуоли, полиморфные глыбчатые включения или поврежденные митохондрии. У крыс с СД в отличие от контрольных животных в ткани неокортекса местами обнаруживались признаки перераспределения кровотока: отдельные капилляры со спавшимся, расширенным или редуцированным просветом и новообразованные капилляры малого диаметра.

Изменения олигодендроцитов были менее выраженными и связанными с небольшим увеличением оптической плотности цитоплазматического матрикса, редко — с выраженной конденсацией цитоплазмы, деструкцией митохондрий, вакуольным превращением канальцев эндоплазматического ретикулума, элементов комплекса Гольджи, перинуклеарной цистерны, с общей пикнотизацией клетки и ее ядра. В прилегающих зонах ткани при этом обнаруживались локусы дегенерации миелиновых оболочек аксонов (рис. 4, *г*).

Реже встречались и поврежденные нейроны с дегенерацией отдельных митохондрий, отечным набуханием цитоплазмы, появлением крупных вакуолей и липидных глобул. На поздних этапах течения СД появлялись редкие гибнущие нейроны (рис. 4, *а*, *б*, в). В значительной части нейронов, не имевших проявлений патологии, накапливалось повышенное количество гранул липофусцина (рис. 5, *б*).

Положительный эффект введения крысам с СД эспа-липона подтверждался нормализацией морфологической картины нервной ткани (рис. 3, *г* и рис. 5, *в*): существенно уменьшалась частота появления капилляров со спавшимся просветом, исчезали патологические изменения в нейронах и глиальных структурах, интенсифицировались компенсаторно-восстановительные процессы, заметные по увеличению в клетках содержания свободных рибосом, митохондрий и канальцев эндоплазматического ретикулума. Гибнущие клетки не обнаруживались, но в ткани длительно сохранялись пустоты, заполненные остатками клеточного детрита и по конфигурации соответствовавшие расположению погибших клеток и их отростков.

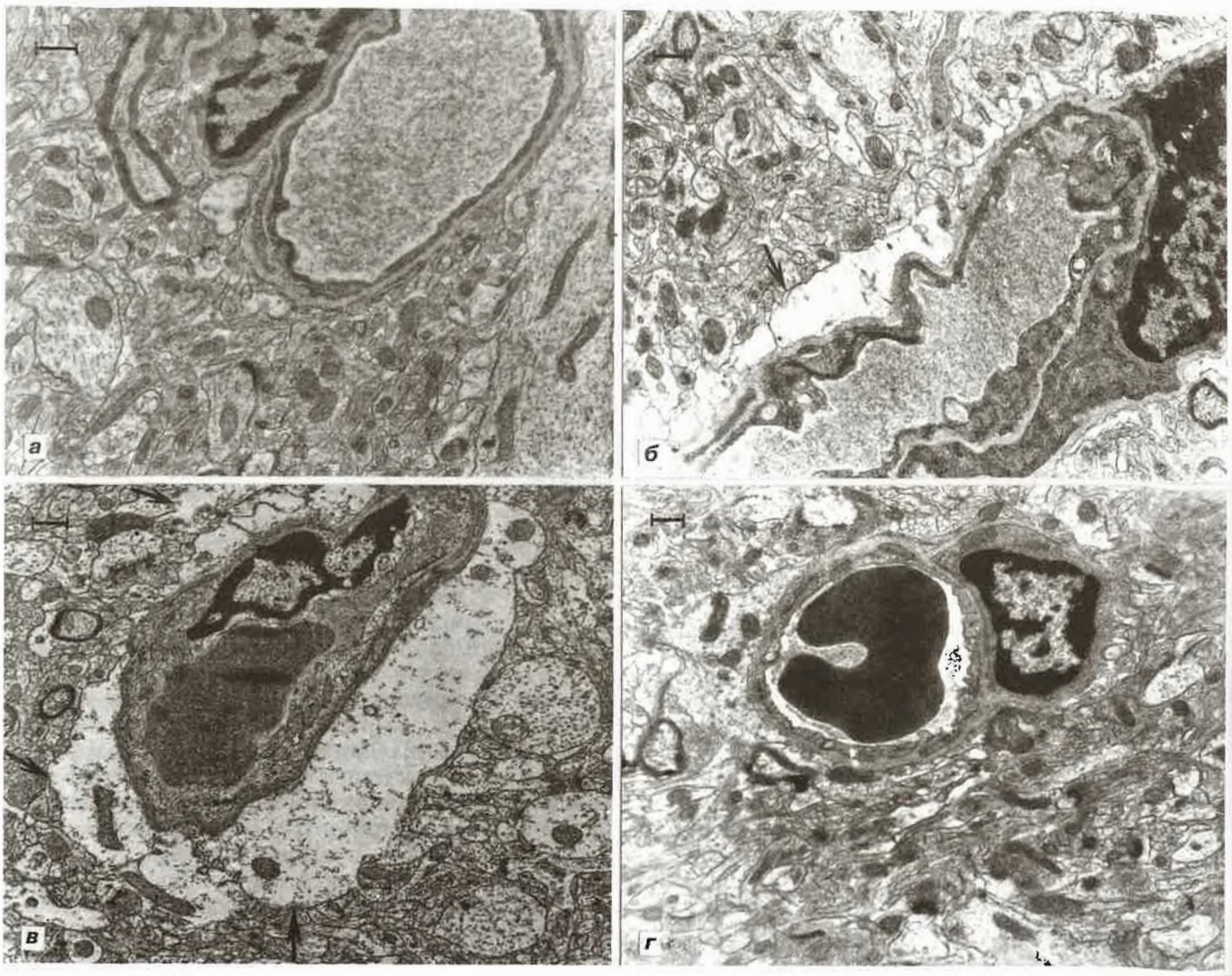


Рис. 3. Периваскулярные участки ткани неокортекса у контрольных крыс (*а*) и у животных с СД на 30-е сутки (*б*), 60-е сутки (*в*) и после введения эспа-липона (*г*).

Стрелки — отек астроцитов. Длина риски соответствует масштабу увеличения и равна 2 мкм

Данные о повышении образования МДА в ткани мозга крыс с СД, подтвержденные в работах [2, 13, 16], указывают на интенсификацию процессов ЛП, которая, судя по динамике изменений МДА, начинается рано и достигает в течение 3 мес двукратного увеличения по сравнению с контролем. Повышенная генерация активных форм кислорода (АФК), обеспечившая усиление процессов ЛП, облегчается тем, что индуцированные гипергликемией процессы гликирования белков, сопряженные с автоокислением, и связывание конечных продуктов гликирования (КПГ) с рецепторами [17] происходят в клетках нервной ткани с их особенностями химического состава, метаболизма и функционирования [3].

Существенным условием усиления процессов ЛП в ткани мозга являются изменения в САЗ. Как показало наше исследование, нарастание процессов ЛП сочетается со снижением буферной емкости САЗ, наиболее выраженным в поздние сроки течения СД за счет ферментативных и неферментативных ее компонентов. При этом доля их участия оказывается неравноценной, а последовательность вовлечения в формирование недостаточности САЗ — неодинаковой.

Активность СОД, которая является ключевым ферментом САЗ на раннем этапе образования свободных радикалов [3], после незначительного подъема, по-видимому, адаптивного характера в течение 3 мес снижается почти в 2 раза. Это снижение, вероятно, обусловлено инактивацией фермента из-за его гликирования и фрагментации [7] и ускоренным функциональным изнашиванием при избыточной генерации супероксидного радикала. В отличие от СОД уменьшение активности ГП происходит только на 90-е сутки СД, и, следовательно, его вклад в снижение возможностей САЗ существен на более поздних этапах СД. Поскольку в ткани мозга ГП содержится во всех клеточных органеллах, где осуществляет антиперекисную защиту, а действие каталазы ограничено ее локализацией в редких пероксизомах, снижение активности ГП должно вносить особенно большой вклад в развитие недостаточности САЗ. Уменьшение ее актив-

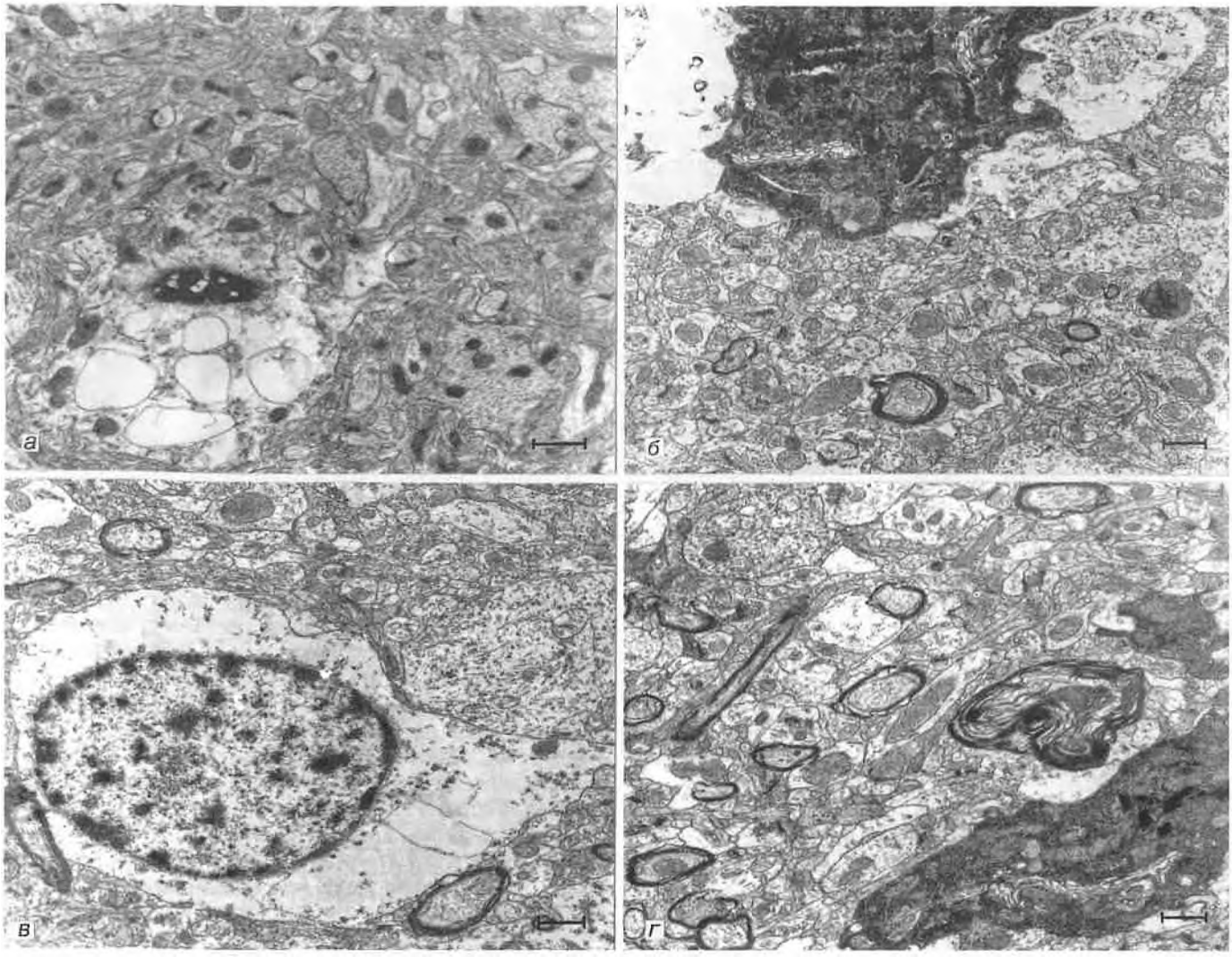


Рис. 4. Изменения в ткани неокортекса у крыс на 60-е сутки развития СД.

Вакуольная дегенерация клеток (*а*), гибнущие нейроны (*б, в*), дегенерация миелиновой оболочки аксонов (*г*). Длина риски соответствует масштабу увеличения и равна 5 мкм.

