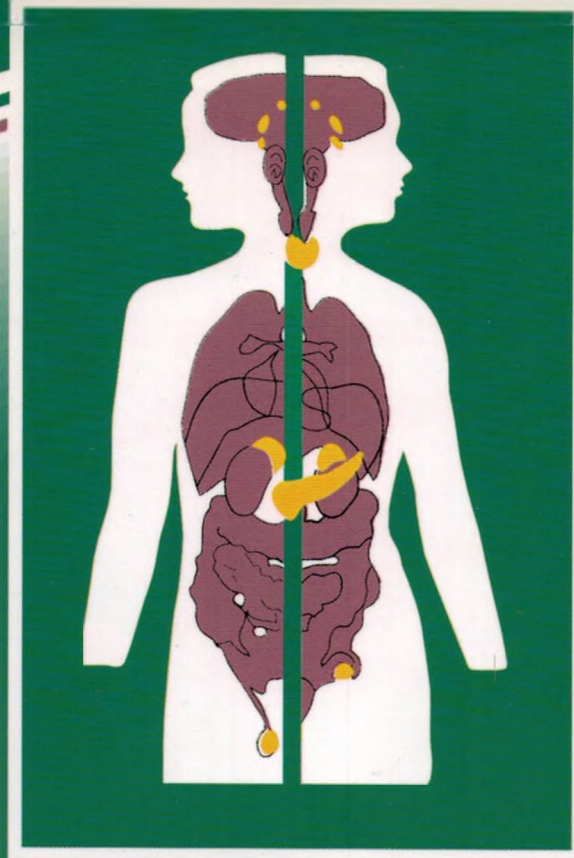




ПРОБЛЕМЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

3.2009

Том 55

Министерство здравоохранения
и социального развития
Российской Федерации
ФГУ Эндокринологический
научный центр Росмедтехнологий

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

119435 Москва, Б. Пироговская ул., 2,
строение 5

Тел. редакции 8-499-248-72-46
Факс 8-499-248-70-86

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

Зав. редакцией *Т. Н. Маркова*
Научные редакторы *Г. Р. Галстян,*
Н. В. Мазурина

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ

8-499-766-05-60

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

Редактор *О. Н. Красникова*
Переводчик *Т. А. Четчина*
Художественный редактор *М. Б. Белякова*
Корректор *А. М. Шувалова*
Технический редактор *Н. А. Шпак*

Сдано в набор 05.03.09.
Подписано в печать 27.04.09.
Формат 60 × 88 1/2
Печать офсетная
Печ. л. 7,00 + 1,00 цв. вкл.
Усл. печ. л. 7,84.
Уч.-изд. л. 9,92.
Заказ 395.

Отпечатано в ООО "Подольская
Периодика", 142110, г. Подольск,
ул. Кирова, 15

ЛР N 010215 от 29.04.97

Подписной тираж номера 975 экз.
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. 2009. Т. 55. № 3. 1—56

ПРОБЛЕМЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ

Том 55

май—июнь

3 • 2009

ДВУХМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

ДЕДОВ И. И. (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.
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.
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)



МОСКВА «ИЗДАТЕЛЬСТВО
"МЕДИЦИНА"», 2009

СОДЕРЖАНИЕ

Клиническая эндокринология

- Дедов И. И., Зубкова Н. А., Арбатская Н. Ю., Акопова А. Г., Тюльпак А. Н. MODY тип 2: клинические и молекулярно-генетические характеристики 13 случаев заболевания. Первое описание MODY в России. 3
- Васюкова О. В., Витебская А. В. Инсулинорезистентность при ожирении у детей: спорность оценки 8
- Танянский Д. А., Фирова Э. М., Шатилина Л. В., Денисенко А. Д. Роль адипокинов и неэстерифицированных жирных кислот в развитии инсулинорезистентности 13
- Костинов М. П., Скочилова Т. В., Тарасова А. А., Воробьева В. А., Коровкина Т. И., Лукачев И. В., Юшкова И. Ю., Ястребова Н. Е. Уровень антител к пневмококковой вакцине у детей и подростков с сахарным диабетом 1-го типа 17
- Свириденко Н. Ю., Тугеева Э. Ф., Арипов М. А., Бузиашвили Ю. И. Функциональный резерв сердца у больных с диффузным токсическим зобом после медикаментозного восстановления эутиреоза тиамазолом 21
- Вороненко И. В., Мокрышева Н. Г., Рожинская Л. Я., Сыркин А. Л. Состояние сердечно-сосудистой системы при клинически выраженном и малосимптомном первичном гиперпаратиреозе 25
- Герасименко О. А., Дзеранова Л. К., Рожинская Л. Я. Псевдогипопаратиреоз: генетические аспекты. 30
- Малышева Н. М., Кацья Г. В., Гончаров Н. П. Диагностические возможности определения биологически активного свободного тестостерона в крови с использованием современной технологии ультрафильтрации. 34
- Кравченко А. Я., Провоторов В. М. Уровень тестостерона у мужчин с ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью 37

Экспериментальная эндокринология

- Мишунина Т. М., Калинин Е. В., Тронко Н. Д. Интенсивность фрагментации ДНК в ткани и карциномах щитовидной железы человека и ее изменение под влиянием α -токоферола и ионов йода *in vitro*. 40
- Панин Л. Е., Поляков Л. М., Усынн И. Ф., Суменкова Д. В., Князев Р. А. Влияние кортикостероидов в комплексе с аполипопротеином А-I на биосинтез белка в культуре гепатоцитов. 45

Обзор

- Узегова Ж. А., Григорян О. Р., Андреева Е. Н. Эндокринные аспекты патогенеза рака шейки матки. Новые возможности первичной профилактики 48

Некролог

- Памяти Михаила Ивановича Балаболкина 54

CONTENTS

Clinical Endocrinology

- Dedov I. I., Zubkova N. A., Arbatskaya N. Yu., Akopova A. G., Tyulpakov A. N. MODY2: Clinical and molecular genetic characteristics of 13 cases of the disease. The first description of MODY in Russia 3
- Vasyukova O. V., Vitebskaya A. V. Insulin resistance in obese children: debate on assessment 8
- Tanyansky D. A., Firova E. M., Shatilina L. V., Denisenko A. D. Role of adipokines and nonesterified fatty acids in the development of insulin resistance 13
- Kostinov M. P., Skochilova T. V., Tarasova A. A., Vorobyeva V. A., Korovkina T. I., Lukachev I. V., Yushkova I. Yu., Yastrebowa N. Ye. The level of antibodies to pneumococcal vaccine in children and adolescents with type 1 diabetes 17
- Sviridenko N. Yu., Tugeeva E. F., Aripov M. A., Buziashvili Yu. I. Cardiac functional reserve and left ventricular parameters in patients with diffuse toxic goiter after drug correction of euthyroidism with thiamazol 21
- Voronenko I. V., Mokrysheva N. G., Rozhinskaya L. Ya., Syркиn A. L. The cardiovascular system in patients with symptomatic and mild primary hyperparathyroidism 25
- Gerasimenko O. A., Dzeranova L. K., Rozhinskaya L. Ya. Pseudohypoparathyroidism: genetic aspects 30
- Malysheva N. M., Katsiya G. V., Goncharov N. P. Diagnostic capacities of determination of biologically active free testosterone in blood, by using current ultrafiltration techniques 34
- Kravchenko A. Ya., Provorotov V. M. Testosterone level in male patients with coronary heart disease and essential hypertension 37

Experimental Endocrinology

- Mishunina T. M., Kalinichenko Ye. V., Tronko N. D. DNA fragmentation rate in human thyroid tissue and carcinomas and its change under the influence of α -tocopherol and iodine ions *in vitro* 40
- Panin L. Ye., Polyakov L. M., Usynin I. F., Sumenkova D. V., Knyazev R. A. Effect of a complex of corticosteroids with apolipoprotein A-I on protein biosynthesis in cultured hepatocytes 45

Review

- Uzhegova Zh. A., Grigoryan O. R., Andreyeva Ye. N. Endocrine aspects of the pathogenesis of cancer of the cervix uteri. New possibilities of primary prophylaxis 48

Obituary

- In memory of Mikhail Ivanovich Balabolkin 54

◆ КЛИНИЧЕСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 616.379-008.64-036.1-07:577.21

И. И. Дедов¹, Н. А. Зубкова¹, Н. Ю. Арбатская², А. Г. Акопова³, А. Н. Тюльпаков¹**MODY ТИП 2: КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ 13 СЛУЧАЕВ ЗАБОЛЕВАНИЯ. ПЕРВОЕ ОПИСАНИЕ MODY В РОССИИ**¹Отделение наследственных эндокринных заболеваний (зав. — доктор мед. наук А. Н. Тюльпаков) ФГУ Эндокринологический научный центр (дир. — акад. РАН и РАМН И. И. Дедов) Росмедтехнологий;²Городская клиническая больница № 1 им. Н. И. Пирогова, Москва; ³Городской диабетологический центр, Новосибирск

Сахарный диабет (СД) типа MODY — клинически гетерогенная группа заболеваний, характеризующаяся аутосомно-доминантным типом наследования и обусловленная мутациями генов, приводящими к дисфункции β -клеток поджелудочной железы. Достоверно определить тип диабета и дальнейшую тактику лечения пациента возможно лишь на основании данных молекулярно-генетического исследования, подтверждающего наличие мутаций в гене. На сегодняшний день известны мутации 8 генов, из которых мутация гена глюкокиназы (GCK), приводящая к развитию диабета типа MODY 2, встречается наиболее часто. Распространенность этой мутации среди больных СД в нашей стране не изучена. Диагноз сахарного диабета типа MODY 2 был нами установлен у 13 членов 5 семей с характерной для данного типа клинической картиной. При молекулярно-генетическом исследовании было выявлено 4 новых и одна ранее описанная мутация. Полученные результаты расширяют представления о молекулярных основах СД MODY и создают предпосылки для усовершенствования диагностики данного заболевания, генетического консультирования и разработки патогенетически обоснованных подходов к лечению.

Ключевые слова: сахарный диабет, сахарный диабет зрелого типа у молодых (MODY), мутация гена глюкокиназы (GCK), пограничная гипергликемия натощак, гестационный сахарный диабет.

I. I. Dedov¹, N. A. Zubkova¹, N. Yu. Arbatskaya², A. G. Akopova³, A. N. Tyulpakov¹**MODY2: CLINICAL AND MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF 13 CASES OF THE DISEASE. THE FIRST DESCRIPTION OF MODY IN RUSSIA**¹Department of Hereditary Endocrine Diseases, Endocrinology Research Center, Russian Agency for Medical Technologies;²N. I. Pirogov City Clinical Hospital One, Moscow; ³City Diabetology Center, Novosibirsk

Maturity-onset diabetes of the young (MODY) is a clinically heterogenic group of diseases, with an autosomal dominant mode of inheritance and gene mutations resulting in dysfunction of pancreatic B cells. The type of diabetes and further treatment policy can be reliably determined on the basis of the data of a molecular genetic study that confirms gene mutations. Today there are known mutations of 8 genes, of which glucokinase (GCK) gene mutation that leads to the development of MODY2 and occurs most frequently. The spread of this mutation among DM patients in our country has not been studied. The diagnosis of MODY2 was established in 13 members of 5 families with the clinical picture typical of this type. The molecular genetic study revealed 4 new and 1 earlier described mutations. The findings extend ideas on the molecular bases of MODY, which creates conditions for improving the diagnosis of this disease, genetic counseling and the development of pathogenetically founded approaches to treatment.

Key words: diabetes mellitus, mature-onset diabetes of the young (MODY), glucokinase (GCK) gene mutation, borderline fasting hyperglycemia, gestational diabetes mellitus.

Распространенность сахарного диабета (СД) во всем мире увеличивается в эпидемических масштабах, причем диабет остается одной из главных причин инвалидизации и преждевременной смертности. Приоритетные направления в управлении СД включают разработку стратегии, профилактики болезни и дифференцированных, патогенетически обоснованных подходов к ее лечению с целью уменьшения частоты и замедления начала и прогрессирования осложнений. В этой связи чрезвычайно важно своевременно верифицировать правильный вариант СД, поскольку наряду с класси-

ческими, широко распространенными 1-м и 2-м типами СД существуют более редкие формы, отличающиеся от них клиническим течением и прогнозом. Среди последних лидируют моногенные формы, известные под общим названием "сахарный диабет зрелого типа у молодых" (Maturity-Onset Diabetes of the Young — MODY). MODY — гетерогенная группа заболеваний с аутосомно-доминантным типом наследования и обусловленная мутациями генов, приводящих к дисфункции β -клеток поджелудочной железы. Впервые термин "диабет зрелого типа у молодых" и аббревиатуру MODY ввели S. Fajans и R. Tattersall в 1975 г. [18, 19] для определения непрогрессирующего или малопрогрессирующего диабета у молодых пациентов с отягощенным семейным анамнезом. Были описаны 3 семьи с аутосомно-доминантной формой СД, характеризующегося ранним началом и относительно нетяжелым течением: у 7 из 12 больных, диагноз

Информация для контактов:

Зубкова Наталья Анатольевна, канд. мед. наук, ст. научный сотрудник отделения наследственных эндокринных заболеваний ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий
Адрес: 115478 Москва, ул. Москворечье, д. 1
zunata2006@yandex.ru
Телефон: 8-495-320-33-32, факс: 8-495-320-36-87

которым был поставлен до 30 лет, не было ретинопатии спустя в среднем 37 лет.

Обычно MODY развивается в детстве, подростковом возрасте или у молодых взрослых. При этом достоверно определить тип диабета возможно лишь на основании данных молекулярно-генетического исследования, подтверждающего наличие мутаций в том или ином гене. Исследования последних лет показали, что частота наследственных форм СД не столь редка, как принято считать. В среднем MODY выявляется в 2–5% случаев СД 1-го и 2-го типов и в половине случаев при гестационном диабете [2, 6, 13]. На сегодняшний день известны мутации 8 генов, приводящие к развитию разных типов MODY, которые различаются между собой частотой выявления, клинической картиной и терапевтической тактикой.

Один из самых частых вариантов MODY — тип MODY 2 — связан с мутациями в гене глюкокиназы (GCK) [1, 3, 4, 14]. Ген GCK картирован на хромосоме 7p13, имеет 12 кодирующих экзонов и кодирующую последовательность из 1398 пар нуклеотидов. Глюкокиназа (гексозо-6-фосфотрансфераза) принадлежит к семейству гексокиназ и катализирует фосфорилирование глюкозы в глюкозо-6-фосфат (Г-6-Ф) в присутствии АТФ и ионов Mg, тем самым повышая чувствительность β -клеток к глюкозе. Глюкокиназа представляет собой белок с мол. массой около 52 000 и состоит из 465 аминокислотных остатков. В отличие от других гексокиназ, глюкокиназа (гексокиназа типа 4) экспрессируется только в клетках, участвующих в регуляции метаболизма глюкозы, в частности в гепатоцитах и β -клетках островков поджелудочной железы. Этот фермент играет важнейшую роль в поддержании нормальной концентрации глюкозы в организме [3, 4]. Способность моно- и дисахаридов подвергаться фосфорилированию и, следовательно, гликолизу коррелируется с их способностью стимулировать секрецию инсулина. Иными словами, глюкокиназа имеет низкое сродство к глюкозе и ее секреция не подавляется глюкозо-6-фосфатом, поэтому скорость фосфорилирования глюкозы в β -клет-

ках и гепатоцитах прямо пропорциональна концентрации глюкозы. Обнаружение мутаций в гене глюкокиназы упрочило гипотезу о том, что этот фермент служит своеобразным датчиком концентрации глюкозы [16]. Мутации гена GCK приводят к нарушению способности глюкокиназы фосфорилировать глюкозу и, как следствие, увеличению минимальной концентрации глюкозы, при которой стимулируется секреция инсулина [8, 12, 15]. Снижение скорости секреции инсулина при дефекте глюкокиназы зависит от типа мутации и может достигать 60% [13, 14]. В результате полной или частичной потери активности фермента снижается чувствительность β -клеток к глюкозе с последующим повышением порогового уровня глюкозы в крови, необходимого для активации секреции инсулина [16]. Кроме того, изменяется функция АТФ-зависимых калиевых каналов, что приводит к уменьшению или отсутствию секреции инсулина после стимуляции глюкозой. Активность глюкокиназы может снижаться также вследствие недостаточной аккумуляции гликогена в клетках печени за счет активации вторичных путей глюконеогенеза. В отечественной литературе отсутствуют описания подтвержденных случаев MODY. В данной статье мы приводим собственные наблюдения MODY 2. Во всех описанных ниже случаях были выявлены мутации гена глюкокиназы (см. таблицу).

Материалы и методы

Гормональные исследования. Уровни иммунореактивного инсулина (ИРИ) и С-пептида определяли с использованием коммерческих наборов.

Молекулярно-генетические исследования. Геномную ДНК выделяли из периферических лейкоцитов с применением стандартных методов. С помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) амплифицировали 4 фрагмента геномной ДНК, охватывающие кодирующую последовательность гена GCK и примыкающие участки экзонов: фрагмент E1 (474 п. н., экзон 1), фрагмент E2–3 (1490 п. н., экзоны 2–3), фрагмент E4–6 (1572 п. н., экзоны

Клинические данные обследованных пациентов

Семья, тип мутации	Пол	Возраст	Максимальная гликемия, ммоль/л	НТГ, Д, ГГН, ГД	HbA _{1c}	Инсулин		С-пептид		Лечение
						0-я минута	120-я минута	0-я минута	120-я минута	
I	I.1	М	64	8,1	Д	—	—	—	—	Отказ от терапии
G170D	I.2	Ж	39	8,0	Д	3,0	11,3	3,0	7,8	Инсулин
	I.3	Ж	34	7,4	ГД	—	—	3,5	—	Диета, инсулин
	I.4	М	16	7,5	ГГН	1,8	20	2,2	6,1	Диета
	II	Ж	35	8,0	ГД	5,2	38,3	1,1	6,7	Диета
L20R	II.2	М	4,5	6,4	ГГН	2,1	21,2	0,8	4,5	Диета
III	III.1	М	53	Не обследован		—	—	—	—	—
C213R	III.2	Ж	25	7,3	ГД	—	—	—	—	Диета, инсулин
	III.3	Ж	0,2	7,6	НТГ	—	—	—	—	Диета
IV	IV.1	Ж	23	8,2	ГД	22,6	—	4,9	—	Диета
V55A	IV.2	М	0,8	9,2	НТГ	—	—	—	—	Диета
V	V.1	М	58	7,2	НТГ	—	—	—	—	Диета
L324R	V.2	М	35	6,9	НТГ	5,9	14,8	2,0	5,5	Диета
	V.3	М	3,6	8,8	ГГН	2,65	—	0,2	—	Диета

Примечание. НТГ — нарушение толерантности к углеводам; ГД — гестационный диабет; ГГН — гипергликемия натощак; Д — диабет; прочерк — исследование не проводилось.

4—6) и фрагмент E7—10 (2921 п. н., экзоны 4—6) (см. рисунок). После электрофореза в 1% агарозном геле продукты ПЦР очищали с использованием набора PCR Purification Kit ("Promega", США), а затем секвенировали на автоматическом секвенаторе ABI PRISM Model 310 ("Applied Biosystems", США).

При проведении ПЦР и последующем секвенировании соответствующих экзонов и примыкающих участков интронов использовали следующие олигонуклеотиды:

5'-CAA TGG CCC TGC CTG GAG AAC-3', EIF
5'-GAT GGG TCT GCC AGG CAG TAG-3', E1R,
5'-CGG GGT CAG AAG ACA GAA G-3', E2F,
5'-GGC CTC CAG CTG CCT CTG A-3', E3R,
5'-GGA CAG GCC TGG CAT TCA G-3', E4F,
5'-CAG GCT CTG CTC TGA CAT C-3', E6R,
5'-CCA GGG AGA GCC GCC TTT C-3', E7F,
5'-CCG CCT CGT GAC CTC AGT-3', E8F,
5'-GCT CAG CGA GGG AAA GAG-3', E9F,
5'-GCA CGT GTG GGG AGC ACT TC-3', E10R

Описание клинических случаев

Семья I

Прабабушка по линии отца. Отмечалось периодическое повышение гликемии натощак.

Дедушка по линии матери, 64 года (I.1). Диагноз сахарного диабета установлен в возрасте около 40 лет на основании повышения уровня гликемии натощак до 8,1 ммоль/л. Лечение никогда не получал, диету не соблюдал. При длительности диабета более 30 лет не имеет сосудистых осложнений.

Мать В. Д., 39 лет (I.2). В возрасте 38 лет (апрель 2007 г.) при рутинном исследовании впервые выявлена гипергликемия натощак 7,8 ммоль/л. Верифицирован латентный аутоиммунный СД взрослых (LADA-диабет), назначено 8 Ед инсулина продленного действия (протафан) на ночь. На фоне терапии и соблюдения диеты уровни HbA_{1c} и гликемии в пределах нормы.

Тетя Л. З. по линии матери, 34 года (I.3). В подростковом возрасте при рутинном исследовании периодически фиксировалась гипергликемия натощак до 6,4 ммоль/л. В течение первой беременности стабильная нормогликемия. Во время второй беременности верифицирован "гестационный диабет", получала инсулинотерапию. Показатели HbA_{1c} в дебюте и на протяжении всей беременности оставались в пределах нормы, отмечалось повышение содержания фруктозамина до 320 мкмоль/л.

Сын Д. С., 16 лет (I.4). Впервые повышение уровня сахара в крови натощак до 6,5 ммоль/л выявлено в возрасте 15 лет при случайном опре-

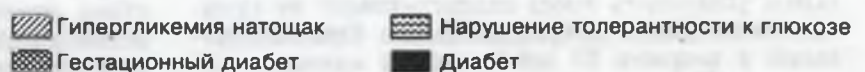
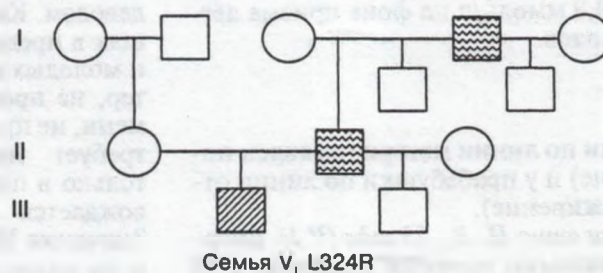
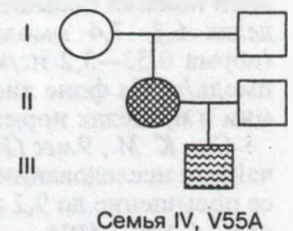
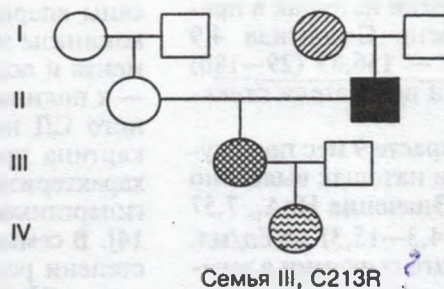
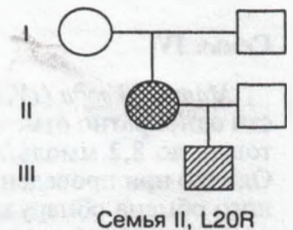
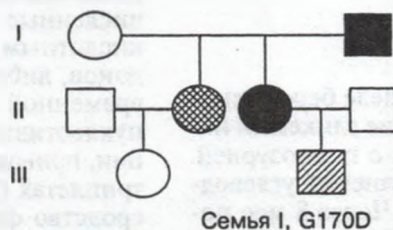
делении с помощью глюкометра. В дальнейшем при неоднократном измерении фиксировалась гипергликемия в пределах 6,2—7,5 ммоль/л. При этом классических клинических признаков СД (полиурия, полидипсия, похудание) не отмечалось. У сына, матери и тети аутоиммунные маркеры СД (антитела (АТ) к GAD, инсулину, островковым клеткам) отрицательные.

Семья II

В семье нет родственников, у которых когда-либо были верифицированы нарушения углеводного обмена.

Мать И. М., 35 лет (II.1). В возрасте 25 лет впервые случайно была выявлена гликемия натощак до 6,4 ммоль/л. Обследования не проходила. Во время беременности (30 лет) на 23-й неделе выявлена гликемия натощак до 6,3 ммоль/л, после еды — до 10 ммоль/л. Получала инсулинотерапию. Уровни HbA_{1c}, инсулина, С-пептида в дебюте, на протяжении беременности и в дальнейшем не определялись.

Сын И. М., 4,5 года (II.2). На 2-м месяце жизни однократно выявлена гипергликемия натощак 8 ммоль/л. Постоянно наблюдался эндокриноло-



Родословные обследованных семей.

гом, проводился самоконтроль гликемии. Однако в дальнейшем повышения уровня сахара крови выявлено не было. Аутоиммунные маркеры СД (АТ к GAD, инсулину, островковым клеткам) отрицательные.

Семья III

У дедушки (III.1) и прабабушки по линии матери — СД (до момента обследования ребенка тип не установлен).

Мать Н. П., 25 лет (III.2). В возрасте 20 лет при периодическом измерении гликемии в домашних условиях отмечалась гипергликемия натощак 6,2—7,0 ммоль/л. Обследования не проходила, соблюдала диету. Во время беременности (23 года) на 10-й неделе при проведении орального глюкозотолерантного теста (ОГГТ) выявлено: гликемия натощак 6,47 ммоль/л, на 120-й минуте — 9,81 ммоль/л. HbA_{1c} — 7,1%, уровень С-пептида в норме, аутоиммунные маркеры СД отрицательные. Получала инсулинотерапию.

Дочь С. П., 2 мес (III.3). У девочки с первых месяцев жизни — гипергликемия натощак до 7,6 ммоль/л. В последующем отмечалась тенденция к повышению гликемии после еды до 8—9 ммоль/л.

Семья IV

Мать, 23 года (IV.1). На 21-й неделе беременности однократно отмечено повышение гликемии натощак до 8,2 ммоль/л в сочетании с глюкозурией. Однако при проведении ОГГТ нарушений углеводного обмена обнаружено не было. Через 8 мес после родов вновь выявлена гипергликемия натощак 7,3 ммоль/л. Мониторинг в течение нескольких дней показал повышение гликемии натощак в пределах 6,8—7,4 ммоль/л. Уровень С-пептида 4,9 (норма 0,53—3,2 нг/мл), ИРИ — 156,85 (29—180) пмоль/л. На фоне диетотерапии показатели гликемии в пределах нормы.

Сын К. М., 9 мес (IV.2). В возрасте 9 мес при случайном исследовании гликемии натощак выявлено ее повышение до 9,2 ммоль/л. Значения HbA_{1c} 7,57 (3,8—6,2)%, ИРИ — менее 2 (4,3—15,3) мкЕд/мл. При неоднократном мониторинге гликемии в течение суток гликемия натощак колебалась в пределах 5,4—7,8 ммоль/л, после еды — до 6,4—8,3 ммоль/л с повышением до 9,8 ммоль/л на фоне приема легкоусвояемых углеводов.

Семья V

СД у прабабушки по линии матери (выявлен после 60 лет, ожирение) и у прабабушки по линии отца (после 65 лет, ожирение).

Дедушка по линии отца Н. В., 53 года (V.1). Впервые повышение гликемии натощак выявлено в 52 года при рутинном исследовании. Дальнейших попыток установить генез гипергликемии не предпринимал. Диеты не придерживался. При обследовании в возрасте 53 лет гликемия натощак 6,78 ммоль/л, HbA_{1c} — 7,3% (норма до 6,4%).

Отец Н. С., 35 лет (V.2). К моменту обследования ребенка гликемия исследовалась лишь однократно — 6,9 ммоль/л. Расценена как ошибка при измерении глюкометром. Однако при проведении ОГГТ выявлено нарушение толерантности к углеводам (гликемия натощак 5,91 ммоль/л, на 120-й минуте 8,51 ммоль/л), HbA_{1c} — 6,8%.

Сын Н. Н., 3,8 года (V.3). В возрасте 6 мес при случайном исследовании гликемии после еды выявлено ее повышение до 8,2 ммоль/л. При повторном измерении на фоне 5-часового голодания гликемия составила 8,8 ммоль/л. Уровень HbA_{1c} 7,0%. В дальнейшем на протяжении 3 лет значения HbA_{1c} варьировали в пределах 6,5—6,8%, гликемии натощак — в пределах 6,3—6,6 ммоль/л. При обследовании в марте 2008 г. (3 года 6 мес): уровень инсулина 2,65 (норма 2,1—27) мкЕд/мл, С-пептида — 0,2 (0,36—1,7) пмоль/мл. Аутоиммунные маркеры СД (АТ к GAD, инсулину, островковым клеткам) отрицательные.

Результаты и их обсуждение

К настоящему времени в мире выявлено около 200 мутаций гена глюкокиназы (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/>). Большинство описанных мутаций расположено в 7-м и 8-м экзонах. Описаны многочисленные мутации, приводящие либо к аминокислотным заменам, либо к образованию стоп-кодонов, либо к сдвигу рамки считывания и преждевременной терминации транскрипции вследствие нуклеотидных делеций [3, 9, 10]. Точечные мутации, приводящие к заменам в 228-м (T228M) и 261-м триплетях (G261R), по всей видимости, влияют на сродство фермента к АТФ и константу его связывания с глюкозой. В нашем случае была выявлена 1 ранее описанная мутация гена GCK C213R и 4 описаны впервые. Гетерозиготные мутации гена глюкокиназы приводят к парциальному дефекту фермента и ассоциированы с MODY 2, гомозиготные — к полному его дефициту и развитию перманентного СД новорожденных [5, 7, 10]. Клиническая картина при гетерозиготных мутациях гена GCK характеризуется умеренной непрогрессирующей гипергликемией натощак и гестационным СД [2, 14]. В семьях таких пациентов родственники I и II степени родства должны иметь либо "мягкий" вариант СД 2-го типа, либо умеренную гипергликемию натощак, либо нарушение толерантности к углеводам. Как правило, повышение гликемии натощак в пределах 5,5—8 ммоль/л выявляется у детей и молодых взрослых, носит бессимптомный характер, не прогрессирует в течение длительного времени, не приводит к сосудистым осложнениям и не требует медикаментозной коррекции. Обычно только в пожилом возрасте гипергликемия сопровождается клиническими симптомами диабета. Значения HbA_{1c}, как правило, не превышают 7,5% и не изменяются в динамике [9, 12]. Характерны сохранная секреция инсулина и С-пептида, отсутствие аутоиммунных маркеров СД и сосудистых осложнений. Гестационный диабет может протекать как с повышением гликемии натощак, так и в виде нарушений толерантности к глюкозе, что про-

слеживается и в обследованных нами семьях II—IV. При этом, как и в нашем наблюдении, персистирующая гипергликемия натошак может отмечаться как до, так и после беременности. Генетический диагноз в данных случаях крайне важен, поскольку помогает не только подобрать оптимальную терапию при гестационном диабете и определить вид родоразрешения, но и адекватно трактовать возможные нарушения углеводного обмена у новорожденных [17]. В исследовании, проведенном в Испании в 22 семьях с мутацией гена GSK, доказано, что только в тех случаях, когда наличие мутации в гене GSK имело место либо только у матери, либо у плода, отмечалась макросомия [1, 11]. Так, в нашем случае у членов семьи III была выявлена ранее описанная миссенс-мутация C213R, в результате которой большой остаток аргинина замещается на цистеин, что, как предполагается, приводит к снижению каталитической активности глюкокиназы. Поскольку данная мутация имела место и у матери, и у ребенка, масса тела девочки при рождении была нормальной. Как видно из приведенного примера, течение MODY 2 в данной семье можно считать классическим. Однако вполне вероятно, что у новорожденного ребенка с показателями гликемии 7,6—8,2 ммоль/л натошак мог быть верифицирован СД 1-го типа и необоснованно назначена инсулинотерапия [16]. Таким образом, тщательный анализ семейного анамнеза и адекватный алгоритм обследования позволили избежать тактических ошибок. Известно, что в результате миссенс-мутации в кодируемом данным геном полипептиде одна аминокислота замещается на другую, поэтому фенотипическое проявление мутации зависит от функциональной значимости затронутого домена. Не всякая замена аминокислоты отразится на функциональной активности белка, вследствие чего произошедшая мутация может остаться не выявленной. Этим объясняется отмечаемое несовпадение реальной частоты мутаций в определенном гене и частоты ее выявления.

На примере семьи I, в которой выявлена новая мутация G170D, можно наблюдать гетерогенность клинических проявлений при одной и той же мутации. Так, у тети пробанда с периодически фиксируемой гипергликемией натошак в пубертате первая беременность протекала без нарушений углеводного обмена, тогда как во время второй развился гестационный диабет, потребовавший назначения инсулинотерапии. Согласно имеющимся данным, нарушения углеводного обмена у носителей мутантного гена GSK могут быть выявлены уже в первые годы жизни и практически у всех к моменту завершения полового развития [4, 11, 15]. Однако у матери пробанда повышение гликемии натошак было впервые зафиксировано лишь в 38 лет. При этом известно, что до 18 лет измерение гликемии проводилось регулярно и ни разу не было зафиксировано ее повышения. Кроме того, достичь компенсации углеводного обмена у нее стало возможным только с помощью инсулинотерапии, тогда как при MODY2 достаточно соблюдения диеты [9]. В то же время дедушка пробанда в течение 30 лет не лечился, не соблюдал диету и при этом не имеет никаких сосудистых осложнений. Тем не ме-

нее во всех приведенных нами случаях в анамнезе пациентов прослеживались типичные для MODY2 клинические симптомы: непрогрессирующая гипергликемия натошак или нарушение толерантности к углеводам, гестационный диабет, отсутствие сосудистых осложнений, доминантный тип наследования. Интересен тот факт, что в семье V, в которой выявлена ранее не описанная мутация L324R, обследование бабушки и отца ребенка проводилось уже после обнаружения гипергликемии у ребенка. Фиксируемые у них ранее повышенные уровни сахара крови они считали ошибочными, а уточнение генеза гипергликемии нецелесообразным. Лишь молекулярно-генетическое подтверждение диагноза убедило их в необходимости проведения самоконтроля и соблюдения рекомендаций по питанию. В заключение целесообразно обозначить наиболее достоверные клинические критерии MODY2, предложенные в результате консенсуса 24 августа 2007 г. группой европейских ученых [3].

1. Непрогрессирующая гипергликемия натошак в пределах 5,5—8 ммоль/л, выявленная у детей и молодых взрослых без ожирения, а также у женщин до, во время или после беременности.

2. Уровень HbA_{1c} стабилен и редко превышает 7,5%.

3. Повышение гликемии на 120-й минуте при проведении ПГГГ менее чем на 4,6 ммоль/л от уровня натошак, в том числе во время и после беременности.

4. Родители пациентов с MODY могут иметь "мягкий" вариант СД 2-го типа, либо нарушение гликемии натошак в пределах 5,5—8 ммоль/л. При этом отсутствие установленных нарушений углеводного обмена в семье не исключает диагноз MODY.

Таким образом, молекулярно-генетическое исследование позволяет значительно улучшить клиническую и доклиническую диагностику вариантов MODY. Генетический скрининг следует включить в рутинный алгоритм обследования при подозрении на наследуемый характер диабета, а выявленную взаимосвязь генотипа и фенотипа (клинический вариант, течение и прогноз заболевания) при данном варианте нарушений углеводного обмена необходимо учитывать при выборе тактики ведения пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barrio R., Bellanne-Chantelot C., Moreno J. C. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2002. — Vol. 87. — P. 2532—2539.
2. Ellard S., Beards F., Allen L. I. S. et al. // Diabetologia. — 2000. — Vol. 43. — P. 250—253.
3. Ellard S., Thomas K., Edghill E. L. et al. // Diabetologia. — 2007. — Vol. 50. — P. 2313—2317.
4. Fajans S. S., Bell G. I., Polonsky K. S. // N. Engl. J. Med. — 2001. — Vol. 345, N 13. — P. 971—980.
5. Feigerlova E., Pruhova S., Dittertova L. et al. // Eur. J. Pediatr. — 2006. — Vol. 165. — P. 446—452.
6. Frayling T. M., Evans J. C., Bulman M. P. et al. // Diabetes. — 2001. — Vol. 50. — Suppl. 1. — P. S94—S100.
7. Froguel P., Zouali H., Vionnet N. et al. // N. Engl. J. Med. — 1993. — Vol. 328. — P. 697—702.
8. Garcia-Herrero C. M., Galán M., Vincent O. // Diabetologia. — 2007. — Vol. 50. — P. 325—333.
9. Gill-Carey O., Shields B., Colclough K. et al. // Diabet. Med. — 2007. — Vol. 24. — Suppl. 1. — P. 6.

10. Gloyd A. L. // Hum. Mutat. — 2003. — Vol. 22. — P. 353–362.
11. Hattersley A. T., Beards F., Ballantyne E. et al. // Nat. Genet. — 1998. — Vol. 19. — P. 268–270.
12. Jian Yu Xu, Qing Hong Dan, Vivian Chan et al. // Eur. J. Hum. Genet. — 2005. — Vol. 13. — P. 422–427.
13. Lenderman H. // Lancet. — 1995. — Vol. 345. — P. 648.
14. Massa O., Meschi F., Cuesta-Munoz A. et al. // Diabetologia. — 2001. — Vol. 44. — P. 898–905.
15. Miller S. P., Anand G. R., Karschnia E. J. et al. // Diabetes. — 1999. — Vol. 48. — P. 1645–1651.
16. Schnyder S., Mullis P., Ellard S. et al. // Swiss. Med. Wkly. — 2005. — Vol. 135. — P. 352–356.
17. Spyer G., Hattersley A. T., Sykes J. E. et al. // Am. J. Obstet. Gynecol. — 2001. — Vol. 185. — P. 240–241.
18. Tattersall R. B. // Quart. J. Med. — 1974. — Vol. 43. — P. 339–357.
19. Tattersall R. B., Fajans S. S. // Diabetes. — 1975. — Vol. 24. — P. 44–53.

Поступила 12.01.09

© О. В. ВАСЮКОВА, А. В. ВИТЕБСКАЯ, 2009

УДК 616-056.257-053.2-07:616.153.45

О. В. Васюкова, А. В. Витебская

ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ПРИ ОЖИРЕНИИ У ДЕТЕЙ: СПОРНОСТЬ ОЦЕНКИ

Институт детской эндокринологии (дир. — проф. В. А. Петеркова) Эндокринологического научного центра Росмедтехнологий, Москва

Отсутствие нормативов, стандартизированных с учетом возраста и пола, остается основной проблемой, с которой сталкиваются исследователи при изучении инсулинорезистентности у детей.