ности, вероятно, обусловлено окислительной модификацией фермента в условиях некомпенсированного окислительного стресса. Кроме того, она может лимитироваться нарастающим дефицитом глутатиона, на что указывает согласованная динамика изменений активности ГП и ГР. Уже на 30-е сутки СД активность ГР снижалась, опережая изменения ГП, что свидетельствует о торможении регенерации глутатиона. Снижение активности ГР, положительно коррелирующее с уменьшением содержания восстановленного глутатиона в ткани мозга, обнаружено у крыс со стрептозоциновым диабетом [16]. Регенерация глутатиона лимитируется и дефицитом NADPH из-за усиления его расхода при активизации полиолового пути метаболизма глюкозы при СД [17]. В уменьшение буферной емкости САЗ в поздние сроки СД еще более весомый вклад вносит падение АРА.

Таким образом, в развитие патологических процессов ткани головного мозга при СД согласованно вовлекаются разные компоненты САЗ. При этом они последовательно подвергаются деградации и истощению, что приводит к прогрессированию дефицита резервных возможностей САЗ и привносит в динамику формирования ее недостаточности эффект взаимоусиливающего влияния, а не просто суммации. Соответственно в ткани мозга наблюдаются прогрессирующие проявления окислительного стресса с рядом структурных нарушений.

Морфологические признаки цитопатологии в неокортексе заметны уже на ранних этапах развития СД, но более серьезные деструктивные нарушения появляются относительно поздно (через 60—90 сут). Изменения возникают во всех клеточных элементах ткани мозга, но неравномерно в разных локусах, в неодинаковой степени и в разной последовательности, что требует объяснения.

При СД астроциты находятся в более неблагоприятных условиях, чем нейроны. Хотя они более устойчивы к окислительному стрессу, которому противостоят за счет высокого содержания глутатиона [10], рост генерации АФК в них приводит к быстро формирующемуся дефициту компонентов САЗ. Ситуация осложняется развитием в астроцитах дефицита энергии, обусловленного нарушением инсулинзависимого транспорта глюкозы, в отличие от нейронов, транспорт глюкозы в которых не зависит от инсулина [14]. Кроме того, окисли-

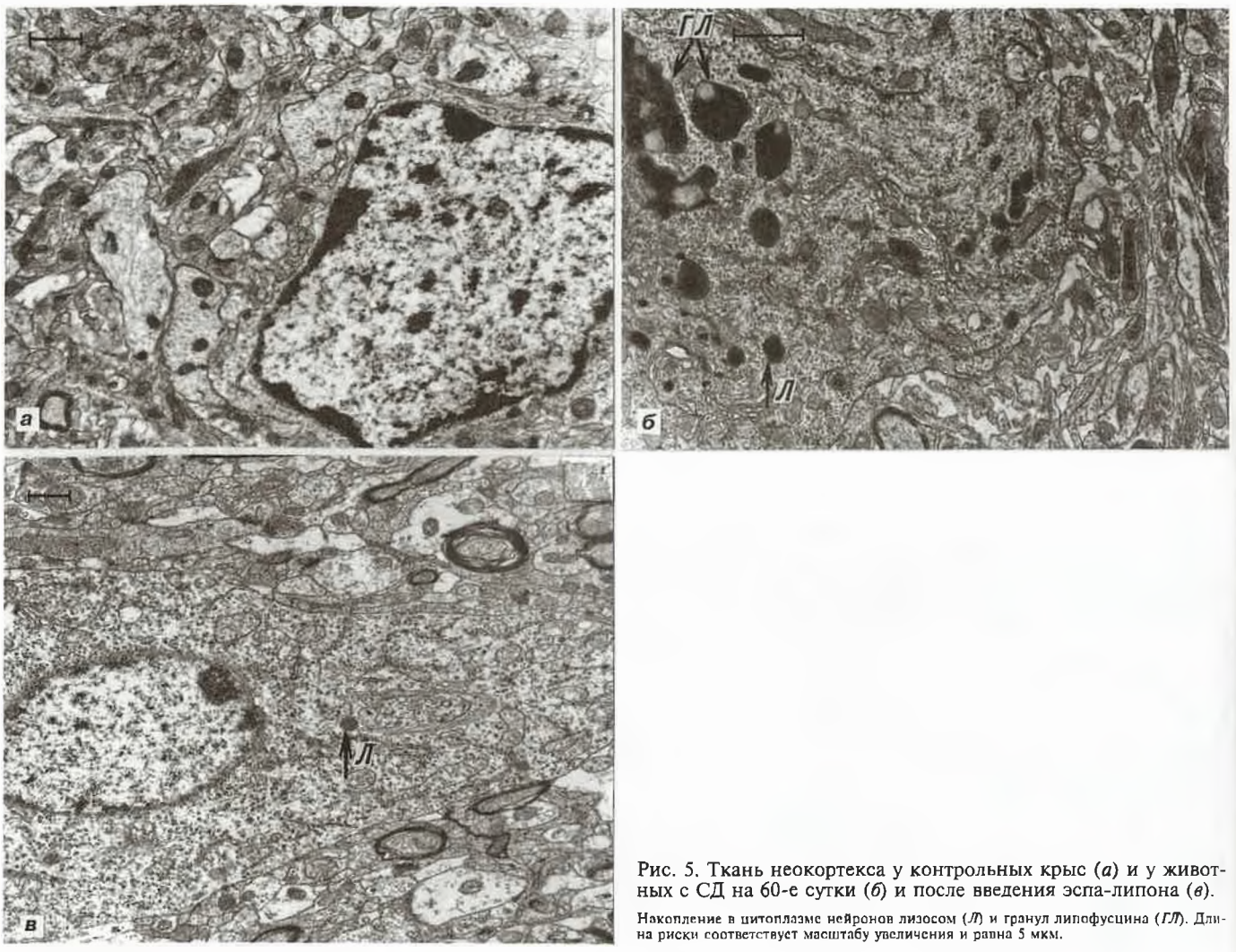


Рис. 5. Ткань неокортекса у контрольных крыс (*а*) и у животных с СД на 60-е сутки (*б*) и после введения эспа-липона (*в*).

Накопление в цитоплазме нейронов лизосом (*Л*) и гранул липофусцина (*ГЛ*). Длина риски соответствует масштабу увеличения и равна 5 мкм.

тельная модификация Na/K-АТФазы наряду с энергодефицитом вызывает ионный дисбаланс и гипергидратацию клеток. При этом часть астроцитов остается неповрежденной, несмотря на общее снижение буферной емкости САЗ. Энергодефицит лимитирует их биосинтетическую активность — образование ферментов САЗ, трофогенов и внутриклеточную репарацию структурных дефектов, вызванных гипероксидацией. Все это ведет к снижению резистентности астроцитов и ухудшению их нейропротективной функции, в том числе к ограничению доставки глутатиона.

В нейронах и олигодентроцитах реализация процессов цитопатологии запаздывает, вероятно, до критического уровня усиления окислительного стресса. Достижение этого уровня в отдельных клетках, видимо, устойчиво изменяет их окислительно-восстановительный потенциал, что активизирует факторы транскрипции (FT κB) и запускает механизмы апоптоза. Появление его признаков в нейронах и олигодендроцитах учащается именно в отдаленные сроки СД, когда уменьшается эффективность САЗ ткани, особенно за счет снижения уровня низкомолекулярных компонентов. Одновременно наблюдаются признаки некроза клеток. Однако гибель клеток отмечается редко. Более распространены изменения, связанные с частичным повреждением клеточных структур, в том числе цитомембран, и с накоплением в цитоплазме миелиновых фигур и липофусциновых гранул. Содержание последних в нейронах значительно превышает таковое у одновозрастных контрольных крыс, на что указывали авторы работ [12, 18, 19] при анализе изменений в различных отделах нервной системы при СД.

Необходимо отметить, что структурные изменения клеток одного типа варьируют в различных участках ткани. Так, измененные астроциты локализуются преимущественно около капилляров, что, по-видимому, обусловлено воздействием дополнительных факторов — ишемии (гипоксии) и реперфузии, возникающих в отдельных участках микроциркуляторного русла и усиливающих и ускоряющих развитие окислительного стресса. Это подтверждается наличием капилляров, диаметр просвета которых подвержен резким изменениям, вероятно, вследствие различного функционального состояния приводящего сосудистого звена регионального кровообращения. Механизмы дисфункции приводящих сосудов связывают с образованием в структурах их стенок КПГ, способствующих усилению генерации АФК и процессов ЛП [15], что приводит к нарушению продукции эндотелиальных факторов, регулирующих тонус сосудов и гемостаз [17].

U 0943 CIS

Полученные результаты показывают, что изменения в клетках глии и нейронах не совпадают топографически с появлением признаков повреждения в эндотелии капилляров — событием редким и слабовыраженным. Возможно, это связано с лучшим по сравнению с астроцитами состоянием его энергообеспечения, вследствие инсулинонезависимого механизма транспорта глюкозы. Несмотря на подобный механизм транспорта глюкозы в нейронах, повреждения в них выражены значительно больше, что может быть обусловлено лишением их поддержки поврежденных при оксидативном стрессе астроцитов.

Относительно позднее появление серьезных структурных поражений клеток ткани мозга при СД, очевидно, обеспечивается длительной сохранностью эффективных механизмов компенсации и репарации возникающих внутриклеточных дефектов. Наиболее заметны эти проявления в отдаленные сроки СД, когда структурные повреждения наиболее значительны и проявляются увеличением численного содержания в неповрежденных клетках аутофагосом, рибосом, элементов эндоплазматической сети, митохондрий и укрупнением последних. Подобные преобразования особенно усиливаются при длительном введении крысам с СД эспа-липона наряду с полной ликвидацией активных деструктивных изменений в ткани мозга. Следует отметить также эффект эспа-липона, связанный с предотвращением нарушений кровотока в микроциркуляторном русле мозга. Эти результаты коррелируют с положительным влиянием эспа-липона на состояние САЗ (повысилась, хотя и не достигла контрольного уровня, активность СОД, ГП и АРА) и на процессы ЛП и свидетельствуют о корригирующем его действии на окислительный стресс в ткани мозга.

Выводы

1. У крыс с СД в динамике его течения (30—90 сут) отмечено прогрессирующее снижение буферной емкости САЗ за счет ферментативных и неферментативных ее компонентов, что сопровождается усиливающейся интенсификацией процессов ЛП. Наиболее ранние изменения антиоксидантной системы связаны со снижением активности ГР. Максимальное уменьшение буферной емкости САЗ в более поздние сроки заболевания обусловлено снижением активности также СОД и ГП, а также неферментативных компонентов.

2. Отмечены патологические изменения некоторых клеточных элементов ткани мозга у крыс с СД, диабетом, обусловленные окислительным стрессом. Однако они распределены неравномерно, возникают несинхронно и выражены в разной степени в нейронах и в клетках нейроглии.

3. Деструктивные изменения, обнаруженные в сосудистых эндотелиоцитах, и изменения в элементах окружающей нервной ткани несинхронны. Это позволяет предполагать, что повреждения нейронов не связаны с деструктивными изменениями в капиллярном эндотелии, а в существенной степени зависят от изменений в астроцитах.