В данной работе проведено сравнительное изучение индексов инсулинорезистентности (ИР) у 63 детей и подростков с простым (конституционально-экзогенным) ожирением.

Авторами продемонстрирована низкая воспроизводимость индивидуальных базальных значений инсулина (не более 26% согласно корреляционному анализу по Пирсону). Показан ограничительный характер оценки ИР с помощью расчетных индексов, вычисляемых по концентрации иммунореактивного инсулина и глюкозы натощак: 40% детей и подростков с ожирением не имели соответствия базальных индексов ИР с результатами стандартного орального глюкозотолерантного теста (ОГТТ), что могло привести к диагностической ошибке — как в сторону "гипердиагностики" (у 12% пациентов), так и "гиподиагностики" (18% детей). Согласно результатам данной работы, в оценке инсулинорезистентности при ожирении у детей и подростков наибольшей диагностической значимостью обладают значения стимулированного выброса инсулина и индекса Matsuda, определяемые по данным ОГТТ.

Ключевые слова: ожирение, инсулинорезистентность, индексы инсулинорезистентности.

O. V. Vasyukova, A. V. Vitebskaya

INSULIN RESISTANCE IN OBESE CHILDREN: DEBATE ON ASSESSMENT

Institute of Pediatric Endocrinology, Endocrinology Research Center, Russian Agency for Medical Technologies, Moscow

No age- and gender-adjusted criteria remain to be a main problem the investigators face when studying insulin resistance in children. This paper compares insulin resistance (IR) indices in 63 children and adolescents with simple (constitutionally exogenous) obesity.

The authors demonstrated a low reproducibility of individual baseline values of insulin (not more than 26% as shown by Pearson's correlation analysis). Estimation of IR by means of the design indices calculated from the fasting concentration of immunoreactive insulin and glucose: 40% of obese children and adolescents had no fit of baseline IR indices with the results of an oral glucose tolerance test (OGTT), which may result in a diagnostic error - both hyperdiagnosis (in 12% of patients) and hypodiagnosis (18% of children). According to the results of this study, the values of stimulated insulin release and the Matsuda index, which were determined from the OGTT data, are of the highest diagnostic value in the assessment of insulin resistance in obesity in children and adolescents.

Key words: obesity, insulin resistance, insulin resistance indexes.

На сегодняшний день не вызывает сомнения, что ожирение у детей — повсеместная проблема, требующая активного вмешательства с целью профилактики развития осложнений — сахарного диабета, раннего атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний, бесплодия.

Вместе с тем очевидно, что не всегда ожирение бывает осложненным, т. е. характеризуется наличием дислипидемии, артериальной гипертензии,

нарушений углеводного обмена, инсулинорезистентности (ИР).

Отсутствие нормативов, стандартизированных с учетом возраста и пола, остается основной проблемой, с которой сталкиваются исследователи при изучении ИР у детей.

Инсулинорезистентность — нарушение действия инсулина и реакции на него инсулинчувствительных тканей на пре-, пост- и рецепторном уровнях, приводящее к хроническим метаболическим изменениям и сопровождающееся на первых этапах компенсаторной гиперинсулинемией.

Основные вопросы, связанные с определением ИР у детей, — как к ней относиться и как ее оценивать. Общее ошибочное мнение состоит в том, что ИР сама по себе исключительно вредна. ИР играет важную роль в различных процессах, включая физиологические, патологические и лекарственно-

Информация для контактов:

Васюкова Ольга Владимировна, канд. мед. наук, ст. научный сотрудник Института детской эндокринологии ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий
Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, 11
Телефон: 8-499-126-27-60, факс: 8-499-124-02-66
E-mail: ovasyukova@yandex.ru

индуцированные состояния. Однако при некоторых состояниях ИР оказывает благоприятное влияние. Такова, например, физиологическая пубертатная ИР.

Среди всех патологических состояний, связанных с развитием ИР и гиперинсулинемии у детей, первое место занимает ожирение; к другим хорошо известным в педиатрической практике относятся синдром поликистозных яичников, преждевременное адrenaрхе и редкие синдромы ИР [22].

"Золотым стандартом" диагностики ИР являются эугликемический и гипергликемический клэмп, а также внутривенный глюкозотолерантный тест (ВГТТ) с частыми заборами крови, оцениваемый с помощью минимальной модели Бергмана [4–6]. Данные методы были разработаны для взрослых пациентов с различными нарушениями углеводного обмена, однако существуют и модифицированные протоколы для проведения подобных исследований у детей [9, 24]. К сожалению, эти тесты неприменимы в повседневной практике, так как они весьма продолжительны, дорогостоящи и инвазивны, требуют специально обученного медицинского персонала и сложной статистической обработки результатов.

Для упрощения диагностики ИР в течение многих лет ведется поиск расчетных индексов, вычисляемых по концентрации иммунореактивного инсулина (ИРИ) и глюкозы натощак. Наиболее популярными среди них на сегодняшний день являются индекс НОМА (Homeostatis model assessment — метод оценки гомеостатической модели), вычисляемый как произведение концентраций глюкозы и инсулина, деленное на 22,5 [16]; отношение глюкозы к инсулину, часто называемое в русскоязычной литературе индексом Caro [7], а также индекс Quicki (quantitative insulin sensitivity check index — индекс количественной оценки инсулиновой чувствительности), рассчитываемый как сумма логарифмов глюкозы и инсулина в -1 -й степени [12]. Все эти математические формулы разработаны эмпирически, неоднократно доказана их высокая корреляция с результатами клэмпа и минимальной модели.

Работы по изучению данных индексов в детском возрасте малочисленны, а результаты их нередко противоречивы. Например, показано, что у детей и подростков следует подозревать ИР, если индекс НОМА-ИР более 3,2 [13], а индекс Caro не превышает 0,3 [8]. И вместе с тем исследования последних лет продемонстрировали низкую корреляцию показателей НОМА-ИР, Caro и Quicki с результатами клэмпа и ВГТТ, как у детей допубертатного возраста, так и в период полового созревания, что ограничивает использование этих методов в данной возрастной группе [4, 6, 20, 25].

В качестве альтернативного метода диагностики ИР у детей в литературе обсуждается пероральный глюкозотолерантный тест (ОГТТ) с определением индекса Matsuda [15]. Данный индекс был предложен М. Matsuda и R. De Fronzo. Он включает показатели, характеризующие чувствительность тканей к инсулину как натощак (что, по мнению авторов, в большей степени характеризует чувстви-

тельность ткани печени к действию инсулина), так и при нагрузке глюкозой (что отражает чувствительность периферических тканей к инсулину). Диапазон возможных значений — от 0 до 12 баллов, наибольшие значения индекса соответствуют наилучшей чувствительности тканей к инсулину. У детей доказана высокая корреляция этого индекса с результатами клэмпа и ВГТТ, а следовательно его большая значимость по сравнению с индексами, определяемыми по уровню ИРИ натощак. По данным литературы, у детей и подростков с ожирением и хорошей чувствительностью к инсулину индекс Matsuda соответствует $3,4 \pm 0,1$ балла, а у лиц с низкой чувствительностью — $1,01 - 1,82 \pm 0,2$ балла [15, 26].

В данной работе проведено сравнительное исследование индексов ИР у детей и подростков с ожирением.

Материалы и методы

В исследование включены 63 пациента (30 мальчиков и 33 девочки) в возрасте $12,5 \pm 2,8$ (5,9–17,5) года, с простым (конституционально-экзогенным) ожирением — стандартное отклонение от среднего (standart deviation score — SDS) индекса массы тела (ИМТ) $3,2 \pm 0,6$ (2,2–4,75), 1–5-й стадией полового развития по Таннеру.

Антропометрические данные (рост, масса тела, ИМТ) оценивали индивидуально с учетом пола и возраста пациента, они представлены в виде SDS. Диагностическим критерием ожирения считали SDS ИМТ $> 2,0$, согласно рекомендациям ВОЗ [22]. Оценка полового развития проводилась согласно классификации Таннера (1968).

Определение ИРИ проводили автоматизированной системой AutoDelfia фирмы "Wallac", глюкозы — ферментативным способом на биохимическом анализаторе Spectrum II ("Abbott", США).

Секрецию инсулина оценивали по результатам стандартного ОГТТ с глюкозой из расчета $1,75$ г/кг, но не более 75 г сухого вещества. Тест проводили в утреннее время, предшествовавший ему период голодания составлял 12–14 ч. В течение 3 дней до проведения пробы пациентам были рекомендованы прием пищи с содержанием углеводов не менее 250 – 300 г/сут и обычная физическая активность. В день проведения ОГТТ всем пациентам устанавливали внутривенный катетер. Исследование концентраций ИРИ и глюкозы в крови проводили натощак, а также через 30, 60, 90 и 120 мин после нагрузки глюкозой. Стимулированную секрецию инсулина оценивали по среднему уровню ($ИРИ_{\text{сред.}}$) и максимальному выбросу ($ИРИ_{\text{макс.}}$) инсулина в ходе ОГТТ. Для оценки ИР по значениям ИРИ и глюкозы натощак рассчитывали индексы НОМА-ИР, Caro и Quicki, а по результатам ОГТТ — индекс Matsuda:

$$\text{НОМА-ИР} = (ИРИ_0 \cdot Гл_0) / 22,5,$$

$$\text{Caro} = Гл_0 / ИРИ_0,$$

$$\text{Quicki} = (\log Гл_0 + \log ИРИ_0)^{-1},$$

$$\text{Matsuda} = 10\,000 / \sqrt{(ИРИ_0 \cdot Гл_0 \cdot ИРИ_{\text{сред.}} \cdot Гл_{\text{сред.}})},$$

где ИРИ — иммунореактивный инсулин, мкЕд/мл; Гл — глюкоза, мг%; ИРИ₀, Гл₀ — инсулин и глюкоза плазмы натощак; ИРИ_{сред}, Гл_{сред} — средний уровень инсулина и глюкозы при проведении ОГТТ. За критерий ИР принимали значения индекса НОМА-IR более 3,2 [13], индекса Caro менее 0,3 [7], Quicki — менее 0,300, индекса Matsuda ниже 3,4 [21, 23, 26].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью параметрических и непараметрических критериев статистического анализа на IBM-совместимом компьютере с использованием программы MS Excel и SPSS Base 8.0 for Windows. Результаты представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартное отклонение (95% доверительный интервал среднего в 2 стандартные ошибки — SE). Корреляционный анализ проводили с использованием критерия Пирсона. Достоверным считали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

1. Вариабельность базальных значений инсулина

Для определения возможности адекватной оценки ИР по индексам, основанным на отношениях тощаковых (базальных) значений ИРИ и глюкозы, проведено исследование их концентрации у 20 пациентов (9 мальчиков и 11 девочек в возрасте $12,7 \pm 2,4$ (9,0—16,3) года, SDS ИМТ $3,17 \pm 0,64$ (2,21—4,75). У каждого из пациентов дважды был проведен забор крови для исследования концентрации глюкозы и ИРИ. Заборы крови проводили в разные дни (временной промежуток у каждого из пациентов составил 1—4 дня; у пациентов № 1, 2 и 3 заборы крови проводили в один день с разницей в 15 и 10 мин) утром. Образцы проб с гемолизом были исключены из исследования.

У 11 пациентов (№№ 1—4, 9—12, 14, 19, 20) из 20 концентрация инсулина в 2 различных пробах крови отличалась более чем в 1,5 раза, тогда как уровень глюкозы оставался стабильным (табл. 1). Для объяснения полученных результатов были проанализированы возможные причины погрешности. По данным литературы, подобные погрешности могут быть обусловлены использованием различных лабораторных тест-систем [11]. В представленной работе все анализы проводились в одной лаборатории с использованием одинаковых тест-наборов.

Известно, что на показатели ИРИ может влиять время забора крови: например, забор проб крови ранее, чем через 10 ч после еды или, наоборот, на фоне очень длительного голодания [11]. Все пациенты выдерживали период голода 10—12 ч перед забором крови.

Учитывая взаимосвязь секреции ИРИ с контринсулярными гормонами, в частности с кортизолом, можно предположить зависимость концентрации ИРИ от времени суток. Заборы крови проводили у каждого из пациентов в разные дни в утренние часы. Различия по времени суток между заборами крови натощак в разные дни у каждого из пациентов составило 34 ± 33 (5—143) мин. Уровень ИРИ не зависел от времени забора крови. Например, у пациента № 15 с максимальной разницей по времени — 143 мин (12 ч 13 мин и 9 ч 50 мин) значения ИРИ практически не различались, так же, как и у пациента № 8, у которого заборы крови были произведены с разницей в 14 мин (9 ч 50 мин и 9 ч 36 мин).

"Размах" ИРИ (т. е. разницу между ИРИ₁ и ИРИ₂) каждого пациента оценивали с помощью контрольных карт Шухарта [1].

Расчет параметров данных карт сводится к определению центральной линии (ЦЛ), нижней

Таблица 1

Базальные значения уровней инсулина и глюкозы сыворотки крови у детей с ожирением

Номер пациента	Время забора крови (1)	Время забора крови (2)	ИРИ (1), мкЕд/мл	ИРИ (2), мкЕд/мл	Гл ₀ (1), ммоль/л	Гл ₀ (2), ммоль/л
1	9 ч 20 мин	9 ч 35 мин	25,9	6,9	4,7	4,5
2	8 ч 50 мин	9 ч 05 мин	61,3	36,3	5,8	5,9
3	9 ч 10 мин	9 ч 20 мин	5,8	18,8	5,6	5,4
4	9 ч 30 мин	9 ч 05 мин	15,9	69,5	4,9	4,8
5	9 ч 35 мин	9 ч 40 мин	7,5	7,9	5,1	5,0
6	9 ч 38 мин	9 ч 43 мин	21,2	15,1	5,2	4,9
7	9 ч 53 мин	9 ч 37 мин	14,9	16,4	4,5	4,6
8	9 ч 50 мин	9 ч 36 мин	8,2	9,9	4,7	5,0
9	9 ч 38 мин	9 ч 32 мин	19,4	13,6	5,3	5,4
10	10 ч 19 мин	9 ч 14 мин	14,2	31,8	5,1	5,3
11	10 ч 20 мин	9 ч 42 мин	41,0	62,8	5,0	5,0
12	11 ч 17 мин	10 ч 45 мин	26,6	6,1	5,2	5,3
13	9 ч 45 мин	9 ч 05 мин	41,4	43,5	5,3	5,8
14	10 ч 42 мин	9 ч 23 мин	5,2	9,1	4,7	5,0
15	12 ч 13 мин	9 ч 50 мин	8,5	9,1	4,6	3,8
16	10 ч 17 мин	9 ч 40 мин	10,8	11,4	5,8	5,5
17	10 ч 27 мин	9 ч 19 мин	8,3	10,3	4,8	4,7
18	9 ч 42 мин	10 ч 18 мин	25,5	19,9	4,6	4,6
19	10 ч 08 мин	9 ч 42 мин	20,4	11,8	5,0	4,6
20	9 ч 48 мин	9 ч 34 мин	6,2	2,6	4,6	4,5

Примечание. ИРИ₀ — уровень инсулина натощак, Гл₀ — уровень глюкозы натощак.

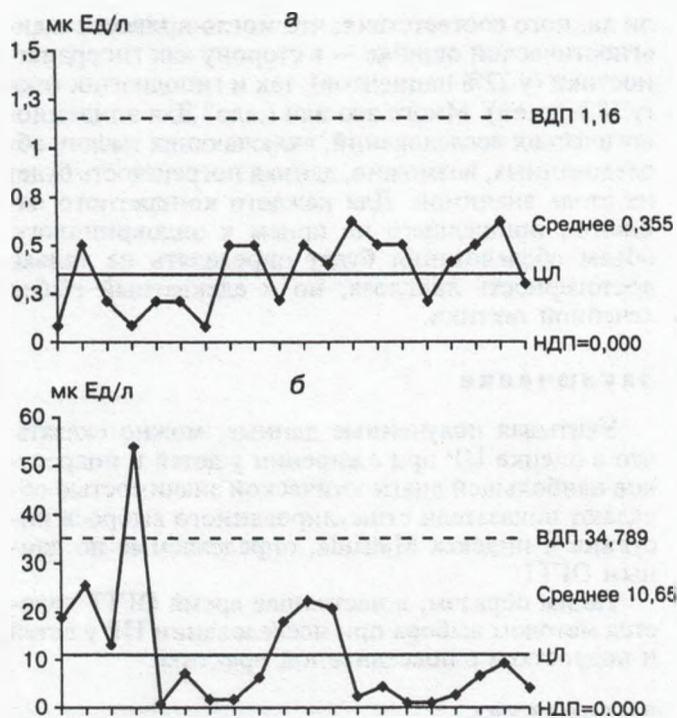


Рис. 1. "Идеальная" (а) и "фактическая" (б) воспроизводимость значения инсулина.

Точки на графиках — ИРИ пациентов № 1—20.

(НДП) и верхней (ВДП) контрольных границ. Этот расчет производится для различных вариантов наблюдения. Если определяемая доверительная вероятность (в данном случае среднее значение размаха ИРИ каждого пациента) анализируемого процесса находится в пределах шестисигмового интервала, ограниченного НДП и ВДП, такой процесс считается стабильным.

Как показано на рисунке 1, б, наблюдаемые значения ИРИ располагаются вне зон доверительных пределов и имеют выраженный размах колебаний относительно ЦЛ, что характеризует наблюдаемый процесс как нестабильный.

Корреляционный анализ по Пирсону показал, что воспроизводимость базальных значений инсулина в данном случае составляет не более 26% в сравнении с "идеальной воспроизводимостью", принимаемой за 99—100% (рис. 2).

Таким образом, можно сделать вывод, что в повседневной практике избежать индивидуальных отклонений базальной концентрации ИРИ практически невозможно. Подобные колебания большинство авторов объясняют пульсовым характером инсулиновой секреции [8, 9, 25]. Доказано, что отдельные "пики" базальной секреции могут составлять до 70% всего уровня [18, 19]. Причем если для пациентов № 2, 11, 14 и 20 данные отличия не имеют принципиального значения, то в остальных наблюдениях один из показателей ИРИ соответствует нормальному уровню, тогда как второй свидетельствует о гиперинсулинемии, что может приводить к диагностической ошибке.

Для оптимизации диагностики ИР по базальным значениям ИРИ и глюкозы рекомендованы

заборы крови в утреннее время натощак в нескольких точках с интервалом 5 или 10 мин с вычислением их средних арифметических значений [9, 25].

Однако даже при двух- и трехкратных заборах крови возможно получение спорных индексов ИР, особенно в подростковом возрасте, в условиях пубертатной ИР.

2. Индексы ИР у детей и подростков с ожирением

На примере 63 детей и подростков с ожирением оценки ИР, основанные на расчетных индексах НОМА, Саго и Quicki, сравнили с результатами ОГГТ (максимальный выброс инсулина) и индексом Matsuda.

У 60% пациентов ($n = 38$) отмечалось соответствие базальных индексов ИР с индексом Matsuda, при этом 27% пациентов ($n = 17$) имели ИР.

У 22% пациентов ($n = 14$) отмечались повышенный базальный уровень инсулина ($19,3 \pm 9,0$ мкЕд/мл), пограничные индексы НОМА, Саго и Quicki, но нормальный выброс инсулина на пробе и значения индекса Matsuda (табл. 2). Все эти дети имели 2—3-ю стадии полового развития по Таннеру, что позволило предположить наличие у них пубертатной ИР.

Известно, что половое развитие детей сопровождается снижением чувствительности к инсулину на 25—30% и повышением уровня секреции инсулина по сравнению с детьми препубертатного возраста и взрослыми [2, 7, 10]. Эта компенсаторная гиперинсулинемия обеспечивает низкий уровень протеолиза и окисления белков и является наиболее энергетически экономным путем ускорения роста в период пубертата [2, 3].

Известно также, что уровень инсулина в норме выше у девочек по сравнению с мальчиками одного возраста, нарастание инсулина с годами и с увеличением массы тела наблюдается независимо от пола и достигает своего пика в середине полового развития, а к совершеннолетию отмечается стабилизация этого показателя, и половые различия нивелируются [14]. На основании данного наблюдения считается, что в отличие от "истинной" ИР, пубертатная не требует терапии и исчезает на поздних

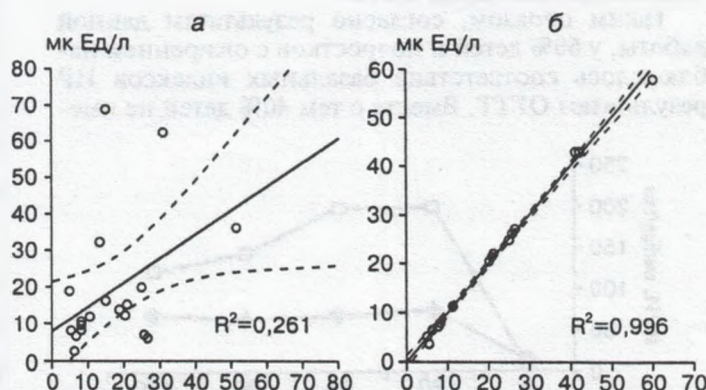


Рис. 2. "Фактическая" (а) и "идеальная" (б) воспроизводимость значения инсулина (R^2 — коэффициент детерминации, равный квадрату коэффициента Пирсона).

По оси абсцисс — уровень инсулина натощак при первом измерении, по оси ординат — уровень инсулина натощак при втором измерении.

Таблица 2

Индексы ИР, уровни базального и максимального инсулина у детей с ожирением

Показатель	Пубертатная ИР (n = 14)	Скрытая ИР (n = 11)	Норма
ИРИ ₀ , мкЕд/мл	19,3 ± 9,0	13,4 ± 5,4	< 15,0
Индекс Quicki	0,312 ± 0,018	0,332 ± 0,025	> 0,300
Индекс Caro	0,31 ± 0,10	0,44 ± 0,22	> 0,3
Индекс НОМА	4,4 ± 2,3	2,9 ± 1,3	< 3,2
ИРИ _{max} , мкЕд/мл	100,8 ± 26,7	224,7 ± 70,1	< 150
Индекс Matsuda	3,2 ± 0,8	2,5 ± 0,8	≥ 3,4

этапах полового развития самостоятельно. Однако этот факт существенно затрудняет диагностику истинной ИР в пубертатном возрасте и особенно у пациентов с ожирением.

Кроме того, использование индексов, основанных на отношении базальных значений инсулина и глюкозы, для оценки ИР при ожирении у детей не может быть оптимальным, потому что тощаковый инсулин связан с количеством жировой ткани в организме и компенсаторно увеличивается по мере ее накопления, но это не всегда приводит к развитию ИР [17].

Другая особенность ИР у пациентов с ожирением — это то, что ее развитие первично проявляется нарушением именно стимулированного выброса инсулина вследствие нарушения утилизации глюкозы периферическими тканями [26]. При этом базальные показатели ИРИ и глюкозы долгое время могут оставаться "низкими", скрывая высокий уровень ИРИ, выявляемый при стимуляции (в том числе пищей).

В данном исследовании у 18% детей (n = 11) уровень инсулина натощак ($13,4 \pm 5,4$ мкЕд/мл), индексы НОМА ($2,9 \pm 1,3$), Caro ($0,44 \pm 0,22$) и Quicki ($0,332 \pm 0,025$) соответствовали норме, но выброс ИРИ был значительно повышен ($224,7 \pm 70,1$ мкЕд/мл) и сочетался с низким индексом Matsuda ($2,5 \pm 0,8$) (см. табл. 2, рис. 3), что можно охарактеризовать как "скрытую ИР".

Частота встречаемости ИР, определенная по данным ОГТТ, среди всех обследованных детей с ожирением составила 44,4%.

Таким образом, согласно результатам данной работы, у 60% детей и подростков с ожирением наблюдалось соответствие базальных индексов ИР результатам ОГТТ. Вместе с тем 40% детей не име-



Рис. 3. Динамика уровня инсулина по данным ОГТТ (ось абсцисс) у пациентов с ожирением.

ли данного соответствия, что могло привести к диагностической ошибке — в сторону как гипердиагностики (у 22% пациентов), так и гиподиагностики (у 18% детей). Много это или мало? Для эпидемиологических исследований, включающих тысячи обследованных, возможно, данная погрешность будет не столь значимой. Для каждого конкретного пациента, пришедшего на прием к эндокринологу, объем обследования будет определять не только достоверность диагноза, но и адекватный выбор лечебной тактики.

Заключение

Учитывая полученные данные, можно сказать, что в оценке ИР при ожирении у детей и подростков наибольшей диагностической значимостью обладают показатели стимулированного выброса инсулина и индекса Matsuda, определяемые по данным ОГТТ.

Таким образом, в настоящее время ОГТТ является методом выбора при исследовании ИР у детей и подростков в повседневной практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 50779.42-99 "Статистические методы: контрольные карты Шухарта". — М., 1999.
2. Arslanian S. A., Kalhan S. C. // *Diabetes*. — 1994. — Vol. 43. — P. 908–914.
3. Arslanian S. A., Kalhan S. C. // *Am. J. Physiol.* — 1996. — Vol. 270. — P. 79–84.
4. Arslanian S. A. // *Horm. Res.* — 2005. — Vol. 64. — Suppl. 3. — P. 16–24.
5. Bergman R. N., Prager R., Volund A. et al. // *J. Clin. Invest.* — 1987. — Vol. 79. — P. 790–800.
6. Bergman R. N. // *Horm. Res.* — 2005. — Vol. 64. — Suppl. 3. — P. 25–31.
7. Caprio S., Plewe G., Diamond M. P. et al. // *J. Pediatr.* — 1989. — Vol. 114. — P. 963–967.
8. Caro J. F. // *Clin. Rev.* — 1991. — Vol. 73, N 4. — P. 691–695.
9. Conwell L. S., Trost S. G., Brown W. J. et al. // *Diabetes Care*. — 2004. — Vol. 27. — P. 314–319.
10. Goran M. I., Gower B. A. // *Diabetes*. — 2001. — Vol. 50. — P. 2440–2450.
11. Heinze E., Holl R. W. // *Diagnostics of Endocrine Function in Children and Adolescents* / Ed. M. B. Ranke. — 2nd Ed. — Heidelberg; Leipzig, 1995. — P. 299–313.
12. Katz A. et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2000. — Vol. 85, N 7. — P. 2402–2410.
13. Keskin M., Kurtoglu S., Kendirci M. et al. // *Pediatrics*. — 2005. — Vol. 115, N 4. — P. 500–503.
14. Lautala P., Akerblom H. K., Vikari J. et al. // *Acta Paediatr. Scand.* — 1985. — Vol. 318. — P. 127–133.
15. Matsuda M., DeFronzo R. A. // *Diabetes Care*. — 1999. — Vol. 22. — P. 1462–1470.
16. Matthews D. R. et al. // *Diabetologia*. — 1985. — Vol. 28. — P. 412–419.
17. Moran A., Jacobs D. R., Steinberger J. et al. // *Diabetes*. — 1999. — Vol. 48. — P. 2038–2244.
18. Porksen N., Munn S., Steers J. et al. // *Am. J. Physiol.* — 1995. — Vol. 269, N 3/1. — P. E478–E488.
19. Porksen N., Nyholm B., Veldhuis J. D. et al. // *Am. J. Physiol.* — 1997. — Vol. 273. — P. E908–E914.
20. Quon M. J. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2001. — Vol. 86. — P. 4615–4617.
21. Rosenbloom A. L., Wheeler L., Bianchi R. et al. // *Diabetes*. — 1975. — Vol. 24, N 9. — P. 820–828.
22. Speiser Ph. W., Rudolf M. C., Anhalt H. et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2005. — Vol. 90, N 3. — P. 1871–1887.
23. Ten S., Maclaren N. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2004. — Vol. 89, N 6. — P. 2526–2539.

24. Uwaifo G. I., Fallon E. M., Chin J. et al. // *Diabetes Care*. — 2002. — Vol. 25. — P. 2081—2087.
 25. Wallace T. A., Levy J. C., Matthews D. R. // *Diabetes Care*. — 2004. — Vol. 27, N 6. — P. 1487—1495.

26. Yeckel C. W., Weiss R., Dziura J. et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2004. — Vol. 89, N 3. — P. 1096—1101.

Поступила 21.11.08

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 616-056.257-092-07:616.153.915

Д. А. Танянский, Э. М. Фирова, Л. В. Шатилина, А. Д. Денисенко

РОЛЬ АДИПОКИНОВ И НЕЭСТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В РАЗВИТИИ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ¹

Отдел биохимии (руководитель — доктор мед. наук проф. А. Д. Денисенко) ГУ НИИ экспериментальной медицины РАМН

Целью исследования служило выявление возможной роли адипокинов — биологически активных белков жировой ткани (лептин и адипонектин) и незэтерифицированных жирных кислот в развитии инсулинорезистентности (ИР). В исследование было включено 157 пациентов (90 женщин и 67 мужчин) в возрасте $57,5 \pm 9,2$ года. Пациенты по показателю ИР — индексу НОМА были разделены на 3 равные группы. Выяснилось, что у обследуемых с высоким индексом НОМА наблюдается увеличение уровня жирных кислот, лептина и снижение адипонектина. При этом, согласно регрессионному анализу, все эти показатели являются его независимыми детерминантами. Однако анализ данных в группах пациентов с различной массой тела выявил, что у лиц с ожирением в развитии ИР может играть роль повышение концентраций жирных кислот и лептина, в то время как у пациентов без выраженного ожирения — повышение уровня жирных кислот и снижение адипонектина.

Таким образом, можно предположить, что лептин, адипонектин и незэтерифицированные жирные кислоты могут влиять на развитие ИР, однако их вклад зависит от выраженности ожирения.

Ключевые слова: инсулинорезистентность, адипокины, адипонектин, лептин, незэтерифицированные жирные кислоты, ожирение.

D. A. Tanyansky, E. M. Firova, L. V. Shatilina, A. D. Denisenko

ROLE OF ADIPOKINES AND NONESTERIFIED FATTY ACIDS IN THE DEVELOPMENT OF INSULIN RESISTANCE

Department of Biochemistry, Research Institute of Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences

The purpose of the study was to reveal a possible role of adipokines, biologically active adipose tissue proteins (leptin and adiponectin) and nonesterified fatty acids in generating insulin resistance (IR). One hundred and fifty-seven patients (90 females and 67 males) aged 57.5 ± 9.2 years were enrolled in the study. According to the HOMA index for IR, the patients were divided into 3 equal groups. The examinees with a high HOMA index were found to have elevated levels of fatty acids, leptin and decreased concentrations of adiponectin. At the same time according to the linear regression analysis, all these indices are its independent determinants. However, analysis of the data in the groups of patients with different body weight revealed that the increased concentrations of fatty acids and leptin may play a role in the development of IR in subjects with obesity while the higher level of fatty acids and lower adiponectin may be involved in patients without noticeable obesity.

Thus, it may be assumed that leptin, adiponectin and nonesterified fatty acids may affect the development of IR; however, their contribution depends on the degree of adiposity.

Key words: insulin resistance, adipokines, adiponectin, leptin, nonesterified fatty acids, obesity.

Как известно, сниженная чувствительность тканей к инсулину, или инсулинорезистентность (ИР), не только играет важную роль в развитии сахарного диабета (СД) 2-го типа, но и может быть патогенетическим фактором целого ряда заболеваний и нарушений, таких, как атеросклероз, артериальная гипертензия (АГ), атерогенная дислипотеинемия, нарушение свертываемости и фибринолитических свойств крови [18]. В таком случае эти нарушения объединяют в единый комплекс с названием "метаболический синдром" [19]. В патогенезе метабо-

лического синдрома особую роль играют также ожирение и/или абдоминальный тип распределения жировой ткани, которые способствуют развитию ИР [4]. Поэтому не удивительно, что среди механизмов развития ИР при метаболическом синдроме особое внимание уделяется изменению содержания в крови адипокинов — биологически активных белков, продуцируемых жировой тканью (фактор некроза опухолей- α , лептин, адипонектин, висфатин и пр.) [17]. Кроме того, в развитии ИР важную роль могут играть незэтерифицированные жирные кислоты (НЭЖК), продуцируемые в ходе липолиза как жировой тканью, так и в русле крови липопротеинами, богатыми триглицеридами (ТГ) [13]. Однако не выяснено, каков вклад каждого из этих веществ в развитие ИР, а также то, в какой степени изменение их концентрации связано с наличием ожирения и с патогенезом ИР. Изучению этих вопросов и посвящено настоящее исследование. Из адипокинов были рассмотрены лептин и адипонектин.

¹Работа поддержана грантом РФФИ № 06-04-90818.

Информация для контактов:

Танянский Дмитрий Андреевич, научный сотрудник отдела биохимии НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН
 Адрес: 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12
 E-mail: dmitryt@aiem.sp.ru

Материалы и методы

В одномоментное исследование были включены 157 пациентов (90 женщин и 67 мужчин) в возрасте от 29 до 83 лет (в среднем $57,5 \pm 9,2$ года). У всех больных на момент поступления была диагностирована АГ согласно критериям, представленным на 7-м докладе Объединенного национального комитета США по профилактике, выявлению, оценке и лечению АГ (JNC 7) [10]. У 90 (57%) пациентов наблюдалась стабильная стенокардия I–III функциональных классов, 36 (23%) пациентов находились на лечении с СД 2-го типа, диагностированном согласно критериям ВОЗ 1999 г. [19]. Заболевание у всех обследованных находилось в стадии компенсации и субкомпенсации, без выявленных осложнений. На момент обследования пациенты соблюдали диету с ограничением углеводов, без приема сахароснижающих препаратов. Ожирение (индекс массы тела (ИМТ) 30 кг/м^2 и выше) имело место у 67 (43%) человек, среди них ожирение II и III степени — у 20 (30%) и 4 (6%) пациентов соответственно. В исследование не включали лиц, принимающих липидснижающие лекарства, а также больных с холестазом и гиперфункцией щитовидной железы.

ИМТ рассчитывали по формуле: $\text{ИМТ} = \text{масса тела (кг)} / \text{рост}^2 (\text{м}^2)$. Уровни глюкозы и показатели липидного спектра (кроме НЭЖК) определяли в сыворотке венозной крови, взятой утром натощак после 12-часового голодания. Затем сыворотки заморозили и хранили при -20°C для дальнейшего определения содержания адипонектина, лептина, инсулина и НЭЖК.

Показатели липидного спектра крови — общий холестерин (ОХС) и ТГ определяли наборами реактивов "Биокон" (Германия) на анализаторе ChemWell (США) [5, 8]. Концентрацию холесте-

на липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) определяли прямым методом с использованием антител к ЛПВП набором реактивов "Биокон" (Германия) на анализаторе ChemWell (США). Содержание холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) рассчитывали по формуле Фридлянда: $\text{ХС ЛПНП} = \text{ОХС} - (\text{ТГ}/2,2 + \text{ХС ЛПВП})$ [12]. Интегральный показатель коэффициента атерогенности (КА) рассчитывали по формуле: $\text{КА} = (\text{ОХС} - \text{ХС ЛПВП}) / \text{ХС ЛПВП}$ [1]. Концентрацию НЭЖК определяли колориметрическим методом с помощью ферментных наборов фирмы "Randox" на спектрофотометре СФ-26 "ЛОМО" (Россия) [14].

Концентрацию глюкозы определяли на биохимическом анализаторе EOS-BRAVO ("Hospitex", Швеция) глюкозооксидазным методом. Содержание инсулина и лептина определяли при помощи "сэндвич"-варианта иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов фирмы "DRG" (Германия) на микропланшетном ридере "Elx800" фирмы "ФинБио" (Финляндия). Для более точной оценки степени ИР использовали индекс НОМА (Homeostatis model assessment), определенный по формуле: $\text{НОМА} = \text{инсулин (в мкЕД/мл)} \cdot \text{глюкоза (в ммоль/л)} / 22,5$ [6].

Концентрацию адипонектина определяли при помощи конкурентного варианта ИФА на наборах фирмы "BioVendor" (Чехия) на микропланшетном ридере "Elx800" фирмы "ФинБио" (Финляндия).

Статистическая обработка полученных данных проведена на компьютере с использованием пакета программ "Statistica 6.0". Данные представлены в виде средних арифметических значений и стандартных отклонений ($M \pm SD$). В статистическом анализе все параметры, за исключением возраста и показателей антропометрии, для увеличения нормальности их распределения трансформировали в

Таблица 1

Клинико-метаболические параметры у пациентов с различными значениями индекса НОМА ($M \pm SD$)

Показатели	Тертили индекса НОМА			p^*
	I ($n = 52$)	II ($n = 52$)	III ($n = 53$)	
Индекс НОМО	$1,11 \pm 0,24$ (0,59–1,54)	$2,09 \pm 0,41$ (1,55–2,98)	$5,19 \pm 1,96$ (3,00–12,93)	—
Мужчины/женщины	23/29	18/34	26/27	—
Возраст, годы	$59,63 \pm 10,77$	$57,31 \pm 8,18$	$55,58 \pm 8,19$	Н. д.
ИМТ, кг/м^2	$26,01 \pm 3,97$	$30,02 \pm 4,32^{***}$	$31,41 \pm 5,13^{***}$	$< 0,0001$
Окружность талии/окружность бедер	$0,92 \pm 0,11$	$0,97 \pm 0,09^{**}$	$1,0 \pm 0,07^{***}$	$< 0,0001$
Лептин, нг/мл	$9,80 \pm 8,91$	$21,17 \pm 18,53^{***}$	$23,13 \pm 22,99^{***}$	$< 0,0001$
Адипонектин, мкг/мл	$7,70 \pm 4,09$	$6,00 \pm 3,68^*$	$4,82 \pm 2,29^{***}$	$< 0,0001$
Частота СД 2-го типа, %	3,85	25 ^{***}	39,62 ^{***}	—
Глюкоза, ммоль/л	$5,09 \pm 0,59$	$5,70 \pm 1,27^*$	$6,81 \pm 2,18^{***,*}$	0,0001
Инсулин, мкЕД/мл	$4,90 \pm 1,02$	$8,44 \pm 2,13^{***}$	$18,14 \pm 9,33^{***,*}$	$< 0,0001$
НЭЖК, ммоль/л	$0,27 \pm 0,11$	$0,36 \pm 0,15^{**}$	$0,45 \pm 0,22^{***}$	$< 0,0001$
ОХС, ммоль/л	$6,19 \pm 1,46$	$6,49 \pm 1,81$	$7,01 \pm 1,82^*$	0,026
ТГ, ммоль/л	$1,84 \pm 1,0$	$2,96 \pm 2,30^{**}$	$3,48 \pm 2,80^{***}$	$< 0,0001$
ХС ЛПВП, ммоль/л	$1,10 \pm 0,19$	$1,01 \pm 0,14^{**}$	$0,98 \pm 0,11^{***}$	$< 0,0001$
ХС ЛПНП, ммоль/л	$4,24 \pm 1,54$	$4,13 \pm 1,45$	$4,44 \pm 1,77$	Н. д.
КА	$4,95 \pm 1,79$	$5,57 \pm 2,28$	$6,19 \pm 2,19^{**}$	0,003

Примечание. ♦ — значения достоверности различий среди групп, определенные согласно однофакторному дисперсионному анализу. Различия достоверны по сравнению с 1-й группой при: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ и по сравнению со 2-й группой при: * — $p < 0,001$. Н. д. — различия не достоверны ($p > 0,05$).