4. Введение крысам с СД эспа-липона улучшает состояние САЗ в ткани мозга, что сопровождается исчезновением активных проявлений патологических процессов в клетках нейроглии и нейронах и усилением компенсаторно-восстановительных процессов в сохранившихся клетках.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Балаболкин М. И., Креминская В. М.* // Журн. неврол. психиатр. — 2000. — № 10. — С. 57—64.
2. *Баранцевич Е. Р., Скоромец А. А., Мельникова Е. В., Шляхто Е. В.* // Материалы Международного симпозиума "Метаболическая терапия в кардиологии, эндокринологии и неврологии". — СПб., 1998. — С. 25—29.
3. *Болдырев А. А.* // Успехи физиол. наук. — 2003. — Т. 34, № 3. — С. 21—34.
4. *Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р., Мажуль Л. М.* // Вопр. мед. химии. — 1987. — Т. 33, № 1. — С. 118—122.
5. *Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева И. В.* // Вопр. мед. химии. — 1990. — Т. 36, № 2. — С. 88—91.
6. *Строков И. А., Манухина Е. Б., Бахтина Л. Ю.* и др. // Бюл. экспер. биол. — 2000. — Т. 130, № 10. — С. 437—441.
7. *Adachi T., Ohta H., Hirano K.* et al. // Biochem. J. — 1991. — Vol. 279. — P. 263—267.
8. *Beutler E.* Red Cell Metabolism. — New York; London, 1975.
9. *Cameron N. E., Eaton S. E. M., Cotter M. A., Tesfaye S.* // Diabetologia. — 2001. — Vol. 44. — P. 1973—1988.
10. *Drukarch B., Schepens E., Yongenelen C. A. M.* // Brain Res. — 1997. — Vol. 770. — P. 123—130.
11. *Glavind J.* // Acta Chem. Scand. — 1963. — Vol. 17, N 13. — P. 1635—1640.
12. *Jackson J. J., Nisenbaum L. K., Leander J. D.* // Soc. Neurosci. — 1997. — Vol. 23, pt I. — P. 326.
13. *Kumar J. S., Menon V. P.* // Metabolism. — 1993. — Vol. 65, N 11. — P. 1435—1439.
14. *Masters B. A., Ihmer J., Judkins J. H.* et al. // Brain Res. — 1987. — Vol. 417. — P. 247—256.
15. *Mooradian A. D., Smith T. L.* // Neurosci. Lett. — 1992. — Vol. 145. — P. 145—148.
16. *Mukherjee B., Mukherjee J. R., Chatterjec M.* // Immunnol. Cell Biol. — 1994. — Vol. 72, N 2. — P. 109—114.
17. *Rosen P., Nawroth P. P.* et al. // Diabet. Metab. Res. Rev. — 2001. — Vol. 17. — P. 189—212.
18. *Sasuki J. L., Low K. A.* // Acta Neuropathol. (Berl.). — 1997. — Bd 93. — S. 118—127.
19. *Sugaya J., Sugimoto H., Mogi N.* et al. // Soc. Neurosci. — 1997. — Vol. 23, pt I. — P. 325.

Поступила 21.06.05

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2006

УДК 616.379-008.64-07:616.831-018-076.4

П. К. Телушкин[1], А. Д. Ноздрачев[2], П. П. Потапов[1], Н. Б. Медведева[1]

ПОКАЗАТЕЛИ МЕТАБОЛИЗМА У КРЫС ПРИ МНОГОКРАТНОЙ ИНСУЛИНОВОЙ ГИПОГЛИКЕМИИ

[1]Кафедра биологической и биоорганической химии (зав. — проф. П. П. Потапов) Ярославской государственной медицинской академии, [2]кафедра общей физиологии (зав. — акад. РАН А. Д. Ноздрачев) Санкт-Петербургского государственного университета

У крыс вызывали гипогликемическую кому путем введения 40 ЕД инсулина на 1 кг массы тела. У животных, перенесших 7 гипогликемических ком с интервалом 2 сут и забитых во время последней из серии ком, обнаружено увеличение содержания свободных жирных кислот, мочевины и мочевой кислоты в сыворотке крови; уровень гликогена в печени оставался нормальным. В печени увеличилась активность аспартатаминотрансферазы (КФ 2.6.1.1), аланинаминотрансферазы (КФ 2.6.1.2), глутаминазы (КФ 3.5.1.2), глутаматдегидрогеназы (КФ 1.4.1.3), сукцинатдегидрогеназы (КФ 1.3.99.1) и лактатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.27), повысилась скорость образования лактата при использовании в качестве субстратов глюкозы и гликогена. Подобные изменения отсутствовали у первоначально здоровых животных в состоянии первой гипогликемической комы. Они свидетельствуют об увеличении катаболизма аминокислот и активации глюконеогенеза у крыс, неоднократно перенесших инсулиновую гипогликемию, и связаны со стимуляцией контринсулярного аппарата при гипогликемии.

Ключевые слова: *гипогликемия, печень, азотистый обмен, окислительные ферменты, гликолиз.*

Hypoglycemic coma was induced with 40 U of insulin per kg body weight. The animals experiencing 7 hypoglycemic comas at 2-day intervals and killed during the last coma were found to have elevated serum levels of free fatty acids, urea, and uric acid; hepatic glycogen levels remained normal. In the liver, the activities of aspartate aminotransferase (EC 2.6.1.1), alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2), glutaminase (EC 3.5.1.2), glutamate dehydrogenase (EC 1.4.1.3), succinate dehydrogenase (EC 1.3.99.1), and lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27) were enhanced and the rate of lactate generation increased when glucose and glycogen were used as substrates. Such changes were absent in initially healthy animals during the first hypoglycemic coma. They are indicative of increases in the catabolism of amino acids and in the activation of gluconeogenesis in the rats experiencing insulin hypoglycemia many times and they are associated with the stimulation of the contrainsular apparatus in hypoglycemia.

Key words: *hypoglycemia, liver, nitrogen metabolism, oxidative enzymes, glycolysis.*

В ходе инсулинотерапии сахарного диабета [1, 11], а также у пациентов с заболеваниями печени, почек и желудочно-кишечного тракта часто наблюдаются возобновляющиеся гипогликемические состояния. На протяжении многих лет проводилось изучение метаболизма в нервной ткани при гипогликемии [5]. Большое внимание было уделено также оценке гормонального статуса при гипогликемии [9, 16]. Однако исследования изменений уровня различных гормонов не дают ответа на вопрос о том, к каким собственно нарушениям общего метаболизма приводит неоднократно перенесенная гипогликемия. Метаболический стресс, связанный с предшествующими эпизодами гипогликемии, может создавать неблагоприятный метаболический фон для протекания последующих гипогликемических состояний. В настоящей работе проведено изучение показателей обмена у крыс при одно- и многократном введении высоких доз инсулина.

Материалы и методы

Опыты выполнены на белых беспородных крысах-самцах массой 180—220 г. Животных содержали на стандартном пищевом рационе и перед каждым опытом лишали пищи в течение 18—24 ч. Животные были разделены на 5 групп: 1-я группа — интактные крысы (контроль); 2-я группа — крысы, находящиеся в состоянии гипогликемической комы (ГГК); 3-я группа — животные, обследованные через 48 ч после купирования ГГК; 4-я группа — крысы, перенесшие 7 ГГК с 2-дневным интервалом и забитые во время последней из серии ком; 5-я группа — крысы, перенесшие 7 ГГК и забитые через 48 ч после купирования последней комы. ГГК (утрата постуральных рефлексов, содержание глюкозы в крови около 1—2 ммоль/л) вызывали внутримышечной инъекцией инсулина в дозе 40 ЕД на 1 кг массы тела, купирование осуществляли путем введения коматозным животным 3 мл 40% раствора глюкозы в желудок. После купирования комы крысы находились в условиях свободного доступа к пище в течение 1 сут, воду получали без ограничения во всех условиях эксперимента.

В сыворотке крови определяли концентрации глюкозы, свободных жирных кислот (СЖК), мочевины и мочевой кислоты [2], кетоновых тел [7]. В печени определяли содержание гликогена [3].

Интенсивность гликолиза и гликогенолиза исследовали по скорости накопления лактата в инкубационной среде, используя в качестве субстратов глюкозу, глюкозо-6-фосфат (Г-6-Ф) и гликоген [4]. Активность глутаматдегидрогеназы (ГДГ, КФ 1.4.1.3), сукцинатдегидрогеназы (СДГ, КФ 1.3.99.1), лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ 1.1.1.27), аспартатаминотрансферазы (АСТ, КФ 2.6.1.1) и аланинаминотрансферазы (АЛТ, КФ 2.6.1.2) определяли спектрофотометрически [3]. Глутаминазную активность (ГЛТ, КФ 3.5.1.2) и аденозинмонофосфатдезаминазную активность (АМФ-Д, КФ 3.5.4.6) оценивали по накоплению аммиака [6]. Активность ГДГ, СДГ, ГЛТ и АМФ-Д определяли в 10% гомогенате печени; интенсивность накопления лактата и активность ЛДГ — в супернатанте, полученном после центрифугирования гомогената при 14 000 g в течение 15 мин. Количество белка определяли по

U 0943 CIS

Таблица 1

Содержание энергетических субстратов, конечных продуктов азотистого обмена в крови и гликогена в печени крыс при гиперинсулинизации

Показатель	Группа животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
Глюкоза, ммоль/л	5,37 ± 0,12	1,36 ± 0,14***	5,63 ± 0,17	1,76 ± 0,23***	5,47 ± 0,15
СЖК, мкмоль/л	409 ± 15	235 ± 34***	125 ± 11***	501 ± 13***	245 ± 16***
Кетоновые тела, мг/л	34,8 ± 1,6	18,6 ± 2,3***	13,1 ± 2,0***	36,9 ± 2,5	25,7 ± 1,0***
Мочевина, ммоль/л	4,6 ± 0,8	2,3 ± 0,2**	2,9 ± 0,3*	7,5 ± 0,4***	4,4 ± 0,7
Мочевая кислота, мкмоль/л	210 ± 4	168 ± 3***	245 ± 5***	244 ± 14*	250 ± 10**
Гликоген печени, мг/г	2,6 ± 0,2	1,7 ± 0,2**	4,9 ± 0,3***	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,2

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 значения представлены в виде $M \pm m$ (выборочная средняя ± ошибка средней); каждая группа состояла из 6—8 животных. Здесь и в табл. 2 одна звездочка — $p < 0,05$, две — $p < 0,01$, три — $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

Лоури. Статистическую обработку полученных данных проводили с применением критерия t Стьюдента. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Уровень гликемии у крыс в состоянии первой и последней ГГК был практически одинаковым (табл. 1). Содержание СЖК и кетоновых тел в сыворотке крови у крыс 2-й группы было снижено соответственно на 43% ($p < 0,001$) и 47% ($p < 0,001$). Через 48 ч после купирования однократной ГГК эти показатели были в 3 раза ниже уровня контроля. У крыс 4-й группы концентрация СЖК в сыворотке крови увеличилась (+22%, $p < 0,001$), а уровень кетоновых тел не отличался от нормы. Через 48 ч после купирования последней из серии ком количество СЖК и кетоновых тел в сыворотке уменьшилось соответственно на 40% ($p < 0,001$) и 26% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Содержание мочевины в сыворотке крови в состоянии первой ГГК и через 48 ч после купирования уменьшилось соответственно на 50% ($p < 0,01$) и 37% ($p < 0,05$). У крыс, перенесших серию ГГК, в состоянии последней комы уровень мочевины был значительно повышенным (на 63%, $p < 0,001$). Концентрация мочевой кислоты в сыворотке крови уменьшилась на 20% ($p < 0,001$) у животных в состоянии первой ГГК и увеличилась на 17% ($p < 0,001$) через 48 ч после купирования комы. У животных 4-й группы показатель был повышенным на 16% ($p < 0,05$) по сравнению с нормой и оставался высоким через 48 ч после купирования последней комы. Содержание гликогена в печени крыс в состоянии первой ГГК было сниженным на 33% ($p < 0,01$), а через 48 ч после купирования комы увеличилось на 90% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

Изменений активности ЛДГ, СДГ и ГДГ в печени животных 2, 3 и 5-й экспериментальных групп не выявлено (табл. 2). У крыс, перенесших серию ком, в состоянии последней комы активность ЛДГ, СДГ и ГДГ была увеличенной соответственно на 22% ($p < 0,01$), 48% ($p < 0,01$) и 24% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. Активность АСТ и АЛТ (см. табл. 2) у крыс, находившихся в состоянии первой ГГК и через 48 ч после ее купирования глюкозой, не изменялась. У животных 4-й экспериментальной группы активность АСТ и АЛТ увеличилась соответственно на 14% ($p < 0,001$) и 15% ($p < 0,001$), изменения сохранялись через 2 сут после купирования последней комы. Активность ГЛТ у крыс в состоянии первой ГГК была близка к норме, а через 48 ч после купирования комы снизилась на 51% ($p < 0,001$). У крыс 4-й группы этот показатель увеличился на 19% ($p < 0,05$), а через 48 ч после купирования последней комы его повышение было еще более выраженным и составило

Таблица 2

Активность ферментов в печени крыс при гиперинсулинизации

Показатель	Группа животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
АСТ	5,9 ± 0,1	5,6 ± 0,3	6,2 ± 0,2	6,8 ± 0,1***	7,2 ± 0,2***
АЛТ	8,4 ± 0,2	8,8 ± 0,3	8,1 ± 0,2	9,7 ± 0,1***	9,3 ± 0,3*
ГЛТ	171 ± 13	179 ± 6	84 ± 12***	203 ± 6*	240 ± 15**
АМФ-Д	37,8 ± 1,8	36,1 ± 1,8	37,2 ± 5,2	35,5 ± 3,3	25,5 ± 2,2**
ЛДГ	573 ± 44	582 ± 50	644 ± 29	698 ± 18*	587 ± 32
СДГ	1,47 ± 0,06	1,51 ± 0,08	1,38 ± 0,21	2,17 ± 0,29*	1,76 ± 0,18
ГДГ	0,53 ± 0,02	0,51 ± 0,04	0,50 ± 0,03	0,66 ± 0,05*	0,49 ± 0,04

Примечание. Активность АСТ и АЛТ выражена в микромолях за 1 ч на 1 мг белка, активность ГЛТ и АМФ-Д — в наномолях за 1 ч на 1 мг белка, активность ЛДГ — в наномолях за 1 мин на 1 мг белка, активность СДГ и ГДГ — в микромолях за 1 мин на 1 г ткани.