Таблица 2

Корреляционный анализ: связь индекса НОМА с клинико-метаболическими показателями до и после выравнивания по полу, возрасту и ИМТ

Параметр	Без выравнивания	После выравнивания по полу, возрасту и ИМТ
Возраст, годы	-0,2*	—
ИМТ, кг/м ²	0,44*	—
Окружность талии/окружность бедер	0,41*	0,18*
Лептин, нг/мл	0,31*	0,27*
Адипонектин, мкг/мл	-0,38*	-0,23*
НЭЖК, ммоль/л	0,46*	0,37*
ТГ, ммоль/л	0,38*	0,17*
ОХС, ммоль/л	0,22*	0,18*
ХС ЛПВП, ммоль/л	-0,37*	-0,25*
ХС ЛПНП, ммоль/л	0,02	0,08
КА	0,31*	0,23*

Примечание. * — корреляции достоверны при $p < 0,05$.

логарифмированную форму. Анализ отличий антропометрических и метаболических показателей в группе с различными тертилями индекса НОМА, а также при анализе в группах с разными ИМТ и индексом НОМА оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA test). Для попарных сравнений использовали апостериорный критерий Bonferroni (Post hoc Bonferroni test). Для относительных величин (частота СД 2-го типа, соотношение полов) применяли критерий χ^2 . Для выявления связей индекса НОМА с различными показателями также проводили корреляционный анализ по Пирсону и множественный регрессионный анализ. Уровень значимости при этом считали достоверным при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Как представлено в табл. 1, пациенты со сниженной чувствительностью к инсулину (II и III тертили индекса НОМА) имеют более высокий ИМТ и более выраженное абдоминальное распре-

деление жировой ткани. Кроме того, у этих больных наблюдается увеличение содержания ТГ и ОХС и уменьшение ХС ЛПВП. Корреляционный анализ (табл. 2) подтверждает эти взаимосвязи и указывает на независимую от ИМТ связь индекса НОМА с абдоминальным фенотипом ожирения и атерогенными изменениями липопротеинового спектра. Эти изменения согласуются с известными представлениями о тесной взаимосвязи между абдоминальным ожирением и ИР, а также о важной роли ИР в развитии атерогенной дислипотеи-нии при ожирении [2, 18]. Однако механизмы развития ИР при ожирении остаются малоизученными. Одним из подходов к изучению данной проблемы является исследование роли веществ, продуцируемых жировой тканью, таких, как НЭЖК и адипокины. По данным табл. 1 видно, что снижение чувствительности тканей к инсулину сопровождается увеличением в крови содержания НЭЖК и лептина и снижением концентрации адипонектина. Согласно корреляционному анализу (см. табл. 2), каждый из этих факторов имеет независимые от ИМТ связи с ИР. В литературе также представлены сведения о независимой от ИМТ связи ИР с концентрациями НЭЖК [13], лептина [9] и адипонектина [3]. Иными словами, можно говорить о том, что изменение уровней НЭЖК и адипокинов является отражением не только ожирения, но и ИР, а следовательно, можно предполагать участие этих веществ в развитии ИР. Однако малоизученным остается вопрос, могут ли эти вещества участвовать в патогенезе ИР у лиц с нормальной массой тела, или изменение их концентрации в развитии ИР имеет большее значение при ожирении. В табл. 3 приведены данные по содержанию НЭЖК, лептина и адипонектина у пациентов с различной массой тела и индексом НОМА. Как показано, при ИР уровни НЭЖК и лептина изменяются только у лиц с ожирением (ИМТ ≥ 28 кг/м²), в то время как концентрация адипонектина — у обследуемых без выраженного ожирения (ИМТ < 28 кг/м²). По данным корреляционного анализа (табл. 4), уровень НЭЖК все же связан с ИР у пациентов с ИМТ < 28

Таблица 3

Содержание в крови НЭЖК, лептина и адипонектина у пациентов в группах с различными значениями ИМТ и индекса НОМА ($M \pm SD$)

Показатель	Пациенты с нормальной и избыточной массой тела (ИМТ < 28 кг/м ²)		Пациенты с ожирением (ИМТ ≥ 28 кг/м ²)		p^*
	НОМА $< 1,5$	НОМА $> 2,5$	НОМА $< 1,5$	НОМА $> 2,5$	
N	36	16	15	45	—
Мужчины/женщины	15/21	9/7	7/8	21/24	—
Возраст, годы	59,58 $\pm$ 12,47	57,56 $\pm$ 9,72	59,47 $\pm$ 5,67	55,42 $\pm$ 7,92	Н. д.
ИМТ, кг/м ²	23,91 $\pm$ 2,32	25,41 $\pm$ 1,70	31,03 $\pm$ 2,38***	33,19 $\pm$ 4,11***	$< 0,0001$
Индекс НОМА	1,05 $\pm$ 0,24	4,23 $\pm$ 1,09***	1,22 $\pm$ 0,18	5,11 $\pm$ 2,20***	$< 0,0001$
НЭЖК, ммоль/л	0,27 $\pm$ 0,11	0,38 $\pm$ 0,16	0,27 $\pm$ 0,12	0,47 $\pm$ 0,22***	$< 0,0001$
Лептин, нг/мл	8,88 $\pm$ 8,39	11,16 $\pm$ 8,63	12,34 $\pm$ 10,11	27,12 $\pm$ 25,36***	$< 0,0001$
Адипонектин, мкг/мл	8,47 $\pm$ 4,19	5,09 $\pm$ 3,03**	5,39 $\pm$ 2,57*	4,77 $\pm$ 2,04	$< 0,0001$

Примечание. * — значения достоверности различий среди групп, определенные согласно однофакторному дисперсионному анализу. Различия достоверны по сравнению с лицами без ожирения в каждой из категорий НОМА при: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$. Различия достоверны по сравнению с инсулинчувствительными лицами в каждой из категорий ИМТ при: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$. Н. д. — различия не достоверны ($p > 0,05$).

Таблица 4

Связь индекса НОМА с содержанием НЭЖК, лептина и адипонектина у пациентов с различным ИМТ¹

Параметр	Пациенты с нормальной и избыточной массой тела (ИМТ < 28 кг/м ²)	Пациенты с ожирением (ИМТ ≥ 28 кг/м ²)
НЭЖК, ммоль/л	0,28*	0,41*
Лептин, нг/мл	0,22	0,32*
Адипонектин, мкг/мл	-0,29*	-0,14

Примечание. ¹ — приведены значения частных корреляций Пирсона с контролями по полу, возрасту и ИМТ; * — корреляции достоверны при $p < 0,05$.

кг/м², хотя данная корреляция имеет меньшую выраженность по сравнению с группой пациентов, страдающих ожирением. Таким образом, можно предполагать, что у пациентов без выраженного ожирения НЭЖК и адипонектин участвуют в развитии ИР, но адипонектин, в отличие от НЭЖК и лептина, не связан с развитием ИР у пациентов с ожирением. Причина выявленных различий связей содержания НЭЖК и адипокинов с ИР при различной степени избытка массы тела остается неизвестной. Однако можно предположить, что в основе данных отличий могут лежать различия в выработке жировой тканью других веществ (например, других адипокинов), которые, также оказывая воздействие на чувствительность к инсулину, могут снижать эффекты лептина и адипонектина на ИР. Вместе с тем, согласно другому исследованию [3], уровень адипонектина уменьшался при ИР как у лиц с нормальной массой тела, так и у пациентов с ожирением. В цитируемой работе, по-видимому, это объяснялось тем, что концентрация адипонектина у пациентов с ожирением и без ИР, была такой же высокой, как у пациентов с нормальной массой тела без ИР. По нашим данным (см. табл. 3), уровень адипонектина у пациентов с нормальной чувствительностью к инсулину и ожирением был в значительной степени снижен. Таким образом, по-видимому, важной причиной отсутствия влияния адипонектина на ИР у пациентов с ожирением в нашем исследовании является низкий разброс его концентрации в этой группе и, соответственно, низкая степень его воздействия.

Для оценки вклада НЭЖК и адипокинов в развитие ИР был проведен регрессионный анализ. Выяснилось, что после постановки в модель ИМТ, возраста, концентраций адипонектина, лептина, НЭЖК, ТГ, ОХС и его липопротеиновых подфракций, на индекс НОМА оказывали влияние уровни адипонектина ($\beta = -0,27$, $p < 0,001$), лептина ($\beta = 0,19$, $p < 0,03$) и НЭЖК ($\beta = 0,24$, $p < 0,01$). Индекс НОМА определялся этими показателями на 38% ($r^2 = 0,38$, $p < 0,0001$). Исследований, в которых одновременно изучали влияние НЭЖК и различных адипокинов на развитие ИР, мы не встречали. Однако нам известна работа, в которой также было показано, что адипонектин и лептин являются независимыми предикторами ИР [15]. О том, что НЭЖК и адипокины могут быть патогенетическими факторами развития ИР, свидетельствуют проспективные исследования [11, 16]. Данные о влиянии НЭЖК и лептина на чувстви-

тельность тканей к инсулину хорошо известны и отражены в многочисленных обзорах [9, 13]. Вместе с тем в вопросе о влиянии адипонектина на инсулин-чувствительность остается много не ясного. Предполагается, что адипонектин оказывает данный эффект путем стимулирующего воздействия на окисление НЭЖК и захват глюкозы в скелетных миоцитах [7], а также посредством уменьшения продукции глюкозы гепатоцитами [20]. Эти эффекты, в свою очередь, не связаны с воздействием адипокина на трансдукцию инсулинового сигнала. Сигнальные пути воздействия адипонектина и его биологическая роль остаются невыясненными. Однако выявленная в настоящей работе связь адипонектина с ИР, которая вносит дополнительный вклад к известному влиянию НЭЖК и лептина на этот показатель, заставляет предположить, что уменьшение уровня адипонектина играет важную роль в развитии ИР.

Выводы

1. Содержание НЭЖК, лептина и адипонектина в крови изменяется не только при ожирении, но и при наличии ИР.

2. На основании результатов регрессионного анализа можно говорить о независимой роли жирных кислот, лептина и адипонектина в развитии ИР.

3. У лиц с ожирением в развитии ИР может играть роль повышение концентраций жирных кислот и лептина, в то время как у пациентов без выраженного ожирения — повышение уровня жирных кислот и снижение адипонектина.

Авторы выражают благодарность ст. науч. сотр. отдела биохимии НИИЭМ РАМН, доктору мед. наук Н. Г. Никульчевой за ценные критические замечания, высказанные по данной работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Климов А. Н., Никульчева Н. Г. Обмен липидов и липопротеинов и его нарушения. — СПб., 1999.
2. Фролова Ю. В., Агеева Е. В., Виноградова Е. В. и др. // Мед. акад. журн. — 2005. — Т. 5, № 4. — С. 43–49.
3. Abbasi F., Chu J., Lamendola C. et al. // Diabetes. — 2004. — Vol. 53. — P. 585–590.
4. ACE Position Statement on the Insulin Resistance Syndrome // Endocr. Pract. — 2003. — Vol. 9. — P. 240–252.
5. Allain C., Poon L., Chan C. et al. // Clin. Chem. — 1974. — Vol. 20. — P. 470–475.
6. Borona E., Targher G., Albericci M. et al. // Diabetes Care. — 2000. — Vol. 23. — P. 57–63.
7. Bruce C. R., Mertz V. A., Heigenhauser G. J. F., Dyck D. J. // Diabetes. — 2005. — Vol. 54. — P. 3154–3160.
8. Bucolo G., David H. // Clin. Chem. — 1973. — Vol. 19. — P. 476–482.
9. Ceddia R. B., Koistinen H. A., Zierath J. R. // FASEB J. — 2002. — Vol. 16. — P. 1163–1176.
10. Chobanian A., Bakris G., Black H. et al. // Hypertension. — 2003. — Vol. 42. — P. 1206–1252.
11. Duncan B. B., Schmidt M. I., Pankow J. S. et al. // Diabetes. — 2004. — Vol. 53. — P. 2473–2478.
12. Friedwald W., Levy R., Fredrickson D. // Clin. Chem. — 1972. — Vol. 18. — P. 499–509.
13. Lewis G. F., Carpentier A., Adeli K., Giacca A. // Endocr. Rev. — 2002. — Vol. 23. — P. 201–229.
14. Matsubara C., Nishikawa Y., Yoshida Y., Takamura K. // Anal. Biochem. — 1983. — Vol. 130. — P. 128–133.
15. Matsubara M., Katayose S., Maruoka S. // Eur. J. Endocrinol. — 2003. — Vol. 148. — P. 343–350.
16. Paolisso G., Tataranni P. A., Foley J. E. et al. // Diabetologia. — 1995. — Vol. 38. — P. 1213–1217.

17. Qatani M., Lazar M. // Genes Dev. — 2007. — Vol. 21. — P. 1443–1455.
 18. Raven G. // Diabetes. — 1988. — Vol. 37. — P. 1595–1607.
 19. World Health Organization Report. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications. Part

- 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. — WHO, 1999.
 20. Zhou H., Song X., Briggs M. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2005. — Vol. 338. — P. 793–799.

Поступила 28.03.08

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 616.921.5-06:616.379-008.64]-053.2-084:615.371]-078.33

М. П. Костинов¹, Т. В. Скочилова², А. А. Тарасова², В. А. Воробьева², Т. И. Коровкина²,
 И. В. Лукачев¹, И. Ю. Юшкова³, Н. Е. Ястребова¹

УРОВЕНЬ АНТИТЕЛ К ПНЕВМОКОККОВОЙ ВАКЦИНЕ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1-ГО ТИПА

¹ГУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова РАМН; ²ГОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия; ³Тюменская областная клиническая инфекционная больница

Изучали динамику формирования поствакцинальных антител (АТ) к смеси полисахаридов (ПС) *S. pneumoniae* у 100 детей и подростков с сахарным диабетом (СД) 1-го типа, вакцинированных препаратом Пневмо 23 (72 человека, 1-я группа) и его сочетанием с субъединичной вакциной Гриппол (28 человек, 2-я группа). Через 1–1,5 мес защитный уровень АТ ≥ 40 усл. ед./мл выявлен у 95,1% пациентов 1-й группы и 85,2% больных 2-й группы, а через 1 год — соответственно у 55,1 и 37% пациентов ($p > 0,05$). Уровень образования IgG-АТ к смеси ПС не зависит от возраста пациентов, длительности СД 1-го типа, наличия поздних диабетических осложнений. Установлена зависимость формирования поствакцинальных АТ от исходного уровня АТ: у пациентов с очень низким (< 10 усл. ед./мл) и низким (10–20 усл. ед./мл) содержанием АТ после введения пневмококковой вакцины уровень IgG-АТ к смеси ПС *S. pneumoniae* в ранние сроки увеличивался в 8,8–4,1 раза, а через 1 год превышал исходные значения в 4,8–2,8 раза соответственно. Предлагается считать условно защитным уровнем IgG-АТ к смеси ПС *S. pneumoniae* ≥ 20 усл. ед./мл.

Ключевые слова: вакцинация против пневмококковой и гриппозной инфекции, дети и подростки с сахарным диабетом 1-го типа, антитела к *S. pneumoniae*.

M. P. Kostinov¹, T. V. Skochilova², A. A. Tarasova², V. A. Vorobyeva², T. I. Korovkina², I. V. Lukachev¹, I. Yu. Yushkova³,
 N. Ye. Yastrebova¹

THE LEVEL OF ANTIBODIES TO PNEUMOCOCCAL VACCINE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH TYPE 1 DIABETES

¹I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Russian Academy of Medical Sciences; ²Nizhni Novgorod State Medical Academy; ³Tyumen Regional Clinical Infectious Diseases Hospital

The trend in the formation of postvaccinal antibodies (Ab) to a mixture of *S. pneumoniae* polysaccharides (PS) was studied in 100 Pnevmo 23-vaccinated children and adolescents with type 1 diabetic (T1D) (Group 1, $n = 72$) and its combination with the subunit vaccine Grippol (Group 2, $n = 28$). Following 1–1.5 months, the protective level of Ab ≥ 40 conventional units (CU/ml) was revealed in 95.1 and 85.2% of Groups 1 and 2, respectively; and after 1 year, this was in 55.1 and 37%, respectively ($p > 0.05$). The level of formation of IgG Ab to a PS mixture did not depend on the age of patients, the duration of T1D, the presence of late diabetic complications. A relationship was found between the formation of postvaccinal Ab and their baseline level: in patients with very low (< 10 CU/ml) and low (10–20 CU/ml) levels of Ab after administration of pneumococcal vaccine, the level of IgG Ab to a *S. pneumoniae* PS mixture increased by 8.8–4.1 times in the early periods and exceeded the baseline levels by 4.8–2.8 times, respectively. The putative protective level of IgG Ab to a *S. pneumoniae* PS mixture is proposed to be ≥ 20 CU/ml.

Key words: vaccination against pneumococcus and influenza infection, children and adolescents with type 1 diabetes, antibodies to *S. pneumoniae*.

Присоединение интеркуррентных инфекций у больных сахарным диабетом (СД) приводит к декомпенсации и утяжелению течения заболевания, способствуя развитию осложнений. Одним из способов профилактики инфекционных заболеваний вирусной и бактериальной этиологии является вакцинация. Поствакцинальный иммунитет у пациентов с СД после введения пневмококковой вакцины не отличается от такового у здоровых людей. Уро-

вень антител (АТ) не зависит от возраста, пола, продолжительности заболевания, дозы инсулина, концентрации гликозилированного гемоглобина, наличия сосудистых осложнений диабета [2, 3]. В то же время остается неизученной зависимость динамики уровня АТ от их исходного значения, сочетанного введения вакцин против пневмококковой и гриппозной инфекции, что и явилось целью настоящего исследования.

Материалы и методы

В исследование были включены 130 детей и подростков с СД 1-го типа в возрасте от 2 до 18 лет. Им проводили интенсифицированную терапию человеческими препаратами инсулина в среднем $0,88 \pm 0,03$ ЕД/кг/сут. Пациентов распределили на 3 группы: 1-ю группу (72 человека) вакцинировали

Информация для контактов:

Лукачев Игорь Викторович, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний ГУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова РАМН
 Адрес: 105064, Москва, Мал. Казенный пер., 5а
 Телефон: 8-495-917-41-49
 I_Loukachev@arambler.ru

Таблица 1

Динамика уровня IgG-АТ (в усл. ед./мл; $M \pm m$) к смеси ПС *S. pneumoniae* после вакцинации у детей с СД 1-го типа

Сроки исследования	Вакцинированные препаратом Пневмо 23 (n = 72)	Вакцинированные препаратами Пневмо 23 + Гриппол (n = 28)	Невакцинированные (n = 30)
1. До вакцинации	23,09 $\pm$ 2,07	18,09 $\pm$ 2,17	19,46 $\pm$ 2,48
2. Через 1—1,5 мес	69,17 $\pm$ 3,07*	60,07 $\pm$ 4,05*	—
3. Через 1 год	45,80 $\pm$ 2,46**	38,00 $\pm$ 3,08**	22,20 $\pm$ 2,83

Примечание. * — $p_{1-2} < 0,001$; ** — $p_{1-3} < 0,01$.

препаратом Пневмо 23; 2-ю группу (28 больных) — препаратом Пневмо 23 в сочетании с вакциной против гриппа — Гриппол; 3-ю группу (30 человек) не прививали (группа сравнения). На момент вакцинации 59 (59%) детей находились в фазе компенсации СД и 41 (41%) — в фазе субкомпенсации. При вакцинации пациентов учитывали противопоказания, предусмотренные инструкциями по введению вакцин, и особенности течения СД 1-го типа: отсутствие признаков декомпенсации углеводного обмена в течение 1—2 нед, предшествующих вакцинации, удовлетворительное состояние, содержание сахара в крови натощак до 10,0 ммоль/л в день прививки, отсутствие ацетона в моче, наличие постинсулиновых липодистрофий в местах введения вакцины. Вакцинацию проводили на фоне инсулинотерапии и диетотерапии с согласия родителей, лечащего врача, в соответствии с законом об иммунопрофилактике в РФ. Препарат Пневмо 23 — полисахаридную 23-валентную пневмококковую вакцину производства "Санофи Пастер" (Франция) вводили однократно внутримышечно в дозе 0,5 мл. Препарат Гриппол — противогриппозную 3-валентную полимерсубъединичную вакцину производства ФГУП «НПО "Микроген"» (Россия) — вводили однократно внутримышечно в дозе 0,5 мл.

Забор крови у вакцинированных пациентов производили до вакцинации, через 1—1,5 и 9—12 мес после нее. У непривитых — до обследования и через 9—12 мес от его начала.

В работе использовали рекомендованные Минздрава России критерии диагностики СД 1-го типа у детей и подростков. Все биохимические исследования крови и мочи проводили стандартными унифицированными методами на базе лаборатории ГУ Нижегородской областной детской клинической больницы, в которой наблюдалась данная категория пациентов. Уровень IgG-АТ к

смеси полисахаридов (ПС) *S. pneumoniae* исследовали методом иммуноферментного анализа на основе ПС, входящих в состав вакцины [1]. Условным защитным уровнем АТ считали 40 усл. ед./мл.

Для изучения состояния почек и выявления сосудистых осложнений всем пациентам с СД 1-го типа проводили скрининговое ультразвуковое исследование почек по общепринятой методике в В-режиме на ультразвуковом сканере ALOKA SSD-610 и 1400 (Япония). Поздние сосудистые осложнения СД со стороны сердца выявлялись при помощи электрокардиографии и эхокардиографии с использованием сканера ALOKA SSD-500 (Япония).

Обработку полученного цифрового материала проводили на персональном компьютере IBM Celeron 1700 с использованием параметрических и непараметрических методов статистического пакета Statistica 6.0 в соответствии с общепринятыми принципами статистики. Применяли критерии Фишера, Стьюдента, Вилкоксона, корреляционный анализ. В качестве вероятности ошибки допускалась величина, равная 0,05.

Результаты

У пациентов с СД 1-го типа, получивших препарат Пневмо 23, через 1—1,5 мес после вакцинации наблюдалась 3-кратная сероконверсия уровня IgG-АТ к смеси ПС *S. pneumoniae*, а через 1 год сохранилось 2-кратное увеличение их средних значений (табл. 1). Повышение уровней АТ более чем в 4 раза через 1—1,5 мес после иммунизации наблюдалось у 41% детей, а через 1 год — у 19%. При повторном исследовании количество поствакцинальных противопневмококковых АТ достигало защитного уровня (≥ 40 ЕД/мл) в 95,1% случаев, а через 1 год — в 55,1%.

У детей с СД 1-го типа, вакцинированных препаратами Пневмо 23 и Гриппол, через 1—1,5 мес уровень IgG-АТ к смеси ПС *S. pneumoniae* возрос в 3,3 раза, а через 1 год — в 2,1 раза по сравнению с первоначальными значениями. Через 1—1,5 мес после иммунизации сероконверсия более чем в 4 раза отмечена у 52% пациентов, через 1 год — у 4%. Защитный уровень АТ при исследовании через 1—1,5 мес регистрировался в 85,2% случаев, а через 1 год — в 37%.

При сравнении средних значений уровня АТ между группами, вакцинированными препаратом Пневмо 23 и его сочетанием с препаратом Гриппол, достоверных различий не выявлено (см. табл. 1).

Таблица 2

Динамика уровня IgG-АТ (в усл. ед./мл; $M \pm m$) к смеси ПС *S. pneumoniae* в зависимости от возраста пациентов с СД 1-го типа

Сроки исследования	Младше 7 лет (n = 6)	7—12 лет (n = 15)	12—15 лет (n = 21)	15 лет и старше (n = 30)
1. До вакцинации	14,83 $\pm$ 4,21	21,71 $\pm$ 2,74	19,47 $\pm$ 2,51	25,57 $\pm$ 3,06
2. Через 1—1,5 мес	57,83 $\pm$ 7,0 (3,9*)	66,74 $\pm$ 4,69 (3,1*)	55,23 $\pm$ 4,56 (2,8*)	76,72 $\pm$ 3,74 (3,0*)
3. Через 1 год после вакцинации	31,45 $\pm$ 4,58 (2,1*)	42,6 $\pm$ 3,79 (2,0*)	46,1 $\pm$ 4,89 (2,4*)	47,1 $\pm$ 2,64 (1,8*)

Примечание. * — p_{1-2} и $p_{1-3} < 0,01$. Здесь и в табл. 3—6 в скобках — кратность увеличения.

Таблица 3

Динамика уровня IgG-АТ (в усл. ед./мл, $M \pm m$) к смеси ПС S. pneumoniae в зависимости от длительности СД 1-го типа

Сроки исследования	Менее 1 года ($n = 14$)	1—3 года ($n = 20$)	3—6 лет ($n = 24$)	6 лет и более ($n = 14$)
1. До вакцинации	26,27 $\pm$ 4,89	20,98 $\pm$ 3,05	22,67 $\pm$ 2,45	15,5 $\pm$ 2,13
2. Через 1—1,5 мес	63,79 $\pm$ 4,9 (2,4*)	62,07 $\pm$ 6,12 (3,0*)	69,9 $\pm$ 4,17 (3,1*)	67,81 $\pm$ 5,12 (4,4*)
3. Через 1 год после вакцинации	43,09 $\pm$ 4,66 (1,6*)	45,25 $\pm$ 4,96 (2,2*)	41,78 $\pm$ 2,65 (1,9*)	45,26 $\pm$ 4,28 (2,9*)

Примечание. * — p_{1-2} и $p_{1-3} < 0,01$.

Уровни противопневмококковых АТ через 1 год у невакцинированных детей с СД 1-го типа не изменились.

При анализе исходных значений уровня IgG-АТ в зависимости от возраста пациентов была выявлена тенденция к более высоким значениям противопневмококковых АТ у пациентов с СД 1-го типа старшего возраста (табл. 2). Это, вероятно, связано с тем, что данные больные в течение жизни перенесли большее количество бактериальных инфекций. Исследование динамики IgG-АТ к смеси ПС S. pneumoniae в зависимости от длительности течения СД 1-го типа не выявило различий между группами вакцинированных пациентов (табл. 3).

Наличие поздних диабетических осложнений у пациентов с СД 1-го типа не оказывало существенного влияния на изменение уровней поствакцинальных АТ (табл. 4).

В связи с этим нами изучена зависимость уровня поствакцинальных АТ от их начальных значений до вакцинации. Все дети были условно разделены на 4 подгруппы (табл. 5, 6). Детей с уровнем АТ меньше защитного более чем в 4 раза (< 10 усл. ед./мл) отнесли в подгруппу с очень низким уровнем; с уровнем АТ ниже защитного более чем в 2 раза ($10-20$ усл. ед./мл) — в подгруппу с низким уровнем. Пациенты, имеющие исходные уровни АТ от 21 до 40 усл. ед./мл, составили подгруппу со средним уровнем, а больные с уровнями АТ, равными защитному (≥ 40 усл. ед./мл), — подгруппу с высоким уровнем. Анализ полученных результатов выявил, что чем ниже начальный уровень АТ, тем интенсивнее происходит его увеличение через 1—1,5 мес после вакцинации (см. табл. 5, 6).

Исследование уровня АТ к смеси ПС S. pneumoniae у таких пациентов с СД 1-го типа в отдаленные сроки после вакцинации показало, что их значения через 1 год превышали исходные. Исключение составили пациенты с СД 1-го типа, вакцинированные препаратом Пневмо 23 и имевшие высокие исходные значения IgG-АТ.

В то же время у пациентов в группе сравнения с исходно высоким содержанием IgG-АТ спустя 1 год уровень специфических АТ стал еще выше.

Обсуждение

Проведенные исследования по вакцинации детей и подростков с СД 1-го типа показали, что введение пневмококковой вакцины или ее сочетания с гриппозной вакциной сопровождается достижением защитного уровня специфических АТ в 95,1 и

85,2% случаев соответственно через 1—1,5 мес после вакцинации и его сохранением через 1 год в 52 и 37% случаев. Достоверных различий в средних значениях уровней IgG-АТ к смеси ПС S. pneumoniae в обеих группах привитых пациентов не выявлено.

Следует обратить внимание на то, что больные СД 1-го типа при вакцинации препаратом Пневмо 23, даже в кратчайшие сроки после выхода из декомпенсации, способны к выработке защитных уровней IgG-АТ к смеси ПС S. pneumoniae. При анализе динамики средних значений IgG-АТ у 13 детей, вакцинированных через 2 нед после выхода из состояния декомпенсации СД, было обнаружено, что через 1—1,5 мес его уровень возрастает в 3,3 раза (с $20,88 \pm 2,6$ до $69,08 \pm 5,5$ усл. ед./мл; $p < 0,01$), а через 1 год превышает довакцинальный в 2,4 раза ($51,01 \pm 4,8$ усл. ед./мл; $p < 0,01$).

Исследование уровней IgG-АТ перед началом вакцинации выявило, что у подростков старше 15 лет с СД 1-го типа противопневмококковые АТ имеют тенденцию к более высоким значениям в поствакцинальном периоде и на всех сроках наблюдения отмечается одинаковое содержание специфических АТ.

Длительность заболевания СД 1-го типа, так же, как и наличие поздних сосудистых осложнений, не оказывают существенного влияния на уровень поствакцинальных АТ и длительность их сохранения.

Условное распределение пациентов с СД 1-го типа в зависимости от исходных уровней IgG-АТ к смеси ПС S. pneumoniae выявило, что чем ниже начальные уровни АТ, тем интенсивнее они нарастают в поствакцинальном периоде. Одновременная вакцинация против пневмококковой инфекции и гриппа не влияет на уровень сероконверсии. Несмотря на значительное нарастание количества специфических АТ в поствакцинальном периоде у

Таблица 4

Динамика уровня IgG-АТ (в усл. ед./мл, $M \pm m$) к смеси ПС S. pneumoniae в зависимости от наличия поздних сосудистых диабетических осложнений на момент вакцинации пациентов с СД 1-го типа

Сроки исследования	Безосложнений ($n = 35$)	1—2 осложнения ($n = 25$)	3 осложнения и более ($n = 12$)
1. До вакцинации	23,22 $\pm$ 2,52	19,99 $\pm$ 2,62	19,78 $\pm$ 2,43
2. Через 1—1,5 мес	65,56 $\pm$ 3,46 (2,8*)	63,1 $\pm$ 4,4 (3,2*)	74,19 $\pm$ 6,11 (3,8*)
3. Через 1 год после вакцинации	45,34 $\pm$ 2,88 (2,0*)	38,98 $\pm$ 3,3 (1,9*)	47,09 $\pm$ 4,61 (2,4*)

Примечание. * — p_{1-2} и $p_{1-3} < 0,01$.

Таблица 5

Динамика уровней IgG-АТ (в усл. ед./мл; $M \pm m$) к смеси ПС S. pneumoniae в зависимости от их исходных значений в группе пациентов с СД 1-го типа, вакцинированных Пневмо 23

Сроки исследования	Исходный уровень IgG-АТ			
	очень низкий (< 10) <i>n</i> = 8	низкий (10–20) <i>n</i> = 26	средний (21–40) <i>n</i> = 16	высокий (> 40) <i>n</i> = 7
1. До вакцинации	5,05 ± 0,7	15,58 ± 0,49	27,89 ± 1,28	54,41 ± 4,8
2. Через 1–1,5 мес после вакцинации	44,41 ± 6,52 (8,8**)	64,33 ± 4,25 (4,1**)	78,75 ± 4,13 (2,8**)	84,62 ± 8,03 (1,6*)
3. Через 1 год после вакцинации	24,26 ± 3,38 (4,8**)	44,99 ± 3,19 (2,9**)	54,33 ± 4,33 (2,0**)	60,92 ± 8,1 (1,1)

Примечание. * — $p_{1-2} < 0,05$, ** — p_{1-2} и $p_{1-3} < 0,001$; ♦ были обследованы 57 пациентов данной группы.

детей с очень низким их исходным содержанием, средний уровень АТ у таких пациентов остается ниже, особенно через 1 год, чем у других больных, имеющих перед вакцинацией низкие, средние и высокие уровни АТ. Следует отметить, что спустя 1 год после вакцинации специфические АТ продолжают обнаруживаться в значениях выше исходных, за исключением пациентов, имеющих до вакцинации высокие уровни АТ. В то же время сочетанная вакцинация против пневмококковой и гриппозной инфекций аналогичной группы пациентов приводит к нарастанию уровня АТ, который через 1 год сохраняется выше исходного.

Исходя из полученных результатов, не представляется возможным утверждать, что сочетанная вакцинация против пневмококковой и гриппозной инфекций способствует стимуляции противопневмококковых АТ, поскольку во всех подгруппах детей через 1 год специфические АТ регистрируются на том же уровне, что и у пациентов, вакцинированных только препаратом Пневмо 23.

Сравнительный анализ уровней АТ к смеси ПС S. pneumoniae через 1 год у пациентов с исходно низкими и высокими значениями АТ показывает, что однократная вакцинация против пневмококковой инфекции с использованием неконъюгированной полисахаридной вакцины в ранние сроки приводит к продукции АТ у всех вакцинированных. При этом их максимальный средний уровень достигается у детей с исходно высокими значениями АТ. Несмотря на то что через 1 год у таких пациентов среднее значение поствакцинальных АТ мало отличается от исходного, они регистрируются на более высоком уровне, чем у вакцинированных

больных с изначально низкими, средними и, особенно, очень низкими значениями АТ к смеси ПС S. pneumoniae. Вероятно, что введение повторной бустеризирующей дозы вакцины пациентам с изначально низкими уровнями АТ будет способствовать дальнейшему приросту специфических АТ до более высоких значений.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что у детей и подростков с СД 1-го типа АТ к смеси ПС S. pneumoniae могут синтезироваться в поствакцинальном периоде в количестве не более $84,62 \pm 8,03$ усл. ед., причем такой уровень сохраняется недолго, поскольку через 1 год он не отличается от исходного.

Как было указано выше, у взрослых условный защитный уровень АТ к смеси ПС S. pneumoniae равен 40 усл. ед./мл. Анализ полученных результатов по уровню поствакцинальных АТ у детей и подростков с СД 1-го типа и, особенно, зависимости его от исходных значений позволяет считать условным защитным уровнем АТ 20 усл. ед./мл. Одним из аргументов в пользу этого вывода является тот факт, что у детей и подростков частота встречаемости S. pneumoniae значительно ниже, чем у взрослых. С другой стороны, маловероятно, что пациенты с СД 1-го типа, ответившие на введение препарата Пневмо 23 с более чем 8-кратным приростом АТ в ранние сроки после вакцинации, спустя 1 год становятся незащищенными против S. pneumoniae. Следовательно, в перспективе необходимо пересмотреть условную норму 20 усл. ед./мл АТ к смеси ПС S. pneumoniae для детей и подростков с хронической патологией.

Таблица 6

Динамика уровней IgG-АТ (в усл. ед./мл; $M \pm m$) к смеси ПС S. pneumoniae в зависимости от их исходных значений в группе пациентов с СД 1-го типа, вакцинированных Пневмо 23 + Гриппол

Сроки исследования	Исходный уровень АТ			
	очень низкий (< 10) <i>n</i> = 5	низкий (10–20) <i>n</i> = 16	средний (21–40) <i>n</i> = 5	высокий (> 40) <i>n</i> = 2
1. До вакцинации	6,53 ± 1,15	15,02 ± 0,67	26,29 ± 1,58	51,11 ± 4,83
2. Через 1–1,5 мес	34,88 ± 3,83 (5,3***)	65,0 ± 4,87 (4,3***)	61,89 ± 5,1 (2,4***)	64,07 ± 33,8 (1,3)
3. Через 1 год	19,49 ± 2,75 (3,0*)	37,7 ± 2,4 (2,5***)	42,85 ± 4,11 (1,6**)	77,02 ± 5,83 (1,5)

Примечание. * $p_{1-3} < 0,05$, ** $p_{1-3} < 0,01$, *** p_{1-2} и $p_{1-3} < 0,001$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тарасова А. А. Состояние специфического иммунитета у детей с иммунопатологическими заболеваниями, вакцинированных в рамках календаря прививок, и клинико-иммунологический эффект бактериальной и гриппозной вакцин: Дис. ... д-ра мед. наук. — Н. Новгород, 2007.
2. Immunization and the Prevention of Influenza and Pneumococcal Disease in People with Diabetes. — 2003. — Vol. 26. — P. 126–128.
3. Anjli Kukreja, Noel K. Maclaren // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1999. — Vol. 84, N 12. — P. 4371–4378.

Поступила 19.05.08

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 616.441-008.61-085.357]-07:616.12-008.1

Н. Ю. Свириденко¹, Э. Ф. Тугеева², М. А. Арипов², Ю. И. Бузиашвили²

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ РЕЗЕРВ СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ С ДИФфуЗНЫМ ТОКСИЧЕСКИМ ЗОБОМ ПОСЛЕ МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭУТИРЕОЗА ТИРОЗОЛОМ

¹ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий (дир. — акад. РАН и РАМН И. И. Дедов),²Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева РАМН (дир. — акад. РАМН Л. А. Бокерия)

Цель исследования — оценить динамику структурно-функциональных и пространственно-геометрических изменений после медикаментозного восстановления эутиреоза у больных диффузным токсическим зобом, определить перспективы восстановления функционального резерва сердца после устранения тиреотоксикоза. Проведено сравнение геометрических параметров левого желудочка (ЛЖ), показателей тканевой доплерэхокардиографии (ТДЭ) и нагрузочных проб у 27 пациенток (средний возраст $53,3 \pm 9,2$ года) в состоянии тиреотоксикоза и через 6 мес после нормализации ТТГ и тиреоидных гормонов приемом тирозола. Отмечены достоверное увеличение массы миокарда, пиковой систолической и ранней диастолической скорости движения митрального кольца и тенденция к увеличению линейных размеров ЛЖ после восстановления эутиреоза. Несмотря на отсутствие достоверных различий в большинстве показателей геометрии ЛЖ, функциональный резерв сердца увеличился в 2 раза от исходного при достижении эутиреоза ($105,7 \pm 11,4$ и $57,8 \pm 14,7$ Вт, соответственно $p < 0,001$), но оставался ниже контрольного уровня ($148,3 \pm 11,7$ Вт, $p < 0,05$), что при определенных условиях может способствовать развитию сердечной недостаточности в дальнейшем.