Таблица 3

Интенсивность накопления лактата (в нмоль за 1 мин на 1 мг белка) в печени крыс при гиперинсулинизации

Субстрат	Группа животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
Глюкоза	12,7 ± 1,2	12,3 ± 1,1	12,1 ± 1,4	19,0 ± 0,8*	14,2 ± 1,4
Г-6-Ф	23,2 ± 1,4	21,2 ± 1,8	24,6 ± 1,7	25,4 ± 2,0	27,8 ± 1,3
Гликоген	17,3 ± 1,0	11,6 ± 1,1*	18,1 ± 0,9	26,6 ± 0,6**	16,8 ± 2,1

Примечание. Одна звездочка — $p < 0,01$, две — $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

40% ($p < 0,01$). Активность АМФ-Д была близкой к норме у животных 2, 3 и 4-й групп, а через 48 ч после купирования последней комы она снизилась на 33% ($p < 0,01$).

Интенсивность гликолиза у крыс (табл. 3) в состоянии первой ГГК при использовании в качестве субстратов глюкозы и Г-6-Ф не отличалась от уровня контроля, интенсивность гликогенолиза была снижена на 33% ($p < 0,01$). У животных 4-й группы (седьмая ГГК) не выявлено изменений скорости накопления лактата при использовании в качестве субстрата Г-6-Ф, интенсивность накопления лактата при использовании глюкозы и гликогена увеличилась соответственно на 50% ($p < 0,01$) и 54% ($p < 0,001$). У крыс 3-й и 5-й экспериментальных групп изменений не обнаружено.

У экспериментальных животных в состоянии первой ГГК снижение концентрации СЖК в крови было обусловлено ингибированием липолиза, а уменьшение содержания кетоновых тел — снижением уровня исходных субстратов для их синтеза и торможением кетогенеза под действием инсулина [21]. С эффектами инсулина связаны и выявленные у этих животных изменения азотистого обмена [10], а также уменьшение интенсивности гликогенолиза [14]. Вместе с тем количество гликогена в печени уменьшилось. Иными словами, гипогликемия даже на фоне гиперинсулинемии приводит к мобилизации гликогена, а стимулирующее влияние инсулина на процессы синтеза гликогена у голодавших животных из-за дефицита исходного субстрата не сопровождается накоплением полисахарида в печени.

Изменения азотистого обмена через 48 ч после купирования первой комы являются результатом анаболических эффектов инсулина [10] и отражают некоторое снижение распада белков в период реституции после гипогликемии. Накопление гликогена в печени в период последействия также связано с влиянием инсулина на углеводный обмен на фоне высокого потребления пищи в течение первых суток после купирования комы, когда животные имели свободный доступ к пище. Таким образом, в состоянии первой ГГК и после ее купирования доминируют изменения, связанные с действием самого инсулина.

Изменения метаболизма у животных, перенесших серию ГГК и находившихся в состоянии комы (4-я группа), были весьма значительными и связаны, по-видимому, преимущественно с активацией контринсулярного аппарата, неизменно наблюдаемой при гипогликемии [9]. При этом в плазме крови увеличиваются уровни глюкагона, катехоламинов и гормона роста, нарастает секреция адренокортикотропина и кортикостероидов, а также вазопрессина и окситоцина [9]. Все перечисленные гормоны стимулируют липолиз в жировой ткани и кетогенез в печени, тогда как инсулин является ингибитором этих процессов [21]. Увеличение уровня СЖК и неизмененный уровень кетоновых тел у крыс 4-й группы являются, таким образом, результатом активации контринсулярного аппарата.

Изменения показателей азотистого обмена у экспериментальных животных 4-й группы отражают активацию процессов катаболизма белков и стимуляцию глюконеогенеза из аминокислот. Основным контринсулярным гормоном является глюкагон, его катаболическое действие реализуется в печени [10]. Глюкагон увеличивает активность глутаминазы в гепатоцитах, повышает включение азота глутамина в мочевину, а также захват аминокислот печенью [18]. При этом экспрессия гена глутаминазы осуществляется параллельно с экспрессией генов ключевых ферментов глюконеогенеза и синтеза мочевины [22]. В ходе наших исследований обнаружено соответствие между активностью глутаминазы печени и уровнем мочевины в крови. Катаболическое действие глюкокортикоидов хорошо известно. Увеличение уровня кортизола в крови даже в физиологических пределах приводит к увеличению распада белков и использования углеродных скелетов аминокислот в процессе глюконеогенеза [15]. Фактором, способствующим активации глюконеогенеза, является и повышение уровня СЖК, высокая концентрация которых в плазме необходима для осуществления глюконеогенеза и выхода глюкозы из печени [17, 20]. Следует подчеркнуть, что инсулин не препятствует активации глюконеогенеза в печени, особенно при высокой концентрации СЖК в крови [19, 20]. Гормон ингибирует преимущественно гликогенолиз, а не глюконеогенез в печени [8, 14]. Инсулиновая гипогликемия может приводить к активации глюконеогенеза [12].

Увеличение гликолиза в печени животных 4-й группы в отличие от животных 2-й группы может быть связано со стимуляцией инсулином экспрессии гена глюкокиназы, увеличением скорости фосфорилирования глюкозы и ее включения в пути обмена [13] при многократном воздействии высоких доз гормона. В то же время активация гликогенолиза не может быть отнесена к инсулиновым эффектам [20]. Следует также подчеркнуть, что изменения процесса in vitro не сопровождались сниже-

нием концентрации гликогена в печени у этих животных. Механизм таких изменений остается неясным. Можно предполагать, что увеличение скорости образования лактата in vitro, которое в данном случае свидетельствует в сущности о повышении активности фосфорилазы [4], обусловлено превалированием действия контринсулярных гормонов (адреналина и глюкагона). Однако при изучаемом экспериментальном воздействии активация фермента не сопровождается реальным распадом гликогена in vivo, так как повышенный глюконеогенез обеспечивает поддержание достаточно высокой продукции фосфорных эфиров гексоз. Через 48 ч после купирования последней комы у крыс, перенесших серию ком (5-я группа), также проявилось некоторое увеличение интенсивности азотистого обмена. Признаки усиления катаболизма азотсодержащих соединений у этих животных представляются особенно явными в сравнении с животными, обследованными в период реституции после первой ГГК. По-видимому, усиление катаболизма белков при многократно повторяющейся инсулиновой гипогликемии является достаточно стойким. Стабильное усиление катаболизма аминокислот, интенсивное использование их для глюконеогенеза может в конечном счете нарушать субстратное обеспечение протеиносинтеза.

Выводы

1. Однократное введение высокой дозы инсулина вызывает метаболические изменения, связанные преимущественно с анаболическими эффектами гормона.
2. Серия повторяющихся гипогликемических состояний приводит к развитию выраженных неблагоприятных изменений обмена, увеличению распада белков и аминокислот и активации глюконеогенеза. Эти изменения обусловлены неоднократной стимуляцией контринсулярного аппарата.
3. Инсулиновая гипогликемия, неоднократно развивающаяся при сахарном диабете, является фактором, усугубляющим нарушения обмена, характерные для данного заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Дедов И. И., Сунцов Ю. И., Кудрякова С. В., Рыжкова С. Г.* // Пробл. эндокринол. — 1995. — Т. 41, № 3. — С. 4—7.
2. Лабораторные методы исследования в клинике / Под. ред. В. В. Меньшикова. — М., 1987.
3. Методы биохимических исследований: Липидный и энергетический обмен / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л., 1982.
4. *Панин Л. Е., Третьякова Т. А., Русских Г. С., Войцеховская Е. Э.* // Вопр. мед. химии. — 1982. — Т. 28, № 2. — С. 26—30.
5. *Телушкин П. К., Ноздрачев А. Д.* // Успехи физиол. наук. — 1999. — Т. 30, № 4. — С. 14—27.
6. *Телушкин П. К., Ноздрачев А. Д., Потапов П. П.* // Пробл. эндокринол. — 2001. — Т. 47, № 5. — С. 43—45.
7. *Тодоров Й.* Клинические лабораторные исследования в педиатрии. — София, 1961.
8. *Adkins A., Basu R., Persson M.* et al. // Diabetes. — 2003. — Vol. 52. — P. 2213—2220.
9. *Amiel S. A.* // Horm. Res. — 1996. — Vol. 45. — P. 285—290.
10. *Charlton M., Nair K. S.* // J. Nutr. — 1998. — Vol. 128. — P. 323—327.
11. *Cryer P. E., Davis S. N., Shamoon H.* // Diabetes Care. — 2003. — Vol. 26. — P. 1902—1912.
12. *Edgerton D. S., Cardin S., Pan C.* et al. // Diabetes. — 2002. — Vol. 51. — P. 3151—3162.
13. *Ferre P., Foretz M., Azzout-Marniche D.* et al. // Biochem. Soc. Trans. — 2001. — Vol. 29. — P. 547—552.
14. *Gastaldelli A., Toschi E., Pettiti M.* et al. // Diabetes. — 2001. — Vol. 50. — P. 1807—1812.
15. *Horber F. F., Haymond M. W.* // J. Clin. Invest. — 1990. — Vol. 86. — P. 265—272.
16. *Inouye K., Shum K., Chan O.* et al. // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. — 2002. — Vol. 282. — P. 1369—1379.
17. *Kohl C., Ravel D., Girard J., Pegorier J.-P.* // Diabetes. — 2002. — Vol. 51. — P. 2363—2368.
18. *Nissim I., Brosnan M., Yudkoff M.* et al. // J. Biol. Chem. — 1999. — Vol. 274. — P. 28958—28965.
19. *Roden M., Stingl H., Chandramouli V.* et al. // Diabetes. — 2000. — Vol. 49. — P. 701—707.
20. *Staehr P., Hother-Nielsen O., Landau B. R.* et al. // Diabetes. — 2003. — Vol. 52. — P. 260—267.
21. *Timothy G. R.* // Endocrinol. Metab. Clin. N. Am. — 1996. — Vol. 25, N 4. — P. 847—867.
22. *Watford M.* // FASEB J. — 1993. — Vol. 7. — P. 1468—1474.