Ключевые слова: геометрические параметры левого желудочка, тканевая доплерэхокардиография, функциональный резерв сердца.

N. Yu. Sviridenko¹, E. H. Tugeeva², M. A. Aripov², Yu. I. Buziashvili²

CARDIAC FUNCTIONAL RESERVE AND LEFT VENTRICULAR PARAMETERS IN PATIENTS WITH DIFFUSE TOXIC GOITER AFTER DRUG CORRECTION OF EUTHYROIDISM WITH THIAMAZOL

¹Endocrinology Research Center, Russian Agency for Medical Technologies; ²A. N. Bakulev Research Center of Cardiovascular Surgery, Russian Academy of Medical Sciences

The aim of the investigation was to assess the time course of structural-and-functional and spatiogeometric changes following drug correction of euthyroidism in patients with diffuse toxic goiter and to determine prospects for restoring the cardiac functional reserve after elimination of thyrotoxicosis. The geometric parameters of the left ventricle (LV) and the readings of tissue Doppler echocardiography and exercise tests were compared in 27 female patients (mean age 53.3 ± 9.2 years) who had thyrotoxicosis and 6 months after thyrosole-induced normalization of thyroid-stimulating and thyroid hormone. There were significant increases in myocardial mass and peak systolic and diastolic mitral ring motion rates and an increasing trend for LV linear sizes after correction of euthyroidism. Despite the fact that there were no significant differences in the majority of LV geometric parameters, with euthyroidism achievement, the cardiac functional reserve doubled as compared with the baseline values (105.7 ± 11.4 and 57.8 ± 14.7 W, respectively; $p < 0.001$), but remained below the control level (148.3 ± 11.7 W; $p < 0.05$), which may contribute to the development of heart failure in future under certain conditions.

Key words: left ventricular geometric parameters, tissue Doppler echocardiography, cardiac functional reserve.

Поражение сердечно-сосудистой системы при тиреотоксикозе определяют тяжесть и прогноз заболевания. Более того, состояние сердечно-сосудистой системы после устранения тиреотоксикоза будет определять качество жизни и трудоспособность "выздоровевшего" человека. Известно, что при тиреотоксикозе миокард развивает гиперфункцию уже в покое и за счет нее обеспечивает увели-

ченные запросы организма в кислороде [4, 10, 11]. С другой стороны, при физической нагрузке или в критической ситуации миокард должен резко увеличить свою работу, т. е. использовать функциональный резерв. Именно от функционального резерва сердца зависит адаптация организма к возросшим потребностям при тиреотоксикозе, механизмы которой до настоящего времени не ясны. В этой связи новые методические подходы, в частности эхокардиографическая оценка ремоделирования сердца [1, 7, 9], позволяют количественно оценить структурно-функциональные и пространственно-геометрические изменения, вызванные тиреотоксикозом, а также определить перспективы восстановления функционального резерва сердца после устранения тиреотоксикоза.

Информация для контактов:

Свириденко Наталья Юрьевна, доктор мед. наук, гл. науч. сотр. Института клинической эндокринологии ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий
Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, 11
Телефон: 8-499-124-35-00
Nat.Svir.@aNM.ru

Материалы и методы

Обследованы 27 пациенток (средний возраст $53,3 \pm 9,2$ года) с впервые выявленным диффузным токсическим зобом (ДТЗ) средней степени тяжести. Длительность заболевания, по данным анамнестического опроса, составила $14,4 \pm 4,4$ мес, при этом более чем у 50% пациенток клинические проявления тиреотоксикоза отмечались не более 6 мес до начала лечения. Отсутствие жалоб, типичных для ишемической болезни сердца (ИБС), и отрицательный нагрузочный тест у всех больных послужили основанием для исключения сопутствующей ИБС. Другими критериями исключения явились почечная недостаточность, клинически значимые заболевания печени, НК IIБ–III стадии, неконтролируемая артериальная гипертензия (диастолическое артериальное давление (ДАД) выше 110 мм рт. ст.) на фоне гипотензивной терапии.

Пациентам были проведены следующие исследования: 1) клинический осмотр, определение уровня тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ), свободного тироксина (св.Т₄), свободного трийодтиронина (св.Т₃) методом усиленной люминесценции с использованием автоматического анализатора "Vitros" ("Johnson and Johnson"). Границы нормы для базального уровня ТТГ 0,25–3,5 мЕд/л, св.Т₄ 9,0–20,0 пмоль/л, св.Т₃ 2,5–5,5 пмоль/л; 2) ультразвуковое исследование щитовидной железы (ЩЖ) с использованием ультразвукового сканера Hewlett Packard Image Point НХ датчиком с переменной частотой 7,5–10 МГц.

Больные с тиреотоксикозом принимали тирозол 30 мг/сутки с постепенным снижением дозы до поддерживающей (5–10 мг/сутки) и конкор 2,5–5 мг/сутки. Повторное исследование сердечно-сосудистых показателей проводили не ранее чем через 6 мес после восстановления эутиреоидного состояния (нормализация уровней ТТГ, св.Т₃, св.Т₄) и отмены конкора.

Контрольная группа была сформирована из 16 человек без патологии ЩЖ, в возрасте $45,1 \pm 4,7$ года. Средняя частота сердечных сокращений (ЧСС) составила $65,6 \pm 8,9$ в 1 мин, среднее систолическое артериальное давление (САД) $122,3 \pm 10,6$ мм рт. ст., среднее ДАД $74,8 \pm 9,7$ мм рт. ст., рост $164,5 \pm 4,28$ см, масса тела $65,7 \pm 6,4$ кг, индекс массы тела (ИМТ) $24,5 \pm 3,4$ кг/м².

До начала лечения и после достижения эутиреоидного состояния были рассчитаны показатели геометрии левого желудочка (ЛЖ), показатели тканевой доплерэхокардиографии (ТДЭ) и нагрузочные пробы. Исследования проводили на базе Научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева РАМН. Исследование выполнено с помощью эхокардиографа Phillips с использованием трансторакального датчика S4. Для расчета показателей геометрии ЛЖ использовали стандартные продольные, поперечные и апикальные позиции на 4, 5 и 2 камеры. Показатели ТДЭ рассчитывали в апикальных позициях. Контрольный объем располагался латерально у основания митрального кольца, при этом с каждого сегмента записывались наиболее четко визуализируемые 3 сердечных цик-

ла, с которых замеряли скоростные и временные параметры и затем рассчитывали среднее значение. Для каждого сегмента измеряли следующие параметры: пиковую систолическую скорость *s*, пиковую скорость быстрого наполнения *e*, пиковую скорость предсердного наполнения *a*, соотношение *e/a*.

Статистическую обработку полученных результатов производили на IBM-совместимом компьютере в электронных таблицах BASIC-STATISTIC ("Microsoft", США) методами дисперсионного анализа с использованием критериев Стьюдента с поправкой коэффициента Бонферрони для множественных сравнений. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Показатели геометрии ЛЖ после медикаментозного восстановления эутиреоза

Повторное обследование выполнено 25 (92,6%) из 27 больных. Средний уровень ТТГ составил $2,29 \pm 1,7$ мЕд/л, средний уровень св.Т₃ $4,03 \pm 1,1$ пмоль/л, средний уровень св.Т₄ $11,7 \pm 2,8$ пмоль/л. Средняя ЧСС покоя составила $88,6 \pm 9,5$ в 1 мин, среднее САД $132,5 \pm 9,8$ мм рт. ст., среднее ДАД $68,4 \pm 7,5$ мм рт. ст. Все пациентки отметили прирост массы тела от 2 до 6 кг. При этом потеря массы тела до начала терапии, по данным анамнестического опроса, составила от 4 до 11 кг (табл. 1).

До приема тирозола у пациенток отмечено значительное снижение показателя конечного диастолического объема (КДО) ЛЖ $81,1 \pm 8,5$ мл и конечного систолического объема (КСО) ЛЖ $27,4 \pm 6,8$ мл, по сравнению с контролем: $142,3 \pm 8,7$ мл ($p < 0,001$) и $57,3 \pm 5,6$ ($p < 0,05$) соответственно. Индексированный КДО ЛЖ, индексированный КСО ЛЖ, масса миокарда также имели статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Длинная ось ЛЖ в диастолу и длинная ось ЛЖ к концу систолы были достоверно меньше по сравнению с контролем ($p < 0,05$ и $p < 0,001$ соответственно).

Таблица 1

Характеристика больных ДТЗ до лечения и на фоне восстановления эутиреоза

Критерий	Значения ($M \pm SD$)	
	до лечения	на фоне приема тирозола
Возраст, годы	$53,3 \pm 9,2$	
Уровень ТТГ, мЕд/л	$< 0,001$	$2,29 \pm 1,7$
Уровень св.Т ₄ , пмоль/л	$42,2 \pm 9,5$	$11,7 \pm 2,8$
Уровень св.Т ₃ , пмоль/л	$17,4 \pm 13,9$	$4,03 \pm 1,1$
Длительность заболевания до начала лечения, мес	$14,4 \pm 4,4$	—
Сроки нормализации уровней ТТГ, св.Т ₄ , св.Т ₃ , мес	—	$8,5 \pm 4,2$
ЧСС, в 1 мин	$103,3 \pm 7,8$	$88,6 \pm 9,5$
САД, мм рт. ст.	$149,7 \pm 11,2$	$132,5 \pm 9,8$
ДАД, мм рт. ст.	$57,8 \pm 5,6$	$68,4 \pm 7,5$
ИМТ, кг/м ²	$25,1 \pm 2,6$	$27,4 \pm 3,2$

Таблица 2

Показатели ЛЖ ($M \pm SD$) у больных ДТЗ до лечения и на фоне восстановления эутиреоза

Показатель	Тиреотоксикоз		Контроль
	до лечения	на фоне терапии	
КДО, мл	$81,1 \pm 8,5$	$89,3 \pm 12,2$	$142,25 \pm 8,74$
КСО, мл	$27,4 \pm 6,8$	$31,4 \pm 9,1$	$57,3 \pm 5,6$
ОФВ, %	$69,2 \pm 5,4$	$66,3 \pm 7,5$	$60,3 \pm 4,5$
Е/А	$1,04 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,2$
Длинная ось (диастола), см	$7,95 \pm 0,9$	$8,1 \pm 1,1$	$10,6 \pm 0,7$
Длинная ось (систола), см	$5,98 \pm 0,7$	$6,1 \pm 0,6$	$7,8 \pm 0,8$
Масса миокарда, г	$109 \pm 8,7$	$115,4 \pm 6,9$	$138,2 \pm 14,8$

На фоне лечения средний КДО ($89,3 \pm 12,2$ мл) достоверно не отличался от аналогичного показателя до лечения, $p = 0,06$ (табл. 2). Средний КСО ($31,4 \pm 9,1$ мл) также не отличался от аналогичного показателя до лечения, $p = 0,078$. Тем не менее при отсутствии статистически значимой разницы отмечается тенденция к увеличению линейных стандартных размеров ЛЖ. Не выявлено ни одного случая нарушения локальной сократимости ЛЖ. Показатель общей фракции выброса (ОФВ) ЛЖ достоверно не отличался от исходного, $p = 0,08$. Соотношение Е/А ЛЖ в среднем было более 1, так же, как и до начала лечения. Длинная ось не претерпела достоверных изменений на фоне эутиреоза, и составила в среднем $8,1 \pm 1,1$ см, $p = 0,59$. Недостоверными были различия и по короткой оси ($p = 0,51$). Масса миокарда увеличилась со $109 \pm 8,7$ г до $115,4 \pm 6,9$ г, $p < 0,05$.

Толщина стенок ЛЖ в диастолу варьировала от 0,6 до 0,8 см. Разброс этого показателя был больше, чем до начала терапии. С учетом полученных размеров толщины стенок ЛЖ очевидно, что колебания значений находятся в одинаковых пределах, как до начала лечения, так и на его фоне. Диастолическая короткая ось у пациентов, достигших компенсации тиреотоксикоза имела длину от 4,1 до

2,03 см, а систолическая короткая ось — от 1,8 до 2,3 см (табл. 3). Показатели диастолического индекса сферичности свидетельствовали об отсутствии существенных изменений на фоне достигнутого эутиреоза. Систолический индекс сферичности был гораздо меньше аналогичного уровня диастолического показателя и варьировал от 0,23 до 0,26. Расчетные показатели: индексы сферичности и конусности свидетельствовали о сохранной физиологической, т. е. конусной, форме ЛЖ. Несмотря на отсутствие достоверных различий по показателям КДО, КСО, конечный диастолический размер (КДР), конечный систолический размер (КСР), отмечается тенденция к их увеличению. Индекс относительной толщины стенок ЛЖ, отражающий отношение стенок к полости ЛЖ, на фоне терапии претерпел изменения, свидетельствующие об относительном увеличении полости на всех уровнях. По данным ТДЭ, до лечения средняя пиковая систолическая скорость движения митрального кольца (s) и средняя скорость раннего диастолического наполнения (e) были достоверно ниже по сравнению с контролем ($p < 0,05$), на фоне приема тирозола отмечается достоверное увеличение локальных скоростей: $s = 12,1 \pm 0,7$ см/с, ($p < 0,05$), $e = 12,3 \pm 0,8$, ($p < 0,05$), $a = 13,4 \pm 1,3$, разница недостоверна.

Функциональные показатели больных ДТЗ после восстановления эутиреоза

Всем пациентам выполняли пробу с физической нагрузкой, используя тредмил по ступенчато-возрастающему типу, согласно протоколу Брюс II. Критерием прекращения теста у 27 (100%) обследованных было достижение субмаксимальной ЧСС. До лечения средний порог толерантности составил $57,81 \pm 14,7$ Вт, в контрольной группе — $148,3 \pm 11,7$ Вт, $p < 0,05$. Реакция АД на пике нагрузки составила $203,3 \pm 21,2$ мм рт. ст. Показатели ЭхоКГ-контроля свидетельствовали об увеличении ОФВ ($79,5 \pm 8,6\%$) по сравнению с исходной за счет равномерного прироста сократимости по всем

Таблица 3

Показатели геометрии ЛЖ больных ДТЗ до лечения и на фоне восстановления эутиреоза

Показатель	Базальный		Средний		Верхушечный	
	диастола	систола	диастола	систола	диастола	систола
МЖП, см	$0,71 \pm 0,09$ $0,72 \pm 0,05$	$1,3 \pm 0,1$ $1,29 \pm 0,06$	$0,72 \pm 0,07$ $0,71 \pm 0,06$	$1,29 \pm 0,09$ $1,32 \pm 0,06$	$0,69 \pm 0,1$ $0,73 \pm 0,06$	$1,32 \pm 0,07$ $1,25 \pm 0,06$
ПС, см	$0,72 \pm 0,1$ $0,71 \pm 0,06$	$1,29 \pm 0,09$ $1,3 \pm 0,05$	$0,72 \pm 0,1$ $0,69 \pm 0,06$	$1,3 \pm 0,08$ $1,31 \pm 0,07$	$0,72 \pm 0,09$ $0,75 \pm 0,07$	$1,29 \pm 0,08$ $1,28 \pm 0,05$
БС, см	$0,74 \pm 0,1$ $0,73 \pm 0,05$	$1,28 \pm 0,07$ $1,26 \pm 0,04$	$0,71 \pm 0,09$ $0,69 \pm 0,07$	$1,3 \pm 0,1$ $1,33 \pm 0,07$	$0,71 \pm 0,08$ $0,72 \pm 0,06$	$1,3 \pm 0,06$ $1,27 \pm 0,07$
ЗСЛЖ, см	$0,72 \pm 0,08$ $0,73 \pm 0,07$	$1,3 \pm 0,08$ $1,31 \pm 0,07$	$0,7 \pm 0,08$ $0,71 \pm 0,05$	$1,28 \pm 0,06$ $1,29 \pm 0,08$	$0,7 \pm 0,11$ $0,69 \pm 0,08$	$1,31 \pm 0,08$ $1,21 \pm 0,06$
Короткая ось, см	$3,89 \pm 0,1$ $4,03 \pm 0,1$	$2,14 \pm 0,24$ $2,14 \pm 0,24$	$3,88 \pm 0,11$ $3,9 \pm 0,09$	$2,11 \pm 0,24$ $2,2 \pm 0,11$	$2,05 \pm 0,09$ $2,11 \pm 0,08$	$1,99 \pm 0,05$ $2,1 \pm 0,06$
Индекс сферичности	$0,48 \pm 0,03$ $0,47 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,05$ $0,27 \pm 0,04$	$0,48 \pm 0,07$ $0,49 \pm 0,06$	$0,26 \pm 0,09$ $0,26 \pm 0,05$	$0,31 \pm 0,07$ $0,3 \pm 0,08$	$0,25 \pm 0,08$ $0,26 \pm 0,04$
2H/D	$0,46 \pm 0,07$ $0,44 \pm 0,05$	—	$0,37 \pm 0,1$ $0,35 \pm 0,09$	—	$0,69 \pm 0,12$ $0,64 \pm 0,09$	—

Примечание. В числителе данные, полученные до лечения, в знаменателе — после восстановления эутиреоза. МЖП — межжелудочковая перегородка, ЗСЛЖ — задняя стенка левого желудочка, ПС — правая стенка.

стенкам. Общая диастолическая функция ЛЖ на пике нагрузки во всех случаях была более 1. Полученные результаты свидетельствовали о резком снижении порога толерантности к физическим нагрузкам у больных с тиреотоксикозом.

На фоне лечения тирозолом при выполнении пробы с физической нагрузкой отмечено повышение среднего порога толерантности, что составило в среднем $105,7 \pm 11,4$ Вт и было выше исходного уровня ($p < 0,001$), но не достигало контрольного уровня, $p < 0,05$. Реакция АД была адекватной и в среднем на пике нагрузки составила $184,3 \pm 12,3$ мм рт. ст. Полученные результаты свидетельствуют о существенном повышении порога толерантности к физическим нагрузкам у больных с тиреотоксикозом на фоне достигнутого эутиреоза, несмотря на отсутствие достоверных различий в большинстве показателей геометрии ЛЖ.

Термин "тиреотоксическое сердце" был предложен Р. Краусом (R. Kraus) в 1899 г. для обозначения комплекса нарушений в сердечно-сосудистой системе при тиреотоксикозе, приводящих к кардиомегалии и сердечной недостаточности. Между тем термин "микседематозное сердце" также подразумевает увеличенное в размерах сердце, формирующее сердечную недостаточность при длительно протекающем некомпенсированном гипотиреозе. Известное определение "бычье сердце" также отражает выраженное увеличение размеров сердца, которое приводит к развитию синдрома сердечной недостаточности. По сути, вышеописанные определения сердца отражают одну модель сердца с увеличенным индексом сферичности, повышенной массой миокарда, нарушения конусности ЛЖ. В многочисленных работах, посвященных изучению ремоделирования сердца доказано, что переход от эллипсоидной к более сферической форме сердца с увеличением объемов и массы миокарда ведет к снижению сердечного выброса и развитию сердечной недостаточности и соответствует периодам компенсации и декомпенсации сердечной патологии [2, 3, 5, 6, 8]. В нашей работе мы не отметили изменения индекса сферичности и конусности миокарда, в то же время выявили уменьшение размеров сердца с угнетением локальных скоростей движения его стенок и выраженное снижение толерантности к физическим нагрузкам. Несмотря на уменьшение КДО и КСО, как индексов пред- и постнагрузки, ОФВ ЛЖ в покое оставалась высокой за счет гипердинамики миокарда, увеличения ЧСС и сердечной сократимости без увеличения растяжимости волокон миокарда. В то же время функциональный резерв сердца был резко снижен,

но при достижении эутиреоза повысился в два раза от исходного, не достигая контрольного уровня, что при определенных условиях может определить развитие сердечной недостаточности в дальнейшем [12].

Выводы

1. У больных тиреотоксикозом без сопутствующей сердечно-сосудистой патологии в относительно ранние сроки наряду с потерей массы тела происходит уменьшение размеров сердца, без изменения сферичности и конусности ЛЖ. Изменение индекса относительной толщины стенок ЛЖ свидетельствует о преимущественном уменьшении полости ЛЖ, чем его стенок. После восстановления эутиреоза отмечаются увеличение массы миокарда и тенденция к увеличению линейных размеров ЛЖ.

2. У больных тиреотоксикозом без сопутствующей сердечно-сосудистой патологии отмечается снижение пиковой систолической и ранней диастолической скорости движения митрального кольца, которые при достижении эутиреоза достоверно увеличиваются.

3. У больных тиреотоксикозом отмечается значительное улучшение порога толерантности к физическим нагрузкам при достижении стойкого эутиреоидного состояния, несмотря на отсутствие восстановления всех параметров ремоделирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бокерия Л. А., Бузиашвили Ю. И., Ключников И. В. Ишемическое ремоделирование левого желудочка. — М., 2002. — С. 1—9.
2. Бузиашвили Ю. И., Ключников И. В., Мелконян А. М. и др. // Кардиология. — 2002. — № 10. — С. 88—95.
3. Бузиашвили Ю. И., Мацкеплишвили С. Т., Асымбекова Э. У., Тугеева Э. Ф. и др. // Бюл. НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. — 2004. — Т. 5, № 9. — С. 64—71.
4. Гольбер Л. М., Кандрор В. И. Тиреотоксическое сердце. — М., 1972. — С. 94—133.
5. Bengel F., Lehnert J., Ibrahim T. et al. // Thyroid. — 2003. — Vol. 13. — P. 471—477.
6. Boelaert K., Franklyn J. // J. Endocrinol. — 2005. — Vol. 187. — P. 1—15.
7. Burmeister L., Flores A. // Thyroid. — 2002. — Vol. 12. — P. 495—499.
8. Fadel B., Ellahham S., Ringel M. et al. // Clin. Cardiol. — 2000. — Vol. 23, N 6. — P. 402—408.
9. Kahaly G., Wagner S., Nieswandt J. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1999. — Vol. 84. — P. 2308—2313.
10. Klein I., Ojamaa K. // Endocrinology. — 2001. — Vol. 142. — P. 11—12.
11. Klein I., Ojamaa K. // N. Engl. J. Med. — 2001. — Vol. 344. — P. 501—509.
12. Osman F., Franklyn J., Sheppard M., Gammage M. // Eur. Heart J. — 2005. — Vol. 26. — Suppl. — P. 611.

Поступила 25.04.08

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 616.447-008.61-07:616.1

И. В. Вороненко¹, Н. Г. Мокрышева², Л. Я. Рожинская², А. Л. Сыркин¹**СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПРИ КЛИНИЧЕСКИ ВЫРАЖЕННОМ И МАЛОСИМПТОМНОМ ПЕРВИЧНОМ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗЕ**¹Кафедра профилактической и неотложной кардиологии (зав. — проф. А. Л. Сыркин) факультета последипломного профессионального образования врачей ММА им. И. М. Сеченова; ²ФГУ Эндокринологический научный центр (дир. — акад. РАН и РАМН И. И. Дедов) Росмедтехнологий, Москва

Анализировалось состояние сердечно-сосудистой системы при клинически выраженном ($n = 31$) и малосимптомном ($n = 34$) первичном гиперпаратиреозе (средний возраст 54,6 года, женщин — 95%). У пациентов с клинически выраженным первичным гиперпаратиреозом интервал PQ был длиннее, а интервал QT был достоверно короче, чем у пациентов с малосимптомным гиперпаратиреозом. Гипертрофия левого желудочка отмечалась у 45,2% пациентов с клинически выраженным и у 15,2% с малосимптомным гиперпаратиреозом ($p = 0,013$). Диастолическая дисфункция миокарда левого желудочка также достоверно чаще отмечалась в группе с клинически выраженным гиперпаратиреозом. Выявлена статистически значимая взаимосвязь между уровнями паратгормона, общего и ионизированного кальция и длительностью интервала QT и показателями, определяющими диастолическую функцию и гиперфункцию левого желудочка. Предполагается, что выявленные нарушения сердечно-сосудистой системы у пациентов с первичным гиперпаратиреозом зависят от степени повышения паратгормона, общего и ионизированного кальция.

Ключевые слова: первичный гиперпаратиреоз, интервал PQ, интервал QT, гипертрофия левого желудочка, диастолическая дисфункция.

I. V. Voronenko¹, N. G. Mokrysheva², L. Ya. Rozhinskaya², A. L. Syrkin¹**THE CARDIOVASCULAR SYSTEM IN PATIENTS WITH SYMPTOMATIC AND MILD PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM**¹Department of Preventive and Emergency Cardiology, I. M. Sechenov Moscow Medical Academy; ²Endocrinology Research Center, Russian Agency of Medical Technologies, Moscow

The cardiovascular system was analyzed in patients with symptomatic ($n = 31$) and mild primary hyperparathyroidism ($n = 34$) whose mean age was 54.6 years; 95% females). In the patients with symptomatic primary hyperparathyroidism, the PQ interval was longer and the QT interval was significantly shorter than those in patients with mild hyperparathyroidism. Left ventricular hypertrophy was noted in 45.2% of patients with symptomatic and in 15.2% of those with mild hyperparathyroidism ($p = 0.013$). Left ventricular diastolic dysfunction was also more common in the group of symptomatic hyperparathyroidism. There was a statistically significant correlation between the levels of parathyroid hormone, total and ionized calcium and the duration of QT interval and the determinants of diastolic function and left ventricular hypertrophy. The revealed cardiovascular disorders in patients with primary hyperparathyroidism are presumed to depend on the increase rate of parathyroid hormone and total and ionized calcium.

Key words: primary hyperparathyroidism, PQ interval, QT interval, left ventricular hypertrophy, diastolic function.

В последнее время врачам разных специальностей, в том числе кардиологам, все чаще приходится встречаться с таким эндокринным заболеванием, как первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ). В основном это связано с улучшением диагностики, обусловленным широким распространением скринингового исследования кальция в рамках биохимического анализа крови. Благодаря этому стали чаще выявляться малосимптомные и бессимптомные формы ПГПТ, не сопровождающиеся классической высокой гиперкальциемией, тяжелым поражением костей, образованием камней в почках, поражением нейромышечного аппарата, развитием язвенной болезни. Частое выявление малосимптомных форм вызвало споры о необходимости проведения всем пациентам паратиреоидэктомии и выработки критериев отбора пациентов для оперативного и консервативного лечения [4, 5, 19, 29].

Исследования показали, что смертность среди больных с первичным гиперпаратиреозом доста-

точно высока, причем как до, так и после паратиреоидэктомии, и основной причиной такой высокой смертности являются сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), риск развития которых повышен у больных с данной патологией [3, 9, 13, 14, 32].

Ряд исследователей отметили структурные и функциональные изменения сердечно-сосудистой системы *in vitro* и *in vivo*, связанные, по-видимому, непосредственно с повышенным уровнем паратгормона (ПТГ) или нарушением фосфорно-кальциевого обмена: гипертрофию левого желудочка (ГЛЖ), не зависящую от уровня артериального давления (АД) [1, 8, 11, 17, 25, 28], нарушение диастолической функции ЛЖ [2, 8, 22, 24], эндотелиальную дисфункцию [22], увеличение ригидности [26] и утолщение сосудистой стенки [16], повышение уровня АД [18, 31], наличие кальцинатов в сердце [17, 28] и сосудах, нарушения ритма и проводимости [6, 15, 23].

Это было отмечено, главным образом, у больных с клинически выраженным ПГПТ, либо у смешанных групп, в которых не проводилось подразделения на бессимптомный и клинически выраженный ПГПТ.

Таким образом, степень выраженности сердечно-сосудистых нарушений у пациентов с малосимптомным и бессимптомным ПГПТ остается неяс-

Информация для контактов:

Вороненко Ирина Владимировна, научный сотрудник отдела кардиологии НИЦ ММА им. И. М. Сеченова
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2
Телефон: 8-499-248-79-14
www.MMA.ru

Таблица 1

Характеристика пациентов с клинически выраженным (1-я группа) и малосимптомным (2-я группа) ПГПТ

Параметр	Клинически выраженный ПГПТ (n = 31)	Малосимптомный ПГПТ (n = 34)	p
Пол:			
женщины	29	33	0,72
мужчины	2	1	
Возраст, годы [Me (90% ДИ)]	59 (29,4; 72,2)	53 (35,25; 69,5)	0,017*
ИМТ [Me (90% ДИ)]	26 (16,6; 37,32)	25 (19,4; 35,83)	0,065**
Менопауза:			
абс.	24	22	0,41
%	82,7	66,7	
Курение:			
абс.	3	3	1
%	9,7	8,8	
Артериальная гипертензия:			
абс.	17	14	0,325
%	54,8	41,2	
Стадии артериальной гипертензии (абс.):			
отсутствует	14	17	0,034
I	3	9	
II	12	3	
III	2	2	
Длительность артериальной гипертензии, годы [Me (90% ДИ)]	5 (1; 10)	4 (2; 15)	0,001
Антигипертензивная терапия, %	71	57	0,47

Примечание. ИМТ — индекс массы тела; * — критерий Манна—Уитни; ** — t-критерий Стьюдента.

ной. Однако, учитывая возможное влияние этих нарушений на ожидаемую продолжительность жизни, необходимо установить те изменения сердечно-сосудистой системы, которые у пациентов со случайно выявленным малосимптомным ПГПТ будут определять необходимость срочного хирургического вмешательства, либо длительного наблюдения.

Основной целью данного исследования был анализ состояния сердечно-сосудистой системы пациентов с ПГПТ в зависимости от его степени тяжести.

Материалы и методы

В исследование были включены 65 пациентов (средний возраст 54,6 года, женщины — 95%), наблюдавшихся в Эндокринологическом научном центре Росмедтехнологий по поводу ПГПТ в период с марта 2006 по декабрь 2007 г.

Критерием включения было наличие верифицированного ПГПТ (по данным медицинской документации на момент первичной диагностики, повышение уровня интактного ПТГ, общего и ионизированного кальция, наличие аденомы или гиперплазии околощитовидных желез по данным ультразвукового исследования, скинтиграфии или мультиспиральной компьютерной томографии) [1].

Критериями исключения из исследования являлись наличие вторичного и третичного гиперпара-

Таблица 2

Показатели фосфорно-кальциевого обмена и уровень ПТГ у пациентов на момент включения в исследование [Me (90% ДИ)]

Показатель	Клинически выраженный ПГПТ (1-я группа)	Малосимптомный ПГПТ (2-я группа)	p
ПТГ, пг/мл	334 (122,7; 3089,2)	127 (79; 311,2)	< 0,001
Кальций общий, ммоль/л	2,88 (2,25; 3,54)	2,635 (2,25; 2,9)	< 0,001
Кальций ионизированный, ммоль/л	1,39 (1,14; 2,06)	1,23 (1,05; 1,43)	< 0,001
Фосфор, ммоль/л	0,8 (0,54; 1,48)	0,94 (0,67; 1,3)	0,004

тиреоза, синдромов множественной эндокринной неоплазии I и II типа, декомпенсированного гипотиреоза, сахарного диабета 2-го типа, гемодинамически значимых врожденных и приобретенных пороков сердца, ишемической болезни сердца, хронической сердечной недостаточности II функционального класса и выше, онкологических и тяжелых соматических заболеваний.

Пациенты были разделены на 2 группы. В 1-ю группу вошел 31 пациент с клинически выраженным ПГПТ, 2-ю группу составили 35 больных с малосимптомными формами ПГПТ. Клиническая характеристика групп представлена в табл. 1. Степень тяжести гиперпаратиреоза оценивали по выраженности клинической картины, уровням ПТГ, общего и ионизированного кальция, фосфора (табл. 2), по степени выраженности остеопении, определяемой при денситометрии, наличию висцеральных поражений [4, 5, 19, 29].

В 1-й группе артериальная гипертензия (АГ) являлась в 54,8% случаев, во 2-й — в 50%. Однако в 1-й группе преобладали пациенты с АГ II степени повышения АД (70,5%), а во 2-й группе — с АГ I степени (65,3%) (рис. 1). Длительность АГ была также достоверно больше в группе с клинически выраженным ПГПТ. Количество пациентов, получающих гипотензивную терапию, было выше в 1-й группе. Среди гипотензивных препаратов, принимаемых пациентами, основное место занимали ингибиторы АПФ; в 1-й группе их принимали 80%, во 2-й — 65,3% (рис. 2).

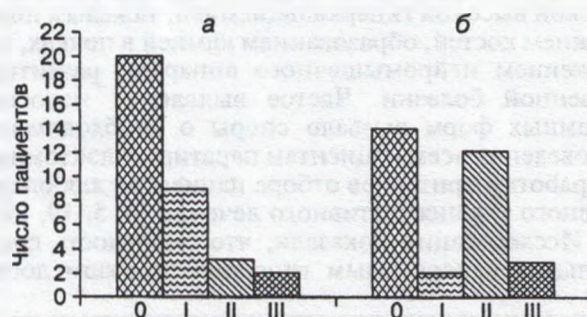


Рис. 1. Распределение пациентов с малосимптомным (а) и клинически выраженным первичным (б) гиперпаратиреозом в зависимости от наличия и степени выраженности артериальной гипертензии.

0 — отсутствие артериальной гипертензии, I, II, III — степени артериальной гипертензии в зависимости от повышения АД.



Рис. 2. Антигипертензивная терапия у пациентов с малосимптомным (1) и клинически выраженным (2) первичным гиперпаратиреозом.

Все больные были обследованы по схеме, включавшей: сбор анамнеза, физикальный осмотр, определение уровней ПТГ, общего и ионизированного кальция, фосфора, липидного спектра плазмы крови, стандартную 12-канальную ЭКГ, эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ) [VIVID 7 GE (General Electric) с помощью трансторакального датчика 5S с частотой 2,2 МГц] с доплероэхокардиографией и тканевым доплеровским исследованием, суточное мониторирование АД (система регистрации — монитор SHILLER BR 102, система анализа данных — программа SHILLER MT-200) и нагрузочный тредмил-тест (аппарат MARQUETTE MAX 1, беговая дорожка — MARQUETTE 2000 TREADMILL). ЭхоКГ проводили согласно принятой методике [27]: определяли толщину межжелудочковой перегородки (тМЖП), задней стенки (тЗС) ЛЖ, фракцию выброса (ФВ) ЛЖ. Массу миокарда (ММ) ЛЖ, согласно Penn Convention, определяли по формуле R. Devereux [10]:

$$1,04 [(КДР + тМЖП + тЗС \text{ (в конце диастолы)})^3 - КДР^3] - 13,6,$$

где КДР — конечный диастолический объем ЛЖ.

Индекс ММЛЖ (ИММЛЖ) определяли по формуле

$$\text{ИММЛЖ (в г/м}^2\text{)} = \text{ММЛЖ/ППТ},$$

где ППТ — площадь поверхности тела, определяемая по формуле D. Dubois [12]:

$$S \text{ поверхности тела} = \text{масса тела}^{0,425} (\text{в кг}) \cdot \text{рост}^{0,725} (\text{в м}) \cdot 0,784.$$

Гипертрофию миокарда диагностировали при ИММЛЖ, равном или больше 134 г/м² у мужчин и равном или больше 110 г/м² — у женщин [1].

При помощи доплероэхокардиографии [30] определяли максимальную скорость трансмитрального кровотока (ТМК) в фазе быстрого наполнения ЛЖ (Е, м/с), максимальную скорость ТМК во время систолы предсердия (А, м/с), соотношение пиков Е/А ТМК, время изоволюмического расслабления ЛЖ (IVRT, мс), время замедления раннего диастолического потока (DT, мс). Тканевый доплеровский спектр синхронно с ЭКГ регистрировали от сегментов ЛЖ: МЖП и боковой стенки ЛЖ. В каждом тканевом доплеровском спектре,

зарегистрированном от сегментов ЛЖ, оценивали максимальные скорости движения сегментов в период раннего наполнения ЛЖ (е), систолы предсердий (а), отношение скоростей во время раннего наполнения к скорости во время систолы предсердия (е/а).

Статистический анализ проводили при помощи пакета Statistica 6,0 (Stat-Soft, 2001). Использовали критерий Манна—Уитни для сравнения независимых выборок, а также расчет ранговой корреляции Спирмена (r). Частоту распространения признаков сравнивали между группами при помощи точного двустороннего критерия Фишера или критерия χ^2 . Данные в тексте и в таблицах представлены в виде медианы (90% доверительного интервала) — Ме (90% ДИ). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты

У пациентов с клинически выраженным ПГПТ (1-я группа) интервал PQ был длиннее, а интервал QT достоверно короче, чем у пациентов с малосимптомным ПГПТ (2-я группа): 0,16 (90% ДИ 0,14; 0,23) и 0,15 (90% ДИ 0,12; 0,2); QTc 0,39 (90% ДИ 0,34; 0,43) и 0,41 (90% ДИ 0,38; 0,43) соответственно ($p < 0,005$) (табл. 3). Длительность комплекса QRS и некорригированного интервала QT достоверно не различалась в двух группах. Частота возникновения атриовентрикулярной блокады I степени была выше в 1-й группе (25,8 и 8,8%, соответственно, $p = 0,099$). Длительность интервала PQ положительно, а интервала QT отрицательно коррелировала с уровнем общего и ионизированного кальция у всех 65 пациентов, вошедших в исследование (для PQ $r = 0,24$ и $r = 0,26$, для QT $r = -0,44$ и $r = -0,39$ соответ-

Таблица 3

Электрокардиографические показатели у пациентов с ПГПТ

Показатель	Клинически вы- раженный ПГПТ (1-я группа)	Малосимптом- ный ПГПТ (2-я группа)	p
Me (90% ДИ)			
Длительность:			
интервала PQ, с	0,16 (0,14; 0,23)	0,15 (0,12; 0,2)	0,004
комплекса QRS, с	0,08 (0,07; 0,11)	0,08 (0,07; 0,1)	0,396
интервала QT, с	0,36 (0,3; 0,45)	0,36 (0,32; 0,43)	0,766
интервала QTс, с	0,39 (0,34; 0,43)	0,41(0,38; 0,43)	0,002
Блокада передней ветви левой ножки ПГ:			
абс.	7	3	0,174
%	22,6	8,8	
Блокада правой ножки ПГ:			
абс.	3	3	1
%	9,7	8,8	
AB блокада I степени:			
абс.	8	3	0,099
%	25,8	8,8	

Примечание. ПГ — пучок Гиса, АВ — атриовентрикулярная блокада.

Таблица 4

Показатели гипертрофии ЛЖ и фракция выброса у пациентов с разной степенью выраженности ПГПТ

Показатель	Клинически выраженный ПГПТ (1-я группа)	Малосимптомный ПГПТ (2-я группа)	p
ГЛЖ:			
абс.	17	5	0,013
%	45,2	15,25	
Me (90% ДИ)			
ИММЛЖ, г/м²	116,7 (66,19; 173,97)	88,5 (59,5; 126,4)	0,001
ММЛЖ, г	207,9 (93; 294,6)	152,5 (97,47; 244,25)	0,004
тМЖП, см	1,0 (0,8; 1,34)	0,9 (0,7; 1,1)	< 0,001
тЗС, см	1,0 (0,8; 1,22)	0,9 (0,675; 1,1)	< 0,001
ФВ, %	62 (54,2; 70)	63 (52; 68,25)	0,673

венно; $p < 0,05$). Частота блокады правой и неполной блокады левой ножки пучка Гиса достоверно не различались в обеих группах (9,7 и 8,8%, $p > 0,05$; 22,6 и 8,8%, $p = \text{н. д.}$). ГЛЖ отмечалась у 45,2% пациентов с клинически выраженным и у 15,2% — с малосимптомным ПГПТ ($p = 0,013$). ИММЛЖ, ММЛЖ, тМЖП и тЗС ЛЖ были достоверно выше в 1-й группе пациентов (табл. 4).

Диастолическая дисфункция миокарда ЛЖ также достоверно чаще отмечалась в группе с клинически выраженным ПГПТ; пик Е, DT и IVRT у этих пациентов были значительно выше, а отношение Е/А ниже, чем у пациентов с малосимптомным гиперпаратиреозом (табл. 5).

Корреляционный анализ показателей всех пациентов с ПГПТ ($n = 65$) выявил достоверную среднюю положительную корреляцию между уровнем ПТГ и МЖП ($r = 0,34$), ИММЛЖ ($r = 0,32$), среднюю отрицательную связь между уровнем ионизированного кальция и отношением е/а по данным тканевого доплеровского исследования в МЖП ($r = 0,46$) и боковой стенке ЛЖ ($r = 0,36$). Прослеживалась четкая взаимосвязь между уровнем ПТГ, общего и ионизированного кальция и длительностью IVRT и интервала QTc (для ПТГ $r = 0,45$ и $r = -0,31$, для общего кальция $r = 0,40$ и $r = -0,44$, для ионизированного кальция $r = 0,41$ и $r = -0,45$ соответственно).

Таблица 5

Показатели диастолической дисфункции миокарда ЛЖ у пациентов с разной степенью выраженности ПГПТ

Показатель	Клинически выраженный ПГПТ (1-я группа)	Малосимптомный ПГПТ (2-я группа)	p
Диастолическая дисфункция:			
абс.	15	3	0,001
%	48,4	8,8	
Me (90% ДИ)			
Пик E, м/с	70 (43,6; 99,2)	77 (90% ДИ 57; 99)	0,136
Пик A, м/с	78 (47; 104,8)	68 (49,25; 94)	0,025
E/A	0,9 (0,536; 1,78)	1,16 (0,75; 1,8)	0,004
DT, мс	252 (158,4; 335)	208 (176; 292,8)	0,005
IVRT, мс	105 (76,3; 129,1)	84 (64,8; 109)	< 0,001

Обсуждение

Результаты нашего исследования свидетельствуют о более значимых нарушениях сердечно-сосудистой системы у больных с клинически выраженным ПГПТ (1-я группа). Пациенты данной группы более склонны к повышению АД, у них чаще развивается гипертрофия и диастолическая дисфункция ЛЖ, более выражены нарушения проводимости и отмечается удлинение электрической систолы ЛЖ. Вероятно, это обусловлено более выраженными изменениями уровня кальция и ПТГ и большей длительностью течения заболевания у пациентов с этой формой ПГПТ. У пациентов с малосимптомным ПГПТ (2-я группа) эти изменения сердечно-сосудистой системы менее выражены. Таким образом, пациенты с клинически выраженным ПГПТ, вероятно, имеют более высокий риск смерти от ССЗ, чем пациенты с бессимптомным ПГПТ. Последним в связи с этим может быть показана менее агрессивная медикаментозная терапия.

Гипертрофия ЛЖ отмечалась у 45,2% пациентов 1-й группы, что соответствует данным литературы [17], хотя некоторые исследователи сообщают о более частом ее выявлении [25, 28]; по-видимому, это связано с набором в основную группу пациентов с более тяжелым течением ПГПТ. Более высокая частота развития гипертрофии ЛЖ у больных 1-й группы в некоторой степени может быть связана с несколько большим количеством пациентов с повышенным АД в этой группе, что не противоречит другим исследованиям. Р. Uden [31], обследовавший 250 больных с ПГПТ, сообщает о более высокой частоте артериальной гипертензии среди пациентов старше 60 лет по сравнению с более молодыми (47 и 28% соответственно), а пациенты нашей группы с клинически выраженным ПГПТ были несколько старше таковых в группе с малосимптомным ПГПТ, хотя возрастные различия были недостоверны. Однако в целом ряде исследований [18, 31] показано, что гипертрофия ЛЖ у пациентов с ПГПТ не связана с уровнем АД и коррелирует с уровнем ПТГ и кальция. Считается, что ПТГ действует на кардиомиоциты через паратгормон/паратгормоноподобный пептид рецепторы, активируя каскад реакций с вовлечением протеинкиназы С, что приводит к активизации гипертрофических процессов в клетке, характеризующихся увеличением синтеза протеина и индукцией креатинкиназы цитоплазмы, молекулы которой часто обнаруживают в гипертрофированном миокарде. Активность протеинкиназы является кальцийзависимой и снижается под действием блокаторов кальциевых каналов, например верапамила [3].

В некоторых исследованиях у пациентов с ПГПТ была обнаружена диастолическая дисфункция миокарда ЛЖ [2, 8, 22, 24], тогда как ряд исследователей не выявили различий между пациентами с повышенными и нормальными показателями ПТГ и кальция крови [6]. Однако практически ни в одном исследовании в отличие от нашего не были совместно использованы тканевое доплеровское исследование, время изоволюмического расслабления ЛЖ и время замедления раннего ТМК для исключения псевдонормализации отно-

шения e/a , что влияло на результаты, затрудняя определение взаимоотношения между диастолической дисфункцией ЛЖ и ПГПТ. В нашем исследовании все вышеуказанные параметры диастолической функции ЛЖ достоверно различались у пациентов обеих групп: практически нормальные значения отмечались у пациентов с малосимптомным ПГПТ и выраженные нарушения диастолической функции — у пациентов с тяжелым ПГПТ.

О нарушениях ритма и проводимости при ПГПТ в литературе мало информации, часто это сообщения о единичных случаях выявления той или иной патологии [6, 15, 23]. В ранее проведенных исследованиях также было указано на укорочение интервала QT и QTc у пациентов с повышенным уровнем ПТГ и кальция [7, 20]. В нашем исследовании было четко продемонстрировано, что нарушения проводимости, а также укорочение интервала QTc чаще встречаются при "классических", чем при "мягких" формах ПГПТ, что, по-видимому, обусловлено более высоким уровнем кальция в крови этих пациентов. Точные электрофизиологические механизмы, лежащие в основе нарушений ритма у пациентов с ПГПТ, еще неизвестны, но, несомненно, гиперкальциемия, особенно при отягощенном кардиологическом анамнезе, может вызывать жизнеугрожающие нарушения ритма. Ее аритмогенный эффект может быть связан с возникновением ранних постдеполяризаций. Повышенный уровень кальция может привести и к развитию поздних постдеполяризаций, а также к укорочению рефрактерного периода и индукции механизма реентри [15]. Важно отметить, что при назначении таким пациентам лекарственных средств, влияющих на атриовентрикулярное проведение и реполяризацию миокарда ЛЖ, требуется особая осторожность.

Заключение

Полученные нами данные продемонстрировали:

1) отсутствие выраженных электро- и эхокардиографических нарушений у пациентов с малосимптомным первичным гиперпаратиреозом;

2) нарушение реполяризации (укорочение QTc) и диастолической функции левого желудочка, высокую частоту развития гипертрофии левого желудочка у пациентов с клинически выраженным первичным гиперпаратиреозом;

3) корреляцию между уровнем паратгормона, общего и ионизированного кальция и показателями, определяющими диастолическую функцию и гипертрофию левого желудочка, а также интервалом QTc .

Таким образом, степень выраженности нарушений сердечно-сосудистой системы у пациентов с первичным гиперпаратиреозом зависит от степени

повышения уровней паратгормона, общего и ионизированного кальция.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abergel E., Tase M., Bohlader J. // *Am. J. Cardiol.* — 1995. — Vol. 75. — P. 486–503.
2. Almqvist E. G., Bondeson A. G., Bondeson L. et al. // *Surgery.* — 2002. — Vol. 132. — P. 1126–1132.
3. Anderson P., Rydberg E., Willenheimer R. // *Eur. Heart J.* — 2004. — Vol. 25, N 20. — P. 1776–1787.
4. Bilezikian J. P., Silverberg S. J. // *N. Engl. J. Med.* — 2004. — Vol. 350. — P. 1746–1751.
5. Bilezikian J. P. et al. // *J. Clin. Endocrinol.* — 2007. — Vol. 87, N 12. — P. 5353–5361.
6. Chang C. J., Chen S. A., Tai C. T. et al. // *Pacing Clin. Electrophysiol.* — 2000. — Vol. 23. — P. 534–537.
7. Curione M., Letizia C., Amato S. et al. // *Int. J. Cardiol.* — 2007. — Vol. 121, N 2. — P. 200–202.
8. Dalberg K., Brodin L. A., Juhlin-Dannfelt A. et al. // *Eur. J. Surg.* — 1996. — Vol. 162. — P. 171–176.
9. De La Torre N. G. et al. // *Endocrine-Relat. Cancer.* — 2003. — Vol. 10. — P. 309–322.
10. Devereux R. B., Alonso D. R., Lutas E. M. et al. // *Am. J. Cardiol.* — 1986. — Vol. 15. — P. 450–458.
11. Dominiczak A. F., Lyall F., Morton J. J. et al. // *Clin. Sci.* — 1990. — Vol. 78. — P. 127–132.
12. Du Bois D., Du Bois E. F. // *Arch. Intern. Med.* — 1916. — Vol. 17. — P. 863–971.
13. Hedback G., Tisell L. E., Bengtsson B. A. et al. // *Wld J. Surg.* — 1990. — Vol. 14. — P. 829–835.
14. Hedback G., Oden A. // *Eur. J. Clin. Invest.* — 1998. — Vol. 28. — P. 271–276.
15. Kearney P., Reardon M., O'Hare J. // *Br. Heart J.* — 1993. — Vol. 70. — P. 473.
16. Kosch M., Hausberg M., Vormbrock K. et al. // *Am. J. Hypertens.* — 2000. — Vol. 13. — P. 759–764.
17. Langle F., Abela C., Koller-Strametz J. et al. // *Wld J. Surg.* — 1994. — Vol. 18. — P. 619–624.
18. Lumachi F., Ermani M., Luisetto G. // *Eur. J. Endocrinol.* — 2002. — Vol. 146. — P. 643–647.
19. Mihai R., Wasst J. A., nSadler G. F. // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* — 2008. — Vol. 68, N 2. — P. 155–164.
20. Namboodiri N., Bohora S., Dora S. K. et al. // *Singapore Med. J.* — 2008. — Vol. 49, N 2. — P. 160–163.
21. Nappi S., Saha H., Virtanen V. et al. // *Cardiology.* — 2000. — Vol. 93. — P. 229–233.
22. Nilsson I. L., Aberg J., Rastad J. et al. // *Surgery.* — 1999. — Vol. 129. — P. 1049–1055.
23. Ochetta E., Borthic M., Magnani A. et al. // *Europace.* — 2004. — Vol. 6, N 3. — P. 184–188.
24. Ohara N., Hiramatsu K., Shigematsu S. et al. // *Mineral Electrolyte Metab.* — 1995. — Vol. 21, N 3. — P. 63–66.
25. Piovesan A., Molineri N., Casasso F. et al. // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* — 1999. — Vol. 50. — P. 321–328.
26. Rubin M. R., Mauer M. S., McMahon D. J. et al. // *J. Clin. Endocrinol.* — 2005. — Vol. 90. — P. 3326.
27. Sahn D. J., DeMaria A., Kissio J., Weyman A. // *Circulation.* — 1978. — Vol. 58. — P. 1072–1083.
28. Stefenelli T., Abela C., Frank H. et al. // *J. Clin. Endocrinol.* — 1997. — Vol. 82. — P. 106–112.
29. Suliburg J. W. // *Oncologist.* — 2007. — Vol. 12. — P. 644–653.
30. Taylor R., Wagoneer A. D. // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* — 1992. — Vol. 5. — P. 603–612.
31. Uden P., Chan A., Duh Q. Y. et al. // *Wld J. Surg.* — 1992. — Vol. 16, N 4. — P. 791–797.
32. Wermers R. A., Khosla S., Atkinson E. J. et al. // *Am. J. Med.* — 1998. — Vol. 104. — P. 115–122.

Поступила 16.02.09

О. А. Герасименко, Л. К. Дзеранова, Л. Я. Рожинская

ПСЕВДОГИПОПАРАТИРЕОЗ: ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

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

В обзоре литературы подробно освещены вопросы генетики, особенностей наследования, клинической картины и лечения заболеваний группы псевдогипопаратиреоза (ПГПТ). В практической деятельности клиницисты чаще имеют дело с типом 1а ПГПТ, и диагностика этого типа не вызывает значительных сложностей. Однако, несмотря на малую распространенность остальных типов ПГПТ — 1b, 1c и 2, заболевания могут протекать с выраженной клинической симптоматикой и представлять значительную проблему в плане диагностики и лечения. Данный обзор может представлять интерес как для клиницистов, так и для генетиков, интересующихся этой проблемой.

Ключевые слова: гипопаратиреоз, псевдогипопаратиреоз, псевдо-псевдогипопаратиреоз, гиперкальциемия, остеопороз, генетические аспекты.

O. A. Gerasimenko, L. K. Dzeranova, L. Ya. Rozhinskaya

PSEUDOHYPOPARATHYROIDISM: GENETIC ASPECTS

Endocrinology Research Center, Russian Agency for Medical Sciences, Moscow

The review of literature details the issues of genetics, the specific features of inheritance, the clinical picture and treatment of pseudohypoparathyroidisms (PHPT). In practice, clinicians more frequently deal with type 1 PHPT and the diagnosis of this type creates no significant problems. However, despite the low prevalence of the other types of PHPT — 1b, 1c, and 2, the diseases may run with noticeably clinical symptoms and present a significant problem in the context of diagnosis and treatment. This review may be of concern to both clinicians and geneticists who are interested in this problem.

Key words: hypoparathyroidism, pseudohypoparathyroidism, pseudo-pseudohypoparathyroidism, hypercalcemia, osteoporosis, genetic aspects.

Псевдогипопаратиреоз (ПГПТ) — группа заболеваний, главной особенностью которых является резистентность органов-мишеней к действию паратиреоидного гормона (ПТГ). Интересно, что это первое эндокринное заболевание, при котором было выявлено нарушение чувствительности органов-мишеней к гормону. В настоящее время выделяют следующие типы ПГПТ — 1a, 1b, 1c и 2, отличающиеся клинической картиной и патогенезом (Online Mendelian Inheritance in Man 103580, 603233).

Впервые заболевание было описано F. Albright в 1942 г. на примере трех пациентов с гипокальциемией, гиперфосфатемией, сохранной функцией почек, не отвечающих на введение экстракта коровьих паратиреоидных желез. Он предположил, что клинические проявления обусловлены скорее резистентностью к ПТГ, чем его недостаточностью, и назвал заболевание "псевдогипопаратиреозом". У всех пациентов наблюдались сходные внешние признаки, включая ожирение, низкий рост, округлое лицо и укороченные пястные кости [5, 9].

ПТГ реализует свое действие в органах-мишенях за счет связывания с трансмембранным кальций-чувствительным рецептором. В 1977 г. было показано, что рецепторный комплекс состоит по меньшей мере из 3 компонентов: рецептора, каталитического фермента аденилатциклазы и Gs протеина (пептида суперсемейства гуанозин-связывающих протеинов).

Gs состоит из α , β - и γ -субъединиц. Так как Gs протеин является важнейшей сигнальной молекулой и обеспечивает передачу сигналов множества внеклеточных мессенджеров, то изменения в структуре данного белка приводят к целому спектру патологий [4, 6]. Развитие ПГПТ связывают с молекулярным дефектом гена GNAS1, расположенного на длинном плече хромосомы 20q13.2. Этот ген кодирует α -субъединицу G-протеина. В табл. 1 представлены примеры мутаций гена GNAS, приводящих к различным типам ПГПТ [2, 11, 15, 17].

Два других варианта ПГПТ — тип 1c и тип 2 — гораздо менее изучены, чем предыдущие. Пациенты с типом 1c не имеют явного дефекта Gs протеина, несмотря на наличие клинических и лабораторных признаков, схожих с таковыми у пациентов с типом 1a. Пациенты с типом 2 имеют патологию скелета и дефекты развития, так же как и пациенты с 1b типом, но в противоположность им демонстрируют нормальный ответ на введение ПТГ в виде усиления экскреции цАМФ с мочой [18].

Пациенты с ПГПТ типа 1a имеют, как правило, достаточно характерный фенотип: низкий рост, коренастое телосложение, ожирение, отставание в развитии, округлое лицо, гипоплазию десен, укорочение метакarpальных и метатарзальных костей, кальцификацию мягких тканей [3, 18]. Гипокальциемия у взрослых и детей часто протекает бессимптомно, однако у многих больных могут развиваться парестезии, мышечные подергивания, тетания, судорожный синдром. Пациенты с типом 1a могут страдать нарушением вкуса, обоняния, зрения и слуха (табл. 2).

Нарушения репродуктивной системы чаще встречаются у пациентов с ПГПТ типа 1a, у женщин могут иметь место задержка полового созрева-

Информация для контактов:

Герасименко Ольга Александровна, клинический ординатор отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий
Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, 11
Телефон: 8-499-124-43-02
E-mail: olga84J@ayandex. ru

Таблица 1

Примеры мутаций гена GNAS1, приводящие к различным типам ПГП [2, 11, 15, 17]

Исследователи	Год	Описание мутации
J. Patten и соавт.	1989, 1990	В семье, где мать и сын страдали ПГПТ1а, было установлено наличие мутации в гетерозиготном состоянии гена GNAS1 — замена аденина на гуанин в 1-м экзоне гена; впервые было показано, что мутация локуса гена GNAS1 приводит к остеодистрофии Олбрайта
L. Weinstein и соавт.	1990	Определение гетерозиготной мутации у 4 сестер, страдающих ПГПТ1а, — замена гуанина на цитозин в 10-м интроне гена GNAS1, приводящая к мутации в участке сплайсинга; интересно, что у матери пациенток также была выявлена мутация в гетерозиготном состоянии — делеция гуанина в 10-м экзоне гена GNAS1, приводящая к сдвигу "рамки считывания"
L. Weinstein и соавт.	1992	Определение мутации в гетерозиготном состоянии в виде 4-бр делеции в 7-м экзоне гена GNAS1 у пациента с ПГПТ1а, приводящая к сдвигу "рамки считывания" и возникновению преждевременного стоп-кодона
M. Aldred и соавт.	2000	Подтверждено, что повторяющиеся 4-бр делеции в 7-м экзоне GNAS1 гена распространены у пациентов с ПГПТ1а; также была выявлена мутация в гетерозиготном состоянии в виде 12-бр вставки в 13-м экзоне GNAS1 гена, приводящая к ПГПТ1а
G. Mantovani и соавт.	2000	Открытие двух новых делеций со сдвигом рамки считывания, приводящих к ПГПТ1а; в одном случае была выявлена делеция 1-бр внутри 38-го кодона 1-го экзона GNAS1 гена, в другом — 2-бр делеция внутри 287-го кодона 11-го экзона того же гена
A. Linglart и соавт.	2002	Исследованы 17 пациентов с клинической картиной ПГПТ1а; 14 из них являлись гетерозиготами по мутации GNAS1 гена; было выявлено 11 новых мутаций и определена мутагенная "горячая точка" (участок хромосомы, характеризующийся повышенной частотой спонтанных мутаций), включающая 189—190-й кодоны
		У пациентки с ПГПТ1с была выявлена мутация в гетерозиготном состоянии 13-го экзона GNAS1 гена

вания, олигоменорея, бесплодие. При типе 1а у лиц мужского пола может развиваться тестостоксикоз — гонадотропин-независимое преждевременное половое развитие, что было описано у двоих мальчиков с типом 1а [14]. Обычно пациенты с ПГПТ типа 1а страдают резистентностью к ЛГ, что в дальнейшем приводит к первичному гипогонадизму. Парадоксальный тестостоксикоз, описанный у этих пациентов, возник в результате точечной мутации гена GNAS1, которая привела одновременно к снижению и возрастанию функции Gs протеина. ПГПТ типа 1а характеризуется снижением функции Gs протеина вследствие температурной инактивации мутантного белка при температуре тела. Тестостоксикоз указывает на органоспецифическое усиление функции Gs протеина из-за экспрессии мутантного белка. Пониженная температура яичек предохраняет мутантный белок от термической инактивации.

Снижение интеллекта, памяти отмечается примерно в половине случаев ПГПТ типа 1а и связано больше с недостаточностью Gs протеина, чем с хронической гипокальциемией, потому что у больных с другими формами ПГПТ и гипокальциемией умственные функции сохранены [5, 16].

В настоящее время известно несколько вариантов ПГПТ, наиболее изучен тип 1а. Изначально считалось, что ПГПТ и остеодистрофия Олбрайта наследуются по X-сцепленному доминантному механизму. Это предположение базировалось на наблюдении, что женщины болеют в 2 раза чаще мужчин. Тем не менее J. Mapp и соавт. в 1962 г. [10] обнаружили, что только 4 из 36 больных женщин страдали неполной формой заболевания, 6 из 14 больных мужчин не имели полного проявления. Эта находка, в противоположность остальным X-сцепленным заболеваниям, показала, что заболевание наследуется в действительности по типу связанного с полом доминирования (т. е. доминирования аутосомного аллеля в зависимости от пола —

доминирование у самцов и рецессивность у самок и наоборот).

Несколько других пептидных гормонов, включая тиреотропин, антидиуретический гормон, гонадотропины, глюкагон, АКТГ и соматолиберин, также реализуют свое действие в тканях-мишенях посредством α -субъединицы Gs протеина [6]. У пациентов с ПГПТ типа 1а может быть резистентность и к этим гормонам, хотя, как правило, чувствительность к АКТГ и глюкагону сохранена. Установлено, что при ПГПТ типа 1а снижен ответ соматотрофов на действие соматолиберина, и, как следствие, дефицит соматотропного гормона гипофиза, что может обуславливать такие клинические признаки, как низкий рост, ожирение [7, 13]. Доказано, что доминантный тип наследования ПГПТ типа 1а связан с неполным доминированием гена

Таблица 2

Распространенность клинических симптомов при ПГПТ типа 1а по D. Cole и соавт. [5]

Клинический симптом	Частота, %
Низкий рост	80
Ожирение	50
Округлое лицо	92
^b Помутнение хрусталика	44
Стробизм	10
^b Гипоплазия десен	51
^b Кальцификация базальных ганглиев	50
Гиперостоз костей свода черепа	62
Нарушение мышления	75
Укорочение метакarpальных костей	68
Укорочение метатарзальных костей	43
Укорочение пальцев	50
Снижение МПКТ	15
Эктопическая оссификация	56
^b Подкожная кальцификация	55

Примечание. ^bПризнаки, встречающиеся и при других формах гипопаратиреоидной гипокальциемии; МПКТ — минеральная плотность костной ткани.

GNAS1. Это означает, что протеин, продуцируемый с единственного неизмененного аллеля, не может обеспечить адекватное функционирование Gs белка, хотя достаточен для выживания. При наличии неизмененного аллеля также сохраняется чувствительность к таким гормонам, как глюкагон и АКТГ.

В последующих исследованиях получены новые интересные данные. Было замечено, что среди членов одной семьи могут быть носители мутантного GNAS-гена, имеющие резистентность к ПТГ, тогда как у остальных членов присутствует характерный фенотип остеодистрофии Олбрайта, но отсутствует резистентность к ПТГ; последняя группа была названа псевдо-псевдогипопаратиреоз (П-ПГПТ). В 1993 г. были проанализированы родословные пациентов, страдающих ПГПТ и П-ПГПТ, и установлено, что лица, наследующие дефектный ген от отца, имели в дальнейшем П-ПГПТ, потому что мутировавший ген не экспрессировался и продукт одиночного материнского гена сохранял нормальный ответ на воздействие ПТГ и тиреотропина. Тем не менее наличие фенотипа дистрофии Олбрайта у пациентов с П-ПГПТ указывает на то, что экспрессия единственного гена GNAS1 не является достаточной для всех тканей.

Пациенты с типом 1b имеют определенную генетическую и биохимическую картину заболевания, у них отсутствуют или слабо выражены фенотипические признаки остеодистрофии Олбрайта, нормальный уровень продукции G-протеина и ограниченная резистентность к ПТГ в органах-мишенях. Резистентность к ПТГ может наблюдаться только в почках, а в костной ткани может сохраняться адекватный ответ на воздействие гормона [5].

Исследователи предположили, что наследование ПГПТ типа 1b происходит по аутосомно-доминантному типу, но мутация, приводящая к заболеванию, не была обнаружена ни в гене, кодирующем ПТГ, ни в его рецепторе. В 1998 г. были обследованы 4 пациента с ПГПТ типа 1b, являющиеся членами одной семьи. В результате были получены данные, согласно которым неизвестный ген был импринтирован по отцовской линии и расположен на небольшом участке 20q13.3, очень близко к GNAS1 гену. Геномный импринтинг является формой неменделевского эпигенетического наследования, которое характеризуется дифференциальной экспрессией гена в зависимости от его родительского происхождения — матери или отца. Известно уже около 60 импринтированных генов, многие из которых оказывают существенное влияние на рост и развитие плода. Основным эпигенетическим модификатором генома является метилирование участков ДНК, за счет чего процесс считывания информации с этих участков становится невозможным [1].

При дальнейших исследованиях было установлено, что мутация промотора или энхансера гена GNAS вызывает нарушение процессов метилирования этого гена и соответственно нарушение процесса импринтинга, в результате отсутствует экспрессия Gs протеина в почках, но не в других тканях, что приводит к почечной резистентности к

ПТГ. В 2001 г. W. Wu и соавт. [19] исследовали новую открытую мутацию 3'-конца гена GNAS1 у 3 пациентов с ПГПТ типа 1b. Эта же мутация была обнаружена у матери пациентов и у отца матери, хотя клинические признаки заболевания не определялись. Отсутствие резистентности к ПТГ у лиц, которые являлись носителями той же самой мутации, согласовывалось с текущей моделью родительского импринтинга гена [19]. Окончательно установлено, что ПГПТ типа 1b связан с отсутствием метилирования экзона A/B материнского гена GNAS1 вследствие микроделеции на участке STX16 гена.

При объективном осмотре могут быть выявлены признаки гипокальциемии в виде положительных симптомов Труссо, Хвостека. Самым характерным признаком остеодистрофии Олбрайта является брахидактилия, она может быть как симметричной, так и асимметричной, может поражать одну или две конечности. Укорочение метакarpальных костей приводит к укорочению пальцев, особенно IV и V. Указанный симптом может быть установлен при осмотре, а также при проведении рентгенографии кистей рук, в дополнение данное исследование помогает обнаружить кальцификацию мягких тканей [5].

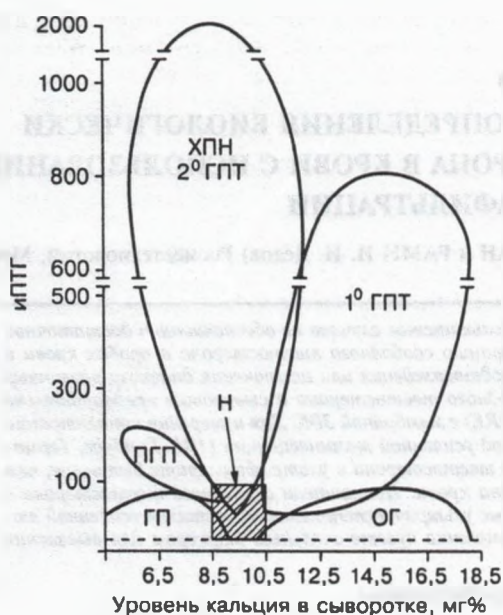
Характерным клиническим симптомом ПГПТ является выраженный остеопороз, так как чувствительность рецепторов костной ткани к ПТГ остается сохранной.

У пациентов с П-ПГПТ также имеются признаки, характерные для остеодистрофии Олбрайта, но отклонения в биохимических параметрах отсутствуют.

Для пациентов ПГПТ типа 1b характерна гипокальциемия, но признаков остеодистрофии Олбрайта нет, выраженность гипокальциемии может значительно варьировать среди членов одной семьи.

Что касается данных лабораторных исследований, то для ПГПТ характерно следующее: снижение концентрации кальция в крови (как общего, так и ионизированного), увеличение содержания фосфора, повышение уровня ПТГ (следует отметить, что если при наличии гипокальциемии определяется повышение уровня ПТГ, то дифференциальный диагноз проводится между какой-либо формой ПГПТ и вторичным гиперпаратиреозом (см. рисунок).

Для оценки чувствительности тканей к ПТГ рекомендуется проводить следующую пробу: в течение 5–10 мин в/в вводят 200 ед. терипаратида (синтетический человеческий ПТГ), определяют концентрацию цАМФ и фосфата в суточной моче. У здоровых людей после введения терипаратида концентрация цАМФ в моче возрастает в 10–30 раз; экскреция фосфата усиливается более чем в 2 раза. При ПГПТ типа 1a концентрации цАМФ и фосфата не увеличиваются. При ПГПТ типов 1b и 1c концентрация цАМФ не повышается или увеличивается незначительно, концентрация фосфата не изменяется или незначительно повышается. При ПГПТ типа 2 и П-ПГПТ концентрация цАМФ растет, а содержание фосфата остается прежним [16]. Для подтверждения диагноза необходимо также



Результаты, полученные при одновременном определении уровня иммунореактивного паратиреоидного гормона (иПТГ, произвольные единицы) и кальция в сыворотке крови при различных патологических состояниях фосфорно-кальциевого обмена.

Н — данные, полученные у здоровых людей, ОГ — у пациентов с опухолевой гиперкальциемией, ГП — у больных гипопаратиреозом, ПГПТ — псевдогиперпаратиреозом, ХПН, 2° ГПТ — хронической почечной недостаточностью и вторичным гиперпаратиреозом, 1° ГПТ — первичным гиперпаратиреозом (по Potts J. и соавт.).

проведение генетического анализа — определение молекулярной структуры гена GNAS1.

Что касается лечения ПГПТ, то, согласно общепринятому мнению исследователей, необходимыми компонентами являются препараты кальция, активные метаболиты витамина D и их аналоги. В процессе терапии необходимо постоянно мониторировать биохимические показатели крови. Рекомендованная доза элементарного кальция составляет от 1 до 3 г в сутки, доза кальцитриола — от 0,25 мг 2 раза в сутки до 0,5 мг 4 раза в сутки [9]. При сохранении высокого уровня фосфатов крови рекомендовано использование гипофосфатной диеты и назначение препаратов, связывающих фосфор, таких как карбонат кальция, ацетат кальция. Пациентам, у которых имеются эктопические кальцификаты, в ряде случаев необходимо хирургическое лечение. Доказано, что при ПГПТ имеется недостаточность секреции гормона роста, что может обуславливать такие клинические проявления заболевания, как низкий рост, ожирение [12]. Согласно изложенным фактам, терапия препаратами гормона роста является необходимым компонентом. Для уточнения вопроса о целесообразности такой тера-

пии запланировано проведение клинического исследования "Изучение использования гормона роста при лечении ПГПТ тип 1a и П-ПГПТ" (Clinical trials.gov. identifier NCT00209235).

Таким образом, ПГПТ — достаточно редкое заболевание. Если диагностика ПГПТ типа 1a не представляет особенных трудностей, то распознать наличие ПГПТ типа 2 часто бывает достаточно сложно ввиду отсутствия характерных клинических симптомов, поэтому данное заболевание может долгое время оставаться недиагностированным и нелеченным. Это в свою очередь приводит к выраженному ухудшению состояния пациента и прогрессированию патологических изменений органов и систем. Изучение генетики ПГПТ является обязательным для лучшего понимания механизма наследования данной патологии, молекулярных изменений генома, приводящих к нарушениям процесса биосинтеза. Однако генетическое исследование является дорогостоящим и должно выполняться строго по показаниям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Назаренко С. А. // Бюл. сиб. мед. — 2004. — № 3. — С. 8—16.
2. Aldred M. A., Bagshaw R. J., MacDermot K. et al. // J. Med. Genet. — 2000. — Vol. 37. — P. e35.
3. Bastepe M., Juppner H. // Endocrinol. Metab. Clin. N. Am. — 2000. — Vol. 29, N 3. — P. 569—589.
4. Bastepe M., Pincus J., Sugimoto T. et al. // Hum. Mol. Genet. — 2001. — Vol. 10. — P. 1231—1241.
5. Cole D. E. C., Carpenter T. O., Goltzman D. // Pediatric Endocrinology. — 2nd ed. — New York, 1989. — P. 509—580.
6. Farfel Z., Bourne H. R., Iiri T. // N. Engl. J. Med. — 1999. — Vol. 340. — P. 1012.
7. Germain-Lee E., Groman J., Crane J. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2003. — Vol. 88. — P. 4059—4069.
8. Levine M. A. // Endocrinology / Eds J. DeGroot et al. — 4th Ed. — Philadelphia, 2001. — P. 1133—1153.
9. Maeda S., Fortes E., Oliveira U. et al. // Arq. Bras. Endocrinol. Metab. — 2006. — Vol. 50, N 4. — P. 45—52.
10. Mann J. B., Alterman S., Hill A. G. // Ann. Intern. Med. — 1962. — Vol. 56. — P. 315—342.
11. Mantovani G., Romoli R., Weber G. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2000. — Vol. 85. — P. 4243—4248.
12. Mantovani G., Maghnie M., Weber G. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2003. — Vol. 88, N 9. — P. 4070—4074.
13. Mantovani G., Bondioni S., Linglart A. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2007. — Vol. 92, N 9. — P. 3738—3742.
14. Nakamoto J., Zimmerma D., Jones E. et al. // Biochem. Mol. Med. — 1996. — Vol. 58. — P. 18—24.
15. Patten J. L., Smallwood P. M., Eil C. et al. // Am. J. Hum. Genet. — 1989. — Vol. 45. — Suppl. — A212.
16. Root A. W., Diamond F. B. Jr., Mimouni F. B. // Pediatric Endocrinology. — Philadelphia, 1996. — P. 477—507.
17. Weinstein L. S., Gejman P. V., Friedman E. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1990. — VI. 87. — P. 8287—8290.
18. Wilson L. C., Trembath R. C. // J. Med. Genet. — 1994. — Vol. 31. — P. 779—784.
19. Wu W., Schwindinger W., Aparicio L., Levine M. // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276. — P. 165—171.

Поступила 16.12.08

Н. М. Малышева, Г. В. Кация, Н. П. Гончаров

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО СВОБОДНОГО ТЕСТОСТЕРОНА В КРОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СОВРЕМЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ

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

Современные методы иммуноанализа общего тестостерона в крови в большинстве случаев не обеспечивают достаточной диагностической точности. В данной работе мы определяли концентрацию свободного тестостерона в пробах крови и слюны 189 мужчин (19–83 лет), которые обращались в клинику для подтверждения или исключения диагноза различных нарушений функции эндокринных желез. Для определения уровня свободного тестостерона в сыворотке предварительно проводили ультрафильтрацию на фильтрах Amicon® Ultra-4 (MILLI-PORE) с мембраной 30K. Для измерения концентрации в ультрафильтрате и слюне использовали ультрачувствительный метод усиленной люминесценции (IBL-Гамбург, Германия). Процент выявления андрогенного дефицита по уровню свободного тестостерона в ультрафильтрате был выше, чем по уровню общего тестостерона и расчетного свободного тестостерона крови. Показатели свободного тестостерона в слюне и в сыворотке с предварительной ультрафильтрацией, измеренные ультрачувствительным методом усиленной люминесценции, могут служить дополнительным к клинической симптоматике чувствительным маркером для выявления различных форм нарушений андрогенного статуса.

Ключевые слова: свободный тестостерон в крови и слюне, ультрафильтрация.

N. M. Malysheva, G. V. Katsiya, N. P. Goncharov

DIAGNOSTIC CAPACITIES OF DETERMINATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE FREE TESTOSTERONE IN BLOOD, BY USING CURRENT ULTRAFILTRATION TECHNIQUES

Endocrinology Research Center, Russian Agency for Medical Sciences, Moscow

In most cases, current methods for immunoassay of blood total testosterone fail to provide a sufficient diagnostic accuracy. The authors measured the concentration of free testosterone in the blood and saliva samples from 189 males aged 19 to 83 years who had come to the clinic to confirm or exclude the diagnosis of various endocrine dysfunctions. Ultrafiltration had been previously carried on Amicon® Ultra membrane 30K filters (MILLIPORE) to determine the serum level of free testosterone. The ultrasensitive enhanced luminescence technique (IBL-Hamburg, Germany) was used to measure its concentration in the ultrafiltrate and saliva. The detection rate of androgen deficiency from the levels of free testosterone in the ultrafiltrate was higher than that from those of total testosterone and calculated free testosterone in blood. The preultrafiltration salivary and serum free testosterone values measured by the ultrasensitive enhanced luminescence technique may complement a sensitive marker of clinical symptoms to detect different forms of androgenic disorders.

Key words: blood and salivary free testosterone, ultrafiltration.

В настоящее время трудности диагностики андрогенного дефицита связаны, в частности, с отсутствием адекватного маркера, а также чувствительного и специфичного метода его определения. В начале 2007 г. опубликовано официальное заявление Международной ассоциации эндокринологов о недопустимости использования прямых неэкстракционных методов определения общего тестостерона в диапазоне его низких концентраций (< 11 нмоль/л), поскольку это ведет к ошибкам в диагностике с последующим назначением неправильного лечения [10].

Согласно современным представлениям о свободных формах циркулирующих в крови гормонов, уровень свободного тестостерона (св.Т) отражает андрогенный статус более адекватно, чем содержание в крови общего тестостерона (об.Т) [4]. Поэтому разработка надежных аналитических методов

определения св.Т обеспечила бы наиболее надежную диагностику андрогенного статуса пациента.