Поступила 26.12.05

♦ ОБЗОР

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2006

УДК 616.71-007.234:618.173]-08

Л. Я. Рожинская, Ж. Е. Белая, А. В. Беляева, Г. А. Мельниченко

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА: СТРОНЦИЯ РАНЕЛАТ ("БИВАЛОС")

Эндокринологический научный центр (дир. — акад. РАН и РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Скелет взрослого человека в репродуктивном периоде достаточно легок для активных передвижений и достаточно прочен, чтобы не допустить переломов. С возрастом, особенно после менопаузы, у женщин костная масса уменьшается и риск переломов увеличивается. С увеличением продолжительности жизни населения наблюдается увеличение частоты переломов бедра на 1—3% в год — наиболее серьезного, фатального последствия остеопороза [17]. Переломы позвонков, встречающиеся у каждой третьей женщины в возрасте 60—75 лет, приводят к острой и хронической боли в

спине, деформациям позвонков и резко снижают качество жизни [35]. Снижение высоты тела одного позвонка является предиктором новых переломов тел позвонков даже в течение одного года, а также отрицательным прогностическим фактором возникновения внепозвоночных переломов [23, 35]. Хрупкость костей, которой характеризуется постменопаузальный остеопороз, развивается вследствие как дисбаланса костного ремоделирования на клеточном уровне, что приводит к преобладанию костной резорбции над костеобразованием, так и увеличения скорости ремоделирования на тканевом уровне [48]. Антирезорбтивная терапия уменьшает скорость костного ремоделирования и частоту переломов. Однако препараты, подавляющие костную резорбцию, не повышают существенно массу костной ткани, эквивалентом которой при денситометрических измерениях служит минеральная плотность кости (МПК). Увеличение МПК, обнаруживаемое при назначении антирезорбтивных препаратов, является результатом более полной вторичной минерализации существующей (хотя и уменьшенной) массы костной ткани [5, 9, 13, 20]. Восстановление массы костной ткани и структуры кости не достигается при использовании только антирезорбтивных препаратов и требует использования анаболических агентов [4, 14]. С этой точки зрения большой интерес вызвали исследования, показавшие костестимулирующее и антирезорбтивное действие солей стронция на костную ткань. Для клинического применения была выбрана стронциевая соль раненликовой кислоты — стронция ранелат (СР). Клинические исследования по влиянию СР на костную ткань были начаты в 1991 г. В сентябре 2004 г. препарат под названием "Протелос" был зарегистрирован в Европе, а 30 марта 2005 г. СР прошел регистрацию в России под коммерческим названием "Бивалос".

Химическая структура и фармакокинетика

Стронций, двухвалентный катион с мол. массой 87,62 Д, занимает 15-е место по частоте встречаемости в земной коре. В морской воде его концентрация достигает 8 мг/л, а в пресной — от 0,021 до 0,375 мг/л. В таких продуктах питания, как крупы, хлеб и морепродукты, его концентрация может достигать 25 мг/кг [15]. Так же как и кальций, стронций является элементом четвертой группы периодической системы элементов, но находится в следующем периоде и имеет больший радиус атома.

Суточное потребление стронция обычно составляет 0,023—0,046 ммоль (2—4 мг) [27]. В минимальном количестве стронций абсорбируется кожей и легкими [15]. Свободный, т. е. не связанный с белком стронций, выводится почками и в меньшей степени — через желудочно-кишечный тракт и с потом, хотя некоторое количество остается в костях и совсем немного — в мягких тканях [15, 27]. Кишечная абсорбция стронция, принятого натощак, составляет 25—30%, однако присутствие кальция снижает всасывание стронция более чем вполовину [27]. Всасывание стронция обусловлено как пассивной диффузией, так и активным транспортом, причем используются те же переносчики, что и для кальция. Поэтому всасывание стронция зависит от витамина D и снижается с возрастом, а также при содержании в пище хелатирующих агентов, кальция и фосфора.

Концентрация стронция в плазме в норме составляет от 0,11 до 0,31 мкмоль/л. Рост концентрации стронция после перорального приема стронцийсодержащих препаратов не сказывается на концентрации кальция во внеклеточной жидкости, но внутривенное введение фармакологических доз стронция приводит к временному падению уровня паратиреоидного гормона и вслед за ним кальция в крови [27]. Поскольку стронций близок по физико-химическим свойствам к кальцию, он преимущественно накапливается в скелете, так что доля стронция в костной ткани превышает 99% от общего количества его в организме [15]. В случае приема препаратов стронция его накопление в скелете прямо пропорционально уровню в плазме, хотя также зависит от длительности приема, пола и области скелета и преимущественно происходит в трабекулярной быстро обновляющейся кости [8, 15]. В отсутствие дополнительного приема стронция следовые количества этого элемента можно зарегистрировать в равной степени как в давно минерализованных участках кости, так и в новой ремоделированной ткани [8].

Так же как и кальций, выводится стронций преимущественно почками, частично реабсорбируясь в почечных канальцах. Однако реабсорбция стронция происходит в гораздо меньшей степени, чем кальция, что приводит к более быстрому выведению стронция с мочой [15]. Период полужизни в плазме крови составляет 62 ч, а максимальная концентрация достигается через 15 дней. После прекращения приема стронцийсодержащих препаратов его уровень в сыворотке быстро снижается, а степень повышения его в плазме крови дозозависима.

Теоретический расчет элиминации стронция из костной ткани показал, что первая быстрая фаза выведения (период полувыведения 41 день) сменяется фазой медленного выведения с периодом полувыведения 3 года [27]. Наличие второй фазы может быть следствием медленного выведения стронция, включенного в старые кристаллы. Во второй фазе выведение стронция стимулируется витамином D и подавляется бисфосфонатами [15]. В исследовании на обезьянах уже через 6 нед после прекращения приема СР в дозе до 750 мг/кг/сут в течение 13 нед содержание стронция в костной ткани уменьшилось более, чем в 2 раза [8]. СР, применяемый в медицинских целях, содержит 2 атома стабильного стронция, связанных с органической (раненликовой) кислотой. Это вещество было выбрано из более чем 20 различных солей стронция, поскольку оно обеспечивает хорошую биодоступность стронция, переносимость в отношении возможного побочного влияния на желудочно-кишечный тракт и к тому же характеризуется высоким соотношением между стронцием и органической частью молекулы.

Экспериментальные доказательства положительного влияния СР на кость

СР способен стимулировать костеобразование и наряду с этим уменьшать костную резорбцию, что было показано в экспериментах на клеточных культурах и у животных [12, 13, 25, 27]. СР на уровне базисной многоклеточной единицы улучшает баланс между процессами костеобразования и костной резорбции, а также стимулирует субпериостальное костеобразование [28, 49]. Способность СР оказывать разнонаправленное действие на процессы костеобразования и резорбции была подтверждена в доклинических продолжительных исследованиях на грызунах и обезьянах. Результаты этих работ свидетельствуют, что под влиянием СР повышается масса как трабекулярной, так и кортикальной кости, объем костной ткани, что приводит к улучшению биомеханических свойств кости [28, 39]. В низких дозах стронций уменьшает костную резорбцию и увеличивает костеобразование, увеличивая МПК без признаков нарушения костной минерализации, а также повышает прочность кости, что доказано в исследованиях у здоровых грызунов и приматов [1—3, 12, 21, 25]. Однако при приеме СР в высоких дозах у грызунов, особенно у животных, не получающих достаточного количества кальция с пищей, наблюдали развитие рахита и нарушения костной минерализации [44, 50]. Использование низких доз СР на моделях остеопении у животных (на крысах с удаленными яичниками, на животных в состоянии иммобилизации) показало эффективность препарата как для предотвращения потери кости, так и для восстановления утраченной костной ткани [24, 26, 27, 33]. В этих исследованиях не было выявлено отрицательного влияния низких доз СР на минерализацию, однако у крыс с хронической почечной недостаточностью были обнаружены признаки остеомаляции, что, возможно, было связано с накоплением стронция и задержкой его утилизации [47]. У небольшого количества пациентов с хронической почечной недостаточностью, главным образом из развивающихся стран, также была выявлена остеомаляция, которая ассоциировалась с высоким содержанием стронция в костях, что, вероятно, связано с недостаточно хорошо контролируемым диализом и/или высоким содержанием стронция в продуктах питания [19, 47]. Необходимо отметить, что эти пациенты не принимали дополнительно препараты стронция.

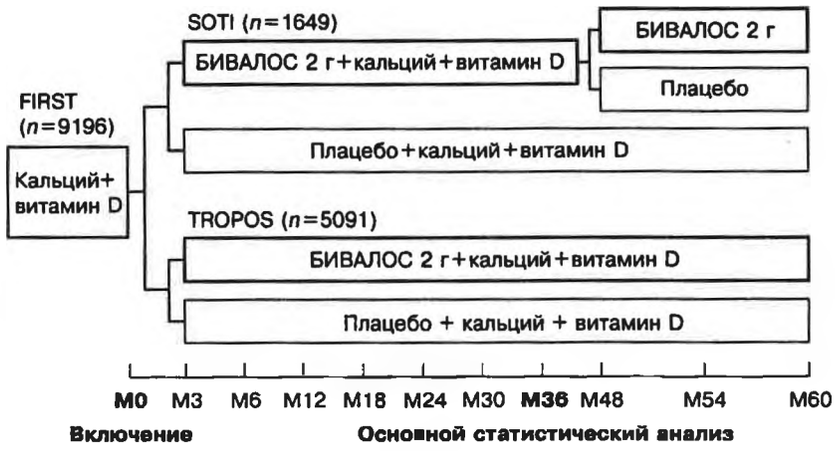


Рис. 1. Дизайн фазы III клинических испытаний СР.

Дизайн основных исследований по применению СР у пациенток с постменопаузальным остеопорозом

STRATOS (Strontium RAnelat for Treatment of Osteoporosis) — II фаза исследований — установление оптимально эффективной дозы. Первичная цель — динамика МПК поясничных позвонков. Вторичные цели: оценка динамики маркеров костного обмена, выявление новых деформаций тел позвонков через 1 и 2 года лечения, оценка безопасности терапии [29]. В исследование было включено 353 пациентки с постменопаузальным остеопорозом (ПМО), которые были разделены на 4 группы: 91 женщина получала плацебо, 85 — СР в дозе 0,5 г; 90 — в дозе 1,0 г и 87 женщин — в дозе 2,0 г. Препарат или плацебо назначали ежедневно в течение 2 лет. Базальные средние показатели МПК в поясничных позвонках по *T*-критерию в исследуемых группах колебались от -3,8SD до -3,97SD. При проведении рентгеноморфометрии грудных и поясничных позвонков количество переломов тел позвонков на одну пациентку составило в среднем 2,5—2,9.

SOTI и TROPOS — эта широкомасштабная программа клинических испытаний состояла из пилотного исследования FIRST (Fracture International Run-in for Strontium Trial), за которым следовали 2 основных клинических исследования: SOTI (Spinal Osteoporosis Therapeutic Intervention) и TROPOS (TReatment Of Peripheral OSteoporosis; рис. 1) [30]. Основной статистический анализ для этих двух исследований проводили через 3 года. К настоящему времени закончены 5-летние испытания СР для лечения ПМО, проведен статистический анализ и готовятся публикации. В программе испытаний препарата участвовали 75 центров в 12 странах мира.

Целью пилотного исследования (FIRST) были нормализация уровня кальция и витамина D, а также отбор пациентов для 2 основных клинических исследований. В исследование включали женщин в менопаузе с тяжелым остеопорозом и высоким риском переломов, которые были в состоянии понять цели и план исследования и предполагаемая продолжительность жизни которых была более 4 лет. Всего в исследование вошло 9196 пациенток (средний возраст 74 года). У всех женщин был определен уровень витамина D и кальция в крови и оценено потребление кальция с продуктами питания с помощью стандартизированной анкеты, чтобы в соответствии с результатами назначить необходимые добавки кальция и витамина D (500 или 1000 мг кальция и 400 или 800 МЕ витамина D). Указанная терапия продолжалась в течение последующих исследований [30].

SOTI и TROPOS — проспективные двойные слепые рандомизированные плацебо-контролируемые исследования, запланированные на 5 лет.