Коммерческие диагностические наборы для прямого измерения свободных стероидов, в особенности тестостерона, в крови, пока не применимы для диагностического исследования и могут использоваться лишь в научных целях [3, 11]. Группой Vermeulen предложена формула для расчета концентрации св.Т на основе определения в крови об.Т и глобулина, связывающего половые гормоны (СССГ) [13], что требует четкого представления об истинных концентрациях об.Т и СССР. Однако современные автоматизированные методы измерения об.Т дают неоднозначные результаты; нижний предел референсного интервала в различных лабораториях варьирует от 4,5 до 15,6 нмоль/л, т. е. разброс достигает 350% [2, 5, 9, 12]. Необходимость определения СССР значительно удорожает стоимость такого подхода.

Традиционно отделение св.Т от тестостерона, связанного с белками сыворотки, проводится методом равновесного диализа, позднее появился метод ультрафильтрации (УФ). Технология УФ, предложенная рядом авторов, позволяет точно выделять свободные формы тестостерона и других стероидов [7, 8]. При этом необходим сверхчувствительный и высокоспецифичный метод определе-

Информация для контактов:

Гончаров Николай Петрович, доктор мед. наук, профессор, действительный член Европейской академии андрологии, руководитель лаборатории новых методов гормонального анализа ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий
Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, 11
Телефоны: 8-495-324-95-29, 8-499-124-45-01
Goncharov N.@aEndocrin.centr.ru

ния низкой концентрации св.Т в фильтрате. Группа авторов, выполнив большое сравнительное исследование, рекомендовала использовать в качестве метода, разделяющего общий и свободный Т, технологию УФ вместо диализа с последующим количественным измерением концентрации св.Т методом масс-спектрометрии [14].

Поскольку точное определение уровня св.Т в крови сопряжено с технологическими трудностями, параллельно ведутся исследования по его определению в другой биологической жидкости — слюне, куда поступают только свободные формы стероидов, включая тестостерон (гормон, связанный с СССГ и альбумином, задерживается на мембране слюнных желез [15]).

Метод определения тестостерона в слюне прост, неинвазивен и имеет большие преимущества перед традиционными методами определения концентрации стероидов в венозной крови, взятие проб которой требует квалифицированного персонала и само по себе является добавочным стрессорным фактором, способным исказить гормональные параметры.

В процессе развития методов гормонального анализа неоднократно предпринимались попытки использования слюны в качестве биологической среды для диагностики гормональных нарушений. Однако радиоиммунологический анализ, а в последующем и иммуноферментные методы, не обладали достаточной чувствительностью, необходимой для определения низких концентраций свободных стероидов в слюне. Поэтому для анализа были необходимы большие объемы слюны (до 3 мл) и последующая экстракция огнеопасным и взрывоопасным диэтиловым эфиром. Такую технологию невозможно адаптировать для рутинного использования в клинических гормональных лабораториях.

Появление современной технологии иммуноанализа, основанной на усиленной хемилюминесценции (LIA), сочетающей ультрачувствительность и высокую специфичность, сделало возможным определение низких концентраций в малых объемах [1].

Целью настоящей работы являлось изучение возможности LIA в оценке андрогенного статуса по содержанию св.Т в слюне и в сыворотке при использовании в качестве разделяющего метода технологии УФ.

Материалы и методы

Пробы крови и слюны были собраны от 189 мужчин, обратившихся в клинику Эндокринологического научного центра для подтверждения или исключения диагноза различных форм гипогонадизма, возрастного андрогенного дефицита, сексуальной дисфункции и других нарушений гормональной функции яичек. Возраст пациентов колебался от 19 до 83 лет.

Кровь брали из локтевой вены натощак в 9–10 ч утра. После ее центрифугирования сыворотку аликвотировали по 0,5 мл в 3 пробирки и хранили до анализа при -20°C . Для определения концентрации св.Т в слюне три ее порции отбирали в течение 1 ч с интервалом в 20 мин; перед тестирова-

нием равные количества всех взятых проб слюны смешивали, усредняя концентрацию св.Т, реально отражающую уровень гормона. Пробы, контаминированные кровью (концентрация тестостерона в которой в 10–15 раз выше, чем в слюне), исключали из анализа. Слюну хранили при -20°C . Перед тестированием пробы размораживали и центрифугировали. Св. Т измеряли в 50 мкл слюны в дубликатах.

Уровень об.Т и СССГ в пробах крови определяли методом усиленной хемилюминесценции с помощью автоматических анализаторов Vitros Eci (Ortho-Clinical Diagnostics, J&J, Великобритания) и Elecsys 2010 (Hoffmann—La Roche) соответственно. Концентрацию св.Т в сыворотке определяли после отделения св.Т методом УФ. Пробы сыворотки (0,5 мл) помещали в вертикальный центрифужный фильтр Amicon® Ultra-4 (MILLIPORE) с мембраной 30K — 30,000 NMWL. Затем добавляли 0,7 мл буфера (pH 7,4) следующего состава (в граммах на 1 л бидистиллированной воды): HEPES — 12,57; NaCl — 5,265; K_2HPO_4 — 0,224; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,275; мочевины — 0,3; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ — 0,275; NaOH — 0,9.

Смесь сыворотки с буфером инкубировали 30 мин на водяной бане при 37°C , затем центрифугировали 15 мин при 37°C и 5250 g; центрифугу предварительно прогревали в течение 30 мин при 37°C в работающем режиме (5250 g). Уровень св.Т в ультрафильтрате определяли методом усиленной люминесценции LIA (IBL-Гамбург, Германия), основанном на принципе конкурентного связывания. Люминесцентный сигнал регистрировали на мультианализаторе Victor ("Wallac", Финляндия).

Концентрацию св.Т в слюне определяли также LIA-методом для сравнения ее с аналогичным показателем в ультрафильтрате сыворотки. Метод адаптирован нами для прицельной диагностики андрогенного дефицита у мужчин и женщин. Подробная процедура анализа описана ранее [6].

Концентрацию св.Т в крови вычисляли по формуле с учетом содержания в крови об.Т и СССГ [13] (сайт в Интернете <http://www.issam.ch/freetest-to.htm>).

Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica for Windows, StatSoft, Inc. (1999). Результаты представлены в виде медианы и 2,5/97,5-перцентилей. Соответствие распределения показателей нормальному оценивали по критерию Колмогорова—Смирнова. При $p < 0,05$ распределение признака считалось отличающимся от нормального. Для оценки связи между различными показателями был использован ранговый тест Спирмена. Различия при $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

Результаты и их обсуждение

Суммарные показатели у обследованных мужчин представлены в табл. 1.

Наблюдаются значительные различия средних значений показателей, определенных различными методами. По нашим данным, уровень св.Т (в % от общего) составил (медиана и 2,5/97,5-перцентили)

Таблица 1

Гормональная характеристика пациентов ($n = 189$), включенных в исследование

Показатель	$M \pm \sigma$	Медиана	Разброс 2,5/97,5 проценти
об.Т, нмоль/л	$15,6 \pm 7,0$	14,7	2,2–33,2
св.Т крови (УФ), пмоль/л	144 ± 85	130	6,3–359
св.Т слюны, пмоль/л	418 ± 206	368	119–878
Расчетный св.Т, пмоль/л	298 ± 141	279	47–601
СССГ, нмоль/л	$40,3 \pm 15,9$	36,8	18,6–76,7

2,6% (1,0–8,1%) при определении в слюне, 1,9% (1,1–2,7%) — при расчетном способе и 0,9% (0,21–2,1%) — при определении в сыворотке с предварительной УФ.

С помощью УФ и последующего количественного измерения концентрации св.Т референсным методом масс-спектрометрии его содержание в сыворотке мужчин другие авторы находили равным 1,8% от об.Т, а при использовании диализа — 2,2% [7].

Связь между анализируемыми параметрами оценивали по ранговому тесту Спирмена (табл. 2).

Статистически значимая корреляция регистрировалась между всеми определяемыми маркерами андрогенного гомеостаза: об.Т, св.Т в крови (УФ), св.Т в крови (расчетный метод) и св.Т в слюне. Наиболее сильная связь наблюдалась между об.Т и расчетным св.Т. Наличие такой связи заключено в самом принципе расчетного метода, в котором концентрация об.Т (наряду с содержанием СССРГ) является детерминантой св.Т. Показатели св.Т в крови после УФ сохраняли значимую положительную связь с показателями расчетного св.Т. Более слабая зависимость характерна для показателей св.Т в слюне.

Необходимо подчеркнуть, что коэффициент корреляции не отражает существования причинно-следственных связей. Для выявления андрогенного дефицита необходимо знать абсолютные концентрации тестостерона.

Для количественной оценки абсолютных показателей все пациенты были условно разделены на 2 группы, исходя из нижней границы интервала референсных значений об.Т в крови (> 11 и < 11 нмоль/л соответственно).

Можно видеть, что в зависимости от содержания об.Т в выделенных подгруппах статистически значимо снижаются все исследуемые показатели св.Т.

Таблица 2

Корреляция анализируемых показателей

Показатель	r	p
об.Т/св.Т крови (УФ)	0,494	$< 0,001$
об.Т/св.Т слюны	0,472	$< 0,001$
об.Т/расч. св.Т	0,864	$< 0,001$
св.Т крови (УФ)/св.Т слюны	0,414	$< 0,001$
св.Т крови (УФ)/расч. св.Т	0,600	$< 0,001$
св.Т слюны/расч. св.Т	0,489	$< 0,001$

Примечание. расч. — расчетный.

Таблица 3

Показатели св. Т у мужчин (медиана и 2,5/97,5 проценти

Группа	об.Т	св.Т, пмоль/л		
		слюна	кровь (расчетный)	сыворотка (после УФ)
об.Т > 11 , нмоль/л ($n = 148$)	17,3 1,8–33,2	405 161–836	309 204–604	151 52–370
об.Т < 11 , нмоль/л ($n = 41$)	8,6 0,6–10,9	274 44–660	170 10–246	85 5,7–197

Примечание. $p < 0,001$ между показателями у пациентов двух групп.

При расчете среднего показателя СССРГ медиана для подгруппы с нормальным и высоким содержанием об.Т составила 38,7 нмоль/л, для подгруппы с низким содержанием об.Т — 28,2 нмоль/л ($p = 0,001$). Однако корреляции между показателями св.Т и СССРГ не наблюдалось ни в одном случае. Это связано со сложностью белковых взаимодействий гормонов и разнообразием факторов, модулирующих содержание СССРГ в сыворотке.

В обеих группах сохранялась корреляция, характерная для всей группы в целом.

Интересно, что в подгруппе пациентов с нормальным содержанием об.Т регистрировалось значимое снижение показателя св.Т с возрастом пациентов ($r = -0,22$, $p < 0,02$), тогда как в отношении об.Т эта зависимость не прослеживалась. В подгруппе с содержанием об.Т менее 11 нмоль/л корреляция отсутствовала между всеми показателями.

При анализе процентного соотношения св.Т и об.Т в подгруппах (табл. 4) выявлено статистически значимое повышение св.Т в слюне и расчетного св.Т у пациентов с содержанием об.Т ниже референсного предела.

Относительно низкий процент св.Т в ультрафильтрате может быть связан с более точным выделением именно свободной фракции гормона, тогда как расчетные показатели в сыворотке и особенно в слюне могут включать некоторое количество св.Т из легко диссоциирующей его связи с альбумином.

Если при анализе результатов в качестве пограничного критерия норма/андрогенный дефицит использовать нижний предел референсных значений, то, по данным расчетного метода, сниженная концентрация св.Т определялась в 15% случаев (референсный интервал 225–545 пмоль/л); по результатам определения в слюне — в 18% случаев (референсный интервал 260–555 пмоль/л), при опреде-

Таблица 4

Процент св.Т от об.Т в группах (медиана и 2,5/97,5 проценти

св.Т, %	об.Т > 11 , нмоль/л	об.Т < 11 , нмоль/л	p
Слюна	2,5 1,0–4,4	3,6 2,2–17,0	$< 0,001$
Ультрафильтрат сыворотки	0,9 0,3–1,7	1,3 0,2–2,5	$= 0,070$
Расчетный показатель	1,9 1,1–2,7	2,0 1,4–2,8	$= 0,026$

лении об.Т и св.Т в сыворотке с предварительной УФ — в 20 и 38% случаев (референсные интервалы 11–34 и 110–368 пмоль/л соответственно). Согласно этим данным, уровень св.Т в сыворотке, определяемый с предварительной УФ, является более чувствительным и точным маркером различных форм андрогенных нарушений у мужчин. Однако для подтверждения результатов всегда необходим учет клинических показателей.

Технология УФ для разделения свободного и связанного с белком тестостерона была выбрана нами как наиболее быстрая, доступная и простая. При отработке методики мы придерживались опубликованных ранее рекомендаций по оптимальному проведению УФ. Группа авторов провела большое исследование по различным типам мембран, их адсорбционным свойствам, влиянию температуры, pH и разведения исходной сыворотки [14]. Относительно адсорбционных исследований лучшие результаты показали устройства, изготовленные из восстановленной целлюлозы с низко связывающей мембраной (адсорбция $2,0 \pm 1,5\%$). Для поддержания термодинамического равновесия между свободной и связанной фракцией исследуемого гормона выбрана температура 37°C и физиологическое значение pH 7,4. Влияние на равновесие оказывает продолжительность проведения ультрафильтрации, которая в свою очередь зависит от исходного объема пробы и ее вязкости. Эксперименты с разведением показали в 4 раза большую адсорбцию гормона в нативной сыворотке по сравнению с разведенной, а также установили, что небольшие разведения (1:1,4) снижают концентрацию об.Т и оказывают лишь незначительный эффект на концентрацию св.Т ($0,3 \pm 1,6\%$). Разница становится значимой при разведении 1:10 ($13,7 \pm 4,1\%$). Подобные эффекты согласуются с законом действия масс. На основании детального анализа вышеизложенных данных, процесс УФ был проведен нами в оптимальных условиях (см. раздел Материалы и методы), что дает возможность говорить о надежности полученных результатов. Высокая аналитическая ($6,2$ пмоль/л) и функцио-

нальная ($17,3$ пмоль/л) чувствительность LIA-метода позволяет количественно определять очень низкие ($2\text{--}3$ пг в пробе) концентрации тестостерона в ультрафильтрате и в слюне, что особенно важно для диагностики андрогенного дефицита у мужчин, а также оценки андрогенного статуса у женщин и детей.

Вывод

Уровень св.Т, определяемый в слюне и в сыворотке с предварительной УФ и использованием ультрачувствительного метода усиленной люминесценции, может служить надежным маркером различных форм нарушений андрогенного статуса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Albrecht S., Zimmermann T., Brandl H. et al. // J. Lab. Med. — 1997. — Vol. 21. — P. 191–204.
2. Carruthers M., Trinick T. R., Wheeler M. J. // Aging Male. — 2007. — Vol. 10, N 3. — P. 165–172.
3. DPC Technical Services Department. — Immulite/Immulite, 1000 Total Testosterone — Manufactures Instruction. PILK-TW-7. — Los Angeles, 2005.
4. Ekins R. // Clin. Chem. — 1992. — Vol. 37, N 7. — P. 1289–1293.
5. Goncharov N., Katsya G., Dobracheva A. et al. // Aging Male. — 2005. — Vol. 8, N 3/4. — P. 194–202.
6. Goncharov N. et al. // Aging Male. — 2006. — Vol. 9, N 2. — P. 111–122.
7. Hammond G. L., Nikser J. A., Jones L. A., Sitteri R. K. // J. Biol. Chem. — 1980. — Vol. 255. — P. 5023–5026.
8. Kley H. K., Bartmann E. et al. // Acta Endocrinol. (Kbh.). — 1977. — Vol. 85. — P. 212–219.
9. Lazarou S., Reyes-Vallejo L., Morgentaler A. // J. Sex. Med. — 2006. — Vol. 3. — P. 1085–1089.
10. Rosner W., Auchus R., Azziz R. et al. // J. Clin. Endocrinol. — 2007. — Vol. 92, N 2. — P. 405–413.
11. Stockl D., Franzini C., Kratochvila J. et al. // Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. — 1996. — Vol. 34. — P. 319–337.
12. Taieb J., Mathian B., Millot F. et al. // Clin. Chem. — 2003. — Vol. 49. — P. 1371–1385.
13. Vermeulen A., Verdonck K. L., Kaufman J. M. et al. // J. Clin. Endocrinol. — 1999. — Vol. 84. — P. 3666–3672.
14. Van Uytanghe K., Stockl D., Kaufman J. M. et al. // Clin. Chem. — 2004. — Vol. 50. — P. 2101–2110.
15. Vining R. F., McGinley R. A. // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. — 1986. — Vol. 23, N 2. — P. 95–146.

Поступила 19.12.08

© А. Я. КРАВЧЕНКО, В. М. ПРОВОТОРОВ, 2009

УДК 616.127-005.4+616.12-008.331.1]-07:616.154::577.175.624]-055.1

А. Я. Кравченко, В. М. Провоторов

УРОВЕНЬ ТЕСТОСТЕРОНА У МУЖЧИН С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Кафедра факультетской терапии (зав. — проф. В. М. Провоторов) Воронежской государственной медицинской академии им. Н. Н. Бурденко

Проведено исследование с целью установить распространенность возрастного андрогенодефицита у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) и гипертонической болезнью в возрасте до 60 лет и его связь с некоторыми факторами риска. В исследование включено 107 пациентов (средний возраст $50,2 \pm 7,2$ года). У 35 из них была гипертоническая болезнь, у 72 — ИБС, стенокардия напряжения. Оценивали концентрацию в крови тестостерона, холестерина; наличие и тип ожирения, определяли уровень депрессии. Установлено, что средний уровень тестостерона у больных ИБС и артериальной гипертензией ($9,2 \pm 0,96$ нмоль/л) соответствовал андрогенодефицитному состоянию. Выявлена прямая корреляция концентрации тестостерона с окружностью талии и обратная — с уровнями атерогенных липопротеидов и депрессии.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, мужской пол, андрогенодефицит, ожирение.

A. Ya. Kravchenko, V. M. Provorotov

TESTOSTERONE LEVEL IN MALE PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE AND ESSENTIAL HYPERTENSION

Department of Faculty Therapy, N. N. Burdenko Voronezh State Medical Academy

The study was undertaken to ascertain the prevalence of age-related androgen deficiency in patients with coronary heart disease (CHD) and essential hypertension under the age of 60 years and its association with some risk factors. The study covered 107 patients (mean age 50.2 ± 7.2 years). Of them 35 patients had essential hypertension and 72 had CHD, angina on exertion. The blood concentrations of testosterone and cholesterol were measured; the presence and type of adiposity and the level of depression were determined. The mean level of testosterone in patients with CHD and essential hypertension (9.2 ± 0.96 n/mol/l) corresponded to an androgen-deficient state. There was a direct correlation of testosterone concentrations with waist circumference and an inverse correlation with the levels of atherogenic lipoproteins and depression.

Key words: coronary heart disease, essential hypertension, male sex, androgen deficiency, adiposity.

В настоящее время достаточно хорошо изучена роль таких факторов риска, как дислипидемия, артериальная гипертензия, курение, ожирение и др. в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. В то же время с учетом традиционных факторов риска удается объяснить развитие не более 50% случаев ишемической болезни сердца (ИБС) [8]. В связи с этим внимание исследователей привлекают другие факторы, способные потенцировать раннее развитие ИБС. Так, в последние годы происходит интенсивное накопление знаний о возрастном андрогенодефиците у мужчин и его влиянии на возникновение сердечно-сосудистой патологии. Известно, что у мужчин, начиная с 50—55 лет, отмечается постепенное снижение выработки общего тестостерона со скоростью 1,2% в год, а свободного — уже с 30—35 лет на 0,4—1% в год [6]. Однако, по данным И. И. Дедова и С. Ю. Калинин [3], при наличии таких хронических заболеваний, как ИБС, гипертоническая болезнь, сахарный диабет уровень андрогенов начинает снижаться в среднем на 5—7 лет раньше. Возрастной дефицит тестостерона ассоциируется у мужчин не только с эректильной дисфункцией, но и с атерогенной дислипидемией, артериальной гипертензией, ускоренным развитием атеросклероза, ожирением, депрессией [1].

Целью исследования было установить распространенность возрастного андрогенодефицита у больных ИБС и гипертонической болезнью в возрасте до 60 лет и его взаимосвязь с некоторыми факторами риска.

Материалы и методы

В данное одномоментное исследование было включено 107 пациентов кардиологического стационара (средний возраст $50,2 \pm 7,2$ года). У 35 из них была гипертоническая болезнь, у 72 — ИБС (у 31 — стабильная стенокардия напряжения II—IV функционального класса по классификации Канадской кардиоваскулярной ассоциации, у 41 — прогрессирующая стенокардия напряжения). Диагноз ИБС устанавливали на основании типичной

клинической картины и положительных результатов нагрузочных тестов. В исследование не включали больных с застойной сердечной недостаточностью, перенесших мозговой инсульт, с почечной и печеночной недостаточностью, гипотиреозом. Концентрацию тестостерона в крови определяли иммунохемилюминесцентным методом на анализаторе Immulite 2000 компании "DPC". Холестерин (ХС) общий и липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) определяли фотометрически на приборе КФК-3 (Россия) с использованием набора реактивов Lachema (Чехия). Наличие и степень ожирения оценивали с помощью индекса массы тела (ИМТ). Абдоминальный тип ожирения, согласно рекомендациям Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК) "Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза" [4], устанавливали при окружности талии более 102 см. Содержание жировой ткани в организме (в процентах от массы тела) определяли с помощью прибора Body Fat Monitor BF 306 ("OMRON", Япония). Уровень депрессии оценивали в баллах с помощью Госпитальной шкалы HADS [15]. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica version 6.0 ("StatSoft Inc.", 1984—2001). Количественные данные представлены в виде $M \pm SD$ (M — выборочное среднее, SD — стандартное отклонение). Достоверность межгрупповых различий устанавливали с помощью t -критерия Стьюдента для независимых выборок. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Основные клинические характеристики больных и лабораторные данные приведены в табл. 1.

Концентрация общего тестостерона в обследованной группе мужчин ($9,2 \pm 0,96$ нмоль/л) оказалась ниже того уровня (12 нмоль/л), с которого начинают проявляться клинические симптомы андрогенной недостаточности [10]. Обращает на себя внимание то, что в международных рекомендациях [10] само понятие "возрастной", или "поздно начавшийся", гипогонадизм (late-onset hypogonadism) применяется к мужчинам старше 60 лет, т. е. данное состояние рассматривается как следствие постепенного угасания функции половых желез. У больных ИБС и гипертонической болезнью снижение уровня тестостерона отмечается заметно раньше

Информация для контактов:

Провоторов Вячеслав Михайлович, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой факультетской терапии Воронежской медицинской академии им. Н. Н. Бурденко
Адрес: 394030, Воронеж, ул. Студенческая, 10
Телефон: (4732) 63-81-30
V. M. Provorotov@aemail.ru

Таблица 1

Клинико-лабораторные характеристики пациентов ($n = 107$)

Показатель	Значение, $M \pm SD$
Возраст, годы	$50,2 \pm 7,2$
Длительность ИБС, годы	$4,7 \pm 1,3$
Длительность гипертонической болезни, годы	$7,1 \pm 1,6$
Тестостерон, нмоль/л	$9,2 \pm 0,96$
Окружность талии, см	$107,4 \pm 14,9$
ОТ/ОБ	$0,98 \pm 0,11$
Доля жировой ткани, %	$28 \pm 4,7$
ИМТ, $кг/м^2$	$29,4 \pm 3,9$
Депрессия, баллы	$8,8 \pm 3,1$
Общий ХС, нмоль/л	$6,0 \pm 1,05$
ХС ЛПНП, нмоль/л	$3,7 \pm 0,9$
Протромбиновый индекс	$91,6 \pm 6,3$

Примечание. ОТ/ОБ — отношение окружности талии к окружности бедер.

ше, уже после 30 лет [3], что подтверждают и наши наблюдения.

Различий между больными гипертонической болезнью и пациентами с ИБС по уровню тестостерона не установлено ($9,3 \pm 0,93$ и $9,1 \pm 0,94$ нмоль/л соответственно; $p > 0,05$). Что касается уровня тестостерона в различных возрастных группах, то здесь были обнаружены следующие особенности (табл. 2). Выраженное снижение концентрации тестостерона в крови отмечалось у мужчин 40 лет и старше. При этом данные показатели в группах 40—49 лет и 50—59 лет не имели статистически значимых различий, что можно интерпретировать как результат раннего развития дефицита андрогенов у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями.

При оценке состояния андрогенодефицита по биохимическим критериям необходимо учитывать возможные погрешности и ограничения, свойственные лабораторным методикам определения уровня тестостерона. Наиболее точные результаты получают при использовании газожидкостной хроматографии — масс-спектрометрии [11]. Способы определения тестостерона, основанные на прямых (безэкстракционных) методиках, включая иммунохемилюминесцентный анализ, способны давать завышенные результаты [2, 14]. В связи с данными ограничениями методы иммуноанализа не рекомендуются для оценки уровня тестостерона у женщин и детей [11]. Вместе с тем методика иммунохемилюминесценции, используемая в анализаторе Immulite 2000, может быть применима в качестве скринирующего теста для выявления раннего андрогенодефицита у мужчин.

Таблица 2

Уровень тестостерона в 3 возрастных группах

Возрастная группа	Тестостерон, нмоль/л
30—39 лет ($n = 18$)	$11,9 \pm 1,11$
40—49 лет ($n = 40$)	$8,2 \pm 0,92^*$
50—59 лет ($n = 49$)	$7,33 \pm 0,84^*$

Примечание. * — $p < 0,001$ по сравнению с группой 30—39-летних мужчин.

Для обследованного контингента больных была характерна избыточная масса тела (средний ИМТ превышал $25,0 \text{ кг/м}^2$), причем именно за счет увеличения количества жировой ткани (в среднем 28% от массы тела). Показатель окружности талии ($107,4 \pm 14,9 \text{ см}$) свидетельствовали о преобладании абдоминального типа ожирения.

Исследования последних лет показали, что окружность талии является более надежным предиктором риска развития сердечно-сосудистой патологии, чем ИМТ [5, 9].

Основываясь на сообщениях отдельных авторов о связи между уровнем половых гормонов и абдоминальным ожирением мужчин [13], мы провели анализ зависимости уровня тестостерона от показателя окружности талии.

По нашим данным, если окружность талии составляла менее 102 см, то средний уровень тестостерона у таких больных был 12,2 нмоль/л, а если она превышала 102 см — 7,2 нмоль/л ($p = 0,004$). При этом коэффициент корреляции уровня тестостерона с окружностью талии составил $-0,47$ ($p < 0,001$), а с ИМТ $-0,4$ ($p = 0,001$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что абдоминальный тип ожирения у мужчин с сердечно-сосудистыми заболеваниями ассоциируется с андрогенным дефицитом.

Показатели липидного профиля (общий ХС $6,0 \pm 1,05$ нмоль/л, ХС ЛПНП $3,7 \pm 0,9$ нмоль/л) в обследованной группе превышали оптимальные уровни, приведенные в Российских рекомендациях "Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза" [4]. Выявлена обратная корреляционная связь уровня тестостерона с концентрацией ХС ЛПНП ($r = -0,29$, $p = 0,02$). В этом отношении наши данные согласуются с результатами Роттердамского исследования [7], свидетельствующими о том, что низкий уровень тестостерона сопровождается появлением атерогенных сдвигов в липидном спектре крови и ускоренным развитием атеросклероза.

При оценке психологического статуса по шкале HADS уровень депрессии соответствовал субклинической ее выраженности. При этом отмечалась обратная зависимость между уровнями тестостерона и депрессии ($r = -0,27$, $p = 0,04$). По данным S. Seidman и B. Walsh [12], у пожилых мужчин имеется очевидная связь депрессивных расстройств с выраженностью андрогенного дефицита. Как показали наши наблюдения, у мужчин более молодого возраста (до 60 лет), страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями, имеется склонность к развитию депрессивных расстройств.

Выводы

1. У мужчин в возрасте до 60 лет, страдающих ИБС и гипертонической болезнью, уровень тестостерона в крови соответствует андрогенодефицитному состоянию.

2. Уровень тестостерона у больных ИБС и гипертонической болезнью коррелируется с окружностью талии.

3. Снижение уровня тестостерона у мужчин с сердечно-сосудистой патологией ассоциируется с повышенными уровнями атерогенных липопротеидов, а также с развитием депрессии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы / Под ред. Э. Нишлага, Г. М. Бере; Пер. с англ. — М., 2005.
2. Гончаров Н. П., Каця Г. В., Колесникова Г. С. и др. // Андрол. и генитальная хир. — 2005. — № 2. — С. 43—50.
3. Дедов И. И., Калинин С. Ю. Возрастной андрогенный дефицит у мужчин. — М., 2006.
4. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза: ВНОК. — М., 2005.
5. Després J. P. // Crit. Pathw. Cardiol. — 2007. — Vol. 6, N 2. — P. 51—59.

6. Feldman H. A., Longcope C., Derby C. A. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2002. — Vol. 87. — P. 589—598.
7. Hak E., Witteman J. C., de Jong F. H. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2002. — Vol. 87, N 8. — P. 3632—3639.
8. Kondos G. T., Hoff J. A., Sevruck A. et al. // Circulation. — 2003. — Vol. 107, N 20. — P. 2571—2576.
9. Kragelund C., Omland T. // Lancet. — 2005. — Vol. 366. — P. 1589—1591.
10. Nieschlag E., Swerdloff R., Bhere H. M. et al. // J. Androl. — 2006. — Vol. 27, N 2. — P. 135—137.
11. Rosner W., Auchus R. J., Azziz R. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2007. — Vol. 92, N 2. — P. 405—413.
12. Seidman S. N., Walsh B. T. // Am. J. Geriatr. Psychiatry. — 1999. — Vol. 7. — P. 18—33.
13. Svartberg J., von Muhlen D., Sundsfjord J. et al. // Eur. J. Epidemiol. — 2004. — Vol. 19, N 7. — P. 657—663.
14. Taieb J., Mathian B., Millo F. et al. // Clin. Chem. — 2003. — Vol. 49. — P. 1381—1395.
15. Zigmond A. S., Snaith R. P. // Acta Psychiatr. Scand. — 1983. — Vol. 67. — P. 361—370.

Поступила 16.01.08

◆ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 616.441-006.6-07:577.21

Т. М. Мишунина, Е. В. Калинин, Н. Д. Тронько

ИНТЕНСИВНОСТЬ ФРАГМЕНТАЦИИ ДНК В ТКАНИ И КАРЦИНОМАХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ α -ТОКОФЕРОЛА И ИОНОВ ЙОДА IN VITRO

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

Исследовали интенсивность фрагментации ДНК в неизменной ткани щитовидной железы и ткани карцином щитовидной железы. Определение концентрации низкомолекулярной ДНК, а также электрофоретический анализ ДНК, выделенной из ткани щитовидной железы и опухолей, с последующим количественным расчетом содержания фракций олигонуклеосом показали резкое снижение интенсивности фрагментации ДНК в папиллярных карциномах и отсутствие существенных ее сдвигов в фолликулярных карциномах. В неизменной ткани щитовидной железы α -токоферол и йодид калия in vitro в концентрации 10^{-5} М тормозили интенсивность стимулированной фрагментации ДНК. В ткани папиллярных карцином влияние препаратов отсутствовало, а в фолликулярных их эффект был подобен таковому в неизменной ткани щитовидной железы, но менее выражен.

Ключевые слова: карциномы щитовидной железы, фрагментация ДНК, α -токоферол, ионы йода, апоптоз

Т. М. Mishunina, Ye. V. Kalinichenko, N. D. Tronko

DNA FRAGMENTATION RATE IN HUMAN THYROID TISSUE AND CARCINOMAS AND ITS CHANGE UNDER THE INFLUENCE OF α -TOCOPHEROL AND IODINE IONS IN VITRO

V. P. Komissarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, Academy of Medical Sciences of the Ukraine, Kiev

The rate of DNA fragmentation was studied in intact thyroid tissue and thyroid carcinoma tissue. The determination of low molecular-weight DNA concentrations and the electrophoretic analysis of DNA isolated from the thyroid tissues and tumors, followed by the calculation of the content of oligonucleosome fractions, indicated a drastic reduction in the DNA fragmentation rate in papillary carcinomas and no its significant changes in follicular carcinomas. In the intact thyroid tissue, α -tocopherol and potassium iodide at a concentration of 10^{-5} M inhibited the rate of stimulated DNA fragmentation in vitro. The agents showed no effect in the papillary carcinoma tissue and their effect was similar in the follicular carcinoma tissue, but it was less pronounced in intact thyroid tissue.

Key words: thyroid carcinoma, DNA fragmentation, α -tocopherol, iodine ions, apoptosis.

Межнуклеосомное расщепление (фрагментация) ДНК — одно из биохимических проявлений апоптоза

Информация для контактов:

Мишунина Тамара Марьяновна:

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

Адрес: 04114, Киев, ул. Вышгородская, 69

e-mail: simona@asvitonline.com

[6], который ответствен за элиминацию трансформированных клеток и играет важную роль в контроле величины клеточной популяции. В то же время широко распространенное мнение о снижении апоптозной активности в злокачественных опухолях справедливо только для определенных их типов [16].

Для щитовидной железы (ЩЖ) наибольшая интенсивность апоптоза установлена в медулярных, анапластических и оксифильноклеточных адено-

карциномах [15, 19], тогда как в папиллярных и фолликулярных аденокарциномах его уровень низок [16]. Морфологическими исследованиями выяснено, что апоптозный индекс в папиллярных карциномах существенно выше, чем в фолликулярных и медулярных карциномах, где он равен нулю [6]. В то же время при сравнении интенсивности апоптоза в папиллярных карциномах ЩЖ было установлено, что в 41% карцином апоптозная активность была на следовом уровне, характерном для нормальной ткани, в 44% — низкой, а в 15% — высокой [13], что может быть объяснено как разной скоростью роста опухолей (в быстрорастущих опухолях повышен индекс "оборота" клеточной популяции), так и стадией их развития.

Целью настоящей работы явилось исследование интенсивности межнуклеосомной фрагментации ДНК в ткани ЩЖ и карциномах ЩЖ человека. Особый интерес при этом представляло выяснение влияния на фрагментацию ДНК α -токоферола и ионов йода. Установлены роль активных радикалов кислорода в инициации митохондриальных механизмов апоптоза и нарушение последних в клетках папиллярных карцином [17]. Ионы йода в свою очередь дают в тиреоцитах дозозависимый эффект на сигнальные механизмы инициации апоптоза, связанные с участием рецепторов смерти, а также снижают чувствительность клеток папиллярной карциномы к апоптозным стимулам [20]. С другой стороны, известно мнение о том, что токсичность для тиреоцитов избытка молекулярного йода, который образуется при окислении ионизированного эндогенными пероксидазами, связана с образованием активных форм кислорода, продуктов перекисного окисления липидов и активацией апоптоза клеток ЩЖ [18].

В литературе приведены данные, в том числе и для опухолей ЩЖ [19], свидетельствующие о том, что регистрация межнуклеосомной фрагментации ДНК не может быть абсолютным доказательством смерти клетки в результате апоптоза. Строго говоря, наличие фрагментации ДНК указывает на апоптоз лишь в сочетании с анализом характерных для него морфологических изменений или с регистрацией активации каспаз. Учитывая тот факт, что электрофоретическое разделение ДНК на олигонуклеосомные фракции в большинстве своем является качественным подтверждением ее межнуклеосомной фрагментации, используют также и различные количественные методы определения содержания растворимых полидезоксинуклеотидов [4, 5, 10]. При этом считают достаточным подтверждение апоптоза одновременным электрофоретическим анализом ДНК ("апоптозная лесенка"). Указанное выше принимали во внимание при обсуждении полученных результатов и формулировании осторожных выводов об уровне апоптоза в опухолях ЩЖ и о возможных механизмах влияния α -токоферола и ионов йода на межнуклеосомную фрагментацию ДНК.

Материалы и методы

На проведение исследований было получено разрешение Комитета института по биоэтике.

Исследовано 20 образцов опухолей ЩЖ (16 папиллярных аденокарцином и 4 фолликулярные аденокарциномы). Средний возраст больных этой группы составил 36,3 года (от 19 до 70 лет), среди них 12 женщин и 8 мужчин. В группу сравнения включены 15 образцов неизмененной (заключение патолога — "ткань нормофолликулярного строения без особенностей") ткани ЩЖ, полученной при субтотальной резекции железы по поводу эутиреоидного узлового зоба или аденомы, а также при тотальной тиреоидэктомии по поводу рака ЩЖ. Возраст больных (8 женщин и 7 мужчин) колебался от 17 до 54 лет (37,4 года).

Концентрацию растворимых низкомолекулярных фрагментов ДНК определяли после лизиса клеток в надосадочной жидкости, а высокомолекулярных — в осадке в реакции с дифениламином [4]. ДНК выделяли из ткани ЩЖ ранее описанным методом [3] после предварительной инкубации срезов железы на протяжении 4 ч при 37°C в 1 мл Кребс—Рингер-фосфатного буфера [4]. В пробы вносили соответственно растворы α -токоферола или йодида калия (KI) до конечной расчетной концентрации 10^{-3} М или 10^{-7} М. α -Токоферол предварительно растворяли в небольшом количестве этилового спирта, после чего готовили его буферные растворы. В одну пробу препараты не вносили и рассматривали интенсивность фрагментации ДНК в ней как базальную.

Электрофорез ДНК проводили в агарозном геле [3]. Локализацию фрагментов ДНК на геле определяли в трансиллюминаторе, фореграммы с цифровых фотографий сканировали, используя программу "Photo Capt Mw", с помощью последней рассчитывали относительное содержание фракций олигонуклеосом. Эффект препаратов оценивали в процентах от базального уровня ($\pm \Delta\%$). Полученные данные обработаны статистически с использованием критерия *t* Стьюдента и непараметрических критериев Вилкоксона и Манна—Уитни. Критический уровень значимости принимали равным 0,05. В таблицах данные представлены как $M \pm m$.