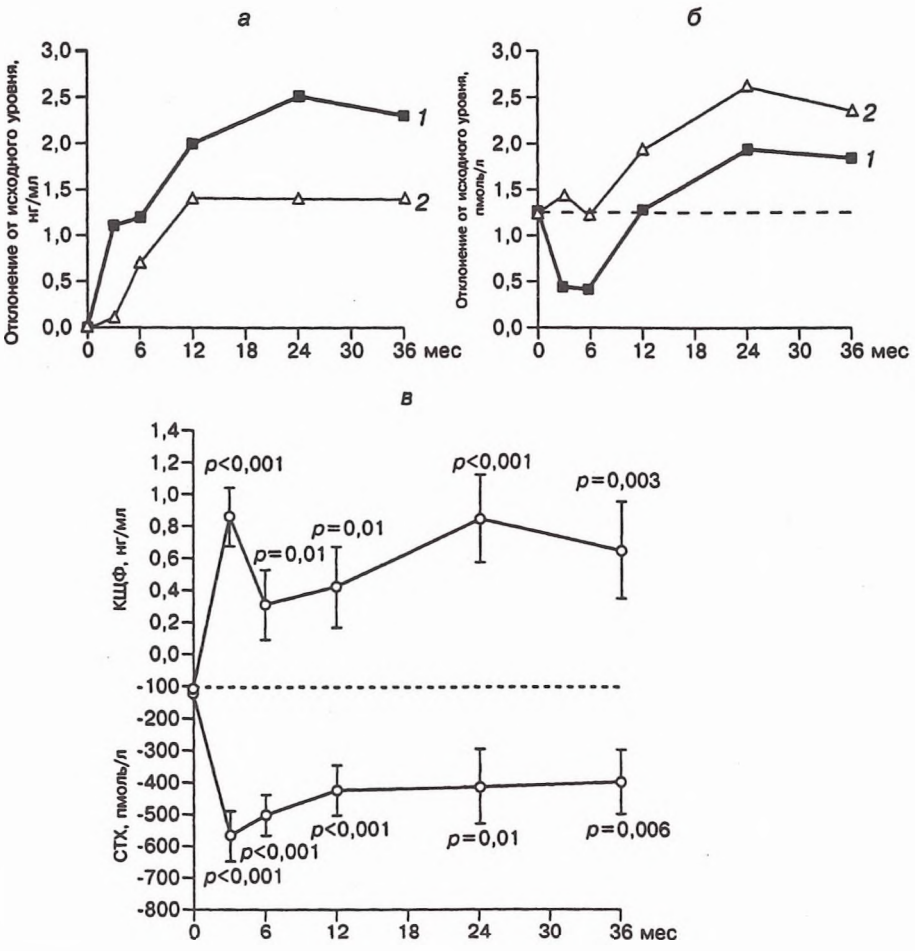


Рис. 2. Изменения уровней биохимических маркеров костного метаболизма под влиянием СР.

а — КЩФ, *б* — СТХ, *в* — разница в ходе исследования между группами. Здесь и на рис. 3: *1* — СР, *2* — плацебо.

Основной целью исследования SOTI было продемонстрировать эффективность СР в дозе 2 г/сут для профилактики позвоночных переломов. Вторичные цели включали оценку риска возникновения внепозвоночных переломов, клинически проявляющихся позвоночных переломов, динамику роста, МПК позвонков и бедренной кости. К вторичным целям исследования также относили изучение динамики биохимических костных маркеров: костной щелочной фосфатазы (КЩФ) в крови, N-телопептида (NTX) в моче и С-телопептида в крови (СТХ). Предполагали оценить качество жизни по опросникам SF-36 и Qualiost®, клинический и биологический профиль переносимости и безопасность, динамику ЭКГ и липидов, провести фармакоэкономическое исследование.

Всего в исследование было включено 1649 женщин в менопаузе (50 лет и старше, средний возраст 69,3 года) с МПК поясничных позвонков ⩽ 0,840 г/см^2 (Hologic), имевших 1 или более перенесенных остеопоретических переломов позвоночника [31]. Проанализированы результаты лечения 1442 женщин (из группы лечения у 719, группы плацебо — у 723).

В исследовании SOTI после 4 лет лечения половина пациенток, получавших лечение СР, стала принимать плацебо для того, чтобы оценить эффект окончания терапии, а пациентки из группы плацебо стали принимать СР (см. рис. 1).

Первичной целью исследования TROPOS являлось изучение влияния СР на возникновение новых периферических переломов в сравнении с плацебо. Вторичные цели: переломы бедренной кости, "большие" внепозвоночные переломы, клинические позвоночные переломы, новые и ухудшение имевшихся переломов тел позвонков, любые остеопоретические переломы, рост, динамика МПК проксимальных отделов бедра, костных маркеров: КЩФ, NTX, кальцийрегулирующих гормонов: PTH, 25-OHD3, 1,25-$(OH)_2$D3, кальцитонина. Также изучали влияние СР на качество жизни (SF-36), клиническую и биологическую переносимость, ЭКГ и липиды (подисследование), фармакоэкономическую эффективность.

Критериями включения в исследование были: женщины старше 74 лет или женщины старше 70 лет + 1 дополнительный фактор риска для переломов; МПК шейки бедра < 0,600 г/см^2 (Hologic) или Т-критерий ⩽ -2,5 SD [30, 42].

В исследование TROPOS включили 5091 женщину, наблюдали в динамике 4932 пациентки (2479 из группы лечения и 2453 из группы плацебо), полностью завершили исследование 3320 женщин (1687 женщин, пролеченных СР, и 1633 в группе плацебо) (см. рис. 1). Средний возраст пациенток, включенных в исследование, составил 76,7 года.

Влияние терапии СР на биохимические маркеры костного метаболизма и показатели фосфорно-кальциевого обмена

Как указывалось выше, СР оказывает разнонаправленное действие на процессы костеобразования (стимуляция) и костной резорбции (подавление). В клинической практике этот эффект может быть оценен по динамике уровней костных маркеров в крови и моче, а также на основании гистоморфологических исследований биоптатов из крыла подвздошной кости.

В исследовании STRATOS [29] КЩФ у больных увеличилась во всех группах лечения в сравнении с плацебо, оставаясь повышенной на 11% к 24 мес в группе пациенток, принимавших СР в дозе 2,0 г, однако не было значимых изменений в уровнях остеокальцина и проколлагена. Экскреция NTX (маркера костной резорбции) с мочой достоверно

уменьшилась в дозозависимом режиме, максимальное снижение наблюдалось при приеме СР в дозе 2,0 г — на 20,2% через 6 мес, к 24 мес снижение NTX составляло 8,6%, что достоверно отличалось от группы плацебо, где отмечено повышение NTX от исходного уровня на 1,5%.

В исследовании SOTI у пациенток, получавших СР, уже через 3 мес терапии наблюдали достоверное снижение CTX в крови на 12,2%, однако к 12 мес было отмечено возвращение его уровня к базальным значениям, но тем не менее он был ниже, чем в группе плацебо, к 36 мес. КЩФ достоверно повысилась через 3 мес (на 8,1%), достигнув максимума к 24 мес (рис. 2) [31].

В исследовании TROPOS на протяжении всего исследования, начиная с 3 мес, в группе СР содержание КЩФ было выше, а NTX — достоверно ниже, чем у пациенток группы плацебо [42].

Таким образом, во всех клинических исследованиях наблюдается небольшое, но достоверное повышение КЩФ, что свидетельствует о стимуляции костеобразования на фоне терапии СР, и одновременное снижение CTX и NTX, указывающее на снижение костной резорбции, что подтверждает уникальное разнонаправленное действие СР на костное ремоделирование. Известно, что большинство антирезорбтивных препаратов предотвращает разрушение кости путем снижения скорости костного ремоделирования, что проявляется снижением маркеров костной резорбции (более 50% у бисфосфонатов и около 30% у ралоксифена) и костеобразования (около 50% у бисфосфонатов и на 20% у ралоксифена) [18]. Применение паратиреоидного гормона существенно увеличивает как маркеры костной резорбции, так и маркеры костеобразования [22, 34]. Механизм действия СР, очевидно, отличается от упомянутых препаратов, так как наряду со снижением маркеров костной резорбции наблюдается повышение маркеров костеобразования [42], причем степень изменения исследуемых показателей для СР значительно ниже, чем для антирезорбтивных препаратов или для препаратов, стимулирующих костеобразование.

Недавно опубликованы результаты гистоморфометрического анализа 136 костных биопсий за 5 лет лечения пациенток из трех вышеупомянутых исследований: 49 пациенток из группы лечения и 89 пациенток из групп плацебо [32]. Был подтвержден стимулирующий эффект СР на костеобразование: увеличение остеобластических поверхностей на 38% при терапии СР в сравнении с плацебо ($p = 0,047$), большая скорость минерализации как в трабекулярной (на 8%; $p = 0,008$), так и в кортикальной кости (на 11%; $p = 0,033$). Влияние на костную резорбцию заключалось в тенденции к снижению эндостеальных эрозированных поверхностей, трабекулярных остеокластических поверхностей и количества остеокластов (на 14, 9 и 9% соответственно). Эти данные согласуются с результатами вышеуказанных исследований биохимических маркеров костного метаболизма.

В исследованиях STRATOS, SOTI и TROPOS оценивали действие СР на уровни кальция, фосфора и кальцийрегулирующих гормонов. В исследовании STRATOS выявлено, что уровень кальция в крови дозозависимо уменьшался, но не более чем на 2% в группе лечения СР в дозе 2,0 г/сут. Уровни PTH, 25-OHD3, 1,25-OH_2D3 не изменялись, не было выявлено влияния СР на гидроксилирование витамина D [29]. По данным исследования SOTI выявлены различия в динамике уровня кальция между группой СР и группой плацебо (доверительный интервал — ДИ -0,08—0,05), фосфора (ДИ от +0,08 до +0,12 ммоль/л) и в уровне PTH: -3,4 ± 10,7 пг/мл в группе СР и -1,3 ± 15,8 пг/мл в группе плацебо [31]. В исследовании TROPOS подтверждено снижение уровня кальция в группе СР (с 2,39 до 2,33 ммоль/л). Обнаружены также незначительное повышение уровня фосфора (с 1,22 до 1,32 ммоль/л) и снижение PTH (с 33,24 до 29,81 пг/мл) [41]. Исследуемые показатели изменялись в пределах нормальных значений и не влияли на степень минерализации кости. Но эти результаты свидетельствуют о необходимости приема солей кальция и витамина D при лечении СР. Ни в одном из исследований не выявлено динамики содержания кальцитонина, 25-OHD3 или 1,25-$(OH)_2$D3 в крови.

Динамика МПК при лечении СР

Минимальная терапевтическая доза СР 1 г/сут приводит к достоверному увеличению МПК поясничных позвонков на 5,53%, шейки бедра на 2,46% и всего бедра на 3,21% через год лечения [38]. Прием СР в дозе 2 г/сут приводил к достоверному увеличению МПК поясничных позвонков на 7,3% за год.

В исследовании STRATOS при анализе динамики МПК учитывали влияние отложения стронция в кости на истинный прирост МПК. Необходимо сделать поправку на разницу в атомном номере стронция (Z = 38) и кальция (Z = 20). При измерении МПК методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DXA) атомы стронция поглощают рентгеновские лучи более сильно, чем атомы кальция. Когда стандартная программа DXA рассчитывает МПК, возникает ошибка за счет содержания стронция в костях. Данный феномен обнаружили P. Nielsen и соавт. [36]. По результатам ряда экспериментов был сделан вывод, что один поправочный коэффициент (1% молярной фракции стронция приводит к 10% преувеличению МПК) может быть использован для всех денсито-

Таблица 1

Ежегодная динамика скорректированной МПК в зависимости от дозы СР (STATOS [29])

Показатель	Плацебо	Доза СР, г		
		0,5	1,0	2,0
Скорректированная МПК L1—L4	0,5	1,35	1,65	2,97*
Скорректированная МПК L1—L4 95% ДИ	0,5	1,15	1,3	2,41*
МПК ШБ	-0,57	0,24	1,41*	3,05*

Примечание. 95% ДИ — 95% доверительный интервал; ШБ — шейка бедра; * — значимость различий с базальными показателями при $p < 0,01$.

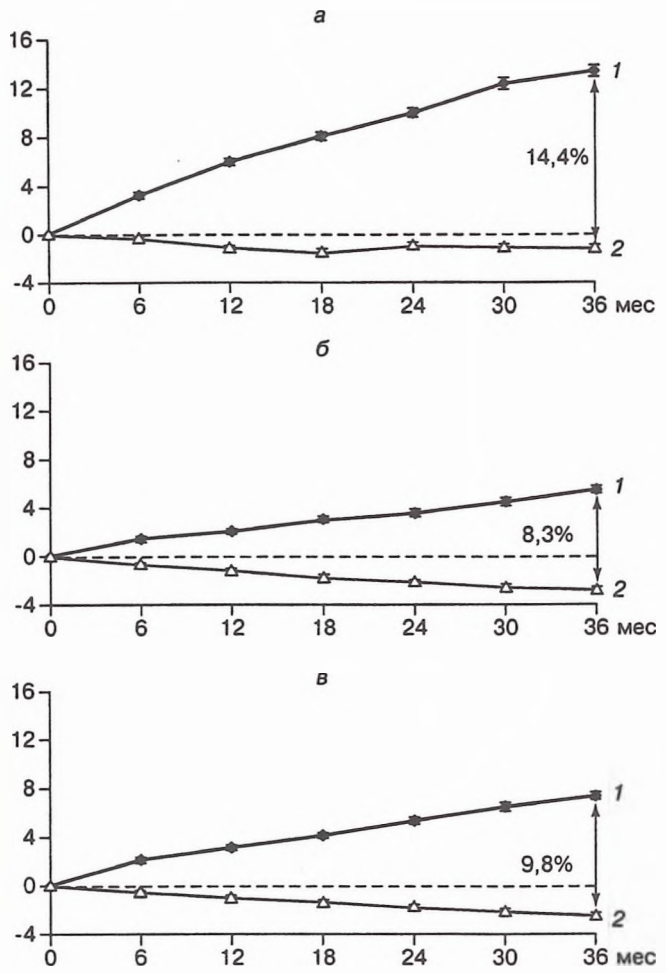


Рис. 3. Влияние приема СР в дозе 2,0 г на МПК поясничных позвонков.