Результаты и их обсуждение

Как следует из данных, представленных в табл. 1, содержание высокомолекулярной ДНК (в составе хроматина) в ткани папиллярных аденокарцином оказалось выше, чем в неизмененной ткани ЩЖ. Более значимые изменения наблюдались в опухолях, размер которых соответствовал стадии T₄ и опухолях фолликулярно-папиллярного строения. В то же время концентрация низкомолекулярных фрагментов ДНК (растворимые полидезоксинуклеотиды, которые выходят после фрагментации ДНК из ядра в цитоплазму) и их доля в ткани папиллярных карцином ниже, чем в неизмененной ткани ЩЖ, при этом не отмечено значительных различий уровня фрагментированной ДНК в зависимости от размера опухоли. Доля фрагментированной ДНК наиболее низка в папиллярных карциномах фолликулярно-папиллярного строения, менее значительно это снижение в опухолях типичного папиллярного строения. Полученные данные

Таблица 1

Концентрация ДНК и доля фрагментированной ДНК в неизменной ткани и ткани карцином ЩЖ

Ткань	n	Концентрация ДНК, мкг на 1 мг ткани		Доля фрагментированной ДНК, %
		высокомолекулярной	низкомолекулярной	
Неизменная, нормофолликулярного строения	15	1,11 ± 0,09	0,51 ± 0,06	30,5 ± 2,45
Папиллярной карциномы, в том числе:	16	2,00 ± 0,22*	0,35 ± 0,04*	15,9 ± 2,19*
категория опухоли T ₂ –T ₃	8	1,70 ± 0,26*	0,33 ± 0,04*	17,1 ± 2,57*
категория опухоли T ₄	8	2,31 ± 0,31*	0,37 ± 0,08	14,8 ± 3,51*
папиллярный вариант	7	1,94 ± 0,36*	0,33 ± 0,06*	15,6 ± 3,03*
фолликулярно-папиллярный вариант	5	2,63 ± 0,29*	0,31 ± 0,12	9,7 ± 3,06*
солидно-фолликулярный вариант	3	1,29 ± 0,04*	0,42 ± 0,03	24,4 ± 2,26*
Фолликулярной аденокарциномы	4	0,84 ± 0,14 ^б	0,78 ± 0,09 ^{а,б}	48,8 ± 6,20 ^{а,б}

Примечание. * — $p < 0,05$ в сравнении с уровнем в неизменной ткани; ^б — $p < 0,05$ в сравнении с уровнем в ткани папиллярной карциномы; ^а — $p < 0,05$ в сравнении с уровнем в ткани папиллярной карциномы фолликулярно-папиллярного строения.

подтверждают мысль о том, что решающее значение в формировании опухоли конкретного типа имеет баланс между противоположно направленными процессами — пролиферацией и элиминацией трансформированных клеток [6]. В то же время в трех опухолях солидно-фолликулярного строения, исследованных в работе, существенных изменений уровня ДНК и доли фрагментированной ДНК не отмечено (см. табл. 1). О разной апоптотической активности в различных образцах папиллярных карцином свидетельствуют и данные литературы [13].

Анализ выявленных изменений концентрации ДНК в папиллярных карциномах ЩЖ в зависимости от пола больных показал, что более высокая концентрация высокомолекулярной ДНК, а также более низкая концентрация и доля фрагментированной ДНК в ткани папиллярных карцином по сравнению с таковыми в нормальной ткани ЩЖ наблюдается только в опухолях, удаленных у женщин. В опухолях мужчин эти изменения были значительно менее выражены (табл. 2). Показано, что эстрадиол стимулирует пролиферацию фолликулярных клеток, увеличивая при этом соотношение содержания анти- и проапоптотических белков — Bcl-x_L/Bax — за счет надэкспрессии первого [12]. Тестостерон не дает такого эффекта. Эти данные обоснуют в плане известного факта повышенного в 2–3 раза риска возникновения карцином ЩЖ у женщин по сравнению с мужчинами.

В ткани фолликулярных аденокарцином отмечен повышенный уровень низкомолекулярной

ДНК и ее доли при неизменной концентрации высокомолекулярной ДНК (см. табл. 1). Величина этих показателей в ткани фолликулярной и папиллярной карцином существенно различалась. Немногочисленные данные литературы не позволяют составить четкого представления о различиях в интенсивности апоптоза в папиллярных и фолликулярных аденокарциномах. Так, в одних исследованиях показана одинаково низкая апоптотическая активность в ткани этих карцином ЩЖ [16], в других — апоптотический индекс в папиллярных карциномах был существенно выше, чем в фолликулярных [6].

В условиях предварительной инкубации срезов ткани, выделения ДНК и проведения электрофореза в образцах, полученных из внеузловой неизменной ткани ЩЖ больных, четко делятся фрагменты ДНК, отвечающие размерам 200, 400, 600 и 800 п. о., образуя характерную "апоптотическую лесенку" [3]. Наибольшее количество фрагментов при электрофорезе ДНК из неизменной ткани ЩЖ приходится на фракцию мононуклеосом (200 п. о.), а суммарное количество моно-, ди-, три- и тетра-нуклеосом составило около 1/3 от общего количества ДНК (табл. 3).

Суммарное содержание олигонуклеосом, которые регистрируются на электрофореграммах ДНК, выделенной из ткани папиллярной карциномы, значительно ниже, чем на электрофореграммах ДНК, выделенной из неизменной ткани ЩЖ (см. табл. 3), как и общая концентрация фрагментированной ДНК, содержание которой определяли спектрофотометрически (см. табл. 1). Статистиче-

Таблица 2

Концентрация ДНК и содержание фрагментированной ДНК в неизменной ткани и в ткани папиллярной карциномы ЩЖ мужчин и женщин

Ткань	n	Концентрация ДНК, мкг на 1 мг ткани		Доля фрагментированной ДНК, %
		высокомолекулярной	низкомолекулярной	
Неизменной железы женщин	8	1,13 ± 0,16	0,52 ± 0,07	32,7 ± 3,26
Папиллярной карциномы женщин	11	2,30 ± 0,26*	0,33 ± 0,06*	12,0 ± 2,54*
Неизменной железы мужчин	7	1,10 ± 0,05	0,49 ± 0,10	28,1 ± 3,74
Папиллярной карциномы мужчин	5	1,36 ± 0,11**	0,39 ± 0,03	22,5 ± 1,75**

Примечание. * — $p < 0,05$ в сравнении с уровнем в неизменной ткани; ** — $p < 0,05$ в сравнении с уровнем в ткани папиллярной карциномы женщин.

Таблица 3

Содержание олигонуклеосом (в %) в неизменной ткани и ткани карцином ЩЖ

Ткань	n	Содержание олигонуклеосом				
		800	600	400	200	200—800
Неизменная, нормофолликулярного строения	5	6,66 ± 0,47	6,82 ± 0,97	4,32 ± 0,86	15,21 ± 4,63	33,0 ± 2,82
Папиллярной карциномы	9	4,73 ± 0,53*	4,25 ± 0,70*	2,46 ± 0,73	3,38 ± 0,56*	14,8 ± 1,54*
В том числе:						
категория опухолей T ₂ —T ₃	3	3,40 ± 0,62*	3,25 ± 1,27*	1,14 ± 0,38*	3,38 ± 1,31*	11,2 ± 2,16*
категория опухолей T ₄	6	5,40 ± 0,58***	4,75 ± 0,84	3,12 ± 0,99	3,38 ± 0,65*	16,6 ± 1,66*
Фолликулярной карциномы	3	7,21 ± 0,20***	9,14 ± 1,34***	6,89 ± 1,46***	5,00 ± 0,86*	28,2 ± 3,44***

Примечание. * — $p < 0,05$ в сравнении с уровнем в неизменной ткани; ** — $p < 0,05$ в сравнении с уровнем в ткани папиллярной карциномы категории T₂—T₃; *** — $p < 0,05$ в сравнении с уровнем в ткани папиллярной карциномы.

ски значимые различия были установлены для тетра-, три- и особенно мононуклеосом, а более четко — в опухолях категории T₂—T₃; в этом случае снижен также уровень и динуклеосом. Концентрация фрагментированной ДНК также несколько ниже в опухолях категории T₂—T₃ (см. табл. 1). Обсуждая эти данные, прежде всего следует указать на более выраженную интенсивность фрагментации ДНК на ранних стадиях опухолевого роста [5] и на уменьшение активности Ca²⁺-, Mg²⁺-зависимой эндонуклеазы по мере прогрессирования процесса трансформации [9]. Известно также, что недоступность сайтов ДНК для эндонуклеаз может быть обусловлена такими структурными перестройками хроматина, в основе которых лежит экранирование чувствительных для эндонуклеаз участков вследствие образования ковалентных сшивок ДНК—белок. Последние являются результатом повреждения молекулы ДНК, что имеет место и при канцерогенезе.

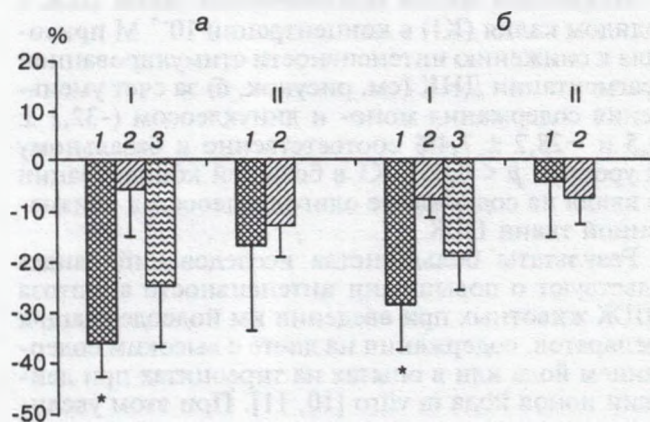
Учитывая тот факт, что в большинстве случаев межнуклеосомная фрагментация ДНК может служить показателем гибели клеток путем апоптоза, полученные данные о снижении интенсивности стимулированной межнуклеосомной фрагментации ДНК одновременно с уменьшенным суммарным уровнем фрагментированной ДНК позволяют предположить, что в папиллярных карциномах ЩЖ (особенно в карциномах ЩЖ женщин) наблюдается существенное торможение терминальной стадии этого механизма.

В отличие от папиллярной карциномы в ткани фолликулярной карциномы одновременно со сниженным уровнем мононуклеосом наблюдали несколько повышенное содержание тетра-, три- и динуклеосом (см. табл. 3). Вследствие этого суммарное содержание олигонуклеосом, которые регистрируются на электрофореграммах ДНК, существенно не отличалось от такового на электрофореграммах ДНК, выделенной из неизменной ткани ЩЖ. Учитывая тот факт, что общее содержание низкомолекулярной ДНК в ткани фолликулярной карциномы повышено (см. табл. 1), можно осторожно говорить об ускорении фрагментации ДНК в участках хроматина, расщепление которых приводит к высвобождению олигонуклеосом большого размера, и торможении фрагментации ДНК, приводящей к образованию мононуклеосом. Таким образом, в фолликулярных карциномах интенсив-

ность межнуклеосомной деградации ДНК меняется менее значительно и не так однозначно, следовательно нет оснований говорить о существенном изменении уровня апоптоза в этих карциномах. Ряд данных литературы также свидетельствует в пользу такого вывода [6, 13, 16].

При исследовании влияния α -токоферола на межнуклеосомную фрагментацию ДНК было установлено, что в нормальной ткани ЩЖ препарат в концентрации 10⁻⁷ М тормозил ее интенсивность (см. рисунок, а) за счет снижения образования моно-, три- и тетрануклеосом (-44,2 ± 7,99, -22,0 ± 5,10 и -19,8 ± 4,21% соответственно к базальному их уровню, $p < 0,05$). В большей концентрации (10⁻³ М) препарат существенно не влиял на интенсивность стимулированной межнуклеосомной фрагментации ДНК.

Представленные результаты о торможении стимулированной фрагментации ДНК в неизменной ткани ЩЖ больных под влиянием α -токоферола вполне соответствуют современным представлениям о возможных механизмах влияния антиоксидантов на апоптозные процессы, в первую очередь о предотвращении открытия неспецифической митохондриальной поры вследствие снижения уровня активных форм кислорода или продуктов перекисного окисления липидов. Так, в присутствии α -токоферола наблюдали торможение ин-



Изменения суммарного содержания олигонуклеосом (в %) в неизменной ткани ЩЖ (I), ткани папиллярной (II) и фолликулярной (III) карцином под влиянием α -токоферола (а) и ионов йода (б). I — 10⁻³ М, II — 10⁻⁷ М. * — $p < 0,05$ в сравнении с исходным уровнем.

дуцированной под действием H_2O_2 фрагментации ДНК в тимоцитах [2], а инкубация митохондрий сердца крыс с растворимым аналогом витамина приводила к угнетению открытия митохондриальной поры в условиях окислительного стресса [8].

Показано, что межнуклеосомной фрагментации ДНК предшествует снижение в клетке соотношения восстановленный/окисленный глутатион, который занимает едва ли не центральное место в антиоксидантной защите организма. Усиление антиоксидантных свойств токоферолов связывают с синергизмом их действия с другими антиоксидантами, в первую очередь с глутатионом [1]. Еще одним возможным звеном влияния α -токоферола на межнуклеосомную фрагментацию ДНК может быть устранение действия активных соединений кислорода на эндонуклеазы, которые принимают непосредственное участие в деградации ДНК. Активация этих ферментов под влиянием окислительного стресса происходит вследствие повышения уровня свободного Ca^{2+} , который высвобождается в этих условиях из депо одновременно с торможением удаления его избытка за пределы клетки из-за окисления тиоловых групп в структуре трансмембранных каналов [1].

Следует отметить, что в действии препарата четко прослеживается дозозависимость его влияния. Снижение эффекта α -токоферола с увеличением его концентрации может быть связано с тем фактом, что перехват перекисленных радикалов липидов, который является основным антиоксидантным механизмом действия токоферолов, происходит при их физиологических концентрациях, тогда как избыток витамина Е может действовать даже прооксидантно [1]. Эффекты токоферолов зависят от их химической структуры, природы агентов, повреждающих клетки, и, возможно, от вида клеток. Так, α -токоферол в концентрации 10^{-4} М не влиял на фрагментацию ДНК в тимоцитах при индукции апоптоза инкубацией клеток в течение 18 ч, уменьшал ее при стимуляции апоптоза Ca^{2+} -ионофором и существенно повышал в условиях развития Ca^{2+} -цитотоксичности [7].

Инкубация срезов неизменной ткани ЩЖ с йодидом калия (KI) в концентрации 10^{-7} М приводила к снижению интенсивности стимулированной фрагментации ДНК (см. рисунок, б) за счет уменьшения содержания моно- и динуклеосом ($-32,1 \pm 11,5$ и $-28,2 \pm 7,4\%$ соответственно к базальному их уровню, $p < 0,05$). KI в большей концентрации не влиял на содержание олигонуклеосом в неизменной ткани ЩЖ.

Результаты большинства исследований свидетельствуют о повышении интенсивности апоптоза в ЩЖ животных при введении им йодсодержащих препаратов, содержащих на диете с высоким содержанием йода или в опытах на тиреоцитах при действии ионов йода *in vitro* [10, 11]. При этом увеличение количества апоптозных клеток сопровождается снижением уровня экспрессии Bcl-2 и повышением экспрессии Bax. В то же время при апоптозе, индуцированном антителами к рецептору смерти Fas, высокая концентрация йодида повышала, а низкая снижала его интенсивность в пер-

вичной культуре тиреоцитов человека [20]. Результаты наших исследований свидетельствуют о торможении под действием низкой дозы KI межнуклеосомной фрагментации ДНК, стимулированной инкубацией срезов ткани ЩЖ.

Обращает на себя внимание подобие эффектов α -токоферола и KI на фрагментацию ДНК в неизменной ткани ЩЖ (см. рисунок). Считают, что в реализации механизмов апоптоза при действии молекулярного йода определенную роль может играть снижение уровня тиолов и реактивных соединений кислорода [14]. Исследования с использованием линии иммортализованных тиреоидных клеток, а также первичной культуры клеток ЩЖ человека показали, что апоптоз при действии йода был p53-независимым, не сопровождался синтезом белков и изменениями экспрессии анти- или проапоптозных белков (Bcl-2, Bcl-X_L, Bax) [18]. Предполагают, что важнейшими при этом являются повышение уровня активных форм кислорода, продуктов перекисного окисления липидов и активация митохондриального пути инициации апоптоза.

Высказано предположение, что эффект йодида на апоптоз тиреоидного эпителия является прямым, а опосредуется йодированными производными, в частности полиненасыщенными жирными кислотами — йодолактонами [11]. Альтернативное мнение отводит решающее место в действии йода на фрагментацию ДНК его влиянию на синтез полиаминов, которые, отвечая за структуру хроматина и контролируя активность эндонуклеаз, контролируют и интенсивность межнуклеосомной фрагментации ДНК [10]. Следовательно, вопрос о возможных механизмах, реализация которых приводит к изменению межнуклеосомной фрагментации ДНК, как одного из проявлений апоптоза, в неизменной ткани ЩЖ под влиянием йодида остается невыясненным и дискуссионным.

Эффект обеих доз α -токоферола в ткани папиллярной карциномы отсутствовал, а в ткани фолликулярной карциномы препарат в концентрации 10^{-7} М оказывал влияние, подобное, но менее выраженное и менее закономерное ($0,1 > p > 0,05$), таковому в неизменной ткани ЩЖ (см. рисунок, а). Характер действия ионов йода в концентрации 10^{-7} М на межнуклеосомную фрагментацию ДНК в ткани фолликулярной карциномы ЩЖ также остался подобным таковому в неизменной ткани — суммарное содержание моно-, ди-, три- и тетрануклеосом был сниженным (см. рисунок, б), хотя эти изменения были менее выражены ($0,1 > p > 0,05$), чем в неизменной ткани. В то же время обе концентрации йодида не влияли на интенсивность межнуклеосомной фрагментации ДНК в ткани папиллярной карциномы ЩЖ.

Выяснение факта отсутствия влияния α -токоферола и ионов йода в папиллярных карциномах и подобного таковому в неизменной ткани ЩЖ "ответу" клеток фолликулярной аденокарциномы на действие препаратов требует дальнейших исследований, однако можно высказать предположение о сохранении определенного уровня внутриклеточных механизмов регуляции и реализации апоптоза в фолликулярных карциномах и о недееспособно-

сти таковых в папиллярных аденокарциномах. Это может быть связано с различиями характера процессов трансформации эпителиальных клеток ЩЖ в случае формирования фолликулярных и папиллярных карцином.

Показано, что скорость деления клеток находится в обратной зависимости от уровня свободных радикалов. В клетках злокачественных опухолей наблюдается значительное снижение активности механизмов антиоксидантной защиты, однако эта недостаточность компенсируется путем накопления в опухолях жирорастворимых антиоксидантов, в первую очередь α -токоферола. В этих условиях способность активных форм кислорода тормозить деление клеток в опухоли снижается. Важно отметить, что реализация указанных механизмов существенно зависит от природы опухоли и стадии ее развития [1].

Выводы

1. Концентрация фрагментированной (низкомолекулярной) ДНК и интенсивность стимулированной межнуклеосомной фрагментации ДНК в ткани папиллярной аденокарциномы значительно снижены. В ткани фолликулярной аденокарциномы уровень фрагментированной ДНК повышен, а интенсивность межнуклеосомной фрагментации ДНК существенно не отличается от таковой в нормальной ткани ЩЖ.

2. α -Токоферол и KI in vitro в концентрации 10^{-7} М снижают интенсивность стимулированной межнуклеосомной фрагментации ДНК в нормальной ткани ЩЖ и менее значительно в ткани фолликулярных карцином. Эффект препаратов в ткани папиллярных карцином отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой В. А. Биоантиоксиданты. — Киев, 2006.
2. Гринюк І. І., Корнійчук Г. М., Капралов О. О., Матусевська О. П. // Укр. біохім. журн. — 2004. — Т. 76, № 5. — С. 90–95.
3. Калініченко О. В., Мишунина Т. М., Пилькевич Л. І. та ін. // Ендокринологія. — 2007. — Т. 12, № 1. — С. 48–57.
4. Коваль Т. В., Ковальова В. А., Дворченко К. О. та ін. // Пробл. екол. та медичн. генетики і клітин. імунол. (Київ). — 2001. — № 7 (39). — С. 119–125.
5. Комаревцева Е. В. // Укр. мед. альманах. — 2004. — Т. 7, № 3. — С. 168–170.
6. Лушников Е. Ф., Абросимов А. Ю. Гибель клетки (апоптоз). — М., 2001.
7. Петрова Г. В., Донченко Г. В. // Укр. біохім. журн. — 2004. — Т. 76, № 1. — С. 103–107.
8. Сагац В. Ф., Вавилова Г. Л., Струтинська Н. А., Аконова О. В. // Фізіол. журн. — 2003. — Т. 49, № 1. — С. 3–12.
9. Сухих Г. Т., Серов В. Н., Дементьева М. М. и др. // Акуш. и гин. — 2000. — № 4. — С. 41–45.
10. Burikhanov R., Matsuzaki S. // Thyroid. — 2000. — Vol. 10, N 2. — P. 123–129.
11. Langer R., Burzler C., Bechner G., Gartner R. // Exp. Clin. Endocrinol. Diabet. — 2003. — Vol. 111, N 6. — P. 325–329.
12. Lee M., Chen G., Vantis A. et al. // Cancer J. — 2005. — Vol. 11, N 2. — P. 113–121.
13. Moore D., Ohene-Fianko D., Garcia B., Chakrabarti S. // Histopathology. — 1998. — Vol. 32, N 1. — P. 35–42.
14. Shrivastava A., Tiwari M., Sinha R. et al. // J. Biol. Chem. — 2006. — Vol. 281, N 28. — P. 19762–19771.
15. Sreelekha T., Pradeep V., Vijayalakshmi K. et al. // Thyroid. — 2000. — Vol. 10, N 2. — P. 117–122.
16. Szende B. // Magy. Onkol. — 2004. — Vol. 48, N 3. — P. 215–219.
17. Teel G., Pines A., Arturi F. et al. // Endocrinolog. — 2004. — Vol. 145, N 10. — P. 4660–4666.
18. Vitale M., Di Matola T., D'Ascoli F. et al. // Endocrinology. — 2000. — Vol. 141, N 2. — P. 598–605.
19. Volante M., Papotti M., Gugliotta P. et al. // J. Histochem. Cytochem. — 2001. — Vol. 49, N 8. — P. 1003–1011.
20. Wang S., Baker J. // Thyroid Cancer: A Comprehensive Guide to Clinical Management. — 2nd Ed. / Eds L. Wartofsky, D. Van Nostrand. — Totowa, 2006. — P. 55–61.

Поступила 24.01.08

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 612.018.2:577.175.53].014.1.084

Л. Е. Панин, Л. М. Поляков, И. Ф. Усынин, Д. В. Суменкова, Р. А. Князев

ВЛИЯНИЕ КОРТИКОСТЕРОИДОВ В КОМПЛЕКСЕ С АПОЛИПОПРОТЕИНОМ А-І НА БИОСИНТЕЗ БЕЛКА В КУЛЬТУРЕ ГЕПАТОЦИТОВ

ГУ НИИ биохимии (дир. — акад. РАМН Л. Е. Панин) СО РАМН, Новосибирск

Показано, что стероидные гормоны, содержащие в А-кольце восстановленную Δ^4 , 3-кетогруппу в комплексе с аполипопротеином А-І увеличивают скорость биосинтеза белка в культуре гепатоцитов крыс. Биологическая активность гормонов зависит от положения оксигруппы у 3-го углеродного атома и водорода у 5-го углеродного атома. Для проявления биологического эффекта более предпочтительной является цис-позиция. Оксигруппа в 3-м положении А-кольца гормона может быть заменена на сульфогруппу. Дегидроэпиандростерон-сульфат в комплексе с аполипопротеином А-І увеличивает скорость биосинтеза белка в культуре гепатоцитов крыс, что подтверждает участие этого гормона в регуляции экспрессии генов.

Ключевые слова: стероидные гормоны, аполипопротеин А-І, гепатоциты, биосинтез белка.

L. Ye. Panin, L. M. Polyakov, I. F. Usynin, D. V. Sumenkova, R. A. Knyazev

EFFECT OF A COMPLEX OF CORTICOSTEROIDS WITH APOLIPOPROTEIN A-I ON PROTEIN BIOSYNTHESIS IN CULTURED HEPATOCYTES

Research Institute of Biochemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Novosibirsk

A complex of apolipoprotein A-I with steroid hormones containing reduced Δ^4 , 3-ketogroup in the A ring was shown to increase the rate of protein synthesis in the cultured rat hepatocytes. The biological activity of the hormones depends on the position of the oxygroup of the third carbonic atom and hydrogen at the fifth position of a carbonic atom. The cis-position is more preferable for the biological effect. The oxygroup at the third position of the A-ring may be replaced by the sulfo-group. The complex of dehydroepiandrosterone sulphate with apolipoprotein A-I increases the rate of protein biosynthesis in the cultured rat hepatocytes, which confirms the involvement of this hormone in the regulation of gene expression.

Key words: steroid hormones, apolipoprotein A-I, hepatocytes, protein biosynthesis.

Ранее было показано, что липопротеины различных классов (очень низкой плотности — ЛПОНП, низкой плотности — ЛПНП и высокой плотности — ЛПВП) являются транспортной формой стероидных гормонов в крови [2]. Методом тушения триптофановой флуоресценции показано, что стероиды в липопротеинах взаимодействуют с белками. Для ЛПВП таким белком является аполипопротеин А-I (апоА-I). Константа ассоциации (K_{acc}) апоА-I с кортизолом оказалась равной $1,66 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$. Для сравнения укажем, что K_{acc} с транскортином для широкого спектра кортикостероидов равна $3 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$ [7]. Для ЛПВП K_{acc} с кортизолом составляет $4 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$, т. е. является величиной сопоставимой [10]. Возникает вопрос, какой класс биологических явлений стоит за этой транспортной формой стероидных гормонов?

С помощью иммунохимических методов апоА-I был обнаружен нами в ядрах клеток многих органов и тканей: головной мозг, печень, почки, легкие, сердце, мышцы, надпочечники, семенники, селезенка, костный мозг [3, 4]. Оказалось, что апоА-I присутствует в транскрипционно активном хроматине, ядерном матриксе и во фракции кислых негистоновых белков, а значит имеет отношение к регуляции экспрессии генов. В настоящее время выяснены молекулярные механизмы этого явления [9, 10]. Они связаны с взаимодействием комплексов восстановленных форм стероидных гормонов и апоА-I с GC-богатыми участками ДНК, с разрывом водородных связей в GC-парах, взаимодействием РНК-полимеразы с одноцепочечными участками ДНК [5]. Данный механизм был наиболее полно раскрыт при изучении такой пары стероидных гормонов как кортизол и его восстановленная форма — тетрагидрокортизол (ТГК). Однако неясно, распространяется ли упомянутый механизм действия на другие гормоны? В связи с этим мы провели сравнительные исследования данной пары гормонов и таких стероидных гормонов, как андростерон и дегидроэпиандростерон-сульфат (ДГЭАС).

Материалы и методы

Работа выполнена на изолированных гепатоцитах крыс-самцов линии Вистар массой 180–200 г. Гепатоциты выделяли методом рециркуляторной ферментативной перфузии с использованием 0,03% раствора коллагеназы ("ICN Biomedicals, Inc", США) и отделяли от непаренхимных клеток с помощью дифференциального центрифугирования. Жизнеспособность клеток, оцениваемая методом исключения трипанового синего ("Serva", Германия), составляла не менее 90%. Инкубацию проводили в CO_2 -инкубаторе ("Cole-Parmer", США) в атмосфере, содержащей 5% CO_2 и 95% воздуха.

Информация для контактов:

Поляков Лев Михайлович

НИИ биохимии СО РАМН

Адрес: 630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2.

plm@asoramn.ru



Рис. 1. Химические формулы стероидных гормонов.

Липопротеины плазмы крови выделяли методом ультрацентрифугирования в растворах КВг на центрифуге Optima L-90K ("Beckman-Coulter", Австрия). Делипидирование фракций ЛПВП проводили охлажденной смесью этанол-ацетон (1:1) с последующей многократной отмывкой эфиром. АпоА-I выделяли методом гель-фильтрации на колонке $1,6 \times 100 \text{ см}$ с сефарозой CL-6B ("Amersham Biosciences", Швеция). Анализ чистоты апоА-I проводили методом электрофореза в ПААГ с додецилсульфатом натрия ("Serva", Германия).

Комплекс апоА-I со стероидными гормонами получали, выдерживая их смесь в молярном соотношении 1:2. Концентрация апоА-I в среде инкубации составляла 60 мкг/мл. В работе использовали кортизол, андростерон, ДГЭАС ("Amersham", Англия). ТГК был любезно предоставлен академиком РАМН Ю. А. Панковым (Институт экспериментальной эндокринологии РАМН).

Скорость биосинтеза белка в культуре гепатоцитов определяли по включению радиоактивной метки в количестве 2 мКи/мл среды, используя ^{14}C -лейцин ("Amersham", Англия). Радиоактивность образцов измеряли на жидкостном сцинтилляционном счетчике ("Mark-III", США) и выражали в имп/мин на 1 мг белка. Статистическую значимость полученных результатов оценивали с помощью t -критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В работе использовали андростерон — метаболит тестостерона и андростендиона, в котором оксигруппа гормона в 3-м положении и водород в 5-м положении находятся в транс-позиции; ДГЭАС — гормон сетчатой зоны коры надпочечников, в котором оксигруппа в 3-м положении кольца А заменена на сульфогруппу, находящуюся в цис-позиции, а углерод в 5-м положении не имеет атомов водорода; кортизол — гормон пучковой зоны коры надпочечников, содержащий Δ^4 , 3-кетогруппу в



Рис. 2. Влияние андростерона, ДЭАС, кортизола, ТГК и апоА-I на скорость биосинтеза белка в гепатоцитах; * — достоверное отличие от контроля ($p < 0,05$).

кольце А, и тетрагидрокортизол — основной метаболит кортизола, содержащий восстановленную Δ^4 , 3-кетогруппу в А-кольце в транс-позиции и водород в 5-м положении в цис-позиции и считавшийся неактивной формой гормона [8]. Структуры этих гормонов представлены на рис. 1. Отражаются ли структурные особенности гормонов на их биологических свойствах, в частности на скорости биосинтеза белка?

Оказалось, что скорость биосинтеза белка под влиянием комплекса андростерон—апоА-I не изменялась по сравнению с действием одного апоА-I и контроля (рис. 2). Комплекс ДГЭАС—апоА-I резко усиливал скорость биосинтеза белка, как по сравнению с действием одного апоА-I или одного гормона, так и по сравнению с контролем. Комплекс кортизол—апоА-I не влиял на скорость включения ^{14}C -лейцина в белок гепатоцитов, в то время как комплекс ТГК—апоА-I значительно ее усиливал, как по сравнению с действием одного апоА-I, так и по сравнению с действием одного гормона. Однако самый высокий результат оказался в случае использования комплекса ДГЭАС—апоА-I.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что для проявления биологического эффекта (усиления биосинтеза белка) в стероидных гормонах должна присутствовать оксигруппа в 3-м положении А-кольца, которая может быть заменена на сульфогруппу. Наличие водорода у 5-го углеродного атома необязательно. Хотя его присутствие (цис-или транс-позиция) может иметь значение при взаимодействии комплекса с ДНК. Вероятно, то же можно сказать и о позиции оксигруппы в 3-м положении А-кольца. Для биологического действия гормона предпочтительнее цис-позиция.

Следует отметить, что восстановленные формы стероидных гормонов (тетрагидросоединения) оказывают биологическое действие в комплексе с апоА-I. Данные комплексы образуются в резидентных макрофагах при кооперативном захвате ЛПВП и стероидных гормонов [9]. Не менее важная роль принадлежит дегидроэпиандростерону, который синтезируется в основном в сульфатированной форме. Функция этого гормона до конца не изуче-

на, однако есть указание на то, что он принимает участие в регуляции транскрипции [6]. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что это может происходить при участии комплекса ДГЭАС—апоА-I. Формирование такого комплекса было подтверждено нами с помощью ИК-спектроскопии и методом тушения триптофановой флюоресценции.

Таким образом, указанные различия в структуре стероидных гормонов наиболее важны при взаимодействии соответствующих комплексов с ядерной ДНК. Другие группы стероидных гормонов принципиальной роли в данном механизме не играют. ЛПВП, как транспортная форма стероидных гормонов, определяют участие последних в усилении биосинтеза белка. Мы полагаем, что это имеет прямое отношение к регуляции таких процессов, как пролиферация клеток и внутриклеточная регенерация.

Выводы

1. Восстановленные формы стероидных гормонов (тетрагидросоединения) обладают высокой биологической активностью. В комплексе с апоА-I они повышают скорость биосинтеза белка в гепатоцитах.
2. ДГЭАС в комплексе с апоА-I усиливает скорость биосинтеза белка в гепатоцитах, что подтверждает участие этого гормона в регуляции экспрессии генов.
3. В механизме усиления биосинтеза белка важную роль играет оксигруппа в 3-м положении А-кольца стероидных гормонов, которая может быть заменена на сульфогруппу.
4. Андростерон, у которого оксигруппа в 3-м положении А-кольца и водород при 5-м углеродном атоме находятся в транс-позиции, не обладает биологической активностью. Более предпочтительной для биологического эффекта является цис-позиция этих групп.

ЛИТЕРАТУРА

1. Обут Т. А. Андрогены в адаптации организма: биологическая значимость надпочечников андрогенов. — Новосибирск, 2004.
2. Панин Л. Е., Поляков Л. М., Розуменко А. А., Биушкина Н. Г. // *Вопр. мед. химии*. — 1988. — № 5. — С. 56–58.
3. Панин Л. Е., Поляков Л. М., Кузьменко А. П. и др. // *Биохимия*. — 1992. — Т. 57, вып. 6. — С. 826–831.
4. Панин Л. Е., Русских Г. С., Поляков Л. М. // *Биохимия*. — 2000. — Т. 65, вып. 12. — С. 1684–1689.
5. Панин Л. Е., Гимаутдинова О. И., Кузнецов П. А. и др. // *Биохимия*. — 2002. — Т. 67, вып. 7. — С. 953–958.
6. Роживанов Р. В., Вакс В. В. // *Пробл. эндокринологии*. — 2005. — Т. 51, № 2. — С. 45–51.
7. Сергеев П. В., Галенко-Ярошевский П. А., Шимановский И. Л. *Очерки биохимической фармакологии*. — М., 1996.
8. Юдаев Н. А., Афиногенова С. А., Крехова М. А. // *Биохимия гормонов и гормональной регуляции*. — М., 1976. — С. 171–227.
9. Panin L. E., Maksimov V. F., Usynin I. F., Korostyshevskaya I. M. // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* — 2002. — Vol. 81. — P. 69–76.
10. Panin L. E., Kunitsyn V. G., Tusikov F. V. // *Int. J. Quantum Chem.* — 2005. — Vol. 101. — P. 450–467.

Поступила 10.04.07

◆ ОБЗОР

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2009

УДК 618.146-006.6-092:612.43

Ж. А. Ужегова, О. Р. Григорян, Е. Н. Андреева

ЭНДОКРИННЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА РАКА ШЕЙКИ МАТКИ. НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПЕРВИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

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

В обзоре представлены современные данные о патогенезе фоновых, предраковых заболеваний и рака шейки матки. В результате эпидемиологических и молекулярно-биологических исследований установлено, что важнейшим фактором канцерогенеза шейки матки является инфицирование женщин вирусом папилломы человека. Проводится оценка степени влияния функциональных нарушений репродуктивной системы на развитие патологии шейки матки, а также предполагается возможный механизм участия половых стероидов в канцерогенезе.

Ключевые слова: рак шейки матки, половые стероиды, эндокринопатии.

Zh. A. Uzhegova, O. R. Grigoryan, Ye. N. Andreyeva

ENDOCRINE ASPECTS OF THE PATHOGENESIS OF CANCER OF THE CERVIX UTERI. NEW POSSIBILITIES OF PRIMARY PROPHYLAXIS

Endocrinology Research Center, Russian Academy for Medical Technologies, Moscow

The review gives updates on the pathogenesis of background, precancer, and cancer of the cervix uteri.

Epidemiological and molecular biological studies have established that human papillomavirus infection is the most important factor of carcinogenesis of the cervix uteri.

The impact of reproductive dysfunction on the development of cervical pathology has been assessed and a possible mechanism of involvement of sex steroids in carcinogenesis assumed.

Key words: cancer of the cervix uteri, sex steroids, endocrinopathy.

Рак шейки матки (РШМ) занимает второе место в мире среди всех злокачественных опухолей репродуктивных органов женщин, являясь серьезной проблемой для здравоохранения Российской Федерации [33].

На период 2004 г. в России было зарегистрировано 12 700 женщин с РШМ, что составило около 5% от всех злокачественных опухолей и 31% от злокачественных новообразований женских половых органов [5, 6]. В последние годы определилась тенденция роста заболеваемости РШМ у женщин в возрастной группе до 29 лет, где прирост данного показателя с 1993 по 2002 г. составил 150% [10] (рис. 1).

По данным ВОЗ, переход дисплазии в рак *in situ* длится около 3—8 лет, затем в течение 10—15 лет развивается микроинвазивный рак. Дисплазия шейки матки при профилактических осмотрах выявляется в 0,2—2,2% случаев, при этом частота дисплазий на фоне эктопии достигает 8,5% [1, 3, 4]. В связи с вышеперечисленным основными составляющими в комплексе профилактических мероприятий по предотвращению развития РШМ явля-

ются своевременное выявление и лечение неопухолевых заболеваний шейки матки, а также регулярный цитологический скрининг.

Теоретические обоснования цитологического скрининга РШМ были сформулированы в 40-х годах XX столетия. После классических работ Папаниколау было показано, что цитологический метод исследования является весьма чувствительным в диагностике предрака (дисплазий) и начального преklinического РШМ (карциномы *in situ*, микроинвазивного и скрытого инвазивного рака) [14]. Если с помощью цитологического метода обследовать всех женщин, то можно выявить больных с предраком и начальными стадиями рака, которые хорошо поддаются лечению, и таким образом предотвратить развитие у них инвазивного рака. Выявление заболевания в преklinической фазе позволяет полностью излечить больных "сберегающими" методами, сократить сроки лечения, снизить случаи инвалидизации и смертности и дает высокую экономическую эффективность.

В России цитологический метод исследования при массовых профилактических гинекологических осмотрах начали использовать в 1964 г. При этом частота выявления патологии шейки матки не превышает 25%, что объясняется отсутствием программ организованного цитологического скрининга РШМ. В настоящее время приказами Минздравсоцразвития РФ регламентированы лишь общие положения: ежегодные профилактические осмотры всех женщин старше 18 лет с проведением цитологического исследования мазков из шейки мат-

Информация для контактов:

Ужегова Жанна Александровна, научный сотрудник отделения эндокринной гинекологии с группой маммологии Института репродуктивной медицины ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, 11

Телефон: 8-499-126-75-44, факс: 8-499-126-96-70

e-mail: joanna4@ayandex.ru

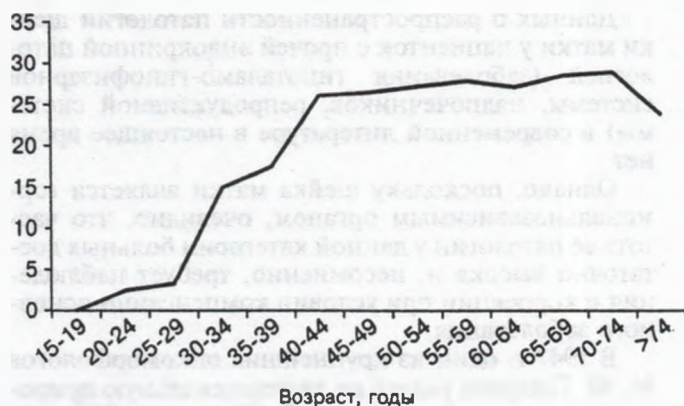


Рис. 1. Заболеваемость раком шейки матки на 100 000 женского населения (ось ординат) в России в зависимости от возраста (ось абсцисс).

ки и шеечного канала. В течение последних 20 лет стратегия скрининга РШМ не менялась [9]. Отсутствие программы скрининга с разработкой всех организационных вопросов и контроля за ее выполнением, по-видимому, является одной из основных причин его недостаточной эффективности.

Многочисленные данные литературы свидетельствуют о полиэтиологичности патологических процессов экто- и эндоцервикса, но ключевой концепцией в этиологии и патогенезе дисплазий и РШМ, несомненно, является вирусная гипотеза.

Информационный бюллетень ВОЗ от 09.07.96 официально подтвердил, что причиной возникновения РШМ являются вирусы папилломы человека (ВПЧ).

Современные представления о механизме канцерогенеза, обусловленного ВПЧ

В настоящее время известно более 100 типов ВПЧ, подробно описано около 80. При этом из всех идентифицированных типов 34 поражают аногенитальную область. Онкогенный потенциал ВПЧ существенно варьирует: по способности инициировать неопластические изменения и рак ВПЧ условно разделены на группы "высокого" и "низкого" риска возникновения опухолевой трансформации инфицированного эпителия. Типы ВПЧ "низкого" риска (6, 11, 42 и др.) являются причиной остроконечных кондилом и часто выявляются при неоплазиях легкой и средней степени. Типы ВПЧ "высокого" риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 50, 51 и др.) выявляются в карциномах и неоплазиях средней и тяжелой степени в различных соотношениях.

Геном ВПЧ представлен циркулярной двуспиральной ДНК с мол. массой около 8000 пар оснований, кодирующих всего 8 открытых рамок считывания [4]. В процессе репликативного цикла геном ВПЧ экспрессирует от 8 до 10 белковых продуктов. Наиболее важными с точки зрения онкогенных потенциалов ВПЧ являются онкобелки Е5, Е6 и Е7. Белок Е4 взаимодействует с цитоскелетом эпителиальных клеток, приводя к дезинтеграции клеточного скелета. Белки Е1 и Е2 представляют собой хеликазу и транскрипционный модулятор соответственно (рис. 2, см. на вклейке).

В зараженных клетках вирусный геном может существовать в двух формах: эписомальной (вне хромосом) и интегрированной в клеточный геном. При персистенции вирусной ДНК в интегрированной форме (при наличии предрасполагающих факторов) происходит реализация закодированной в геноме вируса программы, что приводит к пролиферации и усиленному синтезу клеткой-хозяином ДНК и РНК. При этом клетки приобретают повышенную способность к делению. Поскольку синтез собственных белков у них подавлен, их дифференцировка или созревание не наступает. Такие клетки, достигнув границы 2–3-го ряда промежуточного слоя эпителия шейки матки, подвергаются разрушению, нарушая при этом динамику клеточного обновления эпителиального пласта и вызывая неоплазию, в основе которой лежат пролиферация и структурная перестройка эпителиальных клеток (рис. 3, см. на вклейке).

На стадии активной репродукции вируса экспрессия генов Е6 и Е7 регулируется продуктом гена Е2, являющимся репрессором транскрипции этих генов. Именно поэтому, до тех пор пока вирус находится в эписомальном состоянии, наблюдаются доброкачественные процессы разрастания инфицированных тканей. Ключевым событием в малигнизации клеток является интеграция вируса в геном клеток, которая сопровождается делецией гена Е2. Это событие имеет два важных последствия:

1. В эпителиальных клетках с интегрированной формой ВПЧ регистрируется сверхэкспрессия генов Е6 и Е7 (так как в процессе интеграции утрачивается ген Е2, кодирующий репрессор транскрипции этих генов).

2. Любые противовирусные препараты бессильны остановить процесс опухолевой трансформации, так как инфицированные клетки не содержат вирус в традиционном понимании, и все лечебные мероприятия должны быть направлены на элиминацию клеток с интегрированной формой генома ВПЧ.

Многие исследователи подчеркивают, что для индукции опухолевого роста одного только инфицирования ВПЧ недостаточно, и указывают на роль кофакторов в ВПЧ-зависимом канцерогенезе.

Эндокринные аспекты патогенеза фоновых и предраковых заболеваний шейки матки

В настоящее время онкологический аспект гинекологических заболеваний рассматривается в неразрывной связи с эндокринной функцией репродуктивной системы [9]. Поэтому в последние годы появились данные о роли функциональных гормональных нарушений в патогенезе заболеваний шейки матки.

Так, по данным В. Н. Прилепской, Т. А. Фокиной (1993 г.), частота заболеваний шейки матки у больных с нарушениями менструальной функции в 5 раз выше, чем в популяции. По данным П. С. Русакевича [11], гормональные нарушения (хроническая ановуляция, недостаточность лютеиновой фазы, дисфункциональные маточные кровотечения и др.) встречаются у 72–73% больных с шеечной патологией.

По данным О. Р. Григорян (2004), патология шейки матки выявляется у 63% женщин с сахарным диабетом (СД) 1-го типа (СД1), у 68,6% женщин с СД 2-го типа (СД2) и у 24% женщин с нарушенной толерантностью к глюкозе. По данным Е. А. Межевитиновой [8], патология шейки матки отмечается у 62,1% женщин с СД1, где при цитологическом и гистологическом исследовании выявляются явления хронического цервицита, на фоне которого у 61,1% женщин обнаруживаются атипические кольпоскопические картины. При этом у большинства (54,5%) женщин атипическая зона трансформации представлена ацетобелым эпителием с четкими контурами, йоднегативным при пробе Шиллера: у 46,7% из них — с мозаикой; у 33,3% — с пунктацией и у 20% — с сочетанием пунктации и мозаики. У 39,7% женщин с атипической кольпоскопической картиной диагностируется лейкоплакия шейки матки, у 18,8% — дисплазия различной степени выраженности. Более того, частота патологии шейки матки достоверно увеличивается у женщин с длительностью СД1 более 10 лет [8].

Интересно отметить, что эктопия шейки матки наиболее часто наблюдается у женщин с гипофункцией щитовидной железы [8]. У пациенток же с синдромом поликистоза яичников наиболее часто выявляется ацетобелый эпителий. У женщин с гиперпролактинемией неопухового генеза выявляется комбинация дисплазии шейки матки, носительства ВПЧ и кондиломатоза по сравнению с пациентками с нормопролактинемией [32]. При этом многими исследователями иммуногистохимическим методом были выявлены следы пролактина как в здоровых, так и злокачественных клетках шейки матки [31]. В работе тайских исследователей [23] было показано, что гиперпролактинемия (в большей степени через рецепторы к пролактину и в меньшей — за счет аутокринной регуляции) может способствовать пролиферации в шейке раковых клеток. В исследовании М. Y. Yeh, С. T. Hsu [35], в котором участвовали 743 женщины с РШМ, у 229 (30,8%) выявлены повышенные уровни пролактина в сыворотке крови. При хирургическом удалении цервикальной карциномы отмечалась нормализация уровней пролактина. Иммуногистохимический анализ первичной культуры ткани цервикальной карциномы показал наличие пролактина в ее клетках; 22 из 49 секционных препарата карциномы показали цитоплазматическое окрашивание пролактина, в то время как нормальные неизмененные ткани шейки были негативны. Это исследование выявило наличие эктопической продукции пролактина в клетках цервикальной карциномы. Авторы предполагают, что производство пролактина может быть потенциальным маркером ранних, скрытых опухолей, а также одним из компонентов оценки эффективности терапии цервикальной карциномы.

Интересным является случай выявления мелко-клеточной карциномы шейки матки с эктопической секрецией АКТГ у 42-летней пациентки, описанный А. Hashi (1996). При иммунологическом исследовании были обнаружены типичные нейросекреторные гранулы, секретирующие АКТГ и хромогранин. Больной была произведена радикальная гистерэктомия в сочетании с лимфаденэктомией.

Данных о распространенности патологии шейки матки у пациенток с прочей эндокринной патологией (заболевания гипоталамо-гипофизарной системы, надпочечников, репродуктивной системы) в современной литературе в настоящее время нет.

Однако, поскольку шейка матки является гормональнозависимым органом, очевидно, что частота ее патологии у данной категории больных достаточно высока и, несомненно, требует наблюдения и коррекции при условии компенсации основного заболевания.

В 1947 г. один из крупнейших онкоморфологов М. Ф. Глазунов указал на дисгормональную природу эктопии шейки матки. В 50-х годах XX века Н. Burrows и Е. Horing высказали предположение, что влияние эстрогенов, в том числе в физиологических концентрациях, на опухолевый рост связано с усиленным митогенезом. В начале 60-х годов XX века Н. И. Вольфсон и Р. М. Соколовский в эксперименте на грызунах отчетливо показали способность эктоцервикса дифференцироваться в многослойный плоский эпителий под влиянием эстрогенов и в цилиндрический — под влиянием андрогенов. Созданная ими модель позволила "управлять" под воздействием гормонов "подвижным" эпителием влагища грызунов. Выдвинутое положение подкреплялось данными и о так называемых врожденных эрозиях шейки матки, зависимость которых от гормонального статуса видна чрезвычайно отчетливо.

В 90-х годах XX века опубликованы данные исследований, подтверждающие роль абсолютной или относительной гиперэстрогении в генезе лейкоплакии шейки матки. Показаны повышение гонадотропной функции гипофиза, нарушение метаболизма эстрогенов с преобладанием содержания эстрадиола, изменения в соотношении дезоксигенированных и оксигенированных форм 17-кетостероидов в сторону увеличения содержания последних. Отмечено прогрессирование степени неоплазии шейки матки на фоне гиперэстрогемии. В других исследованиях было показано, что гиперэстрогения способствует развитию РШМ, а прогестины блокируют фазу инициации опухоли [7].

Роль эндогенных половых стероидов в формировании неопластического процесса шейки матки

Основным звеном, играющим исключительно важную роль в развитии неопластических процессов в так называемых эстрогенчувствительных тканях, в том числе и в эпителии шейки матки, являются эстрогены. Эстрадиол, как известно, один из наиболее активных женских половых гормонов, обладает высоким сродством к эстрогеновым рецепторам и, взаимодействуя с ними, оказывает существенное влияние на метаболическую и пролиферативную активность клеток эпителия шейки матки.

Ферментная система цитохромов Р-450 обеспечивает конверсию эстрадиола в два основных метаболита: 16 α — гидроксистерон (16-ОН) и 2-гидроксистерон (2-ОН) (рис. 4). Первый из них (16 α -

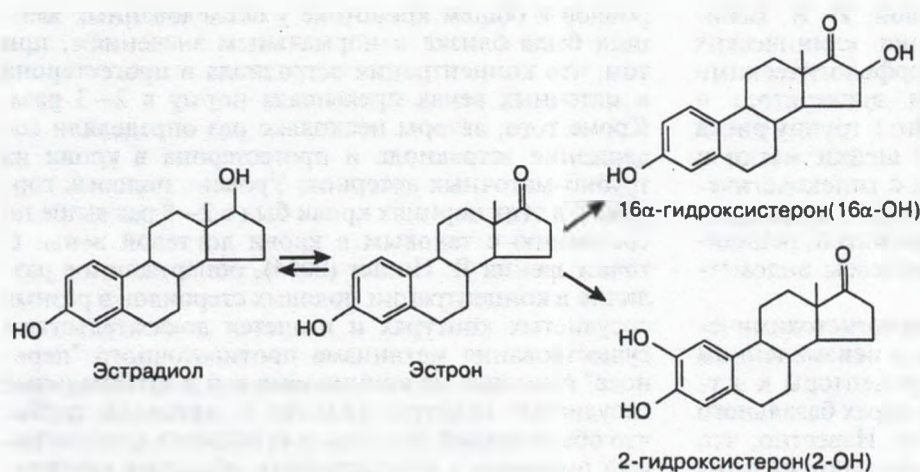


Рис. 4. Основные пути конверсии эстрадиола.

ОН) относится к категории "агрессивных гормонов", вызывающих длительный эффект (есть данные, что 16α-ОН способен образовывать ковалентные связи с рецептором, т. е. необратимо взаимодействовать с ним). Второй метаболит 2-гидроксистерон (2-ОН), обладая умеренными функциями, нормализует клеточный рост. Давно было отмечено, что тканевые изменения в цервикальном канале, вызванные ВПЧ, локализованы главным образом в эстрогенчувствительных зонах. Более того, было установлено, что там, где наблюдается активная экспрессия белков ВПЧ, отмечен высокий уровень синтеза 16α-ОН, сравнимый с таковым в раковых клетках молочной железы. При этом следует отметить, что в норме эпителиальные клетки шейки матки не способны обеспечивать превращение эстрадиола в 16α-гидроксистерон (рис. 4).

Таким образом, активная репродукция ВПЧ индуцирует образование агрессивного метаболита в инфицированных клетках. Инфицированные кератиноциты человека проявляют пролиферативную активность *in vitro*, но при этом не имеют опухолевого фенотипа при микроскопическом исследовании. Добавление в культуральную среду экзогенного 16α-ОН превращает клетки в типично раковые. На основании этого становится понятным, что инфицирование эпителиальных клеток ВПЧ — необходимое, но недостаточное условие для ракового перерождения. А для формирования необратимой неоплазии необходимы:

- активная экспрессия генов Е6 и Е7 вируса;
- индукция метаболических механизмов конверсии эстрадиола в 16α-ОН;
- индукция множественных повреждений хромосомной ДНК в инфицированной клетке, которая и завершает процесс перерождения.

Ключевая роль 16α-ОН-стерона в раковом перерождении клеток, инфицированных ВПЧ, подтверждается прямыми исследованиями на клетках как эпителия шейки, так и цервикальной карциномы. По данным некоторых исследований, один из основных путей малигнизации клеток, инфицированных ВПЧ, заключается в том, что вирус модифицирует клеточный метаболизм таким образом, что клетка приобретает способность превращать

эстрадиол преимущественно в 16α-ОН, который и является прямым активатором экспрессии гена Е7, ответственного за опухолевую трансформацию клеток [4]. Таким образом, формируется порочный круг, при котором вирус (через образование агрессивной формы эстрадиола) создает благоприятные условия для развития опухоли, стимулируя синтез онкобелка Е7. В свою очередь онкобелок, с одной стороны, активирует механизмы патологической пролиферации клеток, с другой — блокирует механизмы развития иммунологической защиты [2, 11, 21] (рис. 5, см. на вклейке). Кроме

того, при длительной эстрогенной депривации эстрогеновые рецепторы меняются качественно, становясь более чувствительными к эстрогенам, в то же время обеспечивая селективную активацию определенных генов, что подтверждает гипотезу о так называемой нарушенной рецепторной чувствительности в органах-мишенях у женщин с эндокринопатиями и, в частности, с сахарным диабетом (Григорян О. Р., Анциферов М. Б., 2004 г.).

В настоящее время большинство исследователей сходятся во мнении, что опухолевая трансформация (инициация) происходит под влиянием прямых канцерогенных воздействий, в то время как гормоны могут вызывать активацию опухолевого роста [27].

Исходя из вышеперечисленного, некоторые исследователи выделяют два типа гормонального канцерогенеза: **промоторный и генотоксический**.

Первый из них является в определенном смысле естественным и реализуется в случае избыточной гормональной стимуляции на базе физиологических (нередко мутагенных) эффектов гормонов.

При генотоксическом варианте гормоны или продукты их метаболизма ведут себя как истинные канцерогены.

По современным представлениям, превращение эстрогенов в катехолэстрогены и последующие метаболиты в ходе свободнорадикальных реакций является основой для реализации ДНК-повреждающих гормональных эффектов. Риск перехода промоторного варианта в генотоксический повышается при наложении усиленного гормонального сигнала на влияние некоторых факторов внешней среды (например, табачного дыма).

Согласно мнению исследователей, изучающих гиперпластические процессы гормонально зависимых органов женской репродуктивной системы, однотипность преморбидного фона у пациенток с различными сочетаниями доброкачественных заболеваний женских половых органов предполагает сходство патогенетических механизмов их развития. Этим, вероятно, и можно объяснить нередкое последовательное выявление указанных патологических состояний в течение жизни женщины.

В исследовании И. И. Фроловой, И. И. Бабиченко (2004) выявлено сочетание клинических проявлений гиперэстрогении с морфологическими изменениями экзоцервикса при дискератозе и CIN. Авторы пришли к выводу, что в группу риска по возникновению лейкоплакии шейки матки и CIN следует включать пациенток с гинекологической патологией, характеризующейся гиперэстрогенией (миома матки, эндометриоз матки, рецидивирующие гиперпластические процессы эндометрия) [16, 17].

Проведенные авторами иммуногистохимические исследования показали, что в неизменном эпителии шейки матки имеются рецепторы к эстрогенам, которые локализируются в ядрах базального и парабазального клеточных слоев. Известно, что клетки этих слоев экзоцервикса обладают митотической активностью, которая увеличивается по мере повышения уровня эстрогенов в крови. При дискератозах шейки матки отмечаются резкое увеличение количества клеток с рецепторами к эстрогенам и их выраженная экспрессия в ядрах клеток, сочетающиеся с гиперплазией клеток парабазального слоя и явлениями акантоза с формированием стромальных сосочковых структур. Учитывая тот факт, что для внедрения ВПЧ нужны именно активно пролиферирующие клетки парабазального эпителиального слоя, количество которых резко увеличивается на фоне гиперэстрогении, данное патологическое состояние следует рассматривать как один из факторов, способствующих формированию неопластических поражений шейки матки [18, 19, 22].

Необходимо отметить, что на современном этапе для лечения дисфункциональных нарушений женской репродуктивной системы зачастую используются гормональные препараты (комбинированные оральные контрацептивы (КОК), препараты для заместительной гормональной терапии). Гормональные контрацептивы оказывают влияние на различные звенья репродуктивной системы, в том числе и на шейку матки. Однако исследования, посвященные изучению состояния шейки матки в процессе использования КОК, хотя и многочисленны, но весьма разноречивы [19, 22]. Результаты одних исследований свидетельствуют о большом риске диспластических изменений в экзоцервиксе, других — об отсутствии этой связи, третьих — об исчезновении даже диспластических изменений при применении КОК [19, 22]. По-видимому, такая разноречивость связана с различным контингентом обследованных больных, гетерогенностью групп, несоблюдением четких критериев включения и исключения и использованием исследователями различных по составу и дозе экзогенно вводимых половых стероидов.

Наряду с многочисленными сторонниками концепции системной гиперэстрогении, имеются также сторонники локальной или органной гиперэстрогении. Группой ученых во главе с Г. А. Савицким в 2001—2003 гг. были обследованы 600 пациенток, оперированных по поводу миомы матки. В исследовании проводилось сопоставление содержания половых стероидов в крови локтевой и маточных вен. Концентрация основных половых сте-

роидов в общем кровотоке у обследованных женщин была близка к нормальным значениям, при том, что концентрация эстрадиола и прогестерона в маточных венах превышала норму в 2—3 раза. Кроме того, авторы несколько раз определяли содержание эстрадиола и прогестерона в крови из трубно-маточных артериол. Уровень половых гормонов в этих порциях крови был в 2—8 раз выше по сравнению с таковым в крови локтевой вены. С точки зрения R. Hunter (2004), обнаруженное различие в концентрации половых стероидов в разных сосудистых контурах и является доказательством существования механизма противоточного "переноса" гормонов из яичниковых вен в артериальные сосудистые контуры яичника и маточной трубы, что обеспечивает поступление высоких концентраций гормонов к определенным областям внутренних половых органов [26].

Таким образом, многолетние клинические исследования и экспериментальные данные позволяют предположить, что в организме женщины существует относительно независимая субовариальная система регуляции трубно-маточного, в частности гормонального, гомеостаза, связанная с аномалиями концентрационно-временных параметров специфической гормональной регуляции [28, 30, 34, 36]. По мнению J. Liehr (2004), источником качественного изменения в продукции эстрогенов, включая образование катехолэстрогенов, могут быть процессы локального и/или внутритканевого метаболизма [12, 13, 26]. А нарушения гормоночувствительности могут выражаться не только сдвигами в числе рецепторных молекул и изменением их пространственной конфигурации, но и особенностями сопряжения со значительным числом пострецепторных механизмов [28].

На современном этапе исследование роли эндокринных факторов в механизме возникновения и развития диспластических процессов шейки матки является перспективным. К сожалению, ни в отечественной, ни в зарубежной литературе практически не встречаются данные исследований, посвященных изучению развития патологии шейки матки у женщин с заболеваниями желез внутренней секреции.

В связи с вышеперечисленным и учитывая накопленный фактический материал, данное направление, на наш взгляд, представляет собой огромный научный интерес.

Новые возможности первичной профилактики РШМ. Вакцина Гардасил. Перспективы вакцинации

Доказательство того, что РШМ является последствием ВПЧ-инфекции, поставило его в ряд заболеваний потенциально предотвратимых с помощью вакцинации. Это потребовало создания профилактических вакцин против штаммов папилломавируса, которые наиболее часто ассоциируются с развитием злокачественного новообразования; в первую очередь это штаммы типов 16 и 18, доминирующие во всех регионах мира.

Такие вакцины были созданы, причем использовались наиболее иммуногенные вирусные белки,

полученные генно-инженерным способом, превращающиеся в результате самосборки в вирусоподобные частицы, не содержащие ДНК, т. е. неспособные самостоятельно вызвать инфекционный процесс [24, 25, 29].

На основании данных о роли различных типов ВПЧ в этиологии и патогенезе РШМ было отмечено, что двухвалентная вакцина (против ВПЧ типов 16 и 18) способна предотвратить 70,7% всех случаев заболевания [20], квадριвалентная (16, 18, 31, 45) — около 80% случаев рака.

Многообещающие результаты больших рандомизированных плацебо-контролируемых двойных слепых исследований с участием девушек-подростков и молодых женщин показали две кандидатные вакцины.

Анализ результатов исследования и последующего 4-летнего наблюдения показал:

— 94,7% эффективность в предотвращении инфицирования;

— 96% эффективность в отношении цервикальной инфекции, персистирующей на протяжении как минимум 6 мес;

— 100% эффективность в отношении цервикальной инфекции, персистирующей на протяжении как минимум 12 мес;

— 95,7% эффективность в отношении развития цитологических нарушений;

— 100% защиту в отношении развития всех степеней CIN.

Кроме того, оказалось, что вакцина может обеспечивать перекрестную защиту у 40,6% вакцинированных в отношении любых цитологических нарушений, вызванных другими онкогенными типами вируса.

Основываясь на результатах клинических исследований, две вакцины против ВПЧ были зарегистрированы в США, Канаде, Мексике, Бразилии, странах Европы (Германия, Франция, Австрия) и России — вакцина против ВПЧ типов 6, 11, 16, 18 (Gardasil, MSD) и вакцина против ВПЧ типов 16, 18, содержащая адъювант AS04 (Cervarix, GSK); последняя доступна в России уже с октября 2008 г. Несмотря на положительные результаты клинических исследований вакцины, необходимы дальнейшие разработки, а также сбор и анализ доказательств снижения заболеваемости CIN, изучение экономической эффективности программ массовой иммунизации против ВПЧ, проведение исследований в более старших возрастных группах, так как накопленные за этот период данные позволяют рассматривать вакцинацию как вполне реальный путь борьбы с РШМ [10].

ЛИТЕРАТУРА

1. Бауэр Г. Цветной атлас по кольпоскопии: Пер. с нем. — М., 2006.
2. Бебнева Т. Н., Прилепская В. Н. // Consilium medicum. Гинекология. — 2001. — Т. 1, № 3.

3. Берштейн Л. М. Гормональный канцерогенез. — СПб., 2000.
4. Киселев В. И., Ашрафян Л. А., Бударина С. О. // Consilium medicum. Гинекология. — 2004. — Т. 6, № 4.
5. Козаченко В. П. // Соврем. онкол. — 2001. — Т. 2, № 2. — С. 2—4.
6. Коломиец Л. А., Уразова Л. Н. Генитальная папилломавирусная инфекция и рак шейки матки. — Томск, 2002.
7. Коханевич Е. В., Ганина К. П., Суменко В. В. Кольпоцервикоскопия. Атлас. — Киев, 1997. — С. 49.
8. Межевитинова Е. А. Репродуктивное здоровье и контрацепция у женщин с сахарным диабетом 1 типа: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2006. — С. 23.
9. Новик В. И. // Вопр. онкол. — 1990. — Т. 36, № 12. — С. 1411—1418.
10. Профилактика рака шейки матки / Кулаков В. И., Паавонен И., Прилепская В. Н. и др. — М., 2007.
11. Русакевич П. С. Фоновые и предраковые заболевания шейки матки. — Минск, 1998.
12. Савицкий Г. А. // Вопр. онкол. — 1991. — № 2. — С. 164—169.
13. Савицкий Г. А., Савицкий А. Г. Миома матки (проблемы патогенеза и патогенетической терапии. — СПб., 2000.
14. Сельков С. А., Веденеева Г. Н., Ришук С. В. // VIII Российский онкологический конгресс Москва, 22—24 ноября 2004. RosOncoWeb.
15. Стрижаков А. Н., Давыдов А. И., Белоцерковцева Л. Д. Клиническая кольпоскопия. — М., 2002. — С. 91.
16. Фролова И. И. Клинико-морфологические исследования дискератоза и неопластических изменений эктоцервикса при сопутствующей гинекологической патологии: Дис. ... канд. мед. наук. — М., 2002.
17. Фролова И. И. // Вопр. акуш., гин. и перинатол. — 2003. — Т. 2, № 1. — С. 72—86.
18. Anttila T. et al. // J. A. M. A. — 2001. — Vol. 285, N 1. — P. 47—51.
19. Bernard C., Mouglin C., Madoz L. et al. // Int. J. Cancer. — 1992. — Vol. 52. — P. 731—735.
20. Boyd P., Autier P., Bartelink H. et al. // Ann. Oncol. — 2003. — Vol. 14. — P. 973—1005.
21. Brinton L. A., Herrero R., Reeves W. S. et al. // Gynecol. Oncol. — 1993. — Vol. 51, N 3. — P. 301—306.
22. Castellsague X. et al. // N. Engl. J. Med. — 2002. — Vol. 346, N 15. — P. 1105—1112.
23. Chen C. W., Tsai Y. L., Lien Y. R. // J. Formos Med. Assoc. — 1992. — Vol. 91, N 8. — P. 804—807.
24. Harper D., Franco E., Wheeler C. et al. // Lancet. — 2004. — Vol. 364. — P. 1757—1765.
25. Harper D., Franco E., Wheeler C. et al. // Lancet. — 2006. — Vol. 367. — P. 1247—1255.
26. Hunter R., Cook B., Peyser K. // Eur. J. Obstet. Gynecol. — 1983. — Vol. 14, N 4. — P. 225—232.
27. Israels L., Israels E. // Oncologist. — 1999. — Vol. 4, N 4. — P. 332—339.
28. Jeng M.-H., Shupnic M. A., Bender T. P., Santen R. J. // Endocrinology. — 1998. — Vol. 139. — P. 4164—4174.
29. Koutsky L., Ault K., Wheeler C. et al. // N. Engl. J. Med. — 2002. — Vol. 347. — P. 1645—1651.
30. Liehr J. G. // Polycycl. Arom Compounds. — 1994. — Vol. 6. — P. 229—239.
31. Macfee M. S., McQueen J., Strayer D. E. // Gynecol. Oncol. — 1987. — Vol. 26, N 3. — P. 314—318.
32. Vishnevskii A. S., Strukov E. L., Novik V. I. et al. // Oncology. — 1994. — Vol. 40, N 1—3. — P. 53—59.
33. Waggoner S. // Lancet. — 2003. — Vol. 361. — P. 2217—2225.
34. Walboomers J. M. M., Jacobs M. V., Manos M. M. et al. // J. Pathol. — 1999. — Vol. 189. — P. 12—19.
35. Yeh M. Y., Hsu C. T., Yu M. H. et al. // Gynecol. Oncol. — 1992. — Vol. 44, N 2. — P. 166—171.
36. Zur Hausen H. // Cancer. — 1994. — Vol. 343. — P. 955—957.

Поступила 21.01.09

◆ НЕКРОЛОГ

УДК 616.43:92 Балаболкин

ПАМЯТИ МИХАИЛА ИВАНОВИЧА БАЛАБОЛКИНА



8 февраля 2009 г. на 75-м году жизни после тяжелой и продолжительной болезни ушел из жизни выдающийся ученый, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эндокринологии факультета последипломного профессионального образования врачей (ФППОВ) ММА им. И. М. Сеченова Михаил Иванович Балаболкин.

Михаил Иванович прошел большой жизненный путь. После окончания в 1959 г. лечебного факультета Карлова университета в Праге Михаил Иванович в 1959—1961 гг. работал врачом-инфекционистом Милюковской районной больницы. Путь ученого эндокринолога начался в 1962 г. в НИИ эндокринологии и химии гормонов АМН СССР. В 1966 г. Михаил Иванович защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по теме "Секреция гормона роста при акромегалии в зависимости от течения и лечения заболевания". Продолжением научно-исследовательской работы стала защита в 1971 г. докторской диссертации по теме "Секреция гормона роста и инсулина при эндокринных заболеваниях".

В различные периоды жизни М. И. Балаболкину были доверены самые ответственные направления деятельности. С 1966 по 1971 г. он главный специалист ученого медицинского совета Минздрава СССР, после защиты докторской диссертации с 1971 по 1975 г. — советник по медицине Постоянного представительства СССР при ООН, в 1975—1979 гг. — главный специалист по научному сотрудничеству УВС Минздрава СССР, а с 1979 по

1984 г. — главный редактор издательства "Медицина". В период работы в издательстве им было много сделано для того, чтобы достижения мировой науки стали доступны отечественным специалистам. С 1990 г. на протяжении 15 лет Михаил Иванович Балаболкин возглавлял отечественную диabetологию будучи директором Института диабета РАМН и главным диabetологом России. Он внес большой вклад в развитие эндокринологии как науки, как отрасли практического здравоохранения. Много важных и полезных дел было претворено в жизнь за эти годы.

В 1977 г. Михаил Иванович Балаболкин организовал и возглавил первую в СССР кафедру эндокринологии в Московском медико-стоматологическом институте им. Н. А. Семашко, разработал и внедрил программу преподавания эндокринологии в медицинских вузах страны. С 1991 г. и до последних дней своей жизни Михаил Иванович руководил кафедрой эндокринологии и диabetологии ФППОВ ГОУ ВПО ММА им. И. М. Сеченова. За годы педагогической деятельности он подготовил большое количество учеников, кандидатов и докторов медицинских наук, возглавляющих в настоящее время кафедры эндокринологии в различных вузах страны, а также ведущие эндокринологические учреждения в регионах России. Им была создана школа подготовки кадров для практического здравоохранения, научно-педагогических и административных резервов.

Выдающийся ученый, Михаил Иванович Балаболкин стоял у истоков внедрения радиоиммунологических методов определения уровня гормонов у пациентов с эндокринной патологией, изучения механизмов инсулин-рецепторного взаимодействия и перекисного окисления липидов при сахарном диабете. Академические знания М. И. Балаболкина отражены более чем в 500 научных публикациях, 22 монографиях и учебниках.

До последних дней жизни Михаил Иванович Балаболкин много и плодотворно трудился, являясь членом Европейской и Российской ассоциаций эндокринологов, членом Диабетической ассоциации, членом редколлегии журнала "Терапевтический архив", заместителем главного редактора журнала "Сахарный диабет", членом Совета экспертов "Федерального руководства по использованию лекарственных средств" и Научно-редакционного совета Регистра лекарственных средств России.

Светлая память о Михаиле Ивановиче Балаболкине сохранится в сердцах его учеников и коллег.

Рис. 2. Физическая карта генома ВПЧ.

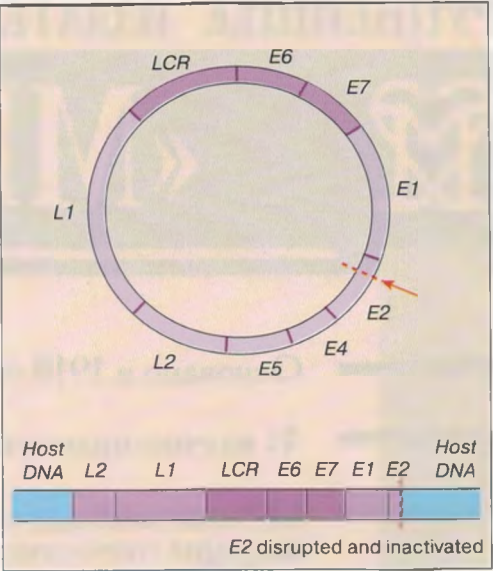


Рис. 3. Расположение вирусного генома внутри клетки.

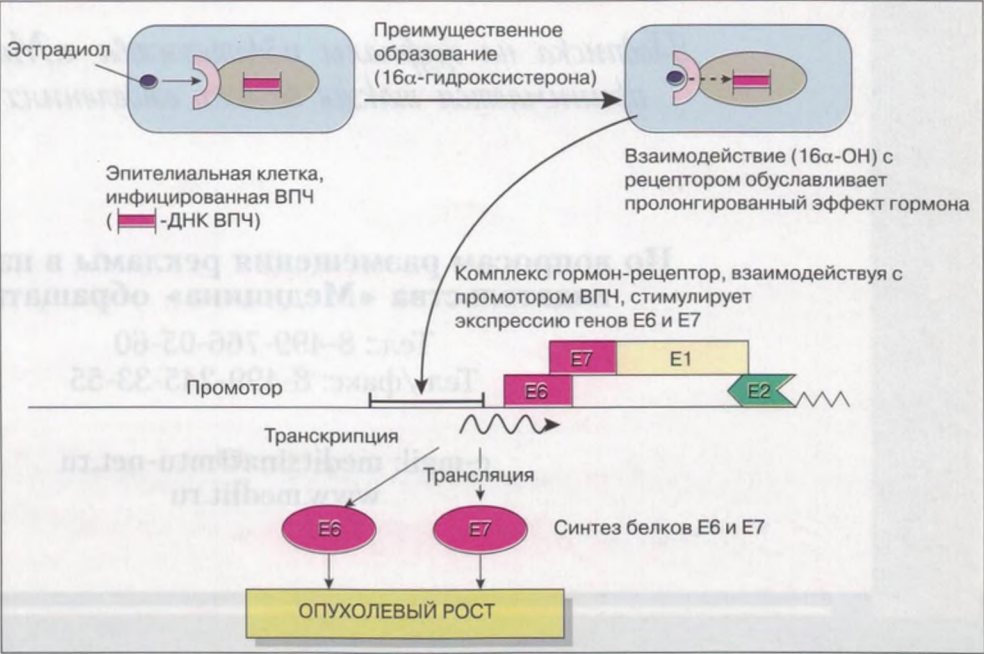
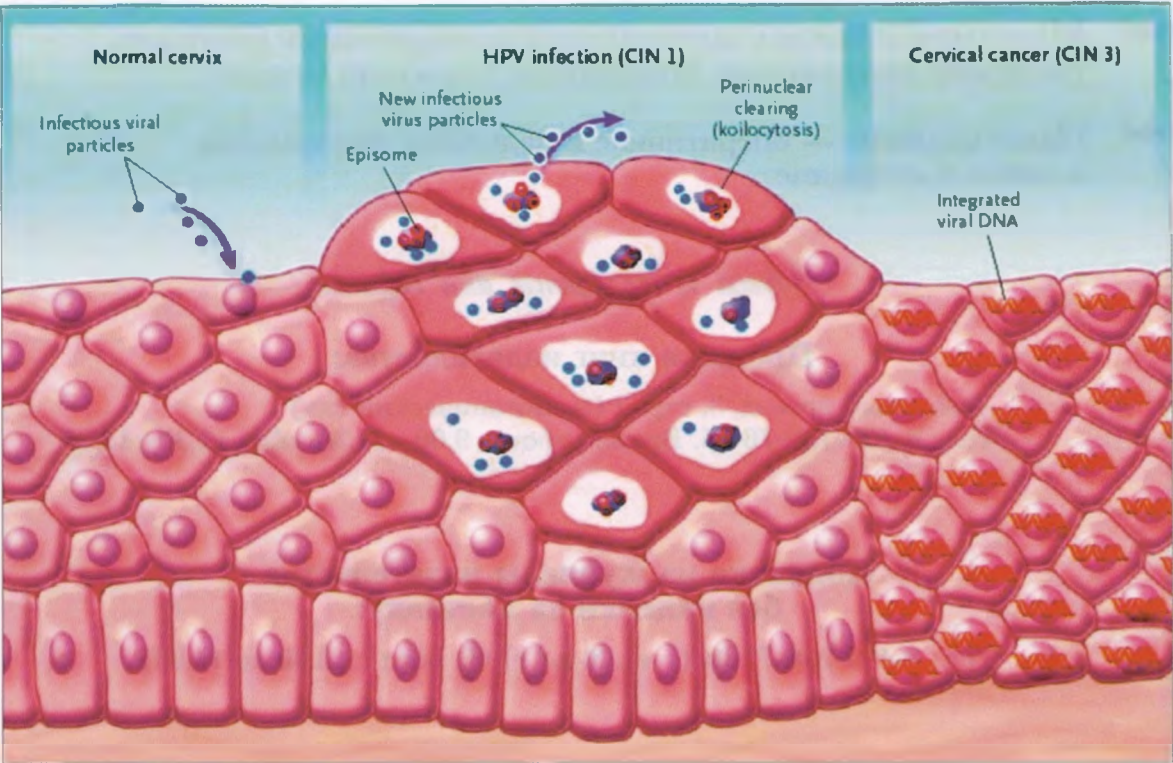


Рис. 5. Порочный круг образования опухолевого роста.