а — поясничные позвонки, *б* — шейка бедра, *в* — общий показатель МПК бедренной кости. По оси ординат — средний процент (± SD) изменений МПК.

метрических аппаратов. На основании исследований на приматах и опытах P. Nielsen и соавт. была выведена следующая поправка:

Конечная МПК = измеренная МПК поясничных позвонков/1 + 0,061 · BSC подвздошной кости,

где BSC — содержание стронция в подвздошной кости, измеренное при костной биопсии и выраженное в молярных процентах содержания стронция [7]. Результаты этих расчетов представлены в табл. 1.

В исследовании SOTI через 3 года лечения в группе СР прирост МПК составил 12,7% в поясничных позвонках, 7,2% в шейке бедра и 8,6% в целом в бедре, что было соответственно на 14,4, 8,3 и 9,8% выше по сравнению с плацебо ($p < 0,001$) (рис. 3) [31]. По результатам исследования TROPOS МПК в группе лечения через 3 года увеличилась на 5,7% в шейке бедра и на 7,1% в целом в бедре от начального уровня и на 8,2 и 9,8% соответственно по сравнению с плацебо ($p < 0,001$) [42].

Прирост МПК при терапии алендронатом в позвонках в среднем составляет за 1 год 6,8% [45], ралоксифеном — 2,51% [16]. Применение паратгормона в дозе 20 мкг приводило к повышению МПК позвоночника на 10% за 18 мес лечения [34]. В исследовании SOTI прием СР привел к увеличению МПК поясничных позвонков на 12,7% за 3 года. После перерасчета прирост МПК поясничных позвонков у пациенток при терапии СР составил 6,8% [31], что в целом соответствует повышению МПК при использовании антирезорбтивных препаратов (алендронат, ризендронат).

Интересные данные получены при интегральном анализе исследований SOTI и TROPOS о взаимосвязи изменений МПК и снижении риска переломов. O. Bruyere и соавт. [11] анализировали зависимость между увеличением МПК и снижением частоты возникновения клинических (манифестных) переломов тел позвонков. Было показано, что увеличение МПК шейки бедра и по показателю Total hip, но не повышение МПК поясничных позвонков, статистически значимо коррелирует со снижением риска новых переломов позвонков ($p < 0,001$). На 1% увеличения МПК шейки бедра или Total hip через 3 года лечения риск новых переломов позвонков снижался на 4%. В другом анализе продемонстрировано [10], что увеличение МПК шейки бедра ассоциируется со снижением частоты переломов бедренной кости. При сравнении прироста МПК за 3 года лечения в группах пациенток нижнего квартиля с верхним частота переломов бедренной кости была ниже на 76% у лиц с наибольшим повышением МПК шейки бедра.

Влияние терапии СР на риск возникновения переломов

В исследовании STRATOS впервые было показано достоверное уменьшение частоты новых деформаций позвонков через 2 года лечения по сравнению с плацебо [29]. Минимальная терапевтическая доза препарата, позволяющая добиться увеличения МПК, составляла 1 г/сут, однако использование 2 г/сут позволило добиться большего увеличения МПК и уменьшения частоты новых деформаций позвонков [40].

При анализе результатов 3-летнего лечения СР в исследовании SOTI показано, что прием СР позволил снизить относительный риск (ОР) новых переломов позвонков на 49% за первый год лечения (ОР = 0,51; ДИ 0,36—0,74; $p < 0,001$) и на 41% в течение 3-летнего периода исследования (ОР = 0,59; 0,48—0,73; $p < 0,001$) (рис. 4) [31]. Через 4 года при-

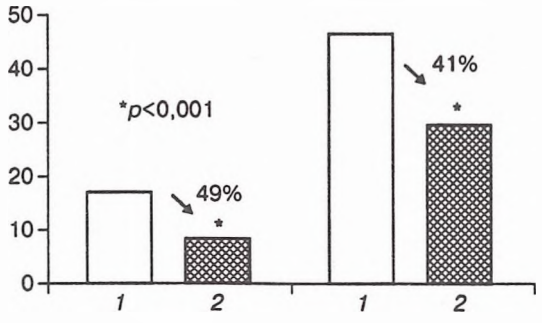


Рис. 4. Снижение ОР новых переломов позвонков у пациентов, получавших СР в дозе 2,0 г.

По оси ординат — пациенты с позвоночными переломами (в %), по оси абсцисс: слева — 1 год; справа — 0—3 года; *1* — плацебо; *2* — "Бивалос" (2 г/сут).

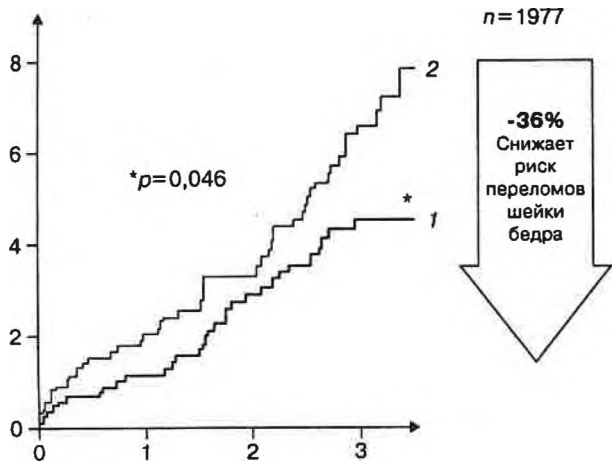


Рис. 5. Снижение ОР переломов бедра у пациентов, получавших СР в дозе 2,0 г.

По оси ординат — пациенты с переломами шейки бедра (в %), по оси абсцисс — срок исследования (годы). *1* — "Бивалос", *2* — плацебо.

менения СР (1445 пациенток) наблюдалось снижение позвоночных переломов на 33% [43]. Динамика роста и жалоб на боли в спине косвенно отражает состояние деформаций позвонков у пациенток с ПМО. В исследовании SOTI на фоне лечения СР у достоверно меньшего количества пациенток снизился рост (как минимум на 1 см) (30,1%) по сравнению с плацебо (37,5%) ($p = 0,003$). Жалобы на боли в спине были реже в группе лечения (17,7%) по сравнению с плацебо (21,3%), хотя и недостоверно ($p = 0,07$) [31].

По данным исследования TROPOS, прием СР в дозе 2 г статистически значимо снижал ОР всех внепозвоночных переломов на 16% (ОР = 0,84; ДИ 0,702—0,995; $p = 0,04$), на 19% наиболее часто встречающихся внепозвоночных переломов (бедро, кости запястья и таза, крестец, ребра и грудина, ключица, плечевая кость): ОР = 0,81 (ДИ 0,66—0,98; $p = 0,031$). Выявлено снижение переломов бедренной кости на 36% (ОР = 0,64; ДИ 0,412—0,997; $p = 0,046$) и на 39% — переломов позвонков (ОР = 0,61; ДИ 0,51—0,73; $p < 0,001$) через 3 года лечения [41]. Необходимо отметить, что снижение риска возникновения перелома бедренной кости на 36% наблюдалось при анализе пациенток с исходно низкой МПК шейки бедра (< -3,0 SD по *T*-критерию) (рис. 5). Через 5 лет лечения сохранялось статистически значимое снижение риска внепозвоночных переломов на 15%. В отношении влияния СР на снижение частоты переломов тел позвонков получены следующие результаты: через 1 год — на 45%, через 3 года — на 39%, через 5 лет — на 24% [41, 43]. Жалобы на боли в спине в группе лечения при сравнении с группой плацебо были на 29% реже через 1 и 3 года.

Интересны результаты интегрального анализа обоих исследований по влиянию 3-летнего лечения СР на возникновение новых переломов тел позвонков (в анализ включено 2536 пациенток, получавших СР в дозе 2 г, и 2546 женщин, принимавших плацебо, всего 5082) [46]. Средний возраст пациенток составил 74 года. Терапия СР снижала риск позвоночных переломов на 40% (ОР = 0,60; ДИ 0,53—0,69; $p < 0,001$), а всех внепозвоночных переломов — на 15% (ОР = 0,85; ДИ 0,74—0,99; $p = 0,03$). Для женщин моложе 70 лет наблюдалось уменьшение риска позвоночных переломов на 37% ($p = 0,003$), в возрасте 70—79 лет — на 42% ($p < 0,001$), старше 80 лет — на 32% ($p = 0,013$). При остеопении ОР для переломов тел позвонков составил 0,28 (на 72% ниже, чем в группе плацебо), для лиц с остеопорозом — 0,61 (снижение на 39%).

Анализ эффективности СР в зависимости от факторов риска остеопороза и переломов показал, что наличие предшествующих переломов, наследственная предрасположенность к остеопорозу, исходный индекс массы тела, базальная МПК, курение не влияют на успешность лечения СР [46].

Безопасность и переносимость СР

В исследованиях SOTI и TROPOS СР хорошо переносился больными. В табл. 2 представлены данные о любых нежелательных явлениях, зарегистрированных у пациенток за 3 года наблюдения.

Как видно из табл. 2, достоверных различий между группами лечения и плацебо в нежелательных явлениях не было. Повышенное внимание уделялось нежелательным явлениям со стороны желудочно-кишечного тракта, что отражено в табл. 3.

Общую частоту отдельных симптомов при лечении СР или плацебо оценивали при анализе объединенных данных исследований SOTI и TROPOS [31, 41]. Наиболее частыми побочными эффектами были тошнота (6,6% в группе лечения и 4,3% в контроле); диарея (6,5% в группе лечения против 4,6% для плацебо) и головная боль (3,0% в группе лечения против 2,4% плацебо). Указанные нежелательные эффекты в целом были характерны для начальной стадии лечения препаратом и в дальнейшем проходили, при этом каких-либо значимых различий между группами не отмечалось. Через 4 года терапии было установлено, что расстройства нервной системы более часто отмечались в группе больных, получавших СР, по сравнению с плацебо: нарушения сознания (2,5 и 2,0% соответственно); снижение памяти (2,4 и 1,9%); судороги (0,3 и 0,1%). В первые 3 мес лечения также отмечалось транзиторное повышение уровня фосфора и сни-

Таблица 2

Нежелательные явления (в %) в исследованиях SOTI и TROPOS

Показатель	СР	Плацебо
Количество пациентов, закончивших лечение:		
абс.	2950	2936
%	88,0	88,5
Мышечно-суставные и костные нарушения	47,5	48,2
Желудочно-кишечные расстройства	40,4	39,2
Инфекции	39,6	39,7
Сосудистые нарушения	26,3	24,4
Расстройства нервной системы	20,9	18,9
Общие симптомы	19,1	19,4
Сердечная патология	15,4	15,6
Кожные проявления	15,1	15,4
Нарушения обмена и питания	12,0	11,9
Расстройства зрения	10,9	11,9

Таблица 3

Нежелательные явления (в %), связанные с желудочно-кишечными расстройствами

Симптом	СР	Плацебо	*p*
Гастрит	3,6	5,5	0,066
Язва желудка	1,0	1,1	н. д.
Эзофагит	0,8	0,6	н. д.
Диарея	6,1	3,6	0,019*

Примечание. Звездочка — достоверность различий между группами через 3 года лечения, уровень статистической значимости при $p < 0,05$; н. д. — недостоверно.

жение кальция в плазме крови. Транзиторные острые подъемы уровня креатининфосфокиназы (КФК) мышечно-скелетной фракции более чем в 3 раза выше верхней границы нормы отмечались в 1,0 и 0,4% случаев в группах с назначением СР и плацебо соответственно. В большинстве случаев лабораторные показатели возвращались к норме при продолжении лечения препаратом и не требовали какой-либо коррекции терапии. Необходимо отметить, что лечение СР может сопровождаться возрастанием заболеваемости венозными тромбозами и тромбоэмболиями. Причины этого явления пока неизвестны. Частота развития этих осложнений составила 0,9% в группе СР и 0,6% в группе плацебо при ОР = 1,42 (ДИ 1,02—1,98; $p = 0,03$) по сравнению с плацебо. Однако если обратиться к популяционным данным, то частота тромбозов у женщин в возрасте 60—74 лет составляет 0,45%, 70—79 лет — 0,82%, а в целом после 75 лет — 1,2%.

Таким образом, противопоказаниями к лечению СР могут служить заболевания желудочно-кишечного тракта, сопровождающиеся диареей, хроническая почечная недостаточность с клиренсом креатинина менее 30 мл/мин, высокий риск тромбозов и тромбоэмболий, а также указания на эти заболевания в анамнезе.

Очень важным для препарата, накапливающегося в костной ткани и длительно применяющегося для лечения остеопороза, было исследовать его влияние на минерализацию костной ткани. При гистоморфометрических исследованиях биоптатов кости из крыла подвздошной кости, проведенных в разных клинических исследованиях СР, не было выявлено признаков остеомаляции или каких-либо дефектов минерализации. В частности, не выявлено увеличения толщины остеоида или задержки первичной минерализации [31, 32].

Нерешенные вопросы и перспективы будущих исследований

К настоящему времени пока нет данных об эффективности СР для лечения остеопороза у мужчин, женщин в пременопаузе, а также различных форм вторичного остеопороза. Также нет исследований, посвященных сравнительному анализу эффективности СР и других препаратов для лечения остеопороза. Однако известно, что большинство антирезорбтивных препаратов предотвращают разрушение кости путем снижения скорости костного ремоделирования, что проявляется снижением уровня маркеров костной резорбции (более 50% у бисфосфонатов и около 30% у ралоксифена) и формации (около 50% у бисфосфонатов и 20% у ралокифена) [18]. Лечение паратиреоидным гормоном увеличивает уровень маркеров как костной резорбции, так и костеобразования [22, 34].

Механизм действия СР отличается от данных препаратов, так как наряду со снижением уровня маркеров костной резорбции наблюдается повышение уровня маркеров костеобразования [42]. Однако хотя использование комбинированной терапии алендронатом (подавляющим резорбцию) и паратиреоидным гормоном (стимулирующим костеобразование и резорбцию) сопровождалось снижением уровня маркеров костной резорбции и привело к лучшему эффекту по сравнению с использованием только алендроната, но все же к худшему, чем использование только паратиреоидного гормона (1—34) [6]. Степень снижения риска новых переломов позвонков также была сходной: 48% при использовании СР, 47% при использовании алендроната [5], 49% при лечении ризендронатом [37], 30% при приеме ралоксифена [20]. Назначение паратиреоидного гормона (1—34) в течение 21 мес позволило снизить ОР переломов позвонков на 65% [34]. Необходимо подчеркнуть, что проведение данного сравнительного анализа не является вполне корректным, так как дизайн исследований мог несколько отличаться. Тем не менее еще предстоит уточнить, почему одновременно умеренно повышая костеобразование и незначительно снижая костную резорбцию, СР обладает выраженным "антипереломным" эффектом.

Очевидным преимуществом препарата являются возможность перорального приема и отсутствие нежелательных эффектов со стороны верхних отделов желудочно-кишечного тракта. Тем не менее необходимо уточнение влияния СР на параметры гемостаза и фибринолиза, частоту тромботических осложнений. Существует определенная сложность оценки МПК у пациентов, получающих или получавших лечение препаратом стронция [7].

Представляются перспективным исследование эффективности СР для лечения остеопороза у мужчин, женщин в пременопаузе и у пациентов с различными формами вторичного остеопороза, а также оценка возможностей СР при лечении остеоартроза.

Кажется интересным проведение исследования для сравнения эффективности терапии бисфосфонатами и СР как наиболее близких по степени снижения ОР переломов позвонков, а также СР и паратиреоидного гормона (1—34) как препаратов, стимулирующих образование костной ткани.

Заключение

На основании анализа проведенных клинических испытаний можно утверждать, что СР ("Бивалос") является эффективным препаратом для лечения ПМО, снижающим риск возникновения как позвоночных, так и внепозвоночных переломов. Он существенно повышает МПК, оказывает двойное действие на костное ремоделирование, увеличивая образование новой кости и снижая скорость

резорбции костной ткани. СР безопасен при длительном применении, не нарушает минерализацию кости и структуру кристаллической решетки, хорошо переносится пациентами, удобен в применении, обеспечивая высокий уровень комплаентности.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ammann P., Rizzoli R., Deloffre P.* et al. // Bone Mineral Res. — 1995. — Vol. 10. — Suppl. 1. — P. 358.
2. *Ammann P., Robin B., Bonjour J. P.* et al. // IBMS/ECTS Meeting. — Madrid, June 2001.
3. *Arlot M. E., Roux J. P., Boivin G.* et al. // Bone Mineral Res. — 1995. — Vol. 10. — Suppl. 1. — P. 356.
4. *Arnaud C. D., Zanchetta J. R.* et al. // N. Engl. J. Med. — 2001. — Vol. 344. — P. 1434—1441.
5. *Black D. M., Cummings S. R., Karpf D. B.* et al. // Lancet. — 1996. — Vol. 348. — P. 1535—1541.
6. *Black D. M., Greenspan S. L., Ensrud K. E.* et al. // N. Engl. J. Med. — 2003. — Vol. 349. — P. 1207—1215.
7. *Blake G. M., Fogiman I.* // Bone Mineral Res. — 2005. — Vol. 20. — P. 1901—1904.
8. *Boivin G., Deloffre P., Perrat B.* et al. // Bone Mineral Res. — 1996. — Vol. 11, N 9. — P. 1302—1311.
9. *Boivin G. Y., Chavassieux P. M., Santora A. C.* et al. // Bone. — 2000. — Vol. 27. — P. 687—694.
10. *Bruyere O., Delmas P. D., Devogelaer J.-P.* et al. // Osteoporos. Int. — 2006. — Vol. 17. — Suppl. 1. — P. s96.
11. *Bruyere O., Roux C., Cannata J. B.* et al. // Osteoporos. Int. — 2006. — Vol. 17. — Suppl. 1. — P. s8.
12. *Buehler J., Chappuis P., Saffar J. L.* et al. // Bone. — 2001. — Vol. 29. — P. 176—179.
13. *Canalis E., Hott M., Deloffre P.* et al. // Bone. — 1996. — Vol. 18. — P. 517—523.
14. *Chavassieux P. M., Arlot M. E., Reda C.* et al. // J. Clin. Invest. — 1997. — Vol. 100. — P. 1475—1480.
15. *Cohen-Solal M.* // Nephrol. Dial. Transplant. — 2002. — Vol. 17. — P. 30—34.
16. *Cranney A., Tugwell P., Zytaruk N.* et al. // Endocr. Rev. — 2002. — Vol. 23. — P. 524—528.
17. *Cummings S. R., Melton L. J.* // Lancet. — 2002. — Vol. 359. — P. 1714—1721.
18. *Delmas P. D.* // Osteoporos. Int. — 2000. — Vol. 11. — Suppl. 6. — P. S66—S76.
19. *D'Haeese P. C., Schrooten I., Goodman W. G.* et al. // Kidney Int. — 2000. — Vol. 57. — P. 1107—1114.
20. *Ettinger B., Black D. M., Mitlak B. H.* et al. // J. A. M. A. — 1999. — Vol. 282. — P. 637—645.
21. *Grynpas M. D., Hamilton E., Cheung R.* et al. // Bone. — 1996. — Vol. 18. — P. 253—259.
22. *Lindsay R., Nieves J., Formica C.* et al. // Lancet. — 1997. — Vol. 350. — P. 550—555.
23. *Lindsay R., Silverman S. L., Cooper C.* et al. // J. A. M. A. — 2001. — Vol. 285. — P. 320—323.
24. *Ma Y. F., Ferretti J. L., Capozza R. F.* et al. // Bone. — 1995. — Vol. 17, N 4. — Suppl. — P. 321S—327S.
25. *Marie P. J., Garba M. T., Hott M., Miravet L.* // Mineral Electrolyte Metab. — 1985. — Vol. 11. — P. 5—13.
26. *Marie P. J., Hott M., Modrowski D.* et al. // Bone Mineral Res. — 1993. — Vol. 8. — P. 607—615.
27. *Marie P. J., Amman P., Boivin G., Rey C.* // Calcif. Tiss. Int. — 2001. — Vol. 69. — P. 121—129.
28. *Marie P. J.* // Osteoporos. Int. — 2003. — Vol. 14. — P. S9—S12.
29. *Meunier P. J., Slosman D. O., Delmas P. D.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2002. — Vol. 87. — P. 2060—2066.
30. *Meunier P. J., Reginster J. Y.* // Osteoporos. Int. — 2003. — Vol. 14. — Suppl. 3. — P. S66—S76.
31. *Meunier P. J., Roux C., Seeman E.* et al. // N. Engl. J. Med. — 2004. — Vol. 350. — P. 459—468.
32. *Meunier P. J., Arlot M. E., Roux J. P.* et al. // Osteoporos. Int. — 2006. — Vol. 17. — Suppl. 1. — P. s114.
33. *Morohashi T., Sano T., Harai K., Yamada S.* // Jpn. J. Pharmacol. — 1995. — Vol. 68. — P. 153—159.
34. *Neer R. M., Arnaud C. D., Zanchetta J. R.* et al. // N. Engl. J. Med. — 2001. — Vol. 344. — P. 1434—1441.
35. *Nevitt M. C., Ettinger B., Black D. M.* et al. // Ann. Intern. Med. — 1998. — Vol. 128. — P. 793—800.
36. *Nielsen P. S., Slosman D., Sorensen O. H.* et al. // J. Clin. Densitometry. — 1999. — Vol. 2. — P. 371—379.
37. *Reginster J. Y., Minne H. W., Sorensen O. H.* et al. // Osteoporos. Int. — 2000. — Vol. 11. — P. 83—91.
38. *Reginster J. Y., Deroisy R., Dougados M.* et al. // Osteoporos. Int. — 2002. — Vol. 13. — P. 925—931.
39. *Reginster J. Y., Deroisy R., Jupsin I.* // Drugs Today. — 2003. — Vol. 39. — P. 89—101.
40. *Reginster J. Y., Meunier P. J.* // Osteoporos. Int. — 2003. — Vol. 14. — Suppl. 3. — P. S56—S65.
41. *Reginster J. Y., Seeman E., De Vernejoul M. C.* et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2005. — Vol. 90. — P. 2816—2822.
42. *Reginster J. Y., Sarlet N., Lejeune E., Leonori L.* // Curr. Osteoporos. Rep. — 2005. — Vol. 1. — P. 30—34.
43. *Reginster J. Y., Meunier P. J., Roux J.* et al. // Osteoporos. Int. — 2006. — Vol. 17. — Suppl. 1. — P. s11—s12.
44. *Reinholt F., Hjerpe A., Jansson K., Engfeldt B.* // J. Bone Jt Surg. Am. — 1984. — Vol. 66A. — P. 1274—1280.
45. *Rizzoli et al.* // Bone. — 2002. — Vol. 17. — P. 1988—1996.
46. *Roux C., Reginster J. Y., Fechtenbaum J.* et al. // Bone Mineral Res. — 2006. — Vol. 21. — P. 22.
47. *Schrooten I., Cabrera W., Goodman W. G.* et al. // Kidney Int. — 1998. — Vol. 54. — P. 448—456.
48. *Seeman E.* // Lancet. — 2002. — Vol. 359. — P. 1841—1850.
49. *Seeman E.* // Osteoporos. Int. — 2003. — Vol. 14. — P. S2—S8.
50. *Storey E.* // J. Bone Jt Surg. — 1962. — Vol. 44B. — P. 194—208.

Поступила 06.04.